

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

©Коллектив авторов

БИОИНФОРМАТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ С МЕНЯЮЩИМСЯ УРОВНЕМ ПТМ У ЛИНИИ МЫШЕЙ, СОЗДАННОЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ФИБРОМУСКУЛЯРНОЙ ДИСПЛАЗИИ

*А.И. Воронина, Ю.В. Мирошниченко, В.С. Скворцов**

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; *эл. почта: vladlen@ibmh.msk.su

Проанализированы данные масс-спектрометрического эксперимента линии мышей, созданной для изучения механизмов развития фибромускулярной дисплазии, которые были депонированы d'Escamard и соавт. в ProteomeXchange (PXD051750). Идентификация пептидов с посттрансляционными модификациями (ПТМ) была проведена заново с использованием более жестких условий, чем в оригинальной работе. При анализе изменения уровня ПТМ у экспериментальной и контрольной групп мышей рассматривали: ацетилирование остатка лизина и N-концевого пептида белка, убиквитинирование остатка лизина, фосфорилирование остатков серина, треонина и тирозина, дезаминирование остатков аспарагина и глутамина. В результате многоступенчатого отбора были отобраны 23 белка с ПТМ, для которых можно предположить разный уровень модификации между экспериментальной и контрольной группами. Из них наибольший интерес представляют 6 белков с N-концевым ацетилированием белка: P80318 (T-complex protein 1 subunit gamma), P43274 (Histone H1.4), P97823 (Acyl-protein thioesterase 1), P63242 (Eukaryotic translation initiation factor 5A-1), Q3UMT1 (Protein phosphatase 1 regulatory subunit 12C), Q9D8Y0 (EF-hand domain-containing protein D2). Таким образом, повторный биоинформатический анализ данных, депонированных в специализированных базах данных, позволил выявить изменения в уровне N-концевого ацетилирования белков, которые могут быть функционально значимыми в механизме развития фибромускулярной дисплазии.

Ключевые слова: посттрансляционные модификации; фибромускулярная дисплазия; биоинформатика

DOI: 10.18097/PBMC20247004248

ВВЕДЕНИЕ

Посттрансляционные модификации (ПТМ) играют важную роль в регуляции биохимических процессов, в том числе и связанных с патологическими состояниями [1]. Исследование влияния ПТМ на различные биохимические пути часто значительно более трудный процесс, чем исследование роли какого-либо конкретного белка. Тем более, что во многих случаях важен не сам факт наличия конкретной модификации (что проще), а изменение количества модифицированного белка. Однако существует большой пласт данных, который мог бы помочь в таких исследованиях. Речь идёт об исходных данных масс-спектрометрических экспериментов, которые, как правило, депонируются на соответствующих ресурсах (например, ProteomeXchange [2]). Несмотря на то, что выявление модифицированных форм белков может быть целью масс-спектрометрических экспериментов [3], достаточно часто при выработке алгоритма биоинформатической обработки полученных данных этот аспект исследователей либо не интересует, либо они ограничиваются фиксацией самого факта обнаружения данной ПТМ. Также важно, что для анализа изменений соотношения количества модифицированного и немодифицированного белка обычно используют специальные исследования с количественным определением белка с использованием меток. В то же время для предварительной оценки может быть использован

и так называемый безметковый (“label-free”) количественный протеомный анализ, основанный на сравнении площадей под пиками (“abundance”) зарегистрированных первичных ионов [4].

Важными факторами при обработке депонированных исходных данных можно назвать качество данных (нередко зависит от приборной базы, используемой авторами), прозрачность дизайна экспериментальных данных (случается, что данные практически не описаны) и достаточность количества биологических проб для статистической обработки результатов. Например, ранее нами уже были получены оценки изменения уровня ряда ПТМ при экспериментальном ишемическом инсульте у мышей [5] на основе доступных экспериментальных данных [6]. Подобный подход может быть применён практически к любой патологии. В данной работе выполнен анализ данных из депонированного в ProteomeXchange набора PXD051750 [7], представленных в статье d'Escamard и соавт., принятой в журнал Nature Cardiovascular Research [8]. Экспериментальная работа выполнена на мышах, созданных специально для исследования механизмов развития фибромускулярной дисплазии (ФМД). ФМД — это редкое идиопатическое, сегментарное, неатеросклеротическое и невоспалительное заболевание артерий малого и среднего диаметра, приводящее к стенозу [9] в результате аномальной клеточной пролиферации и образования фиброзной ткани на стенках сосудов [10]. Авторы [7, 8] определили

18 сетей коэкспрессии генов, четыре из которых действуют совместно как суперсеть ФМД в артериальной стенке. У мышей, у которых был выполнен селективный нокаут ключевого драйвера данной сети, развилось расширение артерий, что является отличительной чертой ФМД. Масс-спектрометрические данные доступны [7, 8] для 10 экспериментальных и 8 мышей без нокаута генов (littermate control). Какие конкретно гены подвергались нокауту, в аннотации не отражено. От каждого животного брали пробы торакального и абдоминального отделов аорты.

Из аннотации набора данных известно, что при анализе масс-спектрометрических данных авторы рассматривали такие ПТМ, как окисление лизина, метионина и пролина, а также дезаминирование аспарагина. Окисление метионина и дезаминирование аспарагина часто учитывают при анализе масс-спектрометрических данных, не связывая эти явления с какими-либо биологическими функциями. Гидроксипролин и гидроксизин играют важную роль при формировании пространственной структуры коллагена [1], нарушение которой связано с развитием ФМД [11]. В данной работе исследованы такие модификации, как ацетилирование, фосфорилирование и убиквитинирование, а также дезаминирование остатков аспарагина и глутамин.

МЕТОДИКА

Как уже упоминалось, исходные данные хорошо аннотированы и все процедуры, выполненные авторами, подробно описаны [7]. Идентификация пептидов в данной работе была выполнена заново при помощи программы PEAKS-X Pro [12]. Поиск проводили по аминокислотным последовательностям белков мыши (*Mus musculus*, UniProtKB/Swiss-Prot release 2024_03, 17823 записей [13]). Ограничения по массе (mass tolerances) при идентификации были установлены более жёсткие чем в работе [7]: 2 ppm для первичных ионов и 0,01 Да для ионов фрагментов. Карбамидометилирование цистеина учитывали в качестве перманентной модификации. Как переменные допускались ацетилирование лизина и N-концевого пептида белка, убиквитинирование лизина, фосфорилирование серина, треонина и тирозина, дезаминирование аспарагина и глутамин, окисление метионина. Допускалось не более двух переменных модификаций на пептид (при окончательном анализе рассматривали только пептиды с единственной исследуемой модификацией) и не более двух “недорезов” (расщепляющий фермент — трипсин). Уровень ложноположительных результатов (false discovery rate, FDR) для окончательного отбора идентифицированных пептидов — 0,01%. Идентификацию проводили для каждой пробы независимо. Все опции дополнительной фильтрации и образования химерных спектров были отключены. Варианты с ацетилированием и убиквитинированием остатка лизина рассматривали только в случае, если модифицированный лизин не был последним остатком в пептиде. Варианты с модификацией на C-концевом остатке лизина, вероятнее всего,

будут ошибочными идентификациями, если считать, что трипсин расщепляет белок с высокой степенью специфичности.

На основании данных из RAW файлов средствами программы Progenesis LC-MS [14] были проведены выравнивание всего пространства первичных ионов и нормализация величины площади под пиком для каждого из первичных ионов (Normalized abundance, NA). Использование данной величины позволило напрямую сравнить между собой данные для разных биологических проб. Для последующего анализа после объединения результатов выравнивания с результатами идентификации пептидов величины NA для ионов разной зарядности одного и того же пептида суммировали.

При анализе достоверности изменения уровня ПТМ сравнивали значения NA для мышей с нокаутом генов (группа KO, 20 значений) и без нокаута (группа WT, 16 значений). В данной работе не делали различий между данными, полученными для торакального и абдоминального участков (хотя они для части пептидов и были зарегистрированы), что удваивало число биологических проб. В анализ брали только те пептиды, которые были идентифицированы как минимум для половины биологических проб в каждой из двух групп. Для оценки достоверности различия среднего использовали критерий Манна-Уитни. Кроме того, оценивали значимость изменений NA между выборками KO и WT (как отношения средних величин NA выборки с нокаутом генов к выборке без нокаута, NA_{KO}/NA_{WT}). Для этого вычисляли среднюю величину NA_{KO}/NA_{WT} для пептидов без модификаций того же белка. Крайние значения (по 10% “снизу” и “сверху”) при вычислении среднего NA_{KO}/NA_{WT} для белка отбрасывали, также оценивали число немодифицированных пептидов с достоверным различием среднего для мышей из выборок KO и WT. Если число идентифицированных немодифицированных пептидов для белка было менее 5, сравнение не считалось значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего по результатам работы программы Progenesis LC-MS было отобрано 89621 первичных ионов, из которых для 24719 ионов были идентифицированы последовательности 19050 пептидов, включая пептиды с модификациями. Пептиды были зарегистрированы для 2212 белков. Задачи достоверной идентификации белков в данном исследовании не было, по-видимому, это было сделано авторами работы [8]. При окончательном отборе, рассматривали белки, для которых было найдено не менее 6 пептидов. Распределение по числу биологических проб, для которых был идентифицирован конкретный пептид, представлено на рисунке 1. Установленным нами ограничениям по числу идентификаций в пробах соответствовали 12356 пептидов. Для остальных пептидов считали изменения среднего недостоверными. Полный набор данных по идентификации доступен в Дополнительных материалах.

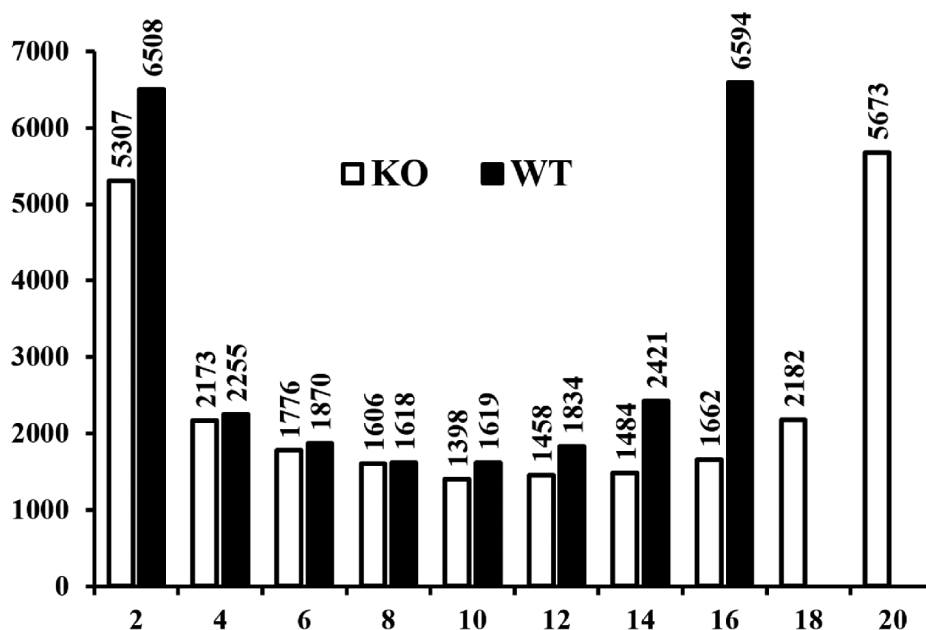


Рисунок 1. Распределение пептидов по числу биологических проб в группах KO и WT, для которых был идентифицирован конкретный пептид.

Статистика по числу идентифицированных пептидов с каждой из рассматриваемых ПТМ и списки белков, в которых эти ПТМ были зарегистрированы, приведены в таблице 1 (полные данные по каждому пептиду с ПТМ приведены в Дополнительных материалах). Для варианта с убиквитинированием учитывали два варианта изменений массы (+114,04 и +383,23), принимая во внимание факт существования слабой химотрипсинподобной активности у трипсина. Пептидов с фосфорилированным остатком тирозина при заданных параметрах отбора идентифицировано не было. Малое число идентифицированных пептидов с ПТМ можно объяснить тем, что были выбраны жёсткие условия отбора. Достаточно отметить, что, если использовать параметры идентификации из работы [7] (10 ppm для первичных ионов, 0,02 Да для вторичных фрагментов и уровень FDR 1%), число идентифицированных пептидов составило 27309, а число пептидов, отвечающих условию числа проб с идентификациями, было 17018. Но вероятность ошибки в таком случае возрастает. У 24 из 47 белков, для которых идентифицированы пептиды с дезаминированием остатка глутамина, также были найдены пептиды с дезаминированием остатка аспарагина. Это ожидаемый результат, так как интенсивность процессов дезаминирования связана в первую очередь с условиями среды в клетках, в которой находятся белки, а скорость дезаминирования остатков аспарагина выше [1]. К сожалению, в случае с дезаминированием нельзя исключить вариант, что процесс идёт уже в ходе пробоподготовки или масс-спектрометрического определения. Однако в таком случае маловероятно, что накопление модифицированного пептида будет как-то отличаться у мышей с нокаутом генов и без нокаута. В списках белков, для которых были найдены пептиды с дезаминированием остатка аспарагина и с ацетилизацией N-концевого

остатка белка, 67 белков совпадает, но только для 3 из них можно считать достоверным различие для уровня ацетилирования между группами KO и WT (P62737, P37804, P16045 — здесь и далее для перечисления белков используются идентификаторы UNIPROT), но эти изменения определяются общим изменением количества самого белка.

На рисунке 2 приведён пример, наглядно демонстрирующий варианты соотношения величины NA для разных пептидов одного белка. Для белка P62737 (рис. 2А) сдвиг среднего между группами KO и WT у всех пептидов меняется незначительно и всегда в одном направлении ($NA_{KO}/NA_{WT} = 0,87 \pm 0,08$), величина NA_{KO}/NA_{WT} для пептида с ПТМ практически та же (0,75). Для белка P80318 (рис. 2Б) у пептидов без модификаций сдвиг среднего NA между KO и WT незначительный и разнонаправленный ($NA_{KO}/NA_{WT} = 1,06 \pm 0,05$), а величина NA_{KO}/NA_{WT} для пептида с N-концевым ацетилизацией составила 2,15. В данной работе был установлен 20% порог изменений величины NA_{KO}/NA_{WT} для пептида с ПТМ относительно средней величины NA_{KO}/NA_{WT} для пептидов без ПТМ того же белка. Этот порог установлен произвольно, в общем случае можно считать, что чем больше это различие, тем более вероятно, что это различие не случайно. Все пептиды с ПТМ, для которых данное условие соблюдено, перечислены в таблице 2. В их число не вошёл ни один пептид с фосфорилированием или ацетилизацией остатка лизина, а единственный белок с убиквитинированием (P15105, Glutamine synthetase) вряд ли каким-то образом может быть связан с ФМД. Для шести белков можно предположить изменение уровня ацетилирования N-концевого аминокислотного остатка белка. Увеличение количества модифицированного пептида: P80318 (T-complex

Таблица 1. Количество идентифицированных пептидов с ПТМ на разных этапах отбора. Второй строкой идёт список идентификаторов UNIPROT для белков, в которых были идентифицированы пептиды

[illegible]

Примечание. Усл. 1 – пептид идентифицирован как минимум для половины проб как в группе КО, так и в группе WT; Усл. 2 – для белка с модифицированным пептидом идентифицировано не менее 5 пептидов без модификаций; ¹ – различия по отношению больше 20%, ND – не применимо; ² – для части белков было идентифицировано более одного пептида с ИТМ, для одной и той же позиции с ИТМ могло быть больше одного пептида за счёт “недорезов”;

Таблица 2. Список белков с пептидами, содержащими ПТМ, для которых величина NA_{KO}/NA_{WT} модифицированного пептида отличается от средней NA_{KO}/NA_{WT} для немодифицированных пептидов более чем на 20%

№	Белок (UNIPROT ID)	Последовательность пептида	ПТМ	Досто- верность различия среднего между группами KO и WT (p)	Направление изменений по отношению к ожидаемому	% изменений NA_{KO}/NA_{WT}	NA_{KO}/NA_{WT} (ПТМ)	Среднее NA_{KO}/NA_{WT} для пептидов без ПТМ	Стан- дартное откло- нение	Число пептидов без ПТМ ¹	Минимум NA_{KO}/NA_{WT} для пептидов без ПТМ	Максимум NA_{KO}/NA_{WT} для пептидов без ПТМ
1	P80318	MMGHRPVVLVSQNTK	[1] M(+42,01)	0,007	больше	95,30%	2,150	1,062	0,048	8	1,006	1,137
2	P43274	SETAPAAAPAPAEKTPVK	[1] S(+42,01)	0,029	больше	47,50%	1,767	1,092	0,129	4	0,946	1,248
3	Q3UMT1	SGEDPAAAGPAAAAAAR	[1] S(+42,01)	0,005	меньше	30,30%	0,458	0,690	0,023	5	0,667	0,721
4	Q9D8Y0	ATDELASK	[1] A(+42,01)	0,004	меньше	29,90%	0,524	0,813	0,047	5	0,768	0,876
5	P97823	SAPMPAVVPAAR	[1] S(+42,01)	0,018	больше	23,70%	1,365	1,078	0,051	3	1,019	1,109
6	P63242	ADDLDFETGDAGASATFPMQC SALRK	[1] A(+42,01)	0,021	больше	22,50%	1,389	1,001	0,092	8	0,896	1,163
7	P15105	TCLLNETGDEFFQYK	[15] K(+114,04)	0,006	меньше	23,00%	0,681	1,055	0,200	8	0,924	1,466
8	Q9Z0X1	VSAQDLPNIEGGVAVLTGK	[11] N(+0,98)	0,004	больше	536,00%	8,075	1,237	0,119	11	1,074	1,446
9	A2ASQ1	ALETETGLLLYNGNAR	[11] N(+0,98)	0,001	больше	96,10%	3,089	1,386	0,175	11	1,123	1,757
10	P99029	SMVTDNGIVK	[6] N(+0,98)	0,037	больше	95,60%	1,960	0,975	0,044	7	0,889	1,028
11	Q01730	LDVNGLFSLAHITQLVLSHNK	[4] N(+0,98)	0,022	больше	79,40%	2,316	1,155	0,222	8	0,731	1,399
12	P0DP27	VFDKDGNGYISAA	[7] N(+0,98)	0,046	меньше	78,00%	0,076	1,044	0,099	8	0,891	1,167
13	P68254	AVTEQGAELSNEER	[11] N(+0,98)	0,034	больше	53,10%	1,831	1,149	0,050	4	1,114	1,221
14	Q7TPR4	MAGTNPYTTITPQFINGK	[16] N(+0,98)	0,005	меньше	52,70%	0,284	0,843	0,074	53	0,728	1,037
15	P47934	VSDDVYRNHVAGQMLHGGGSK	[8] N(+0,98)	0,023	больше	51,80%	1,733	1,044	0,069	14	0,948	1,192
16	P17742	NAGPNTNGSQFFICTAK	[7] N(+0,98)	0,013	меньше	48,70%	0,355	0,820	0,049	9	0,754	0,875
17	Q9JK53	LDSNKIETIPNGYFK	[11] N(+0,98)	0,006	больше	44,30%	1,761	1,049	0,090	24	0,878	1,296
18	Q88207	NQDTIFEGIGGPR	[1] N(+0,98)	0,034	меньше	31,40%	0,548	1,035	0,181	4	0,873	1,288
19	Q640N1	GGCAQDYSGMGIVNGAK	[16] N(+0,98)	0,015	меньше	30,50%	0,571	0,983	0,054	16	0,871	1,048
20	Q8CAY6	TATGSFNGALSTVPVHEMGTT VIK	[7] N(+0,98)	0,009	меньше	30,00%	0,607	0,909	0,029	5	0,880	0,956
21	Q05793	TGSGLYLGQCELCNGHSDIL CHPETGACSR	[16] N(+0,98)	0,002	меньше	25,30%	0,468	0,867	0,071	115	0,687	0,993
22	Q8K1M6	KNVPSAGGGIGDGGQEPTTGN WR	[2] N(+0,98)	0,043	меньше	24,00%	0,657	0,909	0,045	3	0,875	0,960
23	P14211	GQTLVVQFTVK	[2] Q(+0,98)	0,004	меньше	24,90%	0,694	1,009	0,039	16	0,946	1,055

Примечание. ¹ – с учётом отбрасывания 10% крайних значений величины NA_{KO}/NA_{WT} при вычислении среднего.

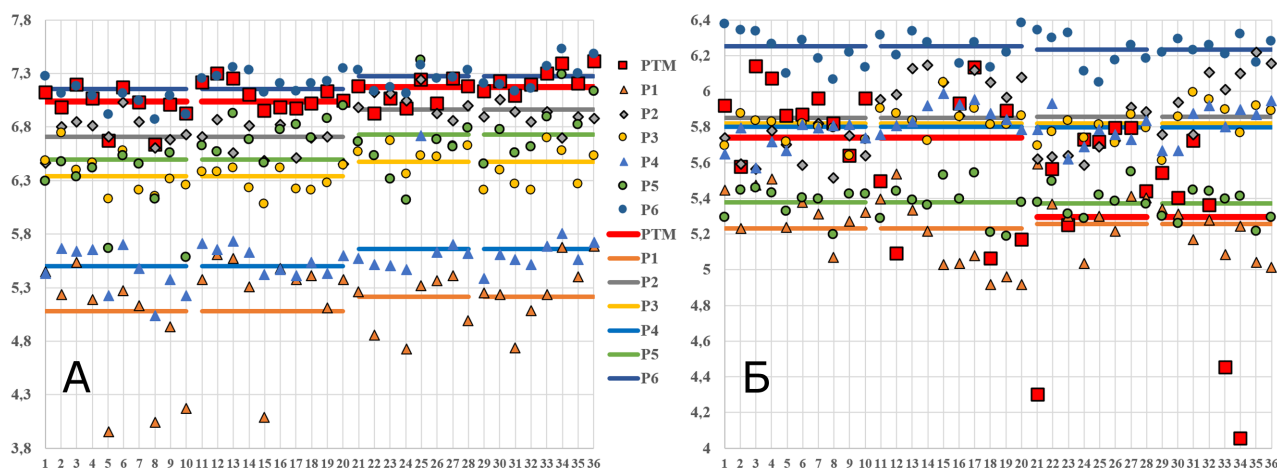


Рисунок 2. Пример, демонстрирующий варианты соотношения величины NA для разных пептидов одного белка. По оси абсцисс номера биологических проб, с 1 по 20 группа КО, с 21 по 36, группа WT, с 1 по 10 и с 21 по 28 – абдоминальный отдел, с 11 по 20 и с 29 по 36 – торакальный, по оси ординат $\log(\text{NA})$. Горизонтальные линии – средние значения величины NA для пептида по группам КО и WT. **А.** Белок P62737, PTM – пептид E(+42.01)EEDSTALVCDNGSGLCK, P1-P6 – пептиды без модификаций. **Б.** Белок P80318, PTM – пептид M(+42.01)MGHRPVLVLSQNTK, P1-P6 – пептиды без модификаций.

protein 1 subunit gamma), P43274 (Histone H1.4), P97823 (Acyl-protein thioesterase 1), P63242 (Eukaryotic translation initiation factor 5A-1). Уменьшение: Q3UMT1 (Protein phosphatase 1 regulatory subunit 12C), Q9D8Y0 (EF-hand domain-containing protein D2). Данных о прямой связи этих белков с ФМД в литературных источниках не обнаружено. Функции этих белков, которые из общих соображений могли бы иметь отношение к данной патологии, — это шаперон-опосредованное сворачивание белков (P80318, здесь и далее роли белков взяты из соответствующей записи в UNIPROT), регуляция процессов макроавтофагии и транспорта белков из системы Гольджи в плазматическую мембрану (P97823), регуляция апоптоза (P63242, Q9D8Y0), регуляция сборки актинового цитоскелета (Q3UMT1). Были отобраны также 16 белков со значимыми изменениями уровня дезаминирования (табл. 2). В литературе упоминается связь с ФМД дезаминирования остатков аспарагина белков внеклеточного матрикса, в частности фибронектина и тенасцина С, в результате которого может усиливаться адгезия моноцитов [15]. Для тенасцина в данной работе был идентифицирован всего один немодифицированный пептид. Для фибронектина (P11276) было зарегистрировано 88 вариантов пептидов, 11 из которых содержали дезаминированный остаток аспарагина. Ни для одного из них не было показано достоверного различия среднего NA между группами КО и WT.

Изменение уровня дезаминирования в первую очередь обусловлено условиями в месте локализации белка в клетке [1]. Это косвенный параметр, к тому же зависимый от состояния конкретного животного. Разброс значений величины NA в пределах каждой группы очень большой. Например, для белка Q9Z0X1 (Apoptosis-inducing factor 1) NA варьирует в пределах 2 порядков в группе КО и до 2,5 порядков в группе WT, в то время как для немодифицированных

пептидов диапазон изменений NA не более 1,5 порядка. Кроме того, пептиды с дезаминированием чаще не идентифицируются в какой-либо конкретной пробе. Тем не менее, эти данные тоже могут оказаться полезными. Например, пептид VSAQDLPNIEGGVAVLTGK белка Q9Z0X1 встречается в дезаминированной форме в группе КО в 5 раз больше, чем в группе WT. Учитывая, что одна из его основных биологических функций — регуляция апоптоза, то это может быть важным. У других белков из этой группы также есть функции, которые могут быть связанными с ФМД. Например, аргин (A2ASQ1, argin) регулирует организацию цитоскелета микротрубочек; кальмодулин 2 (P0DP27, calmodulin 2) — часть пути передачи кальциевого сигнала, контролирует работу большого числа ферментов, ионных каналов, аквапоринов и других белков; в список попали и такие структурные белки, как актин (Q7TPR4, Alpha-actinin-1) и коллаген (O88207, Collagen alpha-1).

В заключение важно отметить, что результаты, полученные в настоящей работе, не могут считаться прямым доказательством вовлеченности данных белков в процесс развития ФМД. Тем более, что в исследовании [8] использовали мышей с нокаутом генов, только предположительно важных для развития ФМД. Тем не менее, повторный биоинформатический анализ данных, депонированных в специализированных базах данных, позволил выявить изменения в уровне N-концевого ацетилирования белков, которые могут быть функционально значимыми в механизме развития фибромускулярной дисплазии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (№ 122030100170-5).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Данная работа не содержит каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дополнительные материалы доступны в электронной версии статьи на сайте журнала (pbmc.ibmc.msk.ru).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кнорре Д.Г., Кудряшова Н.В., Годовикова Т.С. (2009) Химические и функциональные аспекты посттрансляционной модификации белков. *Acta Naturae*, **1**(3), 32–56. [Knorre D.G., Kudryashova N.V., Godovikova T.S. (2009) Chemical and functional aspects of posttranslational modification of proteins. *Acta Naturae*, **1**(3), 29–51.] DOI: 10.32607/20758251-2009-1-3-29-51
2. ProteomeXchange. Retrieved July 20, 2024, from: <https://proteomecentral.proteomexchange.org>
3. Нарыжный С.Н., Легина О.К. (2019) Структурно-функциональное многообразие протеоформ белка p53. *Биомедицинская химия*, **65**(4), 263–276. [Naryzhny S.N., Legina O.K. (2019) Structural-functional diversity of p53 proteoforms. *Biomeditsinskaya Khimiya*, **65**(4), 263–276.] DOI: 10.18097/PBMC20196504263
4. Кисриева Ю.С., Петушкова Н.А., Саменкова Н.Ф., Кузнецова Г.П., Ларина О.В., Теряева Н.Б., Усачев Д.Ю., Згода В.Г., Карузина И.И. (2019) Сравнительный анализ модификаций протеома плазмы крови больных церебральной ишемией на основе метода ВЭЖХ-МС/МС. *Биомедицинская химия*, **65**(3), 251–258. [Kisrieva Y.S., Petushkova N.A., Samenkova N.F., Kuznetsova G.P., Larina O.B., Teryaeva N.B., Usachev D.Yu., Zgoda V.G., Karuzina I.I. (2019) Comparative analysis of post-translational modifications in plasma proteome of patients with cerebral ischemia based on HPLC-MS/MS method. *Biomeditsinskaya Khimiya*, **65**(3), 251–258.] DOI: 10.18097/PBMC20196503251
5. Скворцов В.С., Иванова Я.О., Воронина А.И. (2021) Биоинформатическая идентификация белков с меняющимся уровнем посттрансляционных модификаций при экспериментальном ишемическом инсульте у мышей. *Биомедицинская химия*, **67**(6), 475–484. [Skvortsov V.S., Ivanova Ya.O., Voronina A.I. (2021) The bioinformatic identification of proteins with varying levels of post-translational modifications in experimental ischemic stroke in mice. *Biomeditsinskaya Khimiya*, **67**(6), 475–484.] DOI: 10.18097/PBMC20216706475
6. Simats A., Ramiro L., García-Berrocso T., Briansó F., Gonzalo R., Martín L., Sabé A., Gill N., Penalba A., Colomé N., Sánchez A., Canals F., Bustamante A., Rosell A., Montaner J. (2020) A mouse brain-based multi-omics integrative approach reveals potential blood biomarkers for ischemic stroke. *Mol. Cell. Proteomics*, **19**(12), 1921–1936. DOI: 10.1074/mcp.RA120.002283
7. Proteomics identification database, project PXD051750. DOI: 10.6019/PXD051750
8. d'Escamard V., Lu S., Weiser-Evans M.C., Kovacic J. (2024) Integrative gene regulatory network analysis discloses key driver genes of fibromuscular dysplasia in females: The DEFINE-FMD study, accepted by Nature Cardiovascular Research.
9. Gornik H.L., Persu A., Adlam D., Aparicio L.S., Azizi M., Boulanger M., Bruno R.M., de Leeuw P., Fendrikova-Mahlay N., Froehlich J., Ganesh S.K., Gray B.H., Jamison C., Januszewicz A., Jeunemaitre X., Kadian-Dodov D., Kim E.S., Kovacic J.C., Mace P., Morganti A., Sharma A., Southerland A.M., Touzé E., van der Niepen P., Wang J., Weinberg I., Wilson S., Olin J.W., Plouin P.F. (2019) First international consensus on the diagnosis and management of fibromuscular dysplasia. *Vas. Med.*, **24**(2), 164–189. DOI: 10.1177/1358863X18821816
10. Khoury M.H., Gornik H.L. (2017) Fibromuscular dysplasia (FMD). *Vasc. Med.*, **22**(3), 248–252. DOI: 10.1177/1358863X17700716
11. Yang-Jensen K.C., Sara M., Jørgensen S.M., Chuang C.Y., Davies M.J. (2024) Modification of extracellular matrix proteins by oxidants and electrophiles. *Biochem. Soc. Trans.*, **52**(3), 1199–1217. DOI: 10.1042/BST20230860
12. Ma B., Zhang K., Hendrie C., Liang C., Li M., Doherty-Kirby A., Lajoie G. (2003) PEAKS: Powerful software for peptide *de novo* sequencing by tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **17**(20), 2337–2342. DOI: 10.1002/rcm.1196
13. The UniProt Consortium (2020) UniProt: The universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Res.*, **49**(D1), D480–D489. DOI: 10.1093/nar/gkaa1100
14. Proteomics LC-MS version 4.0, Nonlinear Dynamics, Newcastle upon Tyne, UK.
15. Dutta B., Park J.E., Kumar S., Hao P., Gallart-Palau X., Serra A., Ren Y., Sorokin V., Lee C.N., Ho H.H., de Kleijn D., Sze S.K. (2017) Monocyte adhesion to atherosclerotic matrix proteins is enhanced by Asn-Gly-Arg deamidation. *Sci. Rep.*, **7**, 5765. DOI: 10.1038/s41598-017-06202-2

Поступила в редакцию: 15. 07. 2024.
После доработки: 30. 07. 2024.
Принята к печати: 05. 08. 2024.

**BIOINFORMATIC IDENTIFICATION OF PROTEINS WITH ALTERED PTM LEVELS
IN A MOUSE LINE ESTABLISHED TO STUDY THE MECHANISMS
OF THE DEVELOPMENT OF FIBROMUSCULAR DYSPLASIA**

*A.I. Voronina, Yu.V. Miroshnichenko, V.S. Skvortsov**

Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: vladlen@ibmh.msk.su

Data from a mass spectrometry experiment of a mouse line developed to study the mechanisms of fibromuscular dysplasia and deposited by d'Escamard et al. in ProteomeXchange (PXD051750) have been analyzed. Identification of peptides with post-translational modifications (PTMs) was repeated using more stringent conditions than in the original work. The following modifications were considered during analysis of changes in the PTM levels in experimental and control groups of mice: acetylation of lysine residue and N-terminal protein peptide, ubiquitination of lysine residue, phosphorylation of serine, threonine and tyrosine residues, and deamination of asparagine and glutamine residues. The multistage analysis resulted in selection of 23 proteins with PTMs for which different levels of modification between experimental and control groups could be assumed. These included six proteins with N-terminal protein acetylation, which were particularly interesting: P80318 (T-complex protein 1 subunit gamma), P43274 (Histone H1.4), P97823 (Acyl-protein thioesterase 1), P63242 (Eukaryotic translation initiation factor 5A-1), Q3UMT1 (Protein phosphatase 1 regulatory subunit 12C), Q9D8Y0 (EF-hand domain-containing protein D2). Thus, repeated bioinformatic analysis of the data deposited in the specialized databases resulted in detection of changes in the level of N-terminal acetylation of proteins that might be functionally significant in the mechanisms underlying the development of fibromuscular dysplasia.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: posttranslational modifications; fibromuscular dysplasia; bioinformatics

Funding. The work was performed within the framework of the Program for Basic Research in the Russian Federation for a long-term period (2021–2030) (No. 122030100170-5).

Received: 15.07.2024; revised: 30.07.2024; accepted: 05.08.2024.