

Анализ пост-трансляционных модификаций белков мозга в животной модели индуцированной пентилентетразолом эпилепсии

Научный руководитель – Буник-Фаренвальд Виктория Ивановна

Завилейский Л.Г.¹, Алешин В.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: zavileyskiylev@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: Aleshin_Vasily@mail.ru*

Пост-трансляционные модификации (ПТМ) вовлечены во многие (пато)физиологические процессы и осуществляют тонкую регуляцию функции белков, влияя на их стабильность, локализацию и активность [1]. Среди наиболее изученных ПТМ можно выделить фосфорилирование сериновых, треониновых, тирозиновых и ацетилирование лизиновых остатков. Также лизин может подвергаться сукцинированию, малонилированию, глутарилированию, причем перекрывание сайтов модификаций свидетельствует о возможной конкуренции разных типов ацилирования за один белковый сайт. Несколько независимых исследований показали связь между ацетилированием и эпилепсией [2, 3]. Задачей данной работы является количественная характеристика изменений фосфорилирования и ацилирования белков коры мозга крыс в модели индуцированной пентилентетразолом (ПТЗ) эпилепсии при одиночном или хроническом введении ПТЗ [4] по сравнению со здоровыми животными. ПТМ характеризовали в образцах гомогенатов коры мозга крыс путем определения модифицированных пептидов после трипсинолиза белков в геле методом тандемной масс-спектрометрии (МС) [5]. Идентифицированные в PEAKS Studio 8.0 пептиды фильтровали по нескольким критериям. Брали уникальные (встречающиеся только в одном белке) пептиды, заряд которых не превышает теоретический, расщепленные после К/R или метилированных К/R. Учитывали возможность удаления стартового метионина. Площади пиков модифицированных пептидов были нормализованы на площади пиков хорошо представленных пептидов того же белка без модификаций. Определяемая таким образом представленность каждой модификации в экспериментальных группах не зависела от возможных изменений уровня данного белка в результате изменения его экспрессии или под влиянием пробоподготовки. Фильтрация и нормировка проводились с помощью программы, написанной на Python 3.8.

После фильтрации из исходных 127 374 пептидов 890 белков в 30 образцах осталось 37 923 пептидов из 680 белков. Среди них 82 белка содержали хотя бы 1 пептид с искомой модификацией хотя бы в одном из 30 образцов. Всего найдено 124 сайта ПТМ в 82 белках, из которых 71 сайт был глутарилирован, 14 - ацетилированы, 7 - малонилированы, 7 - сукцинированы, 25 - фосфорилированы. Для нескольких белков были показаны достоверные отличия ПТМ между экспериментальными группами. Так, глутарилирование CNP (AC P13233) по K177, малонилирование Dlat (AC P08461) по K451 и фосфорилирование Gfar (AC P47819) по Y347 достоверно снижались при эпилепсии. Для K177 CNP Глутарилирование отрицательно коррелировало с ацетилированием, а для K451 Dlat глутарилирование положительно коррелировало с малонилированием.

Таким образом, в модели эпилепсии определены достоверные изменения уровней ПТМ CNP, Dlat и Gfar мозга после эпилептических приступов. Показана конкуренция ацилирования и глутарилирования за K177 CNP и одновременный рост глутарилирования и малонилирования K451 Dlat.

Авторы выражают благодарность Граф А (доцент Биофака мгу, кбн) за предоставление

образцов животных, подвергшихся ПТЗ-индуцированной эпилепсии.

Источники и литература

- 1) Seo, J.-W. and K.-J. Lee, DOI: 10.5483/bmbrep.2004.37.1.035
- 2) Citraro, R., et al., DOI: 10.1007/s12035-019-01712-8
- 3) Gano, L.B., et al., DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.063
- 4) Aleshin, V.A., et al., DOI: 10.3390/ph14080737
- 5) Aleshin, V.A., et al., DOI: 10.1111/jnc.14951