

АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ ПРОТЕОЛИЗА СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА *IN SILICO*

Фицева Н. С. Бурдашкина К. Г.

Кафедра биоорганической химии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Ключевые слова. Протеолиз, трипсин, САЧ, субстратная специфичность.

Резюме. В данной работе применялась *in silico* модель ограниченного протеолиза сывороточного альбумина человека трипсином. Продукты протеолиза оценивались по молекулярной массе и гидрофобности, что свидетельствует о патобиологических свойствах данных фрагментов.

Resume. *In silico* model of human serum albumin limited proteolysis with trypsin was used. Proteolysis products were evaluated by the molecular mass and hydrophobicity which can be allowed to estimate the pathobiological properties of these fragments.

Keywords. Proteolysis, trypsin, human serum albumin, substrate specificity.

Актуальность. В последние годы в связи с бурным развитием протеомных исследований и применением биоинформатических методов исследования особое внимание уделяется изучению протеолиза. Протеолитическое расщепление участвует во многих ключевых физиологических процессах и представляет собой важный тип необратимой посттрансляционной модификации белков.

Протеолиз белков в организме может быть тотальным (полным), либо лимитированным (ограниченным). Если имеет место тотальный протеолиз, то пептиды расщепляются полностью до отдельных аминокислот. Это наблюдается при выведении «аномальных» белков из организма в процессе его морфогенетических перестроек. Ограниченный протеолиз происходит вследствие действия протеазы на конкретную мишень в белке, что приводит к изменению структуры молекулы или её пространственной конформации. При лимитированном протеолизе происходит, например, активация ферментов и превращение прогормонов в гормоны [1].

Различают две большие группы протеаз: экзопептидазы, которые гидролизуют связи на N- и C-концевых участках пептидной цепи, и эндопептидазы, расщепляющие в белках внутренние пептидные связи. По строению активного центра фермента и механизму его действия эндопептидазы выделяют в 4 семейства: аспартильные, сериновые, цистеиновые и металлопротеазы [2]. Наиболее распространенными являются сериновые протеиназы, к которым принадлежат трипсин, химотрипсин, эластаза, подавляющее большинство протеаз плазмы крови (факторы свертывания крови, фибринолиза, системы комплемента, кининовой системы), многие внутриклеточные и бактериальные протеазы [3].

Известно, что наиболее распространенным белком плазмы крови является транспортный белок сывороточный альбумин человека (САЧ). Процентное содержания альбумина составляет примерно 55% от всех белков плазмы крови. Таким образом при активации сериновых протеаз, в частности трипсина, происходит образование и накопление пептидных продуктов протеолиза САЧ с различными

физико-химическими свойствами. Традиционно демаркационной точкой для пептидных продуктов при лимитированном протеолизе служит значение молекулярной массы (ММ). Так, известно, что пептиды с ММ 500-5000 Да, так называемые «средние молекулы» обладают выраженными патобиологическими свойствами [4].

Цель работы: оценить характер пептидных продуктов протеолиза САЧ трипсином *in silico*.

Задачи: 1. Провести *in silico* прогнозирование протеолитического расщепления САЧ трипсином. 2. Оценить полученные продукты протеолиза по молекулярной массе, гидрофобности, числу ароматических аминокислотных остатков.

Материалы и методы. В работе использовалась аминокислотная последовательность САЧ из доступной базы данных UniProtKB (<https://www.uniprot.org/uniprot>). Модель специфического гидролиза пептидных связей трипсином осуществлялась при помощи ресурса PeptideMass и PeptideCutter (<https://web.expasy.org/>). Полученные пептидные фрагменты анализировали в диапазоне молекулярных масс от 750 до 3000 Да, что соответствует среднемoleкулярной фракции пептидов. Основные свойства полученных пептидных фрагментов оценивали с использованием пептидно-аналитического инструментария (<http://www.thermofisher.com>). Полученные данные аминокислотных последовательностей пептидных фрагментов анализировали с использованием MS Excel и статистических методов анализа.

Результаты и их обсуждение. При моделировании протеолиза *in silico* принимался во внимание тот факт, что наиболее распространенными протеазами крови являются сериновые протеазы. Повышение их активности характерно для развития патологических состояний, сопровождающихся значительным образованием пептидов средней молекулярной массы. Учитывая специфичность действия трипсина, были получены и проанализированы пептидные фрагменты по следующим параметрам: длина пептида, ММ 750-3000 Да, гидрофобность пептидов с учетом неполярных ароматических и алифатических радикалов и, отдельно, наличие ароматических аминокислотных остатков фенилаланина (F), тирозина (Y) и триптофана (W), а также их локализация в пептидном фрагменте (таблица 1).

Таблица 1. Показатели молекулярной массы и гидрофобности пептидных фрагментов.

Номер фрагмента	Аминокислотная последовательность	Показатель гидрофобности	ММ, Да	Число ароматических аминокислотных радикалов
1	SHCIAEVENDEMPADLPSLA ADFVESK	40.59	2918.1967	1
2	LVRPEVDVMCTAFHDNEETF LK	41.90	2593.9524	2
3	ALVLIAFAQYLQPCPFEDHV K	50.05	2433.8506	3
4	MPCAEDYLSVVLNQLCVLHE K	48.74	2404.8399	1
5	EFNAETFTFHADICTLSEK	39.34	2203.4079	3

6	VFDEFKPLVEEPQNLIK	40.37	2303.4779	2
7	VHTECCHGDLLECADDR	22.73	2045.3631	-
8	RPCFSALEVDETYVVPK	34.07	1916.0854	2
9	HPYFYAPELFFAK	46.39	1854.1080	5
10	DVFLGMFLYEYAR	51.67	1623.8868	4
11	QNCSELFQLGEYK	30.81	1600.7632	2
12	VPQVSTPTLVEVSR	27.05	1511.7388	-
13	YICENQDSISSK	14.83	1386.4962	1
14	TCVADESAENCDK	7.76	1384.4525	-
15	CCAAADPHECYAK	9.54	1381.5589	1
16	AVMDDFAAFVEK	36.02	1342.5295	2
17	ETYGEMADCCAK	14.20	1320.4698	1
18	HPDYSVLLLLR	35.99	1311.5468	1
19	AAFTECCQAADK	13.23	1257.3987	1
20	ECCEKPLEK	18.69	1191.4231	-
21	LVNEVTEFAK	24.51	1149.3093	1

22	CCTESLVNR	12.73	1024.1750	-
23	NECFLQHK	16.70	1018.1553	1
24	SLHTLFGDK	23.32	1017.1497	1
25	LVAASQAALGL	27.85	1013.2021	-
26	ETCFAEEGK	10.53	1013.0871	1
27	QTALVELVK	27.44	1000.2035	-
28	TYETTLEK	13.58	984.0711	1
29	FQNALLVR	27.03	960.1441	1

30	DLGEENFK	16.44	951.0007	1
31	DDPNLPR	11.99	939.9804	-
32	YLYEIAR	24.44	927.0679	2
33	AEFAEVSK	14.23	879.9654	1
34	LCTVATLR	20.29	876.0820	-
35	LVTDLTK	17.02	788.9396	-

Необходимость анализа содержания ароматических аминокислотных остатков обусловлена возможностью определения содержащих их пептидов *in vivo* методом прямой спектроскопии при сдвиге максимума поглощения пептидной связи с 210 нм в 280 нм (ароматические циклы) [5].

Выводы. Таким образом, применяя модель протеолиза *in silico*, основанную на алгоритмах специфичного гидролиза пептидных связей, были установлены свойства продуктов протеолиза (молекулярную массу, длину пептида), показатели гидрофобности молекулярных фрагментов, чередование полярных и неполярных радикалов в образованных пептидах, который позволит судить об их поверхностно-активных свойствах, а значит, о возможной модификации мембранной структуры. Дальнейший анализ свойств среднемолекулярных пептидов позволит совершенствовать экстракорпоральные методы детоксикации.

Литература

1. Goulet B., Nepveu A., Complete and limited proteolysis in cell cycle progression // Cell Cycle . – 2003. – №3. – P. 1-3.
2. Веремеенко К. Н. Ферменты протеолиза и их ингибиторы в медицинской практике // Здоров'я. 1971.
3. Е. В. Карякина, С. В. Белова Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений // Клиническая лабораторная диагностика. 2004. №3. – С. 4–8.
4. Медицинская энциклопедия [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://znai.ru/art/400244900.php> (дата обращения: 06.10.2018).
5. Потапнев М.П. Иммунные механизмы стерильного воспаления // Иммунология. 2015. №5 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunnye-mehanizmy-sterilnogo-vospaleniya> (дата обращения: 06.10.2018).
6. Способ определения «средних молекул» / В.В. Николайчик [и др.]// Лаб. дело. — 1991. — №10. — С. 13—18.
7. Справочник химика 21 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://chem21.info/info/1649233/#> (дата обращения 07.10.2018).