

SARS-CoV-2 Вирусийн Спайк Уураг ба Хүний Толл-төст Рецептор 4 Уураг хоорондын Харилцан Үйлчлэлийн Молекулын Динамик Симуляци

Мөнхдалайн Чагдаржав^{1,2}, Балтын Батгэрэл¹,
Батсайханы Мижиддорж^{2*}

¹Шинжлэх Ухааны Академи, Математик, тоон технологийн хүрээлэн, Улаанбаатар 13330, Монгол улс

²Монгол Улсын Их Сургууль, Шинжлэх Ухааны Сургууль, Улаанбаатар 14200, Монгол улс

*Холбоо барих зохиогч: mijiddorj@seas.num.edu.mn; ORCID:0000-0003-1557-5520

Өгүүллийн мэдээлэл: Хүлээн авсан: 2022.09.17; Зөвшөөрөгдсөн: 2022.10.01;
Нийтлэгдсэн: 2022.12.26

Хураангуй: COVID-19 өвчний үүсгэгч SARS-CoV-2 вирус нь 2019 оны 12 сараас эхлэн дэлхий даяар тархаад байна. SARS-CoV-2 вирус нь төрөлхийн болон өвөрмөц дархлааны системийг идэвхжүүлдэг ба идэвхжүүлэх зам одоо ч бүрэн ойлгогдоогүй байна. Сүүлийн үеийн судалгаагаар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг нь хүний толл-төст рецептор 4 уурагтай харилцан үйлчлэх замаар төрөлхийн дархлааны хариу үйлдлийг өдөөж, олон төрлийн цитокинуудын хэт их нийлэгжлийг идэвхжүүлдэг болохыг харуулсан. Цитокинуудын хэт их нийлэгжил нь COVID-19-тэй өвчтөний хүндрэлийн зэргийг нэмэгдүүлдэг. Гэсэн хэдий ч спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн талаар атомын түвшинд нарийн тайлбарлаагүй байна. Энэ ажлаар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг ба хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг молекулын динамик симуляцийн аргаар судлав. Симуляциар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн ялгаатай хоёр гинжний амин төгсгөлийн домеин ба рецепторт холбогдогч домеин хамгарч хүний TLR4 уурагтай холбогдож болохыг харуулав. Энэ үр дүн SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн механизмыг ойлгоход чухал мэдээлэл болно.

Түлхүүр үгс: COVID-19, Спайк глико-уураг, Хүний TLR4, Молекулын динамик симуляци

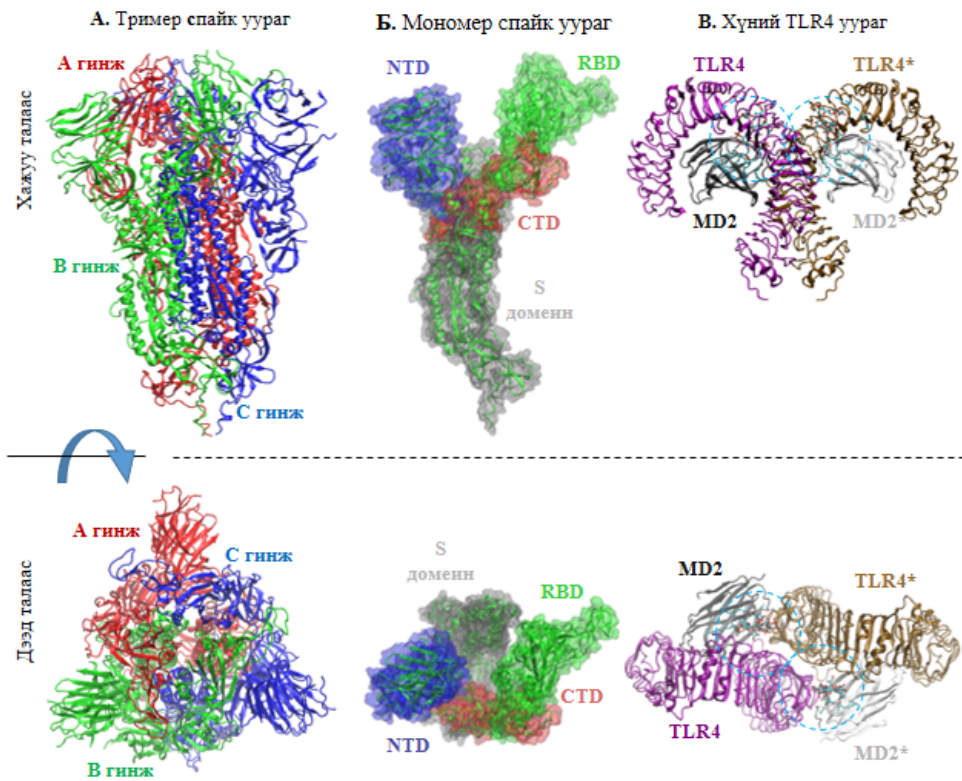
1. Оршил

Шинэ корона вирус нь 2019 оны 12 сард БНХАУ-ийн Ухань хотод гарч COVID-19 (корона вирусээс үүдэлтэй өвчин 2019) өвчнийг үүсгэсэн бөгөөд дэлхий даяар тархсан [1]. Иймээс дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллага 2020 оны 3-р сард COVID-19 өвчний дэгдэлтийг пандемикт хүрлээ гэж зарласан. Одоогийн пандемик дэгдэлт гарахаас өмнө амьсгалын цочмог халтай хам шинжтэй корона вирус 1 (SARS-CoV-1) [2] болон ойрх дорнодын амьсгалын хам шинжтэй корона вирус (MERS-CoV) [3]-ын эпидемик дэгдэлт гарч байсан. Энэ хоёр эпидемиктэй харьцуулахад COVID-19-ийн пандемик дэгдэлт нь урьд өмнөхөөс илүү тархалт өндөртэй байна [1], [4].

Шинэ корона вирусийн геномын дарааллыг 2020 оны 1-р сард тодорхойлсон ба геном нь SARS-CoV-1-тай 79%, MERS-CoV-тай 51.8% төсөөтэй байсан тул шинэ корона вирусыг SARS-CoV-2 гэж нэрлэсэн [4], [5]. SARS-CoV-2 нь дугтуйтай, эерэг, дан утаслагт PHX вирус бөгөөд бета корона вирусийн төрөлд харьяалагддаг. Энэ вирусийн вирион

нь дугтуйны уураг (E), мембраны уураг (M), спайк уураг (S) агуулсан липидийн давхарга болон нуклеокапсид уургаар хүрээлэгддэг геномоос бүрддэг [4]-[6]. SARS-CoV-2 вирусийн геном нь 27 уургийг кодолдог 14 нээлттэй уншигдах хүрээ агуулах 30 орчим мянган рибонуклейн хүчлээс бүрддэг. Уг вирусийн спайк уураг нь эзэн эсийн мембраны ангиотензин-хувиргагч энзим 2 (ACE2) уурагтай холбогдож геномыг эзэн эсэд нэвтрүүлэхэд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг [5]-[7].

Спайк уураг нь вирусийн мембраны гадаргуу дээр байрладаг ба тример бүтэцтэй. Спайк уургийн нэг гинж нь 1273 амин хүчлээс бүрдэх бөгөөд 22 гликаны молекултай холбогддог. Спайк уургийн бүтцийг Зураг 1А, Б-д харуулав. Спайк уургийн 1-686 дугаар амин хүчлүүд нь S1 домеиныг, 687-1273 дугаар амин хүчлүүд нь S2 домеиныг бүрдүүлдэг [6], [7]. Спайк уураг нь ACE2 уурагтай холбогдох үед S1 болон S2 домеинууд хуваагдалд ордог. S1 домеин нь амин төгсгөлийн домеин (NTD), рецепторт холбогдогч домеин (RBD), карбоксил төгсгөлийн домеин (CTD) гэсэн гурван дэд домеинтай [6], [7]. Гликаны молекулууд нь спайк уургийг хучиж байрладаг ба уснаас тусгаарлах үүрэг гүйцэтгэхээс гадна дархлааны системийн рецептор уургуудаас зайлсхийх боломж олгодог [8], [9].



Зураг 1: SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг ба хүний TLR4 уургийн бүтэц. (А) Тример спайк уургийн бүтцийг дээд болон хажуу талаас харуулав. Гурван гинж тус бүрийг улаан, ногоон, хөх өнгөөр ялгаж харуулав. (Б) Зөвхөн В гинжийг дээд болон хажуу талаас харуулав. S1 домеины NTD, RBD, CTD домеин, S2 домеиныг хөх, ногоон, улаан, саарал өнгөөр ялгаж харуулав. (В) MD2 уурагтай холбогдсон TLR4 уургийн димер бүтцийг дээд болон хажуу талаас харуулав. TLR4 уургийн хоёр гинжийг ягаан, бор өнгөөр, MD2 уургийн хоёр гинжийг саарал, цагаан өнгөөр харуулав. Бактерийн липополисахаридыг цэнхэр өнгөөр харуулав. Бүх бүтцийг туузан загвараар харуулав.

Халдварын үед хүний төрөлхийн дархлааны системийн толл-төст рецептор (TLRs) бүл уургууд өвчин үүсгэгчийг танихад оролцдог [10-12]. Өөрөөр хэлбэл дархлааны систем вирусийн гадаргуу дээрх глико-уургуудыг таних шаардлагатай байдаг. TLRs уургууд нь эсийн мембран болон лизосомын гадаргуу дээр байрладаг ба димер бүтэцтэй. TLRs уургуудын эктодомеин нь лейцин-баялаг давталт агуулсан, морины тах хэлбэрийн бүтэцтэй бөгөөд өвчин үүсгэгчийн молекулын бүтцийн хэв шинжийг таних үүрэгтэй [13],

[14]. 10 төрлийн TLRs уураг хүнд байдаг ба тэдгээрийг нэрлэхдээ тодорхойлогдсон дэс дарааллаар дугаарласан байдаг. Эдгээрээс толл-төст рецептор 4 (TLR4) уураг нь вирусийн спайк уурагтай холбогддог болохыг судалгаагаар харуулаад байна [15-17]. Хүний TLR4 уураг нь 839 амин хүчлээс бүрдэх ба 1-629 дугаар амин хүчил нь эстодомейн, 674-815 нь толл-интерлейкин 1 рецептор домеины хэсэг юм [18], [19]. Хүний TLR4 уургийн эктодомейн нь MD2 уурагтай харилцан үйлчилж димер бүтэц үүсгэдэг ба грамм сөрөг бактерийн гаралтай липополисахаридыг таних үүрэгтэй [19], [20]. Хүний TLR4 уургийн бүтцийг Зураг 1B-д харуулав. Хүний TLR4 уургийн эктодомейны бүтэц нь 23 лейцин-баялаг давталтаас (LRR) бүрдэх бөгөөд NTD, төвийн домеин (CD), CTD гэсэн гурван дэд домеинтай [19].

Зарим судалгаагаар хүний TLR4 уураг нь SARS-CoV-2 вирусийн спайк уурагтай харилцан үйлчлэлцсэнээр үрэвслийн цитокинуудын нийлэгжлийг өдөөдөг болох нь батлагдсан [15-17]. COVID-19 өвчний үед хавдар үхүүлэгч фактор $-\alpha$, интерперон $-\gamma$, интерлейкин 6, интерлейкин $-\beta$ зэрэг цитокинуудын зохицуулгагүй нийлэгжил нь TLRs уургийн сигналын замаар идэвхжиж болно [15-17], [21]. Үрэвслийн цитокинуудын хэт их нийлэгжил буюу цитокины шуурга нь COVID-19 өвчний хүндрэл болон өвчтөний үхлийн гол шалтгаан болох нь тогтоогдоод байна [1], [11], [16], [21]. Иймээс SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг хүний TLR4 уурагтай харилцан үйлчлэх молекул механизмыг ойлгох нь маш чухал байна. Уургийн бүтэц, үүрэгтэй холбоотой уураг-уураг, уураг-лиганд хоорондын харилцан үйлчлэлийн механизмын судалгаанд молекулын докинг, молекулын динамик (МД) симуляцийн аргыг өргөн ашигладаг [22], [23].

Casalino нар спайк уургийн RBD -ний бүтцийн өөрчлөлтөд гликаны молекул чухал үүрэгтэй болохыг МД симуляцийн аргаар харуулсан [8]. Contractor нар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн RBD дээрх мутациуд нь RBD болон эсрэг бие хоорондын харилцан үйлчлэлд хэрхэн нөлөөлж байгааг молекулын докинг, МД симуляцийн аргаар тайлбарласан [24]. Jitka Petrlova нар бактерийн липополисахарид нь SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн агрегацийн процессыг эхлүүлж болохыг МД симуляцийн аргаар харуулаад байна [25]. Харин хүний TLR4 уургийн бүтэц, үүргийн талаар МД симуляцийн аргыг ашигласан маш олон судалгаа хийгдсэн [26], [27]. Choudhury, Mukherjee нар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг нь хүний TLR4 уурагтай холбогдож болохыг молекулын докингийн аргаар харуулсан [28]. Гэсэн хэдий ч SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг атомын түвшинд нарийн тайлбарлаагүй байна.

Энэ ажлаар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг ба хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг МД симуляцийн аргаар судлав. МД симуляциар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн ялгаатай хоёр гинжний амин төгсгөлийн домеин ба рецепторт холбогдогч домеин хамтарч хүний TLR4 уурагтай холбогдож болохыг харуулав. Энэ үр дүн SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн механизмыг ойлгоход чухал мэдээлэл болно.

2. Судалгаанд ашигласан өгөгдөл ба материал

SARS-CoV-2 вирусийн спайк болон хүний TLR4 уургийн бүтцүүдийг Protein Data Bank [29]-аас 6xlu [30] болон 3fxi [19] хандалтын дугаараар тус тус татан авч ашиглав. SARS-CoV-2 вирусийн анхны (wild type) хувилбарын спайк уургийн амин хүчлийн дарааллыг National Center for Biotechnology Information [31]-аас YP_09724390 [5] хандалтын дугаараар татан авч гомологи загварчлалд ашиглав.

3. Арга зүй

3.1. Молекулын динамик симуляци

МД симуляци нь Ньютоны хөдөлгөөний тэгшитгэл дээр суурилан атомуудын хөдөлгөөнийг тооцоолдог ба энгийн системийн хувьд дараах хэлбэртэй байна.

$$m_i \ddot{r}_i = f_i, f_i = \frac{-dU}{dr_i}, i = 1, 2, \dots, N. \quad (3.1)$$

Энд: m_i – i дугаар атомын масс; \ddot{r}_i – i дугаар атомын $r(x_i, y_i, z_i)$ координатаас авсан хоёрдугаар эрэмбийн уламжлалаар тодорхойлогдох i дугаар атомын хурдатгал ба тогтмол, f_i -потенциал энергийн градентаар тодорхойлогдох i дугаар атомын үйлчлэх хүч, N - Системийн нийт атомын тоо юм.

Энэ систем нь $3N$ хэмжээст хоёрдугаар эрэмбийн дифференциал тэгшитгэлээс тогтох бөгөөд хөдөлгөөнийг тооцоолохын тулд $6N$ хэмжээст нэгдүгээр эрэмбийн дифференциал тэгшитгэлд шилжүүлнэ.

$$\dot{r}_i = v_i, m_i \dot{v}_i = f_i, i = 1, 2, \dots, N. \quad (3.2)$$

Энд: $v_i(x_i, y_i, z_i)$ - i дугаар атомын хурд юм. Симуляцийн анхны нөхцөлд системийн нийт атомын $r_i(0)$ анхны байрлал, $v_i(0)$ анхны хурдыг өгнө. Потенциал энерги нь атомуудын байрлалаас хамаарах функц юм. Хугацааны t дугаар алхам дахь системийн бүх атомын $r_i(t)$ координат, $v_i(t)$ хурд, $f_i(t)$ үйлчлэх хүч тодорхой үед h хугацааны дараа буюу нэгж хугацааны дараагийн $t+1$ алхам дахь системийн бүх атомын шинэ $r_i(t+1)$ координат, $v_i(t+1)$ хурдыг Верлетийн алгоритм ашиглан тооцоолно.

$$v_i(t+1/2) = v_i(t) + \frac{1}{2}f_i(t)/m_i \quad (3.3)$$

$$r_i(t+1) = r_i(t) + hv_i(t+1/2) \quad (3.4)$$

$$v_i(t+1) = v_i(t+1/2) + \frac{h}{2}f_i(t+1/2)/m_i \quad (3.5)$$

3.2. Тооцоолол, өгөгдөл боловсруулалт

Спайк уургийн бүтцийн хувьд туршлагаар тодорхойлогдоогүй үлдсэн атомуудын координатыг спайк уургийн дараалал дээр суурилан MODELLER программ [32] ашиглан таамагласан ба МД симуляцид ашиглав. Тогтвортой бүтэц гарган авахын тулд усан орчинд спайк уураг болон хүний TLR4-MD2 уураг тус бүрийг агуулсан систем бэлтгэж МД симуляци хийв. Спайк уургийг хүний TLR4 уурагтай холбохын тулд уураг тус бүрийн тогтвортой бүтэц дээр суурилан HADDOCK сервер [33] ашиглан молекулын докинг хийв. Спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг шалгахын тулд усан орчинд спайк-TLR4 комплекс бүтэц агуулсан систем бэлтгэж МД симуляци хийв. Систем тус бүрийг гурван удаа давтан МД симуляци хийв. Симуляцийн явц дахь уургийн бүтцийн өөрчлөлтийг дундаж квадрат хазайлтаар, амин хүчлүүдийн хөдөлгөөнийг дундаж квадрат флукуаациар дүн шинжилгээ хийв. Симуляцийн үр дүнгээс гарсан уургийн бүтцүүдийг харуулахад VMD программ [34] ашиглав.

3.2.1. Тооцоолол

МД симуляци хийхэд charmm36 хүчний орон, GROMACS программын [35] 2022 хувилбарыг ашиглав. Уураг тус бүрийг уургийн гадаргуугаас хайрцгийн зах хүртэл багадаа 1.4 нанометр зайтай байрлах куб хайрцгийн төвд байрлуулав. Дараа нь хайрцагт усны молекулууд (SPC усны загвар) нэмсэн ба уусмалын концентрацийг физиологийн

орчинд (150 Mm NA CL) хүргэхийн тулд натри болон хлорын ионууд нэмэв. Симуляци эхлэхийн өмнө усны молекулууд болон уураг хоорондын зөвшөөрөгдөхгүй харилцан үйлчлэлийг арилгахын тулд энергийн минимизаци хийв. Үүний дараа хоёр алхмаар бүх системийг термодинамикийн тэнцвэрт оруулсан. Эхний алхмаар систем тус бүрийг V-rescale термостат ашиглан системийн атомын тоо, эзлэхүүн, 300 K температур тогтмол (NVT) нөхцөлд 200 пекосекунд (пс) хугацааны МД симуляци хийв. Хоёрдугаар алхамд өмнөх нөхцөлийг давсан бүх системийг Parrinello-Rahman баростат ашиглан системийн атомын тоо, 1 барын даралт, 300 K температур тогтмол (NPT) нөхцөлд 200 пс хугацааны МД симуляци хийв. Зөвхөн спайк уураг болон хүний TLR4-MD2 уураг агуулсан системүүдийн хувьд 150 наносекунд (нс) хугацааны МД симуляци хийв. Спайк-TLR4 уургийн комплекс агуулсан систем нь том систем байсан тул 100 нс хугацааны МД симуляци хийв. Бүх тэнцвэржүүлэлт болон МД симуляци хийхэд нэгж хугацааны алхмыг 2 фемтосекунд байхаар тохируулав.

3.2.2. Өгөгдөл боловсруулалт

Симуляцийн явц дахь уургийн бүтцийн өөрчлөлтийг уургийн бүх атомын анхны координат болон нэгж хугацааны агшин дахь уургийн бүх атомуудын координат хоорондын дундаж квадрат хазайлтаар илэрхийлдэг.

$$RMSD(r, r^{ref}) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |r_i - r_i^{ref}|^2} \quad (3.6)$$

Энд: r_i -нэгж хугацааны агшин дах уургийн i дугаар атомын координат; r_i^{ref} -нэгж хугацааны анхны агшин дахь уургийн i дугаар атомын анхны координат; n -уургийн бүх атомын тоо юм.

Симуляцийн турш дахь уураг, тодорхой нэг бүлэг амин хүчлүүд эсвэл атомуудын хөдөлгөөнийг дундаж квадрат флуктуациар илэрхийлдэг.

$$RMSF_i = \sqrt{\frac{1}{T} \sum_{j=1}^r |r_i(j) - \langle r_i \rangle|^2} \quad (3.7)$$

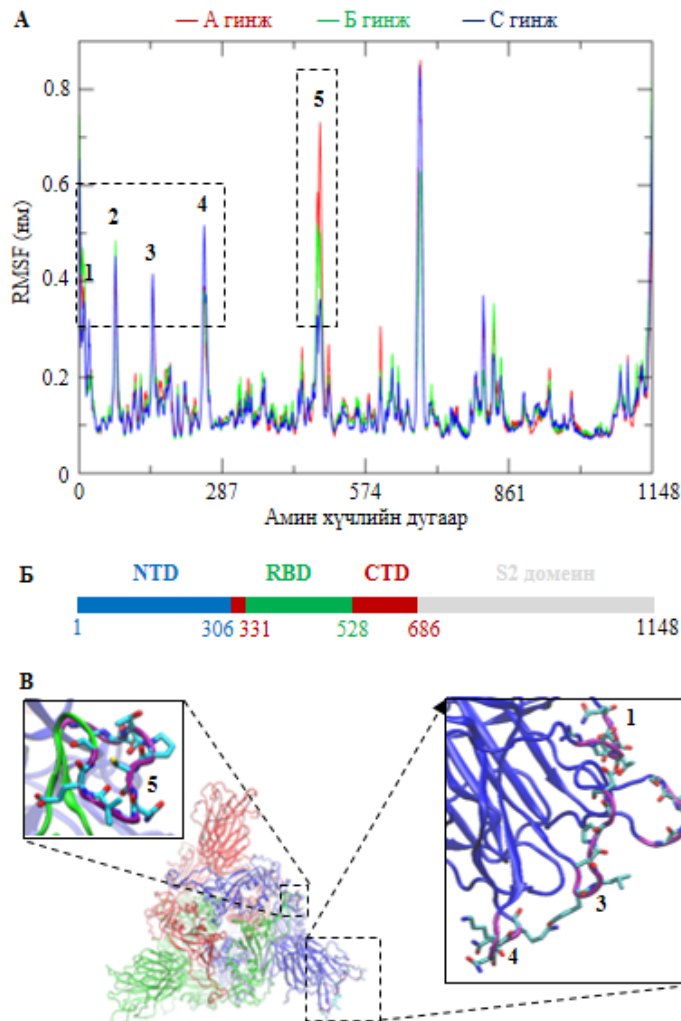
Энд: $r_i(j)$ -хугацааны j дугаар алхам дахь i атомын координат, $\langle r_i \rangle$ -симуляцийн бүх алхам дахь i атомын дундаж координат, T -симуляцийн бүх алхам юм.

4. Үр дүн

4.1. SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг

Тример спайк уургийн гурван гинжний RBD нь нийлж спайк уургийн оройн хэсгийг үүсгэх бөгөөд энэ хэсэг нь рецепторт холбогдох (нээлттэй) болон холбогдохгүй (хаалттай) хэлбэр гэсэн хоёр өөр бүтэцтэй [6], [7]. SARS-CoV-2 вирус эзэн эсэд нэвтрэхээс өмнө хүний TLR4 уурагтай холбогдоно гэж үзэж байгаа тул энэ судалгаанд хаалттай хэлбэрийн бүтцийг авч үзсэн. Усан орчинд тример спайк уургийн бүтцийн өөрчлөлтийг шалгаж, тогтвортой бүтэц гарган авахын тулд гурван удаа давтан МД симуляци хийв. Симуляци тус бүр дэх тример спайк уургийн гинж бүрийн бүтцийн өөрчлөлтийг дундаж квадрат хазайлтаар хавсралтын зураг 1А, Б, С-д харуулав. Спайк уургийн гинж бүрийн бүтцийн өөрчлөлт нь симуляцийн сүүлийн 100 нс хугацаанд тогтвортой байна. Симуляци дахь спайк уургийн гинж бүрийн амин хүчлүүдийн хөдөлгөөнийг гурван симуляцийн дундаж квадрат флуктуациар зураг 2А-д харуулав. Симуляцийн явцад спайк уургийн S1 домейны NTD домейны 4 гогцоо, RBD домейны нэг гогцоо, S1-S2 домейн хоорондын хуваагдлын байрлал дахь нэг гогцоо нь бусад хэсгээс их хөдөлгөөнтэй байна.

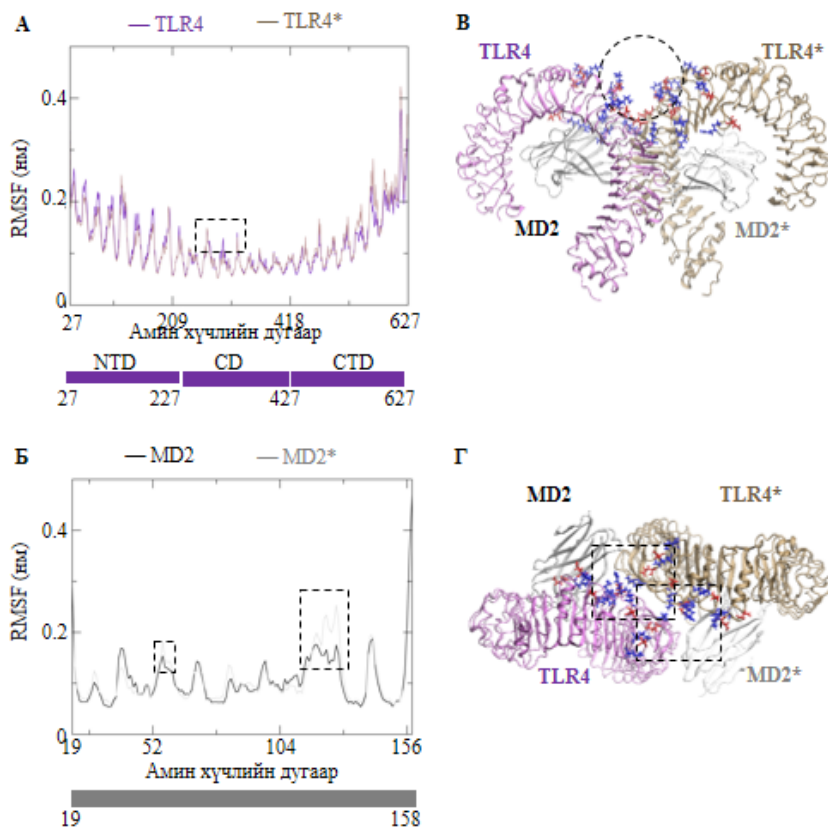
NTD домены 19-23 (N1), 71-75 (N2), 147-150 (N3), 248-253 (N5) дугаар амин хүчлээс бүрдэх 4 гогцоо нь их хөдөлгөөнтэй байгаа ба хоорондоо ойрхон байрласан тул хамтдаа нэг идэвхтэй төвийг бүрдүүлэх боломжтой. Энэ идэвхтэй төв нь эсрэг биетэй холбогддог супер төв болохыг судалгаагаар харуулаад байна [36], [37]. Мөн спайк уургийн энэ идэвхтэй төв нь гликаны молекултай холбогдоогүй, усны молекулуудтай харилцан үйлчилдэг хамгийн том гадаргуу юм [36]. RBD домены 475-487 амин хүчлээс бүрдэх гогцоо нь их хөдөлгөөнтэй байгаа ба өөр нэг идэвхтэй төвийг бүрдүүлэх боломжтой. Энэ идэвхтэй төв нь ACE2 уураг болон эсрэг биетэй холбогдоход чухал үүрэг гүйцэтгэдэг рецепторт холбогдогч мотивын хэсэг болох нь тогтоогдсон [24], [38], [39]. Эдгээр гогцоонууд их хөдөлгөөнтэй байгаа нь хүний TLR4 уурагтай холбогдох боломжтой болохыг харуулж байна (Зураг 2). Zhao нарын судалгааны үр дүн спайк уургийн NTD эсвэл RBD домен нь дангаараа хүний TLR4 уурагтай холбогддоггүй харин тример хэлбэртэй спайк уураг хүний TLR4 уурагтай холбогддог болохыг харуулаад байна [15].



Зураг 2: SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн амин хүчлүүдийн хөдөлгөөн ба идэвхтэй төв. А. Спайк уургийн амин хүчил бүрийн хөдөлгөөнийг гурван симуляцийн дундаж квадрат флуктуациар харуулав. Спайк уургийн А, В, С гинжний амин хүчил бүрийн хөдөлгөөнийг улаан, ногоон, хөх өнгөөр харуулав. Б. Спайк уургийн амин хүчлийн дарааллын дагуу S1 домены NTD, RBD, CTD болон S2 домен тус бүрийг хөх, ногоон улаан, саарал өнгөөр харуулав. В. Бүх гинжний хувьд нийтлэг ажиглагдаж буй их хөдөлгөөнтэй гогцоонуудыг ягаан өнгөөр харуулав. Спайк уургийн С гинжний NTD домены нэг идэвхтэй төв, В гинжний RBD домены нэг идэвхтэй төвийг татаж харуулав.

4.2. Хүний TLR4 уураг

Хүний TLR4 уураг нь MD2 уурагтай хамтарч димер бүтэцтэй үед үүрэг гүйцэтгэдэг [19], [20] тул энэ судалгаанд MD2 уурагтай холбогдсон димер TLR4 уургийн эктодомеины бүтцийг авч үзсэн. Усан орчин дахь димер TLR4-MD2 уургийн бүтцийн өөрчлөлтийг шалгаж, тогтвортой бүтэц гарган авахын тулд гурван удаа давтан МД симуляци хийв. Симуляци тус бүр дэх TLR4 болон MD2 уургийн гинж бүрийн бүтцийн өөрчлөлтийг дундаж квадрат хазайлтаар хавсралт зураг 1Г, Д, Е-д харуулав. TLR4 уураг болон MD2 уургийн гинж бүрийн бүтцийн өөрчлөлт нь симуляцийн сүүлийн 100 нс хугацаанд тогтвортой байна.



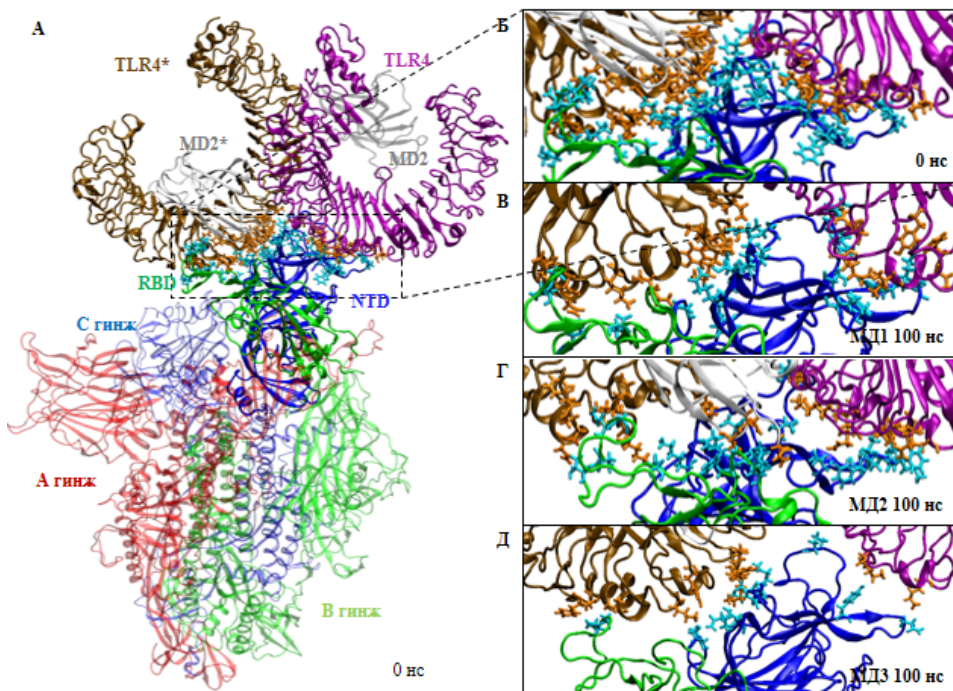
Зураг 3: Хүний TLR4-MD2 уургийн амин хүчлүүдийн хөдөлгөөн ба идэвхтэй төв. А. Димер TLR4 болон Б. MD2 уургийн амин хүчил бүрийн хөдөлгөөнийг гурван симуляцийн дундаж квадрат флукуацаар харуулав. В. Хажуу талаас, Г. Дээд талаас димер TLR4-MD2 уургийн бүтцийг харуулав. TLR4 уургийн 12-14 дугаар LRR -ийн хүнхэр гадаргуу дээрх цэнэгтэй амин хүчлүүдийг хөх, улаан өнгөөр харуулав. TLR4-TLR4* хоорондын том хэмжээний зайг тойрог тасархай зураасаар тэмдэглэв. Липополисахаридтай холбогддог хоёр идэвхтэй төвийг квадратад тасархай зураасаар тэмдэглэв.

Симуляци дахь TLR4-MD2 уургийн гинж бүрийн амин хүчлүүдийн хөдөлгөөнийг гурван симуляцийн дундаж квадрат флукуацаар Зураг 3 А, Б-д харуулав. Симуляцийн явцад хүний TLR4 уургийн CD домеин нь NTD болон CDT домеинаас бага хөдөлгөөнтэй байна. Энэ нь TLR4 уургийн төвийн домеин MD2 уурагтай холбогддог бөгөөд хөрш TLR4* уурагтай 15-17 дугаар лейцин баялаг давталтаар димержидэгтэй холбоотой [22]. Ерөнхийдөө LRR -ын хүнхэр гадаргуу дахь амин хүчлүүд нь хотгор гадаргуу дахь амин хүчлүүдээс их хөдөлгөөнтэй байна. Зөвхөн TLR4-MD2 уургийн симуляцийн явцад TLR4-ийн CD домеины 12-14 дугаар LRR-ын хүнхэр гадаргуу дахь амин хүчлүүд нь CD домеины бусад хэсгээс их хөдөлгөөнтэй байна (Зураг 3 А). Энэ хүнхэр гадаргуун хэсэг нь цэнэгтэй амин хүчлүүд агуулсан тул спайк уургийн цэнэгтэй амин хүчлүүдтэй

харилцан үйлчлэх боломжтой (Зураг 3 В, Г). Мөн димер бүтэц дэх TLR4-TLR4* уураг хооронд том хэмжээний зай агуулсан тул энэ хэсэгт спайк уураг гэх мэт том хэмжээтэй уураг холбогдох боломжтой (Зураг 3 В). Мөн MD2 уургийн 55-58, 123-129 дугаар амин хүчлээс бүрдэх хэсэг нь их хөдөлгөөнтэй байна (Зураг 3 Б). Эдгээр муж нь мөн липополисахаридыг танихад оролцдог тул спайк уурагтай холбогдож болох юм.

4.3. Спайк уураг ба хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэл

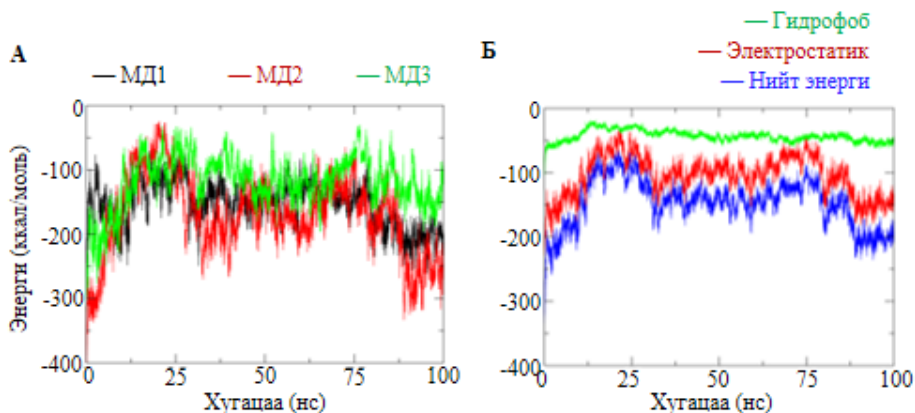
Өмнөх симуляциудаас гарган авсан тогтвортой бүтцүүдийг ашиглан спайк болон TLR4 уургийг молекулын докингийн аргаар холбож, спайк-TLR4-MD2 уургийн комплекс бүтэц гарган авав. Спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг судлахын тулд спайк-TLR4 уургийн комплекс бүтцийг ашиглан гурван удаа давтан МД симуляци хийв. Симуляцийн анхны алхам дахь спайк-TLR4 уургийн бүтэц, гурван симуляцийн 100 нс алхам дахь спайк-TLR4 уургийн бүтцийг зураг 4-д харуулав. Энэ зургаас харахад SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн ялгаатай хоёр гинжний NTD ба RBD домеинууд хамтарч хүний TLR4 уурагтай холбогдож байна.



Зураг 4: SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг ба хүний TLR4 уургийн комплекс бүтэц. А. Симуляцийн анхны алхам дахь спайк-TLR4 уургийн комплекс бүтцийг харуулав. Б. Симуляцийн анхны алхам дахь, В. МД1, Г. МД2, Д. МД3 симуляцийн 100 нс алхам дахь спайк-TLR4 уураг хоорондын 3 Å зайд байрлах амин хүчлүүдийг харуулав. Спайк болон TLR4 уургийн холбогдох боломжит амин хүчлүүдийг цэнхэр болон улбар шар өнгөөр тус тус харуулав.

Симуляцийн явцад спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэл тасарч байгаа эсэхийг шалгахын тулд гурван симуляци дахь спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн энергийг тооцоолов. Спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн энергийг хугацаанаас хамааруулан зураг 5А-д харуулав. Симуляцийн явцад спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэл тасраагүй байгаа ба харилцан үйлчлэлийн энерги нь дунджаар -150 ккал моль байна. Харилцан үйлчлэлийн энерги сөрөг утгатай байгаа нь спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэл өөрөө аяндаа явагдах боломжтой болохыг харуулж байна (Зураг 5). Харилцан үйлчлэлийн энерги нь гидрофоб болон электро-

статик харилцан үйлчлэлийн энергийн нийлбэрээр тодорхойлогддог. Спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлд аль төрлийн амин хүчлүүд оролцож байгааг шалгахын тулд гидрофоб болон электростатик харилцан үйлчлэлийн энергийг тооцоолж, гурван симуляцийн дунджаар хугацаанаас хамааруулан зураг 5Б-д харуулав. Энэ зургаас харахад харилцан үйлчлэлийн энерги нь гидрофоб харилцан үйлчлэлээс илүүтэй электростатик харилцан үйлчлэлийн энергиэс хамааралтай байна. Энэ нь цэнэгтэй амин хүчлүүд спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлд чухал үүрэгтэй оролцдог болохыг харуулж байна.



Зураг 5: Спайк-TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн энерги. А. Гурван симуляци тус бүр дэх спайк-TLR4 хоорондын харилцан үйлчлэлийн нийт энергийг хар, улаан, ногоон өнгөөр харуулав. Б. Гурван симуляцийн дундаж гидрофоб, электростатик, харилцан үйлчлэлийн нийт энергийг ногоон, улаан, хөх өнгөөр харуулав.

5. Дүгнэлт

SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг нь хүний TLR4 уурагтай холбогддог болохыг хэд хэдэн судалгаагаар харуулаад байна. Гэсэн хэдий ч SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг атомын түвшинд нарийн тайлбарлаагүй байна. Энэ ажлаар SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийг молекулын динамик симуляцийн аргаар судлав. Симуляцийн үр дүн SARS-CoV-2 вирусийн спайк уургийн ялгаатай хоёр гинжний амин төгсгөлийн домеин болон рецепторт холбогдогч домеин нь хамтдаа хүний TLR4 уурагтай холбогдож болохыг харуулав. SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэл нь өөрөө аяндаа явагдах бөгөөд харилцан үйлчлэлд цэнэгтэй амин хүчлүүд чухал үүрэгтэй. Эдгээр үр дүн нь SARS-CoV-2 вирусийн спайк уураг болон хүний TLR4 уураг хоорондын харилцан үйлчлэлийн механизмыг ойлгоход чухал мэдээлэл болно.

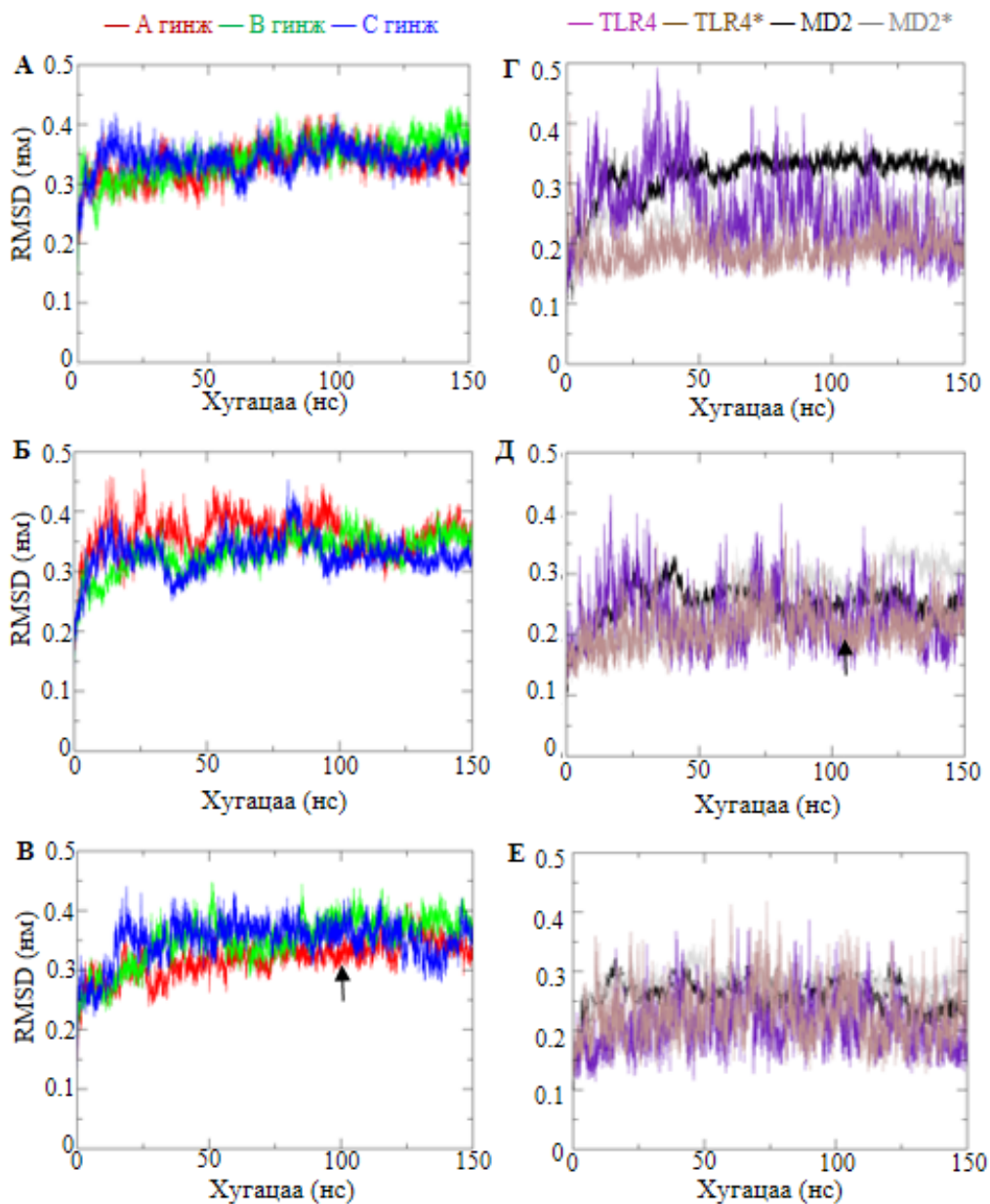
Ном зүй

- [1] N. Zhu, "A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019," *N. Engl. J. Med.*, Vol. 382, no. 8, Feb., pp. 727–733, 2020, doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
- [2] J. S. M. Peiris, Y. Guan, and K. Y. Yuen, "Severe acute respiratory syndrome," *Nat. Med.*, Vol. 10, no. 12, Dec., pp. S88–S97, 2004, doi: <https://doi.org/10.1038/nm1143>.
- [3] A. M. Zaki, S. van Boheemen, T. M. Bestebroer, A. D. M. E. Osterhaus, and R. A. M. Fouchier, "Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia," *N. Engl. J. Med.*, vol. 367, no. 19, Nov., pp. 1814–1820, 2012, doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>.
- [4] R. Lu, "Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding," *The Lancet*, Vol. 395, no. 10224, Feb., pp. 565–574, 2020, doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).

- [5] F. Wu, “A new coronavirus associated with human respiratory disease in China,” *Nature*, Vol. 579, no. 7798, Mar., pp. 265–269, 2020, doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>.
- [6] C. B. Jackson, M. Farzan, B. Chen, and H. Choe, “Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, Vol. 23, no. 1, Jan., pp. 3–20, 2022, doi: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>.
- [7] J. Shang, “Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 117, no. 21, May., pp. 11727–11734, 2020, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>.
- [8] L. Casalino, “Beyond Shielding: The Roles of Glycans in the SARS-CoV-2 Spike Protein,” *ACS Cent. Sci.*, Vol. 6, no. 10, Oct., pp. 1722–1734, 2020, doi: <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01056>.
- [9] E. Socher, L. Heger, F. Paulsen, F. Zunke, and P. Arnold, “Molecular dynamics simulations of the delta and omicron SARS-CoV-2 spike – ACE2 complexes reveal distinct changes between both variants,” *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, Vol. 20, Jan., pp. 1168–1176, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.015>.
- [10] P. J. Delves, and I. M. Roitt, “The Immune System,” *N. Engl. J. Med.*, Vol. 343, no. 1, Jul., pp. 37–49, 2000, doi: <https://doi.org/10.1056/NEJM200007063430107>.
- [11] S. Khanmohammadi, and N. Rezaei, “Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19,” *J. Med. Virol.*, Vol. 93, no. 5, May., pp. 2735–2739, 2021, doi: <https://doi.org/10.1002/jmv.26826>.
- [12] H. E. Jung, and H. K. Lee, “Current Understanding of the Innate Control of Toll-like Receptors in Response to SARS-CoV-2 Infection,” *Viruses*, Vol. 13, no. 11, 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/v13112132>.
- [13] N. Matsushima, “Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors,” *BMC Genomics*, Vol. 8, no. 1, May., pp. 124, 2007, doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-124>.
- [14] O. Takeuchi, and S. Akira, “Pattern Recognition Receptors and Inflammation,” *Cell*, Vol. 140, no. 6, Mar., pp. 805–820, 2010, <https://doi.org/doi:10.1016/j.cell.2010.01.022>.
- [15] Y. Zhao, “SARS-CoV-2 spike protein interacts with and activates TLR41,” *Cell Res.*, Vol. 31, no. 7, Jul., pp. 818–820, 2021, doi: <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00495-9>.
- [16] K. Shirato, and T. Kizaki, “SARS-CoV-2 spike protein S1 subunit induces pro-inflammatory responses via toll-like receptor 4 signaling in murine and human macrophages,” *Heliyon*, Vol. 7, no. 2, Feb., pp. e06187, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06187>.
- [17] G. Yang, “Aptamer blocking S-TLR4 interaction selectively inhibits SARS-CoV-2 induced inflammation,” *Signal Transduct. Target. Ther.*, Vol. 7, no. 1, Apr., pp. 120, 2022, doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00968-2>.
- [18] N. Matsushima, “Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors,” *BMC Genomics*, Vol. 8, no. 1, May., pp. 124, 2007, doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-124>.
- [19] B. S. Park, D. H. Song, H. M. Kim, B.-S. Choi, H. Lee, and J.-O. Lee, “The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4–MD-2 complex,” *Nature*, Vol. 458, no. 7242, Apr., pp. 1191–1195, 2009, doi: <https://doi.org/10.1038/nature07830>.
- [20] H. M. Kim, “Crystal Structure of the TLR4-MD-2 Complex with Bound Endotoxin Antagonist Eritoran,” *Cell*, Vol. 130, no. 5, Sep., pp. 906–917, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.08.002>.
- [21] D. Kaushik, R. Bhandari, and A. Kuhad, “TLR4 as a therapeutic target for respiratory and neurological complications of SARS-CoV-2,” *Expert Opin. Ther. Targets*, Vol. 25, no. 6, Jun., pp. 491–508, 2021, doi: <https://doi.org/10.1080/14728222.2021.1918103>.
- [22] S. Singh, Q. Bani Baker, and D. B. Singh, “Chapter 18 - Molecular docking and molecular dynamics simulation,” in *Bioinformatics*, D. B. Singh and R. K. Pathak, Eds. Academic Press, pp. 291–304, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89775-4.00014-6>.
- [23] H. Khelifaoui, D. Harkati, and B. A. Saleh, “Molecular docking, molecular dynamics simulations and reactivity, studies on approved drugs library targeting ACE2 and SARS-CoV-2 binding with ACE2,” *J. Biomol. Struct. Dyn.*, Vol. 39, no. 18, Dec., pp. 7246–7262, 2021, doi: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1803967>.
- [24] D. Contractor, C. Globisch, S. Swaroop, and A. Jain, “Structural basis of Omicron immune evasion: A comparative computational study,” *Comput. Biol. Med.*, Vol. 147, Aug., pp. 105758,

- 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.compbio.2022.105758>.
- [25] J. Petrlova, F. Samsudin, P. J. Bond, and A. Schmidtchen, “SARS-CoV-2 spike protein aggregation is triggered by bacterial lipopolysaccharide,” *FEBS Lett.*, Vol. 596, no. 19, Oct., pp. 2566–2575, 2022, doi: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14490>.
- [26] J. -M. Billod, A. Lacetera, J. Guzmán-Caldentey, and S. Martín-Santamaría, “Computational Approaches to Toll-Like Receptor 4 Modulation,” *Molecules*, Vol. 21, no. 8, 2016, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21080994>.
- [27] M. A. Anwar, and S. Choi, “Structure-Activity Relationship in TLR4 Mutations: Atomistic Molecular Dynamics Simulations and Residue Interaction Network Analysis,” *Sci. Rep.*, Vol. 7, no. 1, Mar., pp. 43807, 2017, doi: <https://doi.org/10.1038/srep43807>.
- [28] A. Choudhury, and S. Mukherjee, “In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs,” *J. Med. Virol.*, Vol. 92, no. 10, Oct., pp. 2105–2113, 2020, doi: <https://doi.org/10.1038/srep43807>.
- [29] H. M. Berman, “The Protein Data Bank,” *Nucleic Acids Res.*, Vol. 28, no. 1, Jan., pp. 235–242, 2000, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
- [30] T. Zhou, “Cryo-EM Structures of SARS-CoV-2 Spike without and with ACE2 Reveal a pH-Dependent Switch to Mediate Endosomal Positioning of Receptor-Binding Domains,” *Cell Host Microbe*, vol. 28, no. 6, Dec., pp. 867-879.e5, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.11.004>.
- [31] D. L. Wheeler, “Database resources of the National Center for Biotechnology Information,” *Nucleic Acids Res.*, Vol. 36, no. suppl_1, Jan., pp. D13–D21, 2008, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkm1000>.
- [32] B. Webb, and A. Sali, “Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER,” *Curr. Protoc. Bioinforma.*, Vol. 54, no. 1, Jun., pp. 5.6.1-5.6.37, 2016, doi: <https://doi.org/10.1002/cpbi.3>.
- [33] G. C. P. van Zundert, “The HADDOCK2.2 Web Server: User-Friendly Integrative Modeling of Biomolecular Complexes,” *Comput. Resour. Mol. Biol.*, Vol. 428, no. 4, Feb., pp. 720–725, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.014>.
- [34] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, “VMD: Visual molecular dynamics,” *J. Mol. Graph.*, Vol. 14, no. 1, Feb., pp. 33–38, 1996, doi: [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
- [35] M. J. Abraham, “GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers,” *SoftwareX*, Vol. 1–2, Sep., pp. 19–25, 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>.
- [36] G. Cerutti, “Potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies directed against spike N-terminal domain target a single supersite,” *Cell Host Microbe*, Vol. 29, no. 5, May., pp. 819-833.e7, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.005>.
- [37] G. Beaudoin-Bussi eres, “A Fc-enhanced NTD-binding non-neutralizing antibody delays virus spread and synergizes with a nAb to protect mice from lethal SARS-CoV-2 infection,” *Cell Rep.*, Vol. 38, no. 7, Feb., pp. 110368, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110368>.
- [38] Zhou Tongqing, “Structural basis for potent antibody neutralization of SARS-CoV-2 variants including B.1.1.529,” *Science*, vol. 0, no. 0, pp. eabn8897, doi: <https://doi.org/10.1126/science.abn8897>.
- [39] N. Bhattarai, P. Baral, B. S. Gerstman, and P. P. Chapagain, “Structural and Dynamical Differences in the Spike Protein RBD in the SARS-CoV-2 Variants B.1.1.7 and B.1.351,” *J. Phys. Chem. B*, Vol. 125, no. 26, Jul., pp. 7101–7107, 2021, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c01626>.

Хавсралт. Усан орчин дахь зөвхөн спайк уураг болон хүний TLR4 уургийн бүтцийн өөрчлөлт.



Зураг 6: Усан орчин дахь спайк уураг болон хүний TLR4 уургийн бүтцийн өөрчлөлт. Зөвхөн тример спайк уурагтай системийн хувьд А. МД1, Б. МД2, В. МД3 симуляцийн явц дахь спайк уургийн бүтцийн өөрчлөлийг хугацаанаас хамааруулан харуулав. Зөвхөн хүний TLR4-MD2 уурагтай системийн хувьд Г. МД1, Д. МД2, Е. МД3 симуляцийн явц дахь TLR4-MD2 бүтцийн өөрчлөлтийг хугацаанаас хамааруулан харуулав. Симуляци дахь уураг тус бүрийн хувьд хамгийн тогтвортой бүтцийг сумаар тэмдэглэв.

A Study on Interactions of the SARS-CoV-2 Spike Proteins with the Human Toll-like Receptor 4 using Molecular Dynamic Simulations

Chagdarjav Munkhdalai^{1,2}, Batgerel Balt¹, Mijiddorj Batsaikhan^{2*}

¹*Institute of Mathematics and Digital Technology, Mongolian Academy of Sciences, Ulaanbaatar 13330, Mongolia*

²*School of Arts and Sciences, National University of Mongolia, Ulaanbaatar 14200, Mongolia*

**Corresponding author: mijiddorj@seas.num.edu.mn; ORCID:0000-0003-1557-5520*

Article Info: Received: 2022.09.17; Accepted: 2022.10.01; Published: 2022.12.26

Abstract: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) that causes coronavirus disease 2019 (COVID-19) has spread around the world since December 2019. SARS-CoV-2 induces the human innate and adaptive immune systems, and the activation pathways are not still fully understood. However, several studies have shown that interaction between the S1 subunit of SARS-CoV-2 spike proteins and human toll-like receptor 4 (hTLR4) activates the innate immune responses. It leads to the cytokines over secretions and may facilitate the ‘cytokines storm’ that contributes to the severity of the COVID-19 patients. However, the atomic-level explanation of the interaction between spike proteins and hTLR4 has not yet been elucidated. In this study, we performed molecular dynamics simulations of spike protein and hTLR4 to clarify their interaction. We show the possible interactions of spike protein and hTLR4.

Key words: COVID-19, Spike protein, Human TLR4, Molecular dynamics simulations
