

XÂY DỰNG PHỨC HỢP TƯƠNG TÁC GIỮA GLYCOPROTEIN 2 CỦA NGƯỜI (hGP2) VÀ PEPTIDE GB1 BẰNG CÁC CÔNG CỤ SINH HỌC TÍNH TOÁN

Lý Cẩm Tú^{1,2,3}, Đinh Thuận Thiên^{1,2,3}, Trần Văn Hiếu^{1,2,3*}

¹Phòng thí nghiệm Cẩm biến Sinh học; Bộ môn Công nghệ Sinh học phân tử - Môi trường, Khoa Sinh học - Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

³Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

TÓM TẮT

Vaccine đường uống đã được phát triển và chứng minh là giải pháp tối ưu cho các bệnh nhiễm trùng đường ruột nhờ khả năng kích thích sản xuất kháng thể IgA dạng tiết, từ đó tăng cường các phản ứng miễn dịch niêm mạc. Tuy nhiên, các yếu tố vật lý khắc nghiệt của đường tiêu hóa như pH và enzyme tiêu hóa có thể dẫn đến sự phân hủy kháng nguyên. Hơn nữa, do diện tích bề mặt lớn của ruột và đặc tính dung nạp miễn dịch của các tế bào ruột, kháng nguyên thường bị phân tán và khó có thể gây ra phản ứng miễn dịch một cách hiệu quả. Đã có nhiều nghiên cứu vận dụng chiến lược nhắm mục tiêu tế bào M thông qua tương tác giữa phối tử và thụ thể biểu hiện bề mặt nhằm tăng cường hiệu quả hấp thu kháng nguyên của vaccine uống trong ruột. Trước đây, ba peptide liên kết GP2 (GP2-binding peptide - GbP) đã được đánh giá là có khả năng tương tác với GP2 và tăng cường sự hấp thu kháng nguyên của tế bào M, với Gb1 đem lại kết quả tương tác tốt nhất. Vì thế, trong nghiên cứu này, tương tác giữa ba peptide Gb và thụ thể hGP2 được đánh giá và phân tích thông qua một số phần mềm Tin sinh và công cụ Sinh học tính toán bao gồm mô phỏng cấu trúc và docking phân tử. Dựa vào công cụ mô phỏng, cấu trúc 3D của protein hGP2 và ba GbP đã được xây dựng với độ tin cậy cao. Kết quả docking cho thấy tương tác giữa peptide Gb1 và hGP2 được ổn định bằng sáu liên kết hydro. Các kết quả này là tiền đề để thiết kế thêm những peptide mới có ái lực cao hơn với hGP2 nhằm phục vụ cho quá trình phát triển vaccine uống sau này.

Từ khóa: Docking phân tử, Glycoprotein GP2, Gb1, mô phỏng cấu trúc, tin sinh học, vaccine uống.

GIỚI THIỆU

Vaccine đường uống được đề xuất là biện pháp hiệu quả để ngăn ngừa các bệnh xâm nhiễm đường tiêu hóa nhờ khả năng gây miễn dịch niêm mạc bằng cách kích thích hệ miễn dịch màng nhầy tạo ra kháng thể IgA dạng tiết (SIgA) cùng với khả năng miễn dịch toàn thân. SIgA hỗ trợ loại bỏ các kháng nguyên và mầm bệnh khỏi ruột bằng cách ngăn chặn sự tương tác của chúng với các thụ thể ở niêm mạc qua một quá trình được gọi là "loại trừ miễn dịch" (Mantis *et al.*, 2011). Tuy nhiên, vaccine đường uống phải đối mặt với những thách thức trong môi trường axit của đường tiêu hóa, nơi các kháng nguyên có thể bị phân hủy bởi các enzyme tiêu hóa; xu hướng dung nạp miễn dịch và khả năng phân tán kháng nguyên do diện tích rộng lớn của bề mặt lòng ruột đòi hỏi lượng kháng nguyên cao hơn trong vaccine uống để tạo ra phản ứng miễn dịch mạnh mẽ so với vaccine tiêm (Weiner *et al.*, 2011; Van der Weken *et al.*, 2020). Việc tăng cường lượng kháng nguyên sẽ gây ra phát sinh về chi phí đồng thời cũng sẽ gia tăng dung nạp miễn dịch; do vậy, một chiến lược đầy hứa hẹn để tăng cường hấp thu kháng nguyên và đáp ứng miễn dịch là tận dụng các tương tác phối tử-thụ thể nhằm nhắm trúng đích tế bào M trong biểu mô liên kết nang (FAE) của các mảng Peyer (Yamamoto *et al.*, 2012; Zafar *et al.*, 2023).

Các nghiên cứu trước đây đã xác định được các phối tử bao gồm lectin, kháng thể, peptide, protein, peptidoglycan và lipopolysaccharide cho thụ thể biểu hiện trên bề mặt tế bào M; trong đó, các phối tử protein hoặc peptide đặc biệt hứa hẹn để phát triển vaccine uống quy mô lớn do lợi ích của công nghệ protein tái tổ hợp và kỹ thuật lên men vừa đơn giản vừa tiết kiệm chi phí. GP2 là một glycoprotein neo glycosylphosphatidyl inositol (GPI), được biểu hiện trên bề mặt của tế bào M có liên quan đến sự hấp thụ của vi khuẩn FimH⁺ từ ruột (Hase *et al.*, 2009). Điều này cho thấy GP2 là một mục tiêu lý tưởng để đưa kháng nguyên (Ag) vào mô niêm mạc, giúp tăng hiệu quả của vaccine uống. Theo nghiên cứu của Inam Khan và đồng tác giả (2017), thông qua quá trình sàng lọc từ thư viện phage, Gb1 (peptide liên kết GP2) là một peptide với khả năng tăng cường sự hấp thu Ag của tế bào M thông qua thụ thể GP2, đồng thời tạo ra mức IgG huyết thanh và IgA niêm mạc cao đáng kể. Điều này còn đi kèm với sự tăng cường các tế bào tiết cytokine trong nhiều mô lymphoid, đặc biệt là các interleukin (IL)-4, IL-5, và IL-6, những yếu tố liên quan đến việc chuyển đổi isotype sang IgA dạng tiết. Sự tăng cường này cho thấy khả năng của Gb1 trong việc kích thích miễn dịch, và tiềm năng sử dụng nó như một tá dược cho vaccine uống (Khan *et al.*, 2017). Vì thế trong đề tài này, chúng tôi sử dụng tổ hợp các công cụ tin sinh học để phân tích và đánh giá nhằm có cái nhìn sâu hơn về tương tác giữa peptide Gb1 với thụ thể GP2; từ đó đặt mục tiêu cải thiện khả năng nhắm trúng đích đến tế bào M của peptide này.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mô hình hóa cấu trúc Glycoprotein 2 của người (human GP2 – hGP2) bằng phương pháp mô phỏng tương đồng

Cấu trúc đầy đủ của hGP2 (full-length hGP2) được xây dựng bằng phương pháp mô phỏng tương đồng với bộ công cụ Rosetta phiên bản 3.7.1 (Leman *et al.*, 2020). hGP2 bao gồm các miền (domain) quan trọng sau: (1) cấu trúc kẹp tóc β và D10C (amino acid (aa) 41-184); (2) giống EGF (aa 186-230); (3) zona pellucida (ZP – aa 228-484); trong đó, miền (1) được xây dựng dựa trên cấu trúc tinh thể hóa hGP2 dạng tan (PDB ID: 7P6R), hai miền còn lại được mô hình hóa dựa trên cấu trúc tương đồng nhất về mặt trình tự là Uromodulin của người (PDB ID: 6TQL) bằng công cụ RosettaCM. Đoạn nối giữa các miền được xây dựng lại bằng công cụ RosettaRemodel. Những vị trí đường hóa được mô phỏng bằng máy chủ CHARMM-GUI.

Phân tích đặc điểm của các peptide bám GP2 (GP2-binding peptide – GbP) và dự đoán cấu trúc 3D

Trình tự các peptide được thu nhận từ công bố của Khan và đồng tác giả (2017). Đặc điểm hóa lý của những peptide này được tính toán bằng máy chủ ProtParam. Sau đó, cấu trúc 3D của những peptide này được dự đoán bằng thuật toán AlphaFold 2 được tích hợp vào ColabFold cùng số lần tái dự đoán (*num_recycles*) là 48. Cấu trúc có hạng cao nhất được sử dụng cho bước docking tiếp theo.

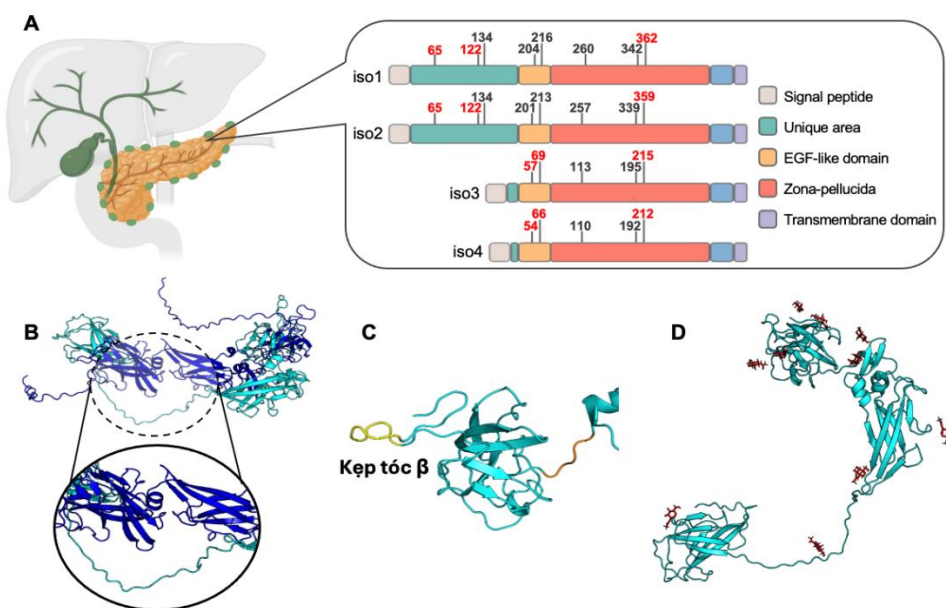
Xây dựng cấu trúc phức hợp GbP-hGP2 bằng phương pháp docking phân tử

Để giảm thiểu không gian tìm kiếm và thời gian docking, công cụ CASTp được sử dụng để dự đoán vị trí tương tác tiềm năng giữa GbP với hGP2. Máy chủ HADDOCK 2.4 được sử dụng cho quá trình docking giữa ba GbP và hGP2 kết hợp với thông tin vị trí tương tác của CASTp (van Zundert *et al.*, 2016). Phức hợp nằm ở cụm cấu trạng có điểm HADDOCK thấp nhất được chọn. Công cụ FlexPepDock được tích hợp trong Rosetta được sử dụng cho việc tối ưu hóa mạch chính và hướng gắn của peptide đối với thụ thể. Tất cả các kết quả từ mô hình hóa cấu trúc hGP2, các GbP và phức hợp GbP-GP2 được biểu diễn và phân tích bằng phần mềm PyMOL.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Mô hình hóa cấu trúc Glycoprotein 2 của người (human GP2 – hGP2) bằng phương pháp mô phỏng tương đồng

Protein hGP2 tồn tại trong tự nhiên ở bốn dạng isoform là 1, 2, 3 và 4; trong đó, dạng 1 tương đồng với 2 còn 3 tương đồng với 4 khi thiếu đi miền độc nhất (unique domain) dài 144 aa từ vị trí 42-185 (Hình 1A). Đây được xem là kết quả của quá trình phân cắt khi protein này được biểu hiện (Zhang *et al.*, 2024). Nghiên cứu của Khan và đồng tác giả (2017) đã cho thấy được rằng FimH⁺ bám vào GP2 ở isoform 1, dạng isoform dài nhất. Vì thế, chúng tôi chọn isoform 1 để mô hình hóa cấu trúc hGP2.



Hình 1. Cấu trúc protein hGP2

A. Các dạng isoform của protein hGP2 trong tự nhiên. B. Cấu trúc đầy đủ của protein hGP2 được mô phỏng với bộ công cụ Rosetta (cyan) và cấu trúc hGP2 được dự đoán thông qua công cụ AlphaFold 2 (xanh biển). C. Vùng kẹp tóc β của cấu trúc 7P6R (vàng) và đoạn nối giữa mô hình EGF-ZP và 7P6R (cam). D. Mô hình hGP2 đã bổ sung các gốc đường.

Cả hai protein hGP2 và Uromodulin đều là protein neo GPI và sở hữu miền ZP đóng vai trò như một cấu trúc polymer hóa bao gồm hai tiểu phần riêng biệt nhưng đều có cấu trúc dạng globulin miễn dịch, ZP-N và ZP-C, nối với nhau bằng một linker dài 24 aa (Bokhove, Jovine, 2018). Cấu trúc hGP2 đã được dự đoán thông qua công cụ AlphaFold 2 (AF2 ID: P55259); tuy nhiên, mô hình này lại không cho thấy được sự giãn ra của linker này để tạo điều kiện cho sự polymer hóa của nhiều phân tử hGP2 (Hình 1B). Vì thế, cấu trúc hGP2 từ aa 186 đến 484 bao gồm cả miền giống EGF và ZP (EGF-ZP) được mô hình hóa tương đồng dựa trên cấu trúc 6TQL. Mô hình này được chọn làm khuôn vì có độ bao phủ và tương đồng lần lượt là 0,98 và 53,4%, phù hợp cho tiêu chí của phương pháp mô phỏng tương đồng. So sánh giữa cấu trúc dự đoán với khuôn 6TQL cho thấy được độ tương đồng cao ở miền giống EGF, ZP-N và ZP-C; tuy nhiên, linker giữa hai tiểu phần ZP không tạo được cấu trúc bậc hai nào như so với hai phiến β nối tiếp của Uromodulin (Hình 1B). Điều này có thể ảnh hưởng đến tương tác tạo polymer của GP2. Cũng như những protein có chứa vùng ZP khác, vùng ZP giúp cho GP2 có thể polymer hóa tạo thành màng hạt tạo enzyme (zymogen granule membrane). Vùng kẹp tóc β của cấu trúc 7P6R và đoạn nối giữa mô hình EGF-ZP và 7P6R được tái cấu trúc bằng RosettaRemodel. Kết quả cho thấy các vùng này đã được nối lại thành công (Hình 1C). Trong thí nghiệm của Khan, GP2 được sử dụng là protein tái tổ hợp sản xuất từ tế bào côn trùng; vì thế, chúng tôi tiếp tục bổ sung thêm các gốc đường vào những vị trí ASN bao gồm 65, 88, 122, 134, 204, 216, 260, 291, 342, và 362 dựa trên thông tin từ UniProt (Hình 1D). Điều này hỗ trợ cho việc xác định vị trí bám của các GbP lên GP2 thông qua việc loại bỏ các vị trí đường hóa đó.

Phân tích đặc điểm của các peptide bám GP2 (GP2-binding peptide – GbP) và dự đoán cấu trúc 3D

Đặc điểm hóa lý của các peptide tính toán bằng ProtParam được liệt kê ở Bảng 1.

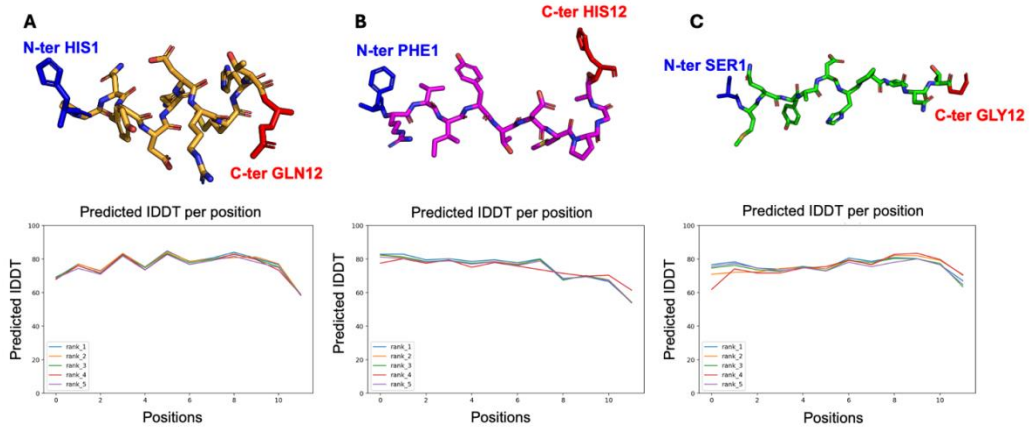
Bảng 1. Đặc điểm hóa lý của các peptide

Trình tự	pl lý thuyết	Số aa phân cực	Chu kì bán rã (ĐVCV; nấm men; <i>E. coli</i>)	Chỉ số bất ổn định (Instability Index)
Gb1 HPNYDHDRMHTQ	6,26	3 (ASP5, ASP7, ARG8)	3,5 giờ; 10 phút; > 10 giờ	55,38 (kém bền)
Gb2 FRVIYTDMPGAH	6,74	2 (ARG2, ASP7)	1,1 giờ; 3 phút; 2 phút	24,56 (bền)
Gb3 SMQYADHPVNTG	5,06	1 (ASP6)	1,9 giờ; > 20 giờ; > 10 giờ	8,76 (bền)

ĐVCV: Động vật có vú.

Kết quả ProtParam cho thấy ba peptide đều có pl thấp hơn 7,4 nên đều có tính acid do sở hữu acid aspartic; trong đó, Gb3 có tính acid cao nhất với pl 5,06. Điều này có thể gợi ý rằng các peptide này sẽ bám vào vị trí tích điện âm nằm trên hGP2. Gb1 có nhiều aa phân cực nhất với hai aa ASP và một ARG, giúp cho peptide này có độ linh động cao và dễ tan trong dung môi phân cực hơn hai peptide còn lại. Tuy nhiên, cũng vì lí do đó mà peptide này có chỉ số bất ổn định cao nên được đánh giá là kém bền hơn. Ngoài ra, chu kì bán rã của ba peptide cũng được tính toán với Gb1 được xem là peptide có khả năng tồn tại lâu hơn Gb2 và Gb3 do HIS nằm ở đầu N. Đặc tính của amino acid nằm ở đầu N sẽ quyết định đến chu kì bán rã của số lượng peptide trong dịch tổng protein, với aa kém phân cực sẽ đem lại chu kì bán rã tương đối dài hơn so với các aa phân cực. Quy luật này khác nhau ở nhiều loài sinh vật như động vật có vú, nấm men, *E. coli*, hay lục lạp và được biết đến với cái tên luật đầu N (N-end rule) (Varshavsky, 1997). Các peptide này sau đó sẽ được dung hợp với kháng nguyên mục tiêu để tạo ra protein tái tổ hợp GbP-Ag, vừa có khả năng đem kháng nguyên tới chính xác thụ thể tiếp nhận, vừa kéo dài thời gian bán rã và tăng độ bền của peptide.

Cấu trúc 3D của các GbP được dự đoán bằng AlphaFold 2 tích hợp trong ColabFold. Gb2 với Gb3 không tạo cấu trúc bậc 2 nào cụ thể so với dạng xoắn α của Gb1. Điều này có thể giải thích được do trình tự Gb1 có ba aa phân cực xen kẽ với các aa không phân cực nên có xu hướng xoay các aa ASP và ARG ra tiếp xúc dung môi. Cả ba mô hình này đều được sử dụng cho docking với hGP2.

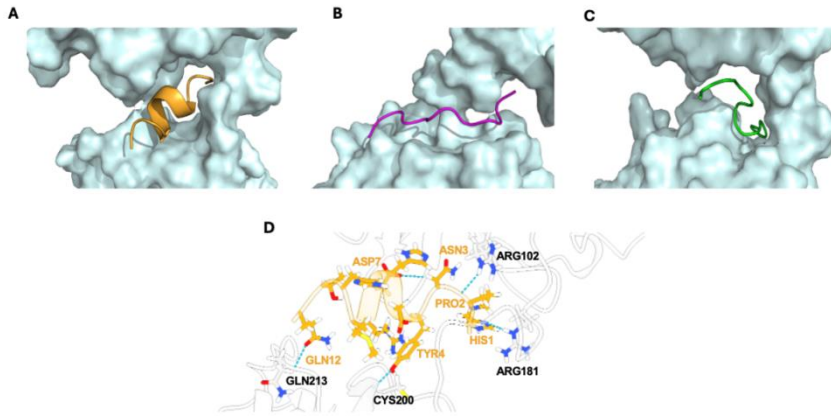


Hình 2. Cấu trúc dự đoán của các peptide bám GP2 (GbP), bên dưới là pLDDT của từng cấu trúc

A. Peptide Gb1. B. Peptide Gb2. C. Peptide Gb3.

Xây dựng cấu trúc phức hợp GbP-hGP2 bằng phương pháp docking phân tử

Máy chủ HADDOCK 2.4 được sử dụng để docking giữa ba GbP và hGP2. Trước hết, vị trí tương tác trên thụ thể hGP2 cần được xác định thông qua máy chủ CASTp. Kết quả từ CASTp tính toán với bán kính tìm kiếm là 1,4 Å và một hốc tương tác không chứa aa bị đường hóa, nằm ở miền giữa vùng D10C và vùng giống EGF. Đáng chú ý hơn, vùng này bao gồm đoạn epitope từ VAL154 đến THR169 có độ tương đồng cao với đoạn epitope 16 aa từ 154-169 của GP2 ở chuột, quan trọng cho sự nhận diện của kháng thể kháng GP2 (Stsiapanava *et al.*, 2022). Vì vậy, vị trí tương tác này đáng tin cậy cho quá trình docking. Quy trình docking bằng HADDOCK chủ yếu xoay quanh khái niệm “Giới hạn tương tác nhập nhằng (Ambiguous Interface Restraints – AIR)”; trong đó, các aa trực tiếp tham gia vào tương tác sẽ được chọn là “active” còn những aa lân cận sẽ được gán là “passive”. Vì thế, quá trình docking sẽ diễn ra chính xác hơn so với docking toàn cục (global docking) và có thể lọc ra những phức hợp không thỏa mãn thông tin thực nghiệm. Kết quả trả về từ HADDOCK cho ra phức hợp tốt nhất của ba peptide Gb1, Gb2, Gb3 có số điểm HADDOCK lần lượt là $-117,7 \pm 3,3$, $-114,7 \pm 3,5$, $-89,6 \pm 2,6$. Qua đó, chúng ta có thể nhận xét rằng Gb1 tương tác với hGP2 tốt hơn so với Gb2 và Gb3, phù hợp với kết quả thực nghiệm của Khan và đồng tác giả (2017). Điểm HADDOCK thấp đáng kể của Gb3 có thể được giải thích do cấu trúc kém phân cực, ít những gốc aa trao nhận hydro.



Hình 3. Mô hình tương tác giữa các peptide Gb và protein hGP2 từ HADDOCK

A. Phức hợp Gb1-hGP2. B. Phức hợp Gb2-hGP2.

C. Phức hợp Gb3-hGP2. D. Trực quan hoá liên kết hydro giữa Gb1 và hGP2.

Vị trí tương tác giữa ba peptide cũng khác nhau đáng kể khi chỉ có Gb1 và Gb3 bám hGP2 trực tiếp vào hốc tương tác từ CASTp, còn Gb2 thì trải dài tương tác ở ngoài bề mặt nhiều hơn (Hình 3A-C). Ba phức hợp này tiếp tục tối ưu hóa mạch chính và chuỗi bên bằng công cụ FlexPepDock và đánh giá bằng thông số *total_score*. Phức hợp GbP-hGP2 sau khi tối ưu thể hiện được sự gắn kết sát hơn của peptide vào thụ thể thông qua sự gia tăng các liên kết hydro với GP2. Điểm số của ba peptide lần lượt là $-544,670$, $-482,920$, và $-531,310$ đơn vị năng lượng Rosetta (Rosetta Energy Unit – REU), qua đó giải thích được lý do Gb1 cho kết quả tương tác thực nghiệm tốt hơn so với hai peptide còn lại (Hình 3D). Ngoài ra, tương tác này không ảnh hưởng nhiều đến cấu

trúc tổng thể của GP2 do Gb1 chỉ “bám” chứ không kích hoạt GP2 chuyển đổi trạng thái. Sâu hơn vào tương tác của Gb1 với thụ thể, peptide này tạo sáu liên kết hydro với hGP2 được trình bày ở Bảng 2. Nhờ vào hai aa ở hai đầu N và C là HIS và GLN đều tạo liên kết hydro với hGP2 lần lượt tại ARG181 và GLN213 với độ dài < 3 Å (2,39 và 1,79), peptide Gb1 được cố định ở hốc tương tác, tránh được sự ảnh hưởng của dung môi trong quá trình bám lên thụ thể.

Bảng 2. Phân tích liên kết Hydro giữa hGP2 và peptide Gb1

hGP2		Peptide Gb1		Loại tương tác	Khoảng cách (Å)
Nguyên tử	Amino acid	Nguyên tử	Amino acid		
NE	R102	O	P2		2,95
O	G159	NH2	R8		2,91
N	Y161	OD2	D7		3,31
NZ	K189	OD2	D5	Liên kết hydro	2,99
N	C200	OH	Y4		2,62
N	Q213	OE1	Q12		2,71
N	D214	OE1	Q12		3,17

KẾT LUẬN

Từ những kết quả *in silico* trên, chúng tôi đã xây dựng thành công cấu trúc đầy đủ của hGP2 được đường hóa, một thụ thể biểu hiện đặc trưng trên bề mặt tế bào M với công cụ Rosetta và CHARMM-GUI. Các peptide được phát hiện thông qua sàng lọc phage là Gb1, Gb2, và Gb3 cũng được dự đoán cấu trúc và kết hợp với hGP2 để tạo ra phức hợp GbP-hGP2 bằng phương pháp docking phân tử với HADDOCK. Kết quả tính toán này cho thấy sự tương thích với kết quả thực nghiệm của Khan và đồng tác giả (2017) khi Gb1 thể hiện khả năng bám hGP2 tốt hơn so với hai peptide còn lại, thông qua khả năng tạo liên kết hydro nhờ vào những aa phân cực của mình. Thông qua kết quả này, việc tối ưu hóa trình tự peptide nhằm tăng ái lực của Gb1 với hGP2 có thể được thực hiện, hỗ trợ cho những hướng đi mới trong tương lai của công cuộc phát triển vaccine uống nhắm trúng đích tế bào M.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả chân thành cảm ơn PTN. Các hệ thống thông minh, Khoa Công nghệ thông tin, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên đã hỗ trợ nhóm tiếp cận tài nguyên máy tính hiệu năng cao trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bokhove M, Jovine L (2018) Structure of Zona Pellucida Module Proteins. *Curr Top Dev Biol* 130: 413-442.
- Hase K, Kawano K, Nochi T, Pontes GS, Fukuda S, Ebisawa M, Kadokura K, Tobe T, Fujimura Y, Kawano S (2009) Uptake through glycoprotein 2 of FimH+ bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature* 462: (7270) 226-230.
- Khan IU, Huang J, Liu R, Wang J, Xie J, Zhu N (2017) Phage Display-Derived Ligand for Mucosal Transcytotic Receptor GP-2 Promotes Antigen Delivery to M Cells and Induces Antigen-Specific Immune Response. *SLAS DISCOVERY: Advancing Life Sciences R&D* 22: (7) 879-886.
- Leman JK, Weitzner BD, Lewis SM, Adolf-Bryfogle J, Alam N, Alford RF, Aprahamian M, Baker D, Barlow KA, Barth P, Basanta B, Bender BJ, Blacklock K, et al. (2020) Macromolecular modeling and design in Rosetta: recent methods and frameworks. *Nat Methods* 17: (7) 665-680.
- Mantis NJ, Rol N, Corthésy B (2011) Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut. *Mucosal immunology* 4: (6) 603-611.
- Stsiapanava A, Xu C, Nishio S, Han L, Yamakawa N, Carroni M, Tunyasuvunakool K, Jumper J, de Sanctis D, Wu B, Jovine L (2022) Structure of the decoy module of human glycoprotein 2 and uromodulin and its interaction with bacterial adhesin FimH. *Nat Struct Mol Biol* 29: (3) 190-193.
- Van der Weken H, Cox E, Devriendt B (2020) Advances in oral subunit vaccine design. *Vaccines* 9: (1) 1.
- van Zundert GCP, Rodrigues JPGLM, Trellet M, Schmitz C, Kastrius PL, Karaca E, Melquiond ASJ, van Dijk M, de Vries SJ, Bonvin AMJJ (2016) The HADDOCK 2.2 Web Server: User-Friendly Integrative Modeling of Biomolecular Complexes. *Journal of Molecular Biology* 428: (4) 720-725.
- Varshavsky A (1997) The N-end rule pathway of protein degradation. *Genes to Cells* 2: (1) 13-28.
- Weiner HL, da Cunha AP, Quintana F, Wu H (2011) Oral tolerance. *Immunological reviews* 241: (1) 241-259.
- Yamamoto M, Pascual D, Kiyono H (2012) M cell-targeted mucosal vaccine strategies. *Mucosal Vaccines: Modern Concepts, Strategies, and Challenges* 39-52.
- Zafar A, Arshad R, Ur. Rehman A, Ahmed N, Akhtar H (2023) Recent Developments in Oral Delivery of Vaccines Using Nanocarriers. *Vaccines* 11: (2) 490.
- Zhang Z, Tanaka I, Nakahashi-Ouchida R, Ernst PB, Kiyono H, Kurashima Y (2024) Glycoprotein 2 as a gut gate keeper for mucosal equilibrium between inflammation and immunity. *Seminars in Immunopathology* 45: (4) 493-507.

CONSTRUCTION OF THE INTERACTIVE COMPLEX BETWEEN HUMAN GLYCOPROTEIN 2 (hGP2) AND PEPTIDE GB1 USING COMPUTATIONAL TOOLS

Cam-Tu Ly^{1,2,3}, Thuan-Thien Dinh^{1,2,3}, Hieu Tran-Van^{1,2,3*}

¹Laboratory of Biosensors; Department of Molecular and Environmental Biotechnology, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh City

²Laboratory of Molecular Biotechnology, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh City

³Vietnam National University, Ho Chi Minh City

SUMMARY

The oral vaccine has been developed and proven to be an optimal solution for gastrointestinal infections due to its ability to stimulate the secretion of secretory IgA antibodies, thereby enhancing mucosal immune responses. However, harsh environments in the digestive tract such as pH and digestive enzymes can lead to antigen degradation. Moreover, due to the large surface area of the intestines and the immune tolerance characteristics of intestinal cells, antigens are often dispersed and may not effectively induce immune responses. Therefore, strategies focusing on targeting M cells through ligand-receptor interactions on their surface have been developed to enhance the antigen absorption efficiency of oral vaccines in the intestine. Previously, three GP2-binding peptides (Gbps) were evaluated for their ability to interact with GP2 and enhance antigen uptake by M cells, with Gb1 showing the best interaction results. In this study, the interaction between the three Gb peptides and the hGP2 receptor was evaluated and analyzed through a series of computational processes, including structure modeling and molecular docking. Based on simulation tools, high-reliable 3D structures of hGP2 protein and the three Gbps were constructed. Docking results demonstrated that the interaction between Gb1 peptide and hGP2 was stabilized by six hydrogen bonds. This study provided a basis for designing new peptides with higher affinity for hGP2 to support the future development of oral vaccines.

Keywords: Bioinformatics, Glycoprotein GP2, Gb1, Molecular docking, Oral vaccine, Structure modeling.

* Author for correspondence: Tel: 0983260781; Email: tvhieu@hcmus.edu.vn