

К.И. Бичахчан, П.Е. Бородин, Е.А. Бородин

ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России  
г. Благовещенск

**БИОИНФОРМАТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
БЕЛКОВ НЕРВНОЙ ТКАНИ**

В функционировании и развитии заболеваний нервной ткани важную роль играют ее белки. Способность ориентироваться в пространстве «GPS-систему мозга» в энторинальной коре (участке мозга рядом с гиппокампом). Среди белков гиппокампа особый интерес представляет рилин – гликопротеин, выполняющий множество функций, включая регуляцию миграции и позиционирования нервных стволовых клеток в период фетального и раннего послеродового развития. Во взрослом мозге рилин регулирует позиционирование нейронов, образуемых в процессе взрослого нейрогенеза. Генетически обусловленное отсутствие и полиморфизмы гена рилина связывают с развитием тяжелой умственной отсталости, эпилепсии, шизофрении и болезни Альцгеймера [1].

Одним из важнейших белков нервной ткани является хантингтин [2]. Уникальной особенностью этого белка является наличие рядом с N-концом полипептидной цепи повторяющейся последовательности остатков глутамина. Число глутаминовых повторов в белке здоровых людей варьирует, но не превышает 35. Развитие хореи Хантингтона является следствием мутации в первом экзоне (EX1) по типу коротких tandemных повторов, приводящей к увеличению числа повторяющихся остатков глутамина, число которых может достигать 250 и более [3]. Предполагается, что в мутантном белке (mHtt) полиглутаминовая область приобретает токсичную конформацию в виде β-структуры в результате чего белок агрегирует и выпадает в осадок в виде амилоидных фибрилл [4]. В связи с изложенным, рилин и хантингтин представляют мишень при разработке новых эффективных лекарственных средств, создаваемых с помощью компьютерного дизайна.

**Резюме** В настоящей работе предпринята попытка охарактеризовать методами биоинформатики белки нервной ткани, вовлеченные в развитие нейродегенеративных заболеваний, а именно хантингтин и рилин. Для создания 3D-моделей этих белков использован оригинальный подход, основанный на генерации 3D-моделей отдельных участков их полипептидных цепей и объединении полученных структур в единую 3D-модель. Полученные результаты позволяют предполагать полифункциональность хантингтина и рилина за счет проявления различных биологических активностей отдельными доменами. Полученные результаты могут быть использованы при создании новых лекарственных средств с использованием компьютерного дизайна, способных улучшить качество жизни пациентов, страдающих от нейродегенеративных заболеваний.

**Ключевые слова:** хантингтин, рилин, GPS-система мозга, нейродегенеративные заболевания, биоинформатика.

```
>sp|E42958|HD_HUMAN Huntingtin OS=Homo sapiens GN=HTT PE=1 SV=2
MATEKLMKAFESLKSFGQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPPPPPPPPPPPPQLEQPPPPQAP
LLFQQPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPP
1
FQKLLGIAAMELFLCLDDAESDVMVADECLNKVVKALMDSNLPRLQLEIYKIKKGNAP
RSLPAALNRFALAHVVPQKQCPVYVNLPCITRTSKRPEESVQETLAAAVPKIMASFG
NFANDNIEIKVLLKAFIANLKSSSPTIRRTALGSAVSIQCHSRRTQYVSWLLNVLGLLV
FVDEHSTLLILGVLLIIRLVLPVLLQQQQVSDTSLKSGSPVTRKMEVSPSAGEQLVQVQD
2
TLHHTQHDHNVVTGALLLQQLFRTPPPPELQTLTAVGGIQLTAAKEESGGRSRSGS
VELIAGSSGCSFVLSRKKQKGVLLGEEALEDDSESRDVSSSALTSVKDEISEGLA
SGVSTFSSASNDITTEQFRSQHTLQADSVLDAACDLTSSRATQDDEEDILSHSSQVSAV
ESDFAMDLDGTQASSPISDSSQTTTEGSDAVTSDSSSEIVLDDTNDQVLLGLQIQQD
3
EDEEATILPDEASEAFRNSMALQAHLLKRMHSCRQFSDSSVDRFVLRDEATEIFGQDQ
NPFCKRIKGDIGQSTDDSDAFVHCVRLLSASFLITGGGRNVLPDRVDRVSVKALALSQV
RAVALHPSEFFSKLYKVPFLDTTEYEPGEYVSDILNVIDHGDQPVVGRGATAILCGTLLCSIL
SRSRHFVGDMMGTIRTLTGNTEFSLADDCIPLLRKTLLKDESSVTCCLACTAVRNCVMSLCS
SVSELGLQLIIIVLTLRNSYVWLVRETELLETLAEIDFRLVSLFEAKAENLHRGAHHTGL
4
LRQLQERVUNNVVTHLLGDEDPVRVHVAASLIRLVKPLFYKCDQGGQADPVVAVARQSSV
YLKLLIMHETQPPSHFSVSTITRIYRGNLPSITDVTMENNLSRVIAAVSHELITSTTRA
LTFQCCOALCLLSTAFFVPCWNLGNHGVVPLSASDESRRKSCVTVGNATMILLLSANWF
LDSLAHQDALILAGNLLAASAPKSLRSWASSEANFAATKQEEVWVWALGDRALVPMVEQ
LFSHLLKVINICAHVLDVAFGPAKAAALFSLTINFEFLSPILRRKKEKEFEGEQASVPLSF
5
HRGSEASAARQSDTSGFVITTSKSSSLGSPYHLSYLLRHLHDVLRKATHANVYVLLQNS
EKGFGGLRSALDVLSQLLELATLQDQIGKQVEELCYLKSQCFSPMMATVCCVQQLKTLF
GTNLASQDGLSSNFSKSGQGRARLQSSSVRPGLVHYCFMAYPTFTQALADASLBNMVY
AEQENDTSGWFDVLQKVSQQLKNTLSTVENRADRANAHNHLRLEPPLVIRKALKQTTTT
CUGLQKQVLDLALQVQLRVUNYCLDSDQVFIGFVUKQFVYVEVQGFRESEALIPHIFFF
6
LULLSVERYHSQITGIPKTIQCLCDGIMASGRVATHTALQPIVHDLVFLRGTNKADA
GKLELTKQEVVSMILLRLIQYHQVLEMFILVLCQCHKENEDKWKRLSRQIADIILFEMAK
QQMHIHDSHEALGVNLTLELAPLSPVNLRLRSMPTENTMASVYVQVWLISGLIAL
7
RVLISQSTEDIVLSRIQELSFSPYLSICTVNLRLRQDSTSLTEESHEGQIKRLNEEFT
SRFLQLQVGLLEDIVTHQLKVMESQOHTFYQCELGLTLLMCLLHIFKSGMFRBITAAT
RLFRSDSCGSSFTLSESLNLRARSMTHTPVALVNLQGLLTVLNNHTDVRNNAEVLQTPRR
8
HLSSTKLSPQMSQESDEEDDLAAKMGHIREVRRGALILFDYVQCNLHDSHELTNLI
VNHQDQILSLSHEPVPVQDFISAVHRNSAASGLFIQAIQSCENLSTFNLKHTLQCLEGI
HLSQSGDVLFLYVDRLLCTPFRVLARVMDLACRQVEMLLAANLQSSMAQLPMEELNRQY
9
EVLQSSGLAQRNQRYSILDRFLSTMQDLSSEFVUSHEPDLGQGHVSISETSPKQNY
VHLVRSQCWTRSDSALLEGAELVNRIPAEIDMNAFMMNENFNLSSDLAFLSLGMSSESG
KCALFEAAREVTLARVSGTVQQLPAVHVHVFQFLFAEFAAYAWSKLDLFGDAAALYQSFL
10
LARALAQYLVVYSKLFSLHLHLPFEKEDVYKVFVATLEALSWSHLIHEQIFLSLDLQAGSD
CCCLALQPLGLSVVYSSTEFVTHACSLIYCVHFILEAVAVQFGEQLLSPERRINTFKAIS
EEEEVEVDNTQNFYITTAACEMVEMVSLQSVLALGHKRNSSVPAFTLILRNIILSLA
RELVNYSYTRVPPVWMLGNSPKGGDGFATFEIPEVEFQKEVFEFTYRINTLGNST
RTQFEETWATLLGVLVTPQLVMEQESPEEDTERIQNVLAVQAITSLVLSAMTVPVAG
11
NEAVSCLEQQPRNKFLKALDTRFRKLSIRIGVIVQEIQAMVSKRENATIHHLVQWDFV
FSLSPATGALISHEKILLQINPERELGSSMSYKLGQVSIHVNLSITPREEEWDPE
EEEDADAPASSPPTSFVNSRKHRAQVDFHSCSQFLELLEYSRWLTPSSARRTPAILISEV
VRSLLVSDLPFERHQFELMYVLELFLRVRVHSEDETLAQVLPATCARAAVIGMDOKVA
EVSRRLESTLRSLSLPSRVGALHGVLVYLECDLDDTAQQLIPVSDYLLSNLKGIAHC
10
NINHSQDVLVMCATAFYLIENYVDVGVFSSAIIQMCGVMLSGSEESTFSIIVHICARL
GLEILLSEQLSRLDAEISLVKLSVDRVNVHSPPRRAMAALGMLTDMYTGKVKVSPGRT3D
EHEAFAQDSESVIVAMERVSVLFDRLRKGFFCEARVVARILELQFLDDFFPQDIMNVIGE
FLSQQPYQFMATVVYVVFQTLHSTGQSSMVRDQVMSLSLNFTRAPVAMATWSLSCFF
VQASTSEVVAAILPFIHISRMHGLQVQVNLFCVATDFYRHHQIEEELDRRAFQVSLVVA
AFGSPYHRLTLCLRNVHVTTC
```

**Рисунок 1. Разбивка АМК цепи хантингтина (Fasta формат) на 11 участков.**

Для создания таких средств абсолютно необходимо знание третичной структуры белка (3D-структуры). На сегодняшний день 3D-структура этих белков не исследована, что в значительной степени связано с исключительно большой длиной их полипептидных цепей (более 3000 остатков аминокислот). Для таких длинных цепей невозможно найти белки-шаблоны. Для решения проблемы нами предложен подход, заключающийся в моделировании 3D-структур отдельных участков полипептидных цепей рилина и хантингтина с объединением последних в единую молекулу [5].

**Методы исследования** Мы использовали программное обеспечение для биоинформатических исследований, находящееся в свободном доступе. Поиск первичных структур белков в FASTA формате, про-

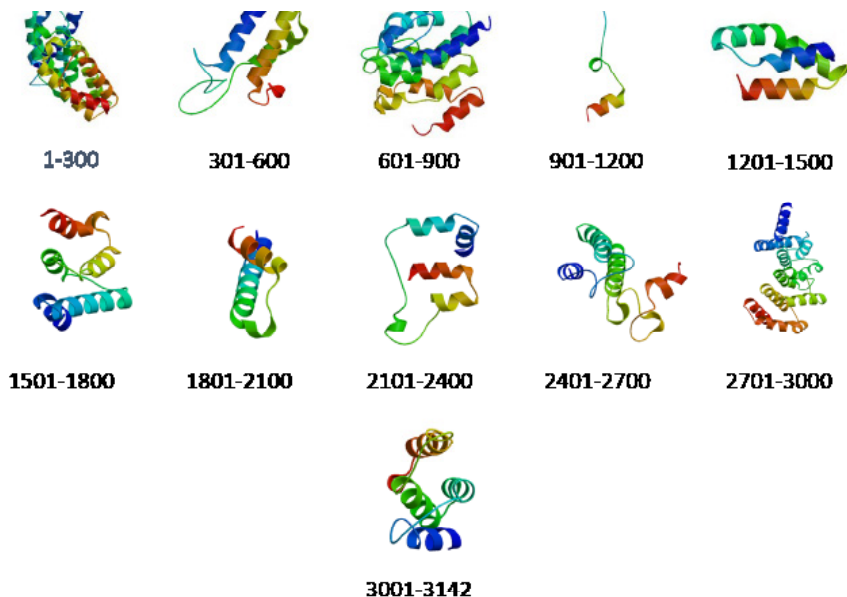
**BIOINFORMATIC CHARACTERISTICS OF NERVOUS TISSUE PROTEINS**

K.I. Bichakhchan, P.E. Borodin, E.A. Borodin

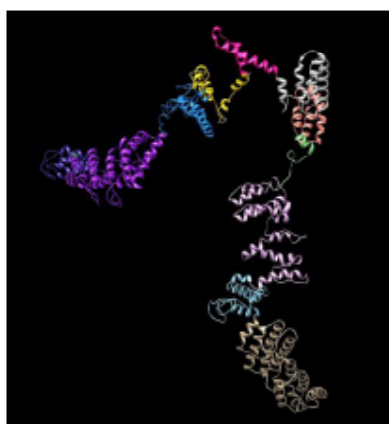
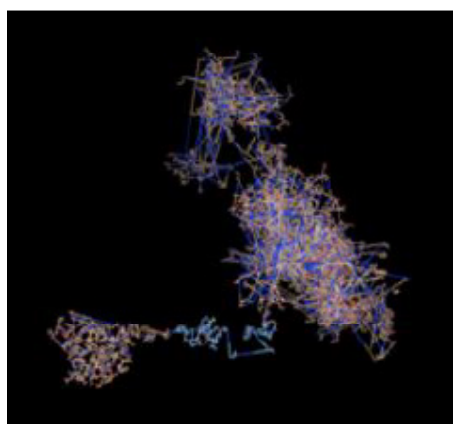
FSBEI HE Amur State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Blagoveshchensk

**Abstract** In the present work, an attempt was made to characterize proteins of the nervous tissue involved in the development of neurodegenerative diseases, namely, huntingtin and reelin, using bioinformatics methods. To create a 3D-models of these proteins, an original approach based on the generation of 3D-models of its individual domains and the integration of them into a single 3D model had been used. The results obtained make it possible to assume the polyfunctionality of huntingtin reelin as a result of the manifestation of various biological activities by individual domains. The results obtained may be used to create new drugs that can improve the quality of life of patients suffering from neurodegenerative diseases with a help of computer based design.

**Key words:** huntingtin, reelin, GPS-system of the brain, neurodegenerative diseases, bioinformatics  
**DOI 10.22448/AMJ.2018.4.56-59**



**Рисунок 2. 3D-модели 11 участков молекулы хантингтина**



**Рисунок 3. 3D-модели рилина (слева) и хантингтина (справа).**

ведение множественного и глобального попарных выравниваний АМК последовательностей осуществляли с использованием баз данных UniProt <http://www.uniprot.org/> и NCBI Protein <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>. Для создания библиотеки белков, гомологичных исследуемому белку, проводили множественное выравнивание в UniProt, используя алгоритм BLAST, основанный на проведении локальных выравниваний участков исследуемого белка с белками, входящими в базу данных. Для выравнивания использовались параметры по умолчанию: Target database - UniProtKB, E-Threshold - 10, Matrix - Auto, Filtering - none, Gapped - yes, Hits - 250. Информацию о третичных структурах белков брали в RCSB PDB <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>. 3D-структуры фрагментов полипептидных цепей рилина и Htt моделировали по белкам-шаблонам в SWISS-MODEL <https://swissmodel.expasy.org/>. Для объединения 3D-структур 11 фрагментов Htt в единую 3D-модель использовали Chimera 1.11.2 <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>, для работы с которой предварительно получали разрешение.

**Результаты исследования** Взятые из базы UniProt <http://www.uniprot.org/> первичные структуры рилина и хантингтина в FASTA формате, включающие 3460 АМК (рили́н) и 3142 АМК (хантингтин) были условно разбиты на 10 участков по ~360 АМК (220 АМК в 10 участке) для рилина и 11 участков по ~300 АМК (142 АМК в 11 участке) для хантингтина (рис.1). Для каждого участка был проведен поиск белка-шаблона с известной третичной структурой по алгоритму BLAST и на основе шаблонов построены 3D-модели на сервере SWISS-MODEL <https://swissmodel.expasy.org/>

(рис. 2). Полученные модели всех участков были загружены в Chimera 1.11.2, где они были соединены между собой пептидными связями с образованием 3D-моделей белков. Результаты представлены в формате .pdb – файла, доступного для дальнейшего использования в любом программном обеспечении для биоинформатической работы с белками (рис. 3).

Использованный нами подход проливает свет на функциональную роль этих белков, которая до настоящего времени не выяснена [1, 2]. На основании результатов выравнивания АМК -последовательностей фрагментов цепи хантингтина выявленные белки-шаблоны для каждого участка относились к различным группам по своей функциональной роли (табл. 1), что позволяет предположить полифункциональность этого белка нервной ткани. Интересно отметить, что весьма схожие результаты в отношении возможной физиологической роли отдельных сегментов полипептидной цепи хантингтина были получены на основе структурного выравнивания [6]. В частности, белком-шаблоном для сегмента 1-300 АМК на основании проведенного нами выравнивания АМК последовательностей и проведенного авторами упомянутой статьи структурного выравнивания, были идентифицированы соответственно сигнальные белки - PDB ID 5HIU и PDB ID 3IOR, для сегмента 301-600 АМК структурный белок (PDB ID 2OF3) и сократительный белок (2ENY(A), для сегмента 601-900 АМК гидролазы PDB ID 2IAE и PDB ID 2IBI(A). Структурные аналоги для участка цепи 901-1800 АМК в упомянутой работе не были выявлены [6]. Из возможных функциональных активностей хантингтина наибольший интерес представляет активность, про-

**Таблица 1. Сравнительная характеристика участков молекулы хантингина**

Номер модели	Участок цепи хантингина (АМК)	Участок обрезанного фрагмента, доступный для моделирования	Количество АМК во фрагменте	Название белка-шаблона	PDB ID шаблона	Степень покрытия шаблона и модели (coverage)	Степень идентичности шаблона и модели (seq. identity)	Score	Группа белка-шаблона в RSCB PDB
1	1-300	94-297	203	GTPase activator-like protein	5HIU	0,65	14,87	0,91	Signalling protein
2	301-600	309-394	85	TOG domain structure from <i>C.elegans</i> Zyg9	2OF3	0,21	18,75	0,31	Structural protein cell cycle
3	601-900	710-875	165	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	2IAE	0,55	16,46	0,78	Hydrolase
4	901-1200	1157-1184	27	Ribosomal protein eL8	3J7O	0,09	25,93	0,13	Ribosome
5	1201-1500	1208-1260	52	Importin subunit beta-1	3ND2	0,17	9,8	0,24	Transport protein
6	1501-1800	1509-1598	89	Protein STU2	4U3J	0,30	8,99	0,41	Structural protein / Protein binding
7	1801-2100	2001-2044	43	DNA primase	4IM9	0,14	19,51	0,20	Transferase
8	2101-2400	2199-2263	64	Dynein heavy chain 9	2RR7	0,18	21,82	0,27	Motor protein
9	2401-2700	2440-2546	106	Hyaluronoglucosaminidase	2OZN	0,32	14,74	0,44	Toxin
10	2701-3000	2714-2925	211	Putative uncharacterized protein	4XRI	0,64	11,92	0,89	Transport protein
11	3001-3142	3051-3126	75	AP-2 COMPLEX SUBUNIT ALPHA-2	2JKT	0,50	8,45	0,68	Endocytosis

являемая серин/треониновой белковой фосфатазой 2A (PP2A) – исключительно важной фосфатазой, вовлеченной в различные аспекты работы клеток [7].

**Заключение** В настоящем исследовании с помощью методов биоинформатики охарактеризованы белки нервной ткани, вовлеченные в развитие нейродегенеративных заболеваний – хантингин и рилин. Для создания 3D-моделей этих белков мы использовали оригинальный подход, основанный на генерации 3D-моделей отдельных участков полипептидных цепей хантингина и рилина и соединении их в единую 3D-модель. Полученные результаты позволяют предполагать полифункциональность хантингина за счет проявления различных биологических активностей отдельными доменами, в частности, структурной роли, гидролазной и трансферазной активностей, участие в эндоцитозе, транспорте белков и др. Полученные результаты могут быть использованы при создании новых лекарственных средств с использованием компьютерного дизайна, способных улучшить качество жизни пациентов, страдающих от нейродегенеративных заболеваний.

### Литература

1. Ranaivoson F.M., von Daake S., Comoletti D. Structural Insights into Reelin Function: Present and Future. *Front Cell Neurosci.* 2016, 10:137. doi: 10.3389/fncel. 2016. 00137.
2. Saudou F., Humbert S. The Biology of Huntingtin. *Neuron.* 2016; 89(5):910-26. DOI: 10.1016/j.neuron. 2016. 02. 003
3. Zoghbi H.Y., Orr H.T.: Glutamine repeats and neurodegeneration. *Annual review of neuroscience.* 2000, 23: 217-247. 10.1146/annurev.neuro.23.1.217.
4. Nagai Y., Popiel A. Conformational Changes and Aggregation of Expanded Polyglutamine Proteins as Therapeutic Targets of the Poly glutamine Diseases: Exposed p-Sheet Hypothesis. *Current Pharmaceutical Design.* 2008; 14: 3267-3279
5. Бородин П.Е., Карнаух В.Н., Бородин Е.А. Биоин-

форматическая характеристика белков нервной ткани, вовлеченных в развитие нейро-дегенеративных заболеваний// Сибирское медицинское обозрение. 2017. №6. С. 94-97.

6. Wen J., Scoles D.R., Facelli J.C. Structure prediction of polyglutamine disease proteins: comparison of methods. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15 (S7):S11 DOI: 10.1186/1471-2105-15-S7-S11
7. Xu Y, Xing Y, Chen Y, Chao Y, Lin Z, Fan E, Yu JW, Strack S, Jeffrey PD, Shi Y. Structure of the protein phosphatase 2A holoenzyme. *Cell.* 2006; 127(6):1239-51

Статья поступила 07.11.2018

### Координаты для связи

Бичахчан Кирилл Игоревич, студент 3 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail:13\_kirill\_99@mail.ru

Бородин Павел Евгеньевич, ординатор 2-го года обучения ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: borodin.agma@gmail.com>

Бородин Евгений Александрович, д. м. н., профессор, зав. каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: borodin54@mail.ru

Почтовый адрес ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: science.prorector@AmurSMA.su