

<https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-233-237>



ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ β-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА С ИНСУЛИНОМ ДЕТЕМИР МЕТОДАМИ БИОСЛОЙНОЙ ИНТЕРФЕРОМЕТРИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

М.П. Шевелёва, Е.И. Дерюшева, Е.Л. Немашкалова, А.А. Вологжанникова,
А.А. Назипова, Е.А. Литус*

Институт биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ
«Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, ул. Институтская, 7

Исследование взаимодействий β-амилоидного пептида (Аβ) с белковыми и пептидными лигандами является актуальной задачей. Большой интерес представляет изучение комплексов Аβ с лекарственными средствами, которые рассматриваются в качестве перспективных кандидатов для терапии болезни Альцгеймера. К данной категории относится группа гипогликемических препаратов, в т. ч. инсулин детемир, аналог инсулина длительного действия. В данной работе методом биослойной интерферометрии впервые получены кинетические и равновесные параметры взаимодействия инсулина детемир с мономерными формами Аβ с длиной цепи 40 и 42 аминокислоты, а также предложена модель комплексов «инсулин детемир – Аβ40/42». Полученные данные могут быть использованы для изучения механизмов влияния инсулина детемир на когнитивные функции пациентов с диагнозом болезнь Альцгеймера.

Ключевые слова: инсулин детемир, β-амилоидный пептид, болезнь Альцгеймера

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 20-74-10072.

Для цитирования: Шевелёва М.П., Дерюшева Е.И., Немашкалова Е.Л., Вологжанникова А.А., Назипова А.А., Литус Е.А. Изучение взаимодействия β-амилоидного пептида с инсулином детемир методами биослойной интерферометрии и молекулярного моделирования. *Биомедицина*. 2024;20(3E):233–237. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-233-237>

Поступила 10.04.2024

Принята после доработки 23.08.2024

Опубликована 01.11.2024

INTERACTION OF β-AMYLOID PEPTIDE WITH INSULIN DETEMIR STUDIED BY BIOLAYER INTERFEROMETRY AND MOLECULAR MODELLING

Marina P. Shevelyova, Evgeniya I. Deryusheva, Ekaterina L. Nemashkalova,
Alisa A. Vologzhannikova, Aliya A. Nazipova, Ekaterina A. Litus*

Institute for Biological Instrumentation, Pushchino Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Institutskaya Str., 7

The study of β-amyloid peptide (Aβ) interactions with protein and peptide ligands is a relevant research task. Aβ complexes with drugs that are considered as promising candidates for the therapy of Alzheimer's disease are of particular interest. This category includes a group of hypoglycemic drugs, such as insulin detemir, a long-acting insulin analogue. In this work, the method of biolayer interferometry is used to ob-

tain the kinetic and equilibrium parameters of interaction of insulin detemir and monomeric A β forms with a chain length of 40 and 42 amino acids. A model of “insulin detemir–A β 40/42” complexes is proposed. The data obtained can be used to study the mechanisms of the effect of insulin detemir on cognitive functions of patients with Alzheimer’s disease.

Keywords: insulin detemir, β -amyloid peptide, Alzheimer’s disease

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the research was funded by the Russian Science Foundation, grant No. 20-74-10072.

For citation: Shevelyova M.P., Deryusheva E.I., Nemashkalova E.L., Vologzhannikova A.A., Nazipova A.A., Litus E.A. Interaction of β -amyloid Peptide with Insulin Detemir Studied by Biolayer Interferometry and Molecular Modelling. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):233–237. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-233-237>

Submitted 10.04.2024

Revised 23.08.2024

Published 01.11.2024

Введение

Исследование взаимодействий β -амилоидного пептида (A β) с лигандами различной природы является актуальной задачей как с точки зрения пополнения знаний о механизмах развития болезни Альцгеймера (БА), так и в связи с поиском эффективных способов её терапии и профилактики. Особый интерес представляет изучение комплексов мономерной формы A β . Создание библиотеки взаимодействий A β с указанием кинетических и равновесных параметров образования комплекса может послужить базой для поиска взаимодействий A β , значимых *in vivo*. Особенно актуально изучение комплексов A β с лекарственными средствами, которые могут быть использованы для лечения БА. Так, например, интраназальное применение инсулина детемир (одной из пролонгированных форм инсулина) положительно влияло на память пациентов с БА, носителей аллели ApoE ϵ 4, и ухудшало память пациентов с БА, не имеющих данной аллели в своём генотипе [1]. В то же время взаимодействие инсулина детемир с мономерной формой A β до сих пор не изучено. В нашей работе было проведено исследование взаимодействия мономерных форм A β с длиной цепи 40 и 42 аминокислотных остатка (A β 40/42) с инсулином детемир: методом биослойной

интерферометрии (БСИ) получены кинетические и равновесные параметры их взаимодействия, а также методом молекулярного моделирования построена модель их комплексов.

Материалы и методы

В ходе исследований были использованы рекомбинантный человеческий A β 40/42, полученный по методике, разработанной в нашей лаборатории [3], и инсулин детемир производства Novo Nordisk (торговое название — Левемир). Взаимодействие A β 40/42 с инсулином детемир исследовали методом БСИ с использованием системы Octet QKe (ForteBio). A β 40/42 использовался в качестве лиганда, в качестве аналита был использован р-р инсулина детемир (5–10 мкМ) в буфере 20 мМ Трис-HCl, 140 мМ NaCl, 4,9 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂, 2,5 мМ CaCl₂, pH=7,4. Данные анализировали с помощью программного обеспечения ForteBio Data Analysis Software. Для аппроксимации использовали модель гетерогенного лиганда. Моделирование комплекса исследуемых молекул проводилось на основе трёхмерных структур инсулина детемир (PDB ID: 1XDA цепи A, B, X-RAY) и A β (PDB ID: 2LFM, 1–40, NMR; PDB ID: 1Z0Q, 1–42, NMR) с помощью программы ClusPro (<https://cluspro.org/login.php?redir=/home.php>).

Обработка полученных комплексов проводилась по алгоритму, описанному нами в работе [2]. Визуализация комплексов была реализована с помощью программы PyMol (<https://pymol.org/2>). Остатки пронумерованы в соответствии с трёхмерными структурами молекул.

Результаты исследований

На рис. 1 представлены результаты определения параметров взаимодействия Аβ40/42 с инсулином детемир методом БСИ. Значения равновесных констант диссоциации близки в пределах погрешности для двух изоформ Аβ как для первой рав-

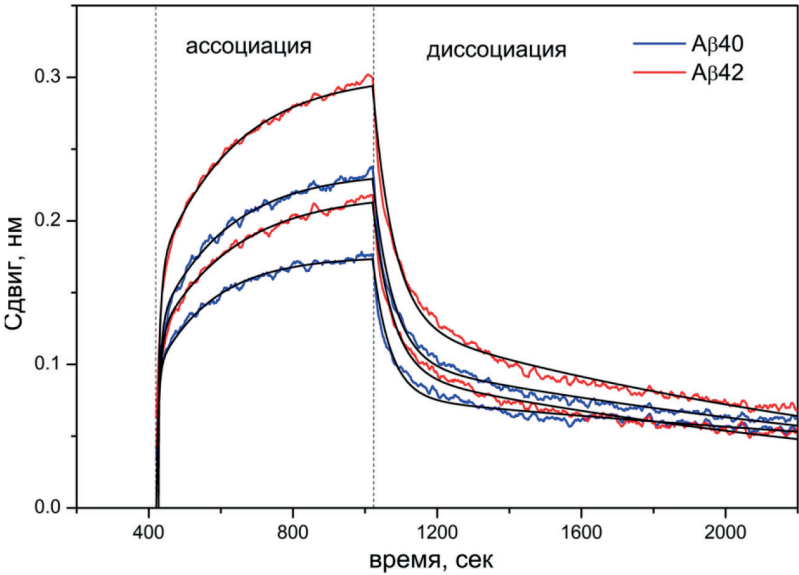


Рис. 1. Сенсограмма взаимодействия Аβ40/42 с инсулином детемир (5–10 мкМ), полученная методом БСИ.
Примечание: синим цветом для Аβ40 и красным для Аβ42 показана зависимость сдвига длины волны (отклика) от времени в процессе ассоциации и диссоциации, черными линиями показана аппроксимация экспериментальных данных моделью гетерогенного лиганда 2:1.
Fig. 1. Sensorgram of the interaction of Аβ40/42 with insulin detemir (5–10 μM), obtained by biolayer interferometry.
Note: the time dependence of the wavelength shift (response) during association and dissociation is shown for Аβ40 (blue) and Аβ42 (red); the black lines show the approximation of the experimental data by the 2:1 heterogeneous ligand model.

Таблица. Кинетические и термодинамические константы взаимодействия Аβ40/42 с инсулином детемир
Table. Kinetic and thermodynamic constants of interaction of Аβ40/42 with insulin detemir

k_{a1}^1 $\times 10^2$ 1/(М·сек)	k_{d1}^1 $\times 10^{-4}$ 1/сек	K_{D1}^1 $\times 10^{-7}$ М	k_{a2}^1 $\times 10^4$ 1/(М·сек)	k_{d2}^1 $\times 10^{-2}$ 1/сек	K_{D2}^1 $\times 10^{-6}$ М
Аβ40					
8,2±5,1	4,0±1,2	4,88±0,45	2,0±1,5	1,91±0,21	0,96±0,78
Аβ42					
6,14±2,83	5,85±0,13	9,53±0,46	1,45±0,63	1,77±0,11	1,22±0,60

Примечание: в качестве погрешностей приведены величины стандартного отклонения среднего.
Note: the standard deviation values of the mean are given as errors.

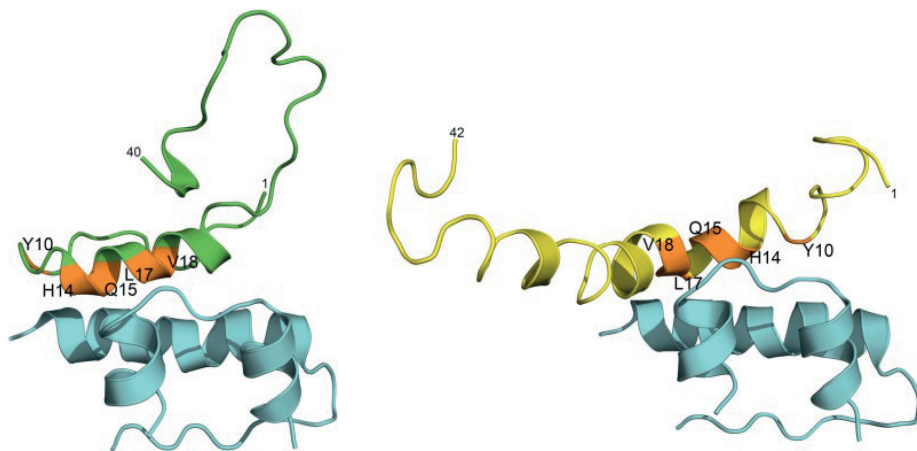


Рис. 2. Модели комплексов «Аβ40 (слева) / Аβ42 (справа) – инсулин детемир», полученные методом молекулярного моделирования с помощью программы ClusPro на основе трёхмерных структур инсулина детемир (выделен голубым цветом) и Аβ (Аβ40 выделен зелёным цветом; Аβ42 выделен жёлтым цветом). Аминокислотные остатки, общие для Аβ40 и Аβ42, взаимодействующие с инсулином детемир (Y10, H14, Q15, L17 и V18), выделены оранжевым и подписаны.

Fig. 2. Models of the “Aβ40 (left) / Aβ42 (right) – insulin detemir” complexes obtained by molecular modeling using the ClusPro program based on the three-dimensional structures of insulin detemir (highlighted in blue) and Aβ (Aβ40 in green; Aβ42 in yellow). Amino acid residues common to Aβ40 and Aβ42 that interact with insulin detemir (Y10, H14, Q15, L17 and V18) are highlighted in orange and labeled.

новесной константы диссоциации (K_{D1}), так и для K_{D2} .

Модели комплексов «Аβ40/42 – инсулин детемир», полученные методом молекулярного моделирования с помощью программы ClusPro, приведены на рис. 2.

Анализ полученных моделей комплексов показал, что Аβ40 имеет большее число контактов с инсулином детемир, чем Аβ42 (за счёт входящих в комплекс N-концевых остатков пептида). Общие аминокислотные остатки для Аβ40 и Аβ42, взаимодействующие с инсулином детемир: Y10, H14, Q15, L17 и V18. Области связывания, расположенные на обеих цепях молекулы инсулина

детемир (PDB ID: 1XDA цепи A, B), схожи для Аβ40 и Аβ42.

Выводы

В данной работе впервые было проведено исследование взаимодействия мономерных форм Аβ40/42 с инсулином детемир, были получены кинетические и равновесные параметры их взаимодействия, а также предложена модель их комплексов. Полученные данные могут быть использованы для изучения влияния инсулина детемир на метаболизм Аβ и когнитивные функции пациентов с диагнозом болезнь Альцгеймера [4].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Claxton A., Baker L.D., Hanson A., Trittschuh E.H., Cholerton B., Morgan A., Callaghan M., Arbuckle M., Behl C., Craft S. Long-acting intranasal insulin detemir improves cognition for adults with mild cognitive impairment or early-stage Alzheimer's disease dementia. *J. Alzheimers Dis.* 2015;44(3):897–906. DOI: 10.3233/jad-141791
- Kazakov A.S., Deryusheva E.I., Sokolov A.S., Permyakova M.E., Litus E.A., Rastrygina V.A., Uversky V.N., Permyakov E.A., Permyakov S.E. Erythropoietin interacts with specific S100 proteins. *Biomolecules.* 2022;12(1):120. DOI: 10.3390/biom12010120
- Litus E.A., Kazakov A.S., Deryusheva E.I., Nemashkalova E.L., Shevel'yova M.P., Nazipova A.A.,

Permyakova M.E., Raznikova E.V., Uversky V.N.,
Permyakov S.E. Serotonin promotes serum albumin
interaction with the monomeric amyloid β peptide.
Int. J. Mol. Sci. 2021;22(11):5896. DOI: 10.3390/
ijms22115896

4. Vandal M., Bourassa P., Calon F. Can insulin signaling
pathways be targeted to transport A β out of the brain?
Front. Aging Neurosci. 2015;7:114. DOI: 10.3389/
fnagi.2015.00114

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шевелёва Марина Петровна, к.х.н., Институт
биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ
«Пушкинский научный центр биологических ис-
следований» РАН;

e-mail: marina.shevelyova@gmail.com

Marina P. Shevelyova, Cand. Sci. (Chem.),
Institute for Biological Instrumentation, Pushchino
Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: marina.shevelyova@gmail.com

Дерюшева Евгения Игоревна, к.ф.-м.н.,
Институт биологического приборостроения
ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биоло-
гических исследований» РАН;

e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Evgeniya I. Deryusheva, Cand. Sci. (Phys.-
Math.), Institute for Biological Instrumentation,
Pushchino Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Немашкалова Екатерина Леонидовна, к.б.н.,
Институт биологического приборостроения
ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биоло-
гических исследований» РАН;

e-mail: elnemashkalova@gmail.com

Ekaterina L. Nemashkalova, Cand. Sci. (Biol.),
Institute for Biological Instrumentation, Pushchino
Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: elnemashkalova@gmail.com

Вологжанникова Алиса Андреевна, к.б.н.,
Институт биологического приборостроения
ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биоло-
гических исследований» РАН;

e-mail: lisiks.av@gmail.com

Alisa A. Vologzhannikova, Cand. Sci. (Biol.),
Institute for Biological Instrumentation, Pushchino
Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: lisiks.av@gmail.com

Назипова Алия Анцаровна, Институт био-
логического приборостроения ФГБУН ФИЦ
«Пушкинский научный центр биологических ис-
следований» РАН;

e-mail: aliya-alex@rambler.ru

Aliya A. Nazipova, Institute for Biological
Instrumentation, Pushchino Scientific Center
for Biological Research of the Russian Academy
of Sciences;

e-mail: aliya-alex@rambler.ru

Литус Екатерина Андреевна*, к.м.н., Институт
биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ
«Пушкинский научный центр биологических ис-
следований» РАН;

e-mail: ecalitus@gmail.com

Ekaterina A. Litus*, Cand. Sci. (Med.), Institute
for Biological Instrumentation, Pushchino Scientific
Center for Biological Research of the Russian
Academy of Sciences;

e-mail: ecalitus@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author