

## ПЕПТИД КЕ В ПРОТЕОМЕ ЧЕЛОВЕКА

А.Ю.Терехов<sup>1</sup>, Д.Ю.Кормилец<sup>3</sup>, Н.С.Линькова<sup>3,4</sup>,  
Б.И.Кузник<sup>5</sup>, А.Т.Марьянович<sup>1</sup>, В.Х.Хавинсон<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра нормальной физиологии, <sup>2</sup>кафедра гериатрии, протективтики и управления сестринской деятельности Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И.Мечникова, Санкт-Петербург, РФ; <sup>3</sup>Отдел биогеронтологии АНО НИЦ Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, РФ; <sup>4</sup>Кафедра терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва; <sup>5</sup>Кафедра нормальной физиологии ФГБОУ ВО Читинской государственной медицинской академии Минздрава России, Чита

Пептид КЕ обладает иммунопротективным, геропротективным, онкостатическим действием, стимулирует функциональную активность фибробластов. Мотив КЕ встречается в аминокислотных последовательностях некоторых цитокинов и пептидных гормонов, по своим функциям сходных с пептидом КЕ. Однако связь между наличием мотива КЕ и функциями белков в масштабах известного протеома человека не изучена. Определяли частоту встречаемости биорегуляторного пептида КЕ в составляющих протеом человека белках разных функциональных групп. Использовали общедоступный протеом человека (портал UniProt) объемом 20 417 белков. Цитоплазматические и ядерные белки содержали наибольшее количество КЕ-мотивов, тогда как цитоплазматические и все прочие белки имели минимум содержания КЕ. В ходе ограниченного протеолиза молекулы пептида КЕ, высвобождаемые из ядерных белков, могут связываться с ДНК и регулировать экспрессию генов.

**Ключевые слова:** пептид КЕ; протеом человека; ядерные белки; экспрессия генов

Пептид КЕ (Lys-Glu) обладает иммуномодулирующим, геропротективным, онкостатическим действием, стимулирует функциональную активность фибробластов. КЕ — пептидный тимоиметик [1-3,5], который присутствует в структуре лекарственного препарата тималина. На молекулярно-клеточном уровне основными иммуномодулирующими эффектами КЕ является стимуляция дифференцировки тимоцитов в Т-лимфоциты, стволовых клеток — в предшественники Т- и В-лимфоцитов, активация иммунного ответа Т-лимфоцитов и макрофагов, активация пролиферации Т-, В-лимфоцитов и макрофагов, а также снижение уровня их апоптоза при естественном и ускоренном старении иммунной системы [4, 10, 12, 14]. Геропротективный эффект пептида КЕ выражается в повышении до-

ли эухроматина и длины теломер в лимфоцитах крови людей разного возраста [9], увеличении продолжительности жизни животных [8]. К онкостатическим эффектам пептида КЕ относится снижение численности клеток лимфомы и гепатомы в культуре, уменьшение экспрессии гена HER2/neu и диаметра опухолей у трансгенных мышей с аденокарциномой молочной железы [13]. Пептид КЕ способен проникать сквозь мембрану клетки в ядро и регулировать экспрессию генов [6,7]. КЕ регулирует синтез некоторых белков. С использованием физико-химических методов и биоинформатики создана модель взаимодействия этого дипептида с промоторной зоной генов с участием водородных связей [11].

В эксперименте на растениях показано, что пептид КЕ регулирует экспрессию генов роста, развития и дифференцировки в семействах генов *CLE*

Адрес для корреспонденции: miayu@yandex.ru. Линькова Н.С.

(*CLE1-8*), *KNOX* (*KNAT1*, *KNAT2*, *KNAT3*, *KNAT6*), *LET* (*LET6*, *LET12*) и *GRF* (*GRF1-4*) каллусной культуры табака *Nicotiana tabacum*. Гены семейства *CLE* (*CLAVATA3/Endosperm surrounding region-related*) участвуют в развитии семян, поддержании пула стволовых клеток в проростках. Гены *KNOX* (*KNOTTED-like homeodomain*) и *LET* кодируют факторы транскрипции, которые участвуют в дифференцировке стволовых клеток растения [6].

Аминокислотная последовательность КЕ обнаруживается во многих цитокинах и пептидных гормонах, таких как IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IFN $\alpha$ , спленин, спленопентин, тимозин, тимопоэтин, мотилин, паратирин, соматотропин-рилизинг-гормон. Это даёт основание предположить, что молекула КЕ, образуемая при ограниченном протеолизе белков, становится регулятором функциональной активности клеток. Кроме того, пептид КЕ стимулирует экспрессию мРНК гена *IL2* в лимфоцитах селезенки мышей [10]. Распределение мотива КЕ в белках, в том числе белках человека, до настоящего времени не изучено.

Цель данной работы — определить частоту встречаемости пептида КЕ в составляющих протеом человека белках разных функциональных групп.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для анализа частоты встречаемости пептида КЕ в белках человека использовали полный протеом человека из общедоступного портала UniProt, содержащего на момент обращения 20 417 белков, из которых 16 626 имели статус “описанный” (reviewed), что означало известную локализацию и/или функцию белка. С помощью созданного нами алгоритма-сортировщика на языке программирования Python все описанные белки в соответствии с их преимущественной (отражённой в легенде к протеому) локализацией в клетке распределили по четырём группам: ядерные (nuclear, N), мембранные (membrane, M), цитоплазматические (cytoplasmic, C) и “прочие” (other, O), т.е. белки с иной локализацией: митохондриальные, экскреторные, эндоплазматического ретикулума, комплекса Гольджи и лизосомальные.

В аминокислотной последовательности белков каждой из указанных групп определяли количество вхождений мотива КЕ. Процедура выполнена с помощью стандартных средств языка программирования Python (метод Count, модуль Collections). Белки протеома ранжировали по количеству вхождений КЕ. Для детального анализа были сформированы две полярные выборки по 1000 белков в каждой: белки с наибольшим числом вхождений

КЕ и рандомизированно выбранные белки, не содержащие мотива КЕ в своей структуре.

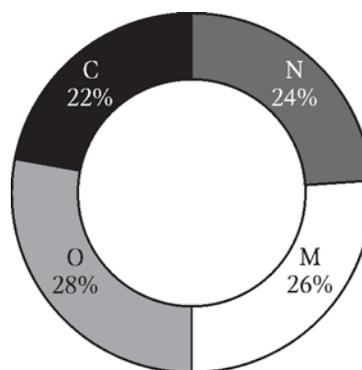
При сравнении выборок использовали *t* критерий Стьюдента из стандартных средств языка программирования R (<https://www.r-project.org/>). Статистически значимыми считали различия между группами при  $p < 0.001$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Описанные белки протеома человека распределялись по четырём локализациям почти поровну (рис. 1). Данные о количестве мотивов КЕ в структуре описанных белков человека представлены в таблице.

В исследованном пуле из 16 626 описанных белков, содержащих в своей аминокислотной последовательности не менее одного мотива КЕ, частота встречаемости лизина (K) и глутамина (E) составила 0.0567 и 0.0700 соответственно. При случайном характере сочетания аминокислотных остатков частота встречаемости мотива КЕ в пуле белков должна равняться произведению этих двух величин, т.е. составить 0.00397 ( $397 \times 10^{-5}$ ). Реальная частота встречаемости КЕ составляла для всех этих белков в среднем 0.0049, или  $490 \times 10^{-5}$ , т.е. была на 23.4% выше ( $p < 0.001$ ) случайной величины (таблица). Особенно велико указанное отличие было для белков цитоплазматических (+53.9%;  $p < 0.001$ ) и ядерных (+45.8%;  $p < 0.001$ ).

Белки, содержащие в своей структуре мотив КЕ, “тяготели” к ядру и цитоплазме и были относительно мало представлены в клеточной мембране (рис. 2). Среди белков, содержащих большое количество повторов мотива КЕ, преобладали цитоплазматические и ядерные, что в сумме составляло почти  $\frac{3}{4}$  таких белков. Белки, не содержащие



**Рис. 1.** Распределение 16 626 белков человека по их локализации в клетке.

Здесь и на рис. 2: N (nuclear) — ядерные, M (membrane) — мембранные, C (cytoplasmic) — цитоплазматические, O (other) — прочие.

Вхождение мотива КЕ в описанные белки человека

Группа белков	Количество белков, содержащих мотивы КЕ	Сумма аминокислотных остатков во всех белках группы	Суммарное количество мотивов КЕ в белках группы	Частота встречаемости мотива КЕ в белках пула, $\times 10^{-5}$	Отличие от случайного распределения, $\times 10^{-5}$
Цитоплазматические (С)	3662	2 504 433	15 319	611	+214
Ядерные (N)	3951	2 411 090	13 972	579	+182
Прочие (O)	4635	2 310 456	8543	415	+18
Мембранные (M)	4378	2 460 642	9600	347	-50
Все белки пула	16 626	9 686 621	47 434	490	+93

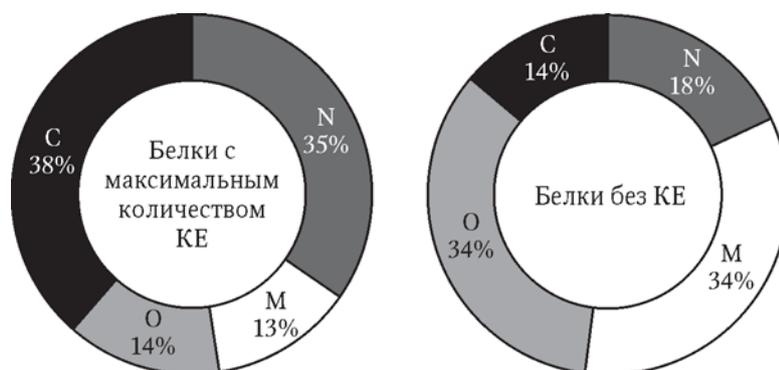


Рис. 2. Преимущественная локализация белков человека в клетке в зависимости от содержания или отсутствия в их структуре мотива КЕ.

ни одного мотива КЕ, локализовались преимущественно в клеточных мембранах или прочих клеточных структурах (более  $\frac{2}{3}$  описанных белков) (рис. 2).

Полученные нами данные указывают на высокую вероятность участия пептида КЕ в происходящих в ядре и цитоплазме клетки процессах транскрипции и трансляции. Богатые мотивами КЕ цитоплазматические и ядерные белки после частичного протеолиза становятся источниками молекул КЕ — регуляторов экспрессии генов [15], продукты которых определяют скорость пролиферации и дифференцировки, поддерживают функциональную активность иммунных клеток и фибробластов.

В целом полученные данные подтверждают роль коротких пептидов в контроле транскрипции. Чем выше содержание мотива в структуре белка, тем больше вероятность образования соответствующего пептида при частичном протеолизе белковой молекулы и тем выше вероятность его воздействия на процессы транскрипции. Часто повторяющиеся мотивы КЕ в составе белков — богатый источник молекул пептида КЕ, способного связываться с ДНК и регулировать экспрессию генов дифференцировки и функциональной активности клеток.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Рыжак Г.А., Салль Т.С., Трофимова С.В. Факторы роста фибробластов FGF19, FGF21, FGF23 как эндокринные регуляторы физиологических функций и геропротекторы. Эпигенетические механизмы регуляции // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137, № 1. С. 84-99.
2. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С., Козина Л.С., Дьяконов М.М. Адгезивная молекула JAM-A и молекулярные механизмы возрастной патологии: обзор литературы и собственных данных // Успехи геронтол. 2015. Т. 28, № 4. С. 656-668.
3. Линькова Н.С., Полякова В.О., Трофимов А.В., Кветной И.М., Хавинсон В.Х. Пептидергическая регуляция дифференцировки, пролиферации и апоптоза тимоцитов при старении вилочковой железы // Бюл. экспер. биол. 2011. Т. 151, № 2. С. 203-206.
4. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Смирнова Е.А., Ярилин А.А., Шарова Н.И., Митнена М.М., Хавинсон В.Х., Полякова В.О., Трофимов А.В., Кветной И.М. Экспрессия аргирофильных белков областей ядрышковых организаторов в тимocyтах и эпителиальных клетках тимуса человека в условиях совместного культивирования при действии пептидов вилона и эпیتالона // Бюл. экспер. биол. 2004. Т. 137, № 6. С. 667-670.

5. Севостьянова Н.Н., Линькова Н.С., Полякова В.О., Червякова Н.А., Костылев А.В., Дурнова А.О., Кветной И.М., Абдулрагимов Р.И., Хавинсон В.Х. Иммуномодулирующее действие вилона и его аналога в культурах клеток тимуса человека и животных // Клет. технол. в биол. и мед. 2012. № 4. С. 220-223.
6. Федореева Л.И., Диловарова Т.А., Ашапкин В.В., Мартиросян Ю.Ц., Хавинсон В.Х., Харченко П.Н., Ванюшин Б.Ф. Короткие экзогенные пептиды регулируют экспрессию генов семейств CLE, KNOX1 и GRF // Биохимия. 2017. Т. 82, № 4. С. 700-709.
7. Федореева Л.И., Киреев И.И., Хавинсон В.Х., Ванюшин Б.Ф. Проникновение коротких флуоресцентно-меченных пептидов в ядро в клетках HeLa и специфическое взаимодействие пептидов с дезоксирибоолигонуклеотидами и ДНК in vitro // Биохимия. 2011. Т. 76, № 11. С. 1505-1516.
8. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н., Заварзина Н.Ю., Забежинский М.А., Зимица О.А., Попович И.Г., Штылик А.В., Малинин В.В., Морозов В.Г. Влияние вилона на показатели биологического возраста и продолжительность жизни мышей // Бюл. exper. биол. 2000. Т. 130, № 7. С. 88-91.
9. Хавинсон В.Х., Лежава Т.А., Малинин В.В. Влияние коротких пептидов на хроматин в лимфоцитах лиц старческого возраста // Бюл. exper. биол. 2004. Т. 137, № 1. С. 89-93.
10. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г., Малинин В.В., Казакова Т.Б., Корнева Е.А. Влияние пептида Lys-Glu на экспрессию гена интерлейкина-2 в лимфоцитах // Бюл. exper. биол. 2000. Т. 130, № 9. С. 330-332.
11. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С., Проняева В.Е., Шатаева Л.К., Якуцени П.П. Короткие пептиды, проникающие в клетку: модель взаимодействия с промоторными участками генов // Бюл. exper. биол. 2012. Т. 154, № 9. С. 391-396.
12. Щербак В.А., Патеюк А.В. Влияние вилона на иммунный ответ при остром иммобилизационном стрессе у крыс // Сиб. мед. журн. 2004. Т. 44, № 3. С. 26-29.
13. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. 2010. Vol. 11, N 2. P. 139-149.
14. Caputi S., Trubiani O., Sinjari B., Trofimova S., Diomedea F., Linkova N., Diatlova A., Khavinson V. Effect of short peptides on neuronal differentiation of stem cells // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2019. Vol. 33. doi: 10.1177/2058738419828613
15. Khavinson V.Kh., Malinin V.V. Gerontological aspects of genome peptide regulation. Basel, 2005.

Получено 21.06.19

---