

Гидролиз пептидов нейрегулина 1 антителами больных системной красной волчанкой

Стефанов Мирослав,¹ Ермаков Е.А.,^{1,2} Меламуд М.М.,² Невинский Г.А.,^{1,2} Бунева В.Н.^{1,2}

1. Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

2. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

Контакты: miro_7499@abv.bg

N Novosibirsk State University
*THE REAL SCIENCE

Введение

Одним из важных нейротрофических факторов, участвующих в патогенезе нейроиммунных заболеваний, является нейрегулин-1 (NRG1), который относится к семейству эпидермальных факторов роста и синтезируется в виде мембраносвязанной формы, гидролиз которой специфическими ферментами (шеддазами) приводит к высвобождению зрелой формы NRG1 [1]. Зрелый NRG1 участвует в развитии нервной системы, включая миграцию и дифференцировку нейронов, миелинизацию, а также образование синапсов и нервно-мышечных соединений [2]. Кроме того, NRG1 участвует в восстановлении центральной и периферической нервной системы, поскольку способствует нейропротекции и ремиелинизации при повреждении ЦНС [2].

У больных системной красной волчанкой (СКВ) обнаружено снижение уровня NRG1 в сыворотке, однако механизмы этого процесса не до конца изучены. Предполагается, что образующиеся при данной патологии каталитические антитела-протеазы могут снижать концентрацию NRG1 и, таким образом, участвовать в патогенезе заболевания.

Цель работы

Изучить эффективность гидролиза пептидов функционально-важных участков NRG1 антителами больных СКВ и здоровых доноров.

Материалы и методы

- Антитела больных СКВ и здоровых доноров выделены методом аффинной хроматографии.
- Разработан метод анализа продуктов гидролиза пептидов NRG1 методом тонкослойной хроматографии. Для хроматографической смеси использовали уксусную кислоту, *n*-бутанол и ddH₂O в соотношении 1 : 4 : 5.
- В работе использованы флуоресцентно-меченые пептиды функционально-важных участков NRG1 (Таблица 1).
- В качестве положительного контроля использовали трипсин, α -химотрипсин и протеиназу К, а в качестве отрицательного – реакционную смесь, не содержащую антител или протеаз.
- Уровень гидролиза оценивали качественно по убыви соответствующего субстрата.

Таблица 1. Последовательности и функциональная роль фрагментов NRG1, использованных в работе

Пептид	Последовательность	Функциональная роль фрагмента NRG1
C22	FAM-KQNYVMASFYKHLGI EFMEAE	содержит фрагмент линкерного домена, важный для высвобождения зрелой формы NRG1 из мембраносвязанной формы
Int22	FAM-SHLVKCAEKEKTFVCV NGGECFFM	содержит фрагмент EGF-like домена, важный для связи с интегринами
EGF23	FAM-DLSNPSRYLCKCPNEF TGDRQCQN	содержит консервативные сайты EGF-like домена

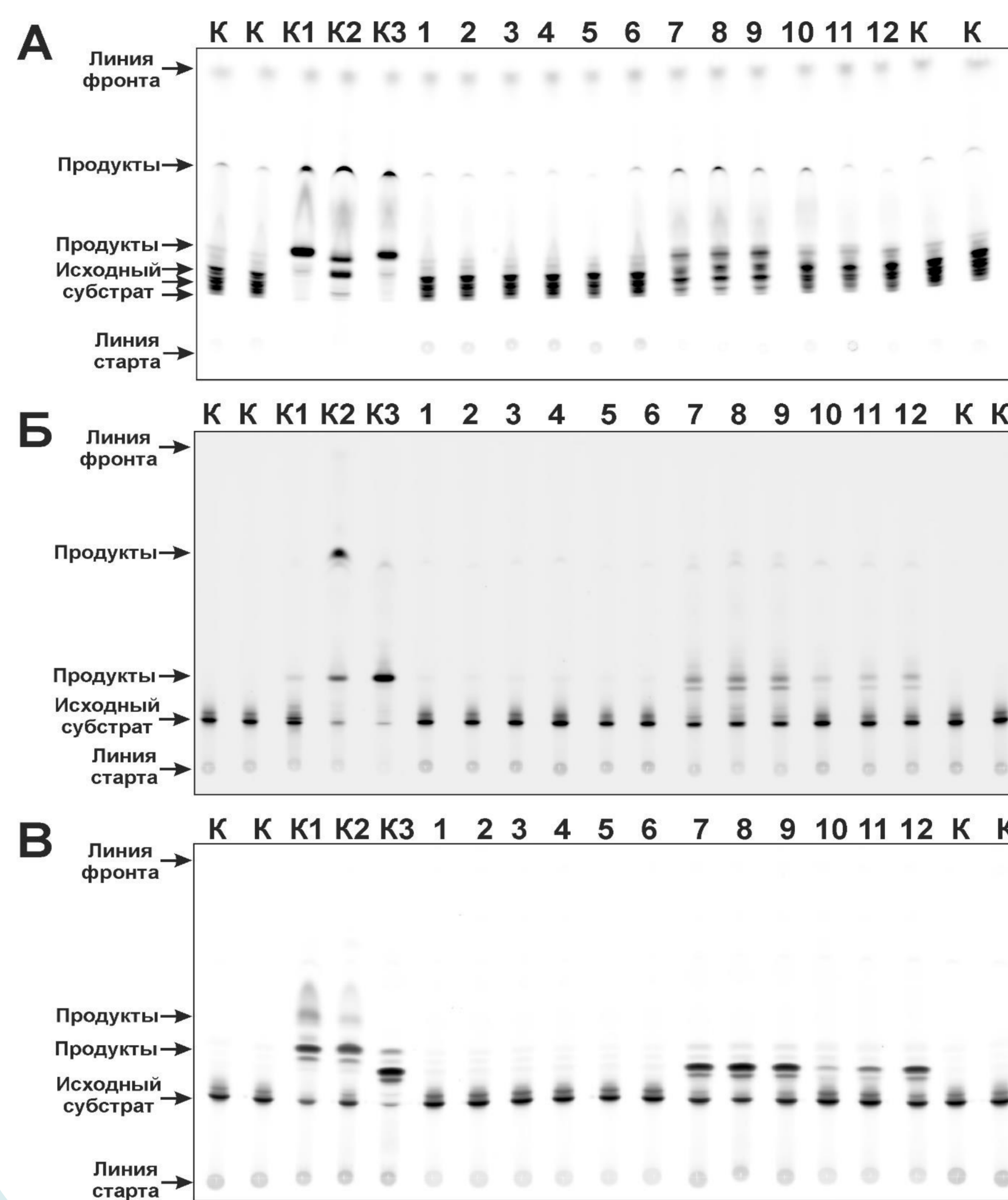
Литературные источники

1. Mei L., Xiong W. C. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia // Nature Reviews Neuroscience. – 2008. – V. 9. – №. 6. – P. 437-452.
2. Kataria H., Alizadeh A., Karimi-Abdolrezaee S. Neuregulin-1/ErbB network: an emerging modulator of nervous system injury and repair // Progress in neurobiology. – 2019. – V. 180. – P. 101643.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-015-00156.

Результаты

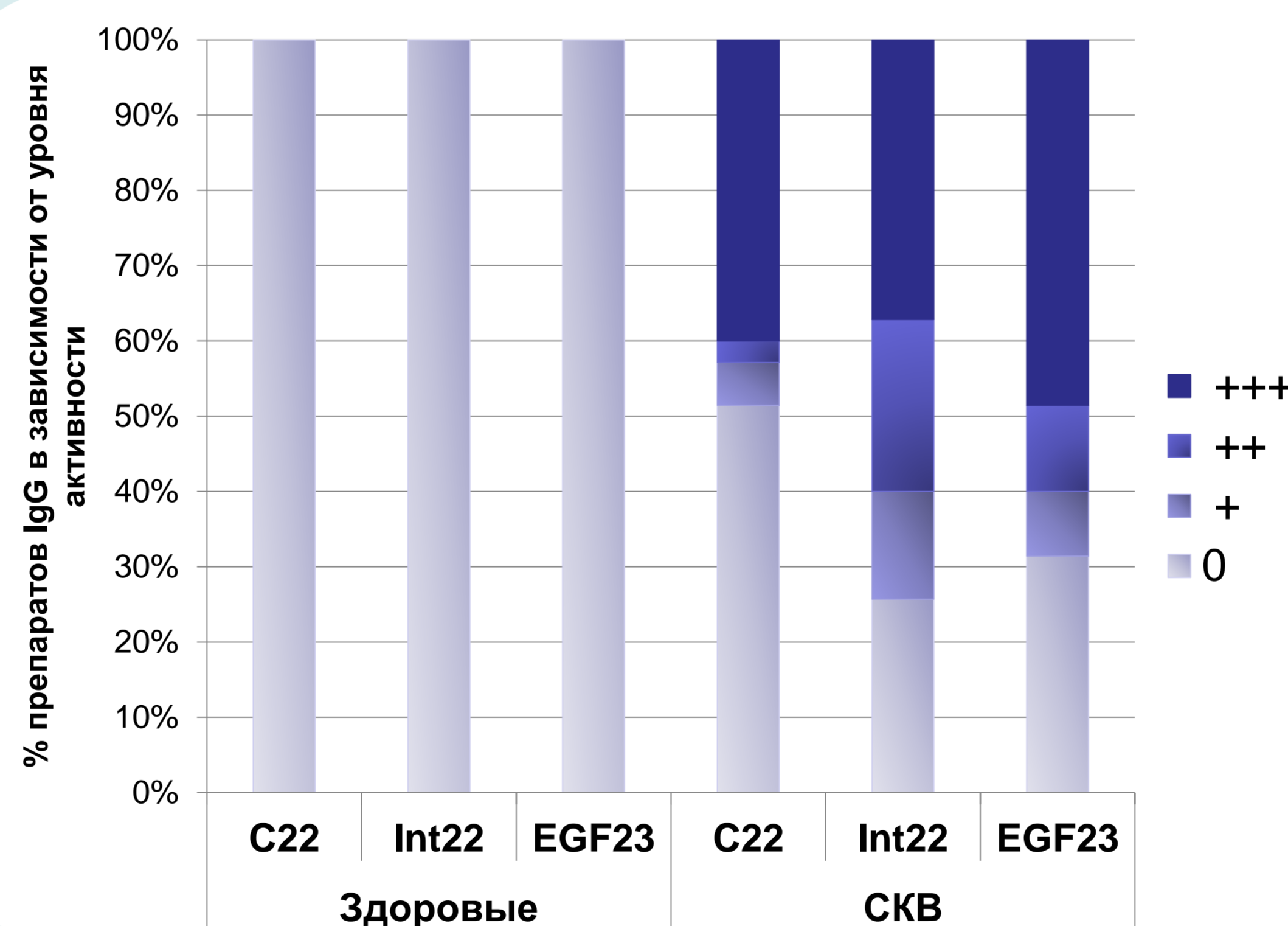
1. Анализ продуктов гидролиза пептидов функционально-важных участков NRG1



Анализ продуктов гидролиза пептидов C22 (А), Int22 (Б) и EGF23 (В) препаратами IgG здоровых доноров и больных СКВ методом тонкослойной хроматографии.

Дор. К – отрицательный контроль; дор. K1 – α -химотрипсин; дор. K2 – протеиназа К; дор. K3 – трипсин; дор. 1-6 – IgG здоровых доноров; дор. 7-12 – IgG пациентов.

2. Процентное соотношение препаратов IgG здоровых доноров и больных СКВ, гидролизующих пептиды NRG1, в зависимости от уровня активности.



Примечания:
«0» – отсутствие активности;
«+» – низкая активность;
«++» – средняя активность;
«+++» – высокая активность.

Заключение

- Препараты IgG больных системной красной волчанкой обладают пептидазной активностью. Уровень активности варьирует в зависимости от гидролизуемого пептида нейрегулина-1 и препарата IgG пациентов. В тех же условиях препараты IgG здоровых доноров не обладают пептидазной активностью.
- Спектры продуктов гидролиза пептидов нейрегулина-1, образующихся под действием антител и протеаз (трипсин, α -химотрипсин, протеиназа К) значительно отличаются.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что антитела с пептидазной активностью, гидролизующие нейротрофический фактор NRG1, играют существенную роль в развитии СКВ и могут служить биомаркером заболевания

Контакты: miro_7499@abv.bg