

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА, ИНДУЦИРОВАННОГО «GMDP-ОБРАЗНЕСУЩИМ» ПЕПТИДОМ RN: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ С МУРАМИЛПЕПТИДАМИ

© 2019 г. Л. Г. Алексеева^{1*}, Е. А. Мешерякова¹, А. Г. Ламан²,
Т. М. Андропова³, В. Т. Иванов¹

*E-mail: luda.alekseeva@mail.ru

¹ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина
и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

²ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина
и Ю. А. Овчинникова РАН, Пушкино, Московская область, Россия;

³АО «ПЕПТЕК», Москва, Россия

Поступила: 14.01.2019. Принята: 25.01.2019

Для изучения механизма действия пептидного миметика мурамилпептида GMDP RN оценивалось его влияние на уровень экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α и молекул, принимающих участие в активации NF- κ B сигнального пути, в клетках линии лейкоцитарных моноцитов человека THP-1. Для сравнения были использованы собственно GMDP и два его аналога с хорошо охарактеризованной биологической активностью — GMDP-кислота и GMDP-Lys. Все соединения демонстрировали значительные отличия в ходе развития иммунного ответа: наиболее сильным стимулятором иммунного ответа оказался GMDP-Lys; GMDP-кислота в большей степени усиливала экспрессию субъединицы p100/p52 (NF- κ B2) и в меньшей степени экспрессию IL-1 β по сравнению с GMDP; особенностями пептида RN являлись низкий уровень продукции IL-1 β и стимуляция адапторного белка RIP2 для рецептора NOD2 врожденного иммунитета. Все исследованные соединения являются ценными инструментами для поиска новых способов коррекции иммунного ответа.

Ключевые слова: мурамилпептиды, рецепторы NOD2 и TLR4, NF- κ B

DOI: 10.31857/S102872210005025-2

Адрес: 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ИБХ РАН, Алексеева Людмила Геннадьевна,
Тел. 7 (495) 335-61-77.

E-mail: luda.alekseeva@mail.ru

Авторы:

Алексеева Л. Г., к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории химии пептидов ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

Мешерякова Е. А., к.х.н., научный сотрудник лаборатории химии пептидов ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

Ламан А. Г., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФГБУН Филиала Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пушкино, Московская область, Россия;

Андропова Т. М., к.х.н., президент компании АО «Пептек», Москва, Россия;

Иванов В. Т., д.х.н., академик, заведующий лабораторией химии пептидов ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия.

мии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с современными представлениями врожденный иммунитет млекопитающих служит не только передовой линией защиты организма от патогенных микроорганизмов [1], но также необходим для поддержания нормального гомеостаза тканей [2] и распознавания сигналов от поврежденных клеток [3]. Нарушения иммунного ответа сопровождаются возникновением инфекционных [4], онкологических [5] и аутоиммунных [6] заболеваний.

К настоящему времени установлено, что клетки иммунной системы «узнают» определенные фрагменты инфекционных агентов с помо-

щью семейств мембранных TLR [7] и лектинов С-типа [8], а также внутриклеточных NLR белков [9] и RIG-I-хеликаз [10]. Основные бактериальные PAMPs (от англ. pathogen-associated molecular patterns) включают липополисахарид (LPS, лиганд TLR4) [11], фрагменты пептидогликана клеточной стенки (TLR2) [12], пептиды FPR1-3 [13], содержащие характерные для прокариотов остатки N-формилметионина, и неметилованную ДНК (TLR9) [14].

NOD1 и NOD2, два наиболее изученных рецептора из семейства NLR, распознают низкомолекулярные фрагменты пептидогликана клеточной стенки бактерий – соответственно, γ -D-глутамил-мезо-диаминопимелиновую кислоту (iE-DAP) [15] и мурамилдипептид (MDP), а также его дисахаридсодержащий аналог глюкозаминилмурамилдипептид (GMDP) [16]. При распознавании лиганда NOD1 и NOD2 олигомеризуются и взаимодействуют с RIP2, что приводит к активации канонических NF- κ B и MAPK сигнальных путей [17, 18].

В Институте биоорганической химии более 30 лет проводятся исследования фрагментов пептидогликана клеточных стенок бактерий – GMDP и ряда его аналогов, способных эффективно модулировать иммунный статус [19]. Их структура служит отличным объектом для химических модификаций и изучения структурно-функциональных взаимоотношений как с целью получения более эффективных препаратов, так и использования их в качестве инструментов для изучения механизмов иммунного ответа.

Мурамилпептид GMDP нашёл применение в медицине (лекарственный препарат Ликопид®) и ветеринарии (препарат Гликопин®) как иммунокорректор и адъювант.

Пептидный миметик GMDP, получивший название RN-пептид, был найден с помощью высокоспецифичных моноклональных антител против GMDP и пептидных комбинаторных библиотек в формате фагового дисплея [20]. Пептид RN обладал адъювантной активностью, сходной с адъювантной активностью GMDP, но не проявлял присущего GMDP пирогенного эффекта. Для углублённого исследования механизма действия данного пептида в настоящей работе мы оценивали его влияние на уровень экспрессии мРНК ряда провоспалительных и рецепторных молекул в клеточной линии лейкоцитарных моноцитов человека THP-1. Для сравнения были использованы собственно GMDP и два его аналога с хорошо охарак-

теризованной биологической активностью – GMDP-кислота и GMDP-Lys.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

GMDP и GMDP-кислота предоставлены ЗАО «Пептек», Россия; GMDP-Lys и пептид RN синтезированы в лаборатории химии пептидов ИБХ РАН.

Клетки

Работа выполнена на клеточной линии лейкоцитарных моноцитов человека THP-1, полученной из коллекции Института цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия. Клетки культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10% эмбриональной фетальной сыворотки, при 37 °C и 5% CO₂.

Для проведения эксперимента клетки вносили в лунки 12-луночного планшета в концентрации 2×10^6 клеток в 3 мл среды на лунку. К клеткам добавляли GMDP, GMDP-кислоту, GMDP-Lys или пептид RN в концентрации 1, 10 или 100 мкг/мл и инкубировали клетки в течение 2 ч.

ПЦР

Выделение тотальной РНК из клеток проводили реагентом TRIzol® (Invitrogen, США) по протоколу фирмы-производителя.

Для синтеза кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием фермента Mint («Евроген», Россия) и поли(Т) праймера по стандартному протоколу фирмы-производителя.

Полимеразную цепную реакцию проводили в термоциклере CX96 (BioRad, США). Реакционная смесь объёмом 12,5 мкл содержала: 1 мкг кДНК, 2,5 мкл готовой 5-кратной реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия), в которую входят Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, краситель SYBR Green I, смесь нуклеотидтрифосфатов, MgCl₂, ПЦР буфер, и по 10 пМ каждого из двух специфичных олигонуклеотидов.

Протокол амплификации включал: 1 цикл продолжительностью 4 мин денатурации при 94 °C, 40 циклов: по 20 сек при 94 °C для денатурации цепей ДНК, 20 сек при 60 °C для отжига праймеров с матрицей) и 40 сек при 72 °C для синтеза комплиментарных цепей ДНК, и 1 цикл завершающего синтеза в течение 3 мин при 72 °C. Расчёт относительного уровня мРНК целевых генов был выполнен с использованием deltaCT-

метода [21]. Относительная концентрация субстрата была нормализована по усреднённым данным амплификации двух эндогенных генов сравнения – HPRT1 и B2M: $\Delta\Delta CT = CT(\text{target gene}) - CT(\text{reference gene})$, где CT – количество циклов, требуемых для достижения порогового значения флуоресценции. Относительный уровень мРНК вычисляли как $x \cdot \Delta\Delta CT$, где x – эффективность праймеров [22]. Все реакции проводили в двух повторностях и включали негативный контроль без обратной транскриптазы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее было показано, что основное отличие биологического действия пептида RN от продуктов микробного происхождения, каким является GMDP, заключается в отсутствии пирогенного эффекта [23]. При этом RN-пептид обладал сравнимыми с GMDP адьювантными свойствами и способностью стимулировать экспрессию молекул МНС II класса на перитонеальных макрофагах мышей. Максимальный адьювантный эффект для пептида RN наблюдался в дозе 10 мкг на животное, в то время как GMDP в аналогичных условиях обладал более низкой активностью и эквивалентные значения индексов стимуляции достигались при 100 мкг GMDP на мышшь.

Что касается гликопептидов, модификация молекулы GMDP влияла на адьювантную и пирогенную активности полученных соединений [24]. Так, удлинение пептидной части GMDP на остаток лизина усиливало и пирогенные, и адьювантные свойства. Замена остатка изо-глутамина на остаток глутаминовой кислоты приводила к ис-

чезновению пирогенного эффекта и сохранению адьювантных свойств. Кроме того, для апиогенной GMDP-кислоты индексы стимуляции при всех исследованных концентрациях были больше, чем для GMDP.

В той же работе Мещеряковой Е. А. с соавторами [24] была изучена способность GMDP и его аналогов влиять на продукцию IL-1 перитонеальными макрофагами, которая оценивалась по индексу стимуляции реакции бласттрансформации тимоцитов в присутствии фитогемагглютина. Стимуляция гликопептидами продукции IL-1 *in vitro* была характерна только для соединений, обладающих адьювантным действием *in vivo*; наибольший эффект был обнаружен для GMDP-Lys.

В данной работе свойства пептида RN и мурамилпептидов изучали *in vitro* на клеточной линии лейкемических моноцитов человека THP-1. Клетки выдерживали в течение 2 ч в присутствии указанных соединений, взятых в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл, и далее оценивали изменение экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и молекул, принимающих участие в активации NF- κ B пути. Специфические олигонуклеотиды, используемые для амплификации фрагментов целевых молекул, приведены в таблице 1.

Поскольку продукция провоспалительных цитокинов является одной из основных характеристик воспалительного ответа, на первоначальном этапе мы оценивали экспрессию мРНК IL-1 β и TNF- α . Как и ожидалось, среди всех изученных соединений в наибольшей степени стимулировал продукцию провоспалительных

Таблица 1. Синтетические олигонуклеотиды

HPRT1	cctgctggattacatcaagcactg	tccaacacttcgtgggtcct
B2M	atgagtatgcctgccgtgtg	ccaaatgcggcatcttcaaac
IL-1 β	acagtggcaatgaggatg	tgtagtggtggtcggaga
TNF- α	atgagcactgaaagcatgatc	tcacagggcaatgatcccaaagtagacctgcc
NOD2	caatgtcacccacagagttgtagtcc	ggcacctcaagttgacatttgc
RIP2	ccattgagatttgcgtcct	atgcgccatttgataaac
TLR4	acagaagctggtggctgtg	tctttaaagtcacctggttg
MyD88	ttgaggaggattgcaaaag	ggggtcatcaagtggtg
p105/p50	cagcagatggcccatacctt	ttgcagatttgacctgagggt
p100/p52	acacgtaccgacagacaacc	ttccttcacctgtgctgg
NLRP3	cttctctgataggcccaag	gcagcaaactggaaaggaag

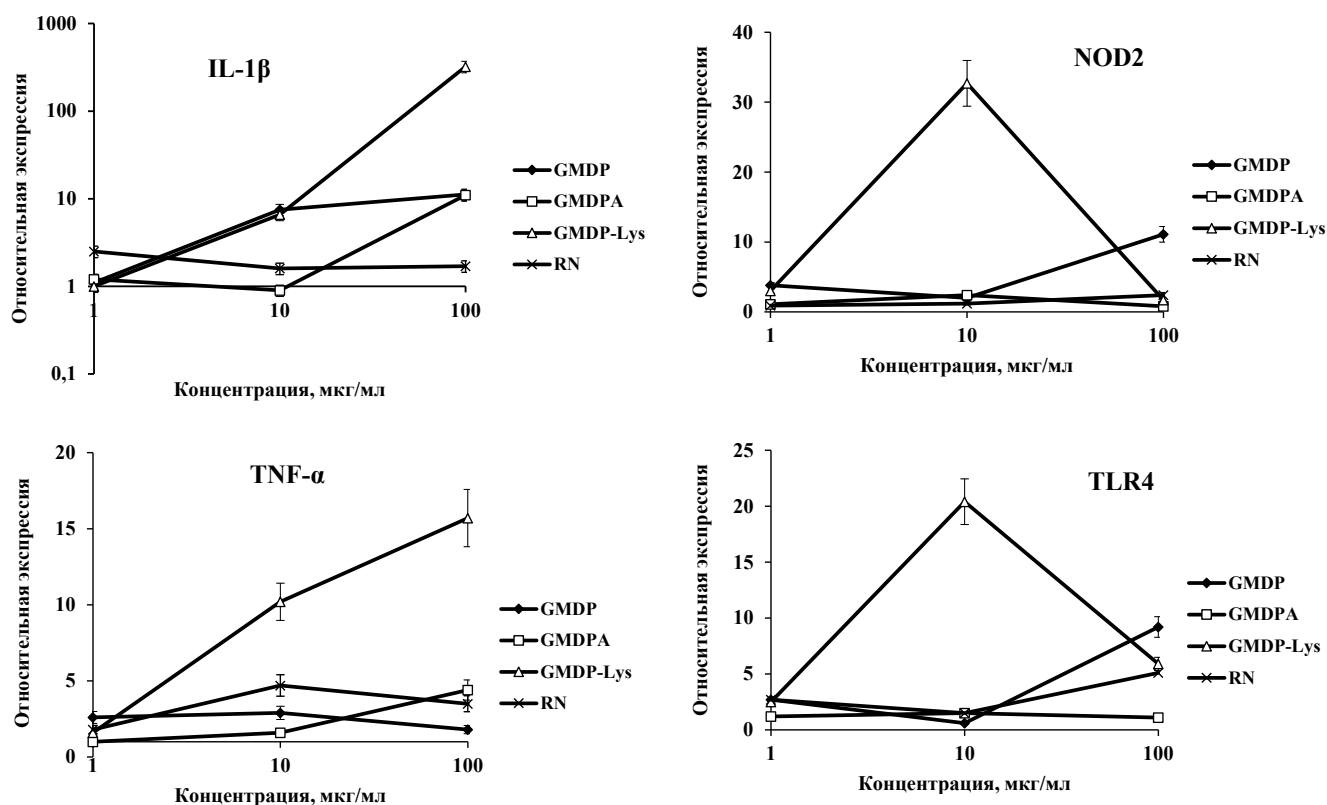


Рис. 1. Влияние пептида RN и мурамилпептидов на относительный уровень мРНК провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α .

цитокинов GMDP-Lys. Интересно, что в случае GMDP-кислоты при концентрациях 1 и 10 мкг не наблюдалось влияния на синтез IL-1 β , представляющего собой сильный пироген, хотя при концентрации 100 мкг/мл действие её было таким же, как и у GMDP. Возможно, данная разница в биологически активных концентрациях этих соединений и объясняет выявленную ранее меньшую пирогенность GMDP-кислоты. Слабая стимуляция экспрессии IL-1 β под действием пептида RN также хорошо коррелирует с отсутствием у него пирогенности, хотя пептид был способен индуцировать продукцию TNF- α на уровне GMDP и GMDP-кислоты.

Известно, что основным рецептором врождённого иммунитета, ответственным за распознавание дисахаридсодержащих мурамилпептидов, является рецептор NOD2. При распознавании лиганда NOD2 взаимодействуют с адапторным белком RIP2, что приводит к активации NF- κ B сигнального пути [17, 18]. Так как врождённый иммунитет представляет собой систему взаимосвязанных рецепторов, в данной работе мы анализировали также мРНК рецеп-

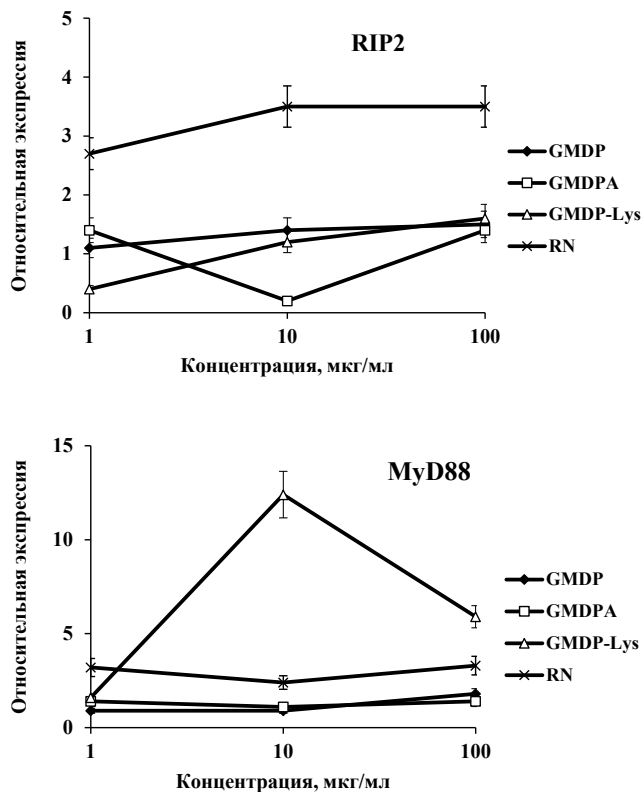


Рис. 2. Влияние пептида RN и мурамилпептидов на относительный уровень мРНК рецепторов врождённого иммунитета NOD2 и TLR4 и их адапторных молекул RIP2 и MYD88.

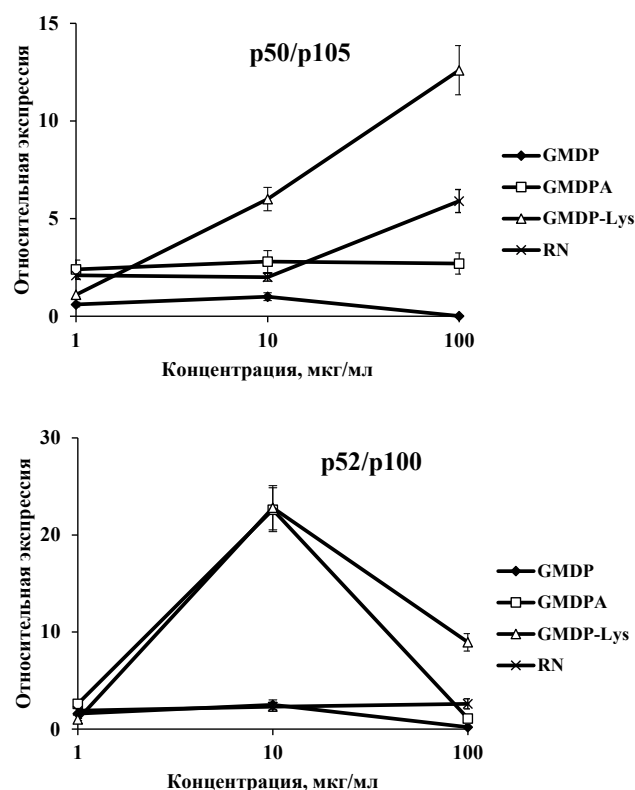


Рис. 3. Влияние пептида RN и мурамилпептидов на относительный уровень мРНК субъединиц p105/p50 (NF-kB1) и p100/p52 (NF-kB2) транскрипционного комплекса NF-kB.

тора TLR4 (лиганд LPS), демонстрирующего совместно с NOD2 ярко выраженный синергический эффект [25], а также мРНК одного из его белков-адапторов MyD88. Ранее с использованием клеточной линии макрофагов мыши J774 мы показали, что GMDP и LPS взаимнообразно влияют на экспрессию своих рецепторов и их белков-адапторов, причём особенно значительными были стимулирующие эффекты от LPS на экспрессию NOD2 и от GMDP на MyD88 [26].

Максимальное содержание мРНК NOD2, TLR4 и MyD88 под действием GMDP-Lys хорошо коррелирует с данными по экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов; максимальный эффект наблюдался при концентрации 10 мкг/мл. Далее заметный эффект на NOD2 и TLR4 оказывал GMDP, но уже в концентрации 100 мкг/мл. Наиболее сильное отличие действия пептида RN проявилось при увеличении продукции RIP2, в то время как мурамилпептиды на неё не влияли. Примерно такие же индексы стимуляции от пептида RN во всём диапазоне концентраций были обнаруже-

ны для молекулы MyD88. Таким образом, возможный механизм действия пептида RN связан с активацией непосредственно адапторных молекул в обход NOD2-рецептора, чем и объясняется разница биологической активности данного пептида и мурамилпептидов.

Значительная разница в действии изученных соединений наблюдалась при анализе относительного содержания мРНК субъединиц p105/p50 (NF-kB1) и p100/p52 (NF-kB2) транскрипционного комплекса NF-kB. Если продукция молекулы p105/p50 максимально усиливалась под действием GMDP-Lys и пептида RN, то на продукцию молекулы p100/p52 в первую очередь влияли уже GMDP-Lys и GMDP-кислота. Поскольку комплекс фактора транскрипции NF-kB состоит из пяти субъединиц, работающих в виде димеров и способных формировать соответственно пятнадцать различных пар с привлечением дополнительных кофакторных молекул [27], полученные результаты могут отражать один из уровней тонкой регуляции формирующегося иммунного ответа.

Наконец, последняя из исследованных молекул – белок NLRP3, NOD-подобный рецептор семейства NALP, основной компонент для формирования инфламасом. Данный белок вовлечён в активацию каспаз, что приводит к внутриклеточному процессингу и образованию зрелой активной формы IL-1 β и IL-18. Такой криопириновый тип инфламасом может активироваться при взаимодействии с разнообразными лигандами, в их число входят и мурамилпептиды [28]. Самым сильным стимулятором мРНК NLRP3 оказался GMDP в отличие от GMDP-Lys, пептид RN в данном случае проявлял среднюю активность.

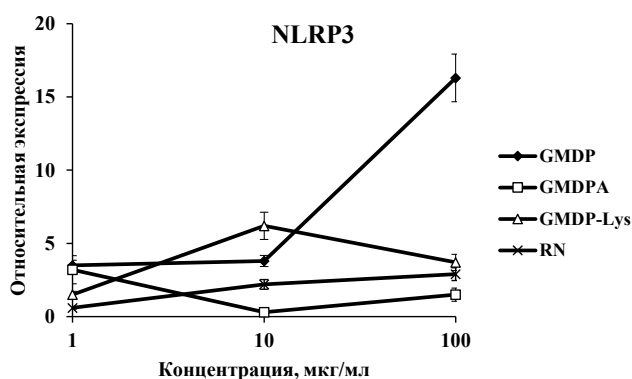


Рис. 4. Влияние пептида RN и мурамилпептидов на относительный уровень мРНК рецептора NLRP3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты настоящей работы демонстрируют значительные отличия в ходе инициации и развития иммунного ответа как в ряду самих мурамилпептидов, так и между мурамилпептидами и «отражающим образ GMDP» пептидным миметиком RN. На примере исследованных соединений показаны широкие возможности для поиска новых способов коррекции иммунного ответа, индуцируемого системой врождённого иммунитета, и подходов к лечению заболеваний различной этиологии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов 13-04-02008а и 16-04-01152а и АО «Пептек».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Grubbs H., Whitten R. A. Physiology, Active Immunity. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL) 2018.
2. Belkaid Y., Harrison O. J. Homeostatic Immunity and the Microbiota. Immunity 2017, 46(4), 562–576.
3. Yang, Han. Z., Oppenheim J. J. Alarms and immunity. Immunol Rev. 2017, 280(1), 41–56.
4. Tang J., Wu Z. Y., Dai R. J., Ma J., Gong G. Z. Hepatitis B virus-persistent infection and innate immunity defect: Cell-related or virus-related? World J. Clin. Cases 2018, 6(9), 233–241.
5. Man S. M. Inflammasomes in the gastrointestinal tract: infection, cancer and gut microbiota homeostasis. Nat Rev Gastroenterol. Hepatol. 2018, 15(12), 721–737.
6. McGonagle D., Wataad A., Savic S. Novel immunological based classification of rheumatoid arthritis with therapeutic implications. Autoimmun. Rev. 2018, 17(11), 1115–1123.
7. Ozinsky A., Smith K. D., Hume D., Underhill D. M. Co-operative induction of pro-inflammatory signaling by Toll-like receptors. J Endotoxin Res. 2000, 6(5), 393–396.
8. Patin E. C., Orr S. J., Schaible U. E. Macrophage inducible C-Type Lectin as a multifunctional player in immunity. Front. Immunol. 2017, 8, 861.
9. Elinav E., Strowig T., Henao-Mejia J., Flavell R. A. Regulation of the antimicrobial response by NLR proteins. Immunity 2011, 34, 665–679.
10. Liu Y., Olganier D., Lin R. Host and Viral Modulation of RIG-I-Mediated Antiviral Immunity. Front. Immunol. 2017, 7, 662.
11. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M. Y., Van H. C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. Science 1998, 282, 2085–2088.
12. Dziarski R. Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system. Cell Mol. Life Sci. 2003, 60(9), 1793–804.
13. Panaro M. A., Acquafredda A., Sisto M., Lisi S., Maffione A. B., Mitolo V. Biological role of the N-formyl peptide receptors. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 2006, 28, 103–127.
14. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. Nature 2000, 408, 740–745.
15. Girardin S. E., Boneca I. G., Garneiro L. A., Antignac A., Jehanno M., Viala J., Tedin K., Labigne A., Zahringer U., Coyle A. J., DiStefano P. S., Bertin J., Sansonetti P. J., Philpott D. J. Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. Science 2003, 300, 1584–1587.
16. Girardin S. E., Boneca I. G., Viala J., Chamaillard M., Labigne A., Thomas G., Philpott D. J., Sansonetti P. J. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. J. Biol. Chem. 2003, 278, 8869–8872.
17. Barnich N., Aguirre J. E., Reinecker H. C., Xavier R., Podolsky D. K. Membrane recruitment of NOD2 in intestinal epithelial cells is essential for nuclear factor- κ B activation in muramyl dipeptide recognition. J. Cell Biol. 2005, 170, 21–26.
18. Chen G., Shaw M. H., Kim Y. G., Nuñez G. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. Annu. Rev. Pathol. 2009, 4, 365–98.
19. Ростовцева Л. И., Андропова Т. М., Малькова В. П., Сорокина И. Б., Иванов В. Т. Синтез и противопухоловое действие гликопептидов, содержащих N-ацетилглюкозаминил-(β 1 $\rightarrow$ 4)-N-ацетилмурамил-дисахаридное звено. Биоорг. химия 1981, 7(12), 1843–1858. [Rostovtseva L. I., Andronova T. M., Mal'kova V. P., Sorokina I. B., Ivanov V. T. Synthesis and antitumor activity of glycopeptides containing N-acetylglucosaminyl-(β 1 $\rightarrow$ 4)-N-acetylmuramyl disaccharide unit, Bioorg. Khim 1981, 7(12), 1843–1858.]
20. Ламан А. Г., Шепеляковская А. О., Бозиев Х. М., Савинов Г. В., Бровко Ф. А., Несмеянов В. А. Метод получения адъювантно активных пептидов — миметиков GMDP с использованием моноклональных антител и комбинаторных библиотек пептидов в формате фагового дисплея. Биоорг. химия 2010, 36(2), 170–177. [Laman A. G., Shepeliakovskaya A. O., Boziev Kh. M., Savinov G. V., Brovko F. A., Nesmeianov V. A. A method for the preparation of adjuvant peptide mimetics of GMDP with the use of monoclonal antibodies and combinatorial libraries of peptides in the format of phage display. Bioorg. Khim. 2010, 36(2), 170–177.]
21. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 $^{-\Delta\Delta C_T}$ Method. Methods 2001, 25(4), 402–408.
22. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 2001, 29(9), e45.

23. Laman A. G., Shepelyakovskaya A. O., Bozhev Kh. M., Savinov G. V., Baidakova L. K., Chulin A. N., Chulina I. A., Korpela T., Nesmeyanov V. A., Brovko F. A. Structural modification effects on bioactivities of the novel 15-mer peptide adjuvant. *Vaccine* 2011, 29(44), 7779–7784.
24. Мещерякова Е. А., Гурьянова С. В., Макаров Е. А., Андронova Т. М., Иванов В. Т. Структурно-функциональное исследование глюкозаминилмураомилпептидов. Влияние химической модификации N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмураомилпептида на его иммуномодулирующие свойства *in vivo* и *in vitro*. *Биоорган. химия* 1991, 17(9), 1157–1165. [Meshcheryakova E. A., Guryanova S. V., Makarov E. A., Andronova T. M., Ivanov V. T. Structure-function investigation of glucosaminylmuramylpeptides. Influence of chemical modification of the N-acetylglucosaminyl-N-acetylmuramyl dipeptide (GMDP) on its immunomodulatory properties *in vivo* and *in vitro*. *Bioorg. Khim.* 1991, 17(9), 1157–1165.]
25. Fritz J. H., Girardin S. E., Fitting C., Werts C., Mengin-Lecreulx D., Caroff M., Cavillon J. M., Philpott D. J., Adib-Conquy M. Synergistic stimulation of human monocytes and dendritic cells by Toll-like receptor 4 and NOD1- and NOD2-activating agonists. *Eur. J. Immunol.* 2005, 35(8), 2459–2470.
26. Мещерякова Е. А., Алексеева Л. Г., Андронova Т. М. Роль мурамилпептидов в клеточной модели воспалительного иммунного ответа, *Российский иммунологический журнал*, 2015, 9(18), 3, 301–323. [Meshcheryakova E. A., Alekseeva L. G., Andronova T. M. The role of muramylpeptides in cellular model of inflammatory immune response. *Russian J. Immunol.* 2015, 9(18), 3, 301–323.]
27. Concetti J., Wilson C. L. NFKB1 and Cancer: Friend or Foe? *Cells* 2018, 7(9), pii: E133.
28. Martinon F., Agostini L., Meylan E., Tschopp J. Identification of bacterial muramyl dipeptide as activator of the NALP3/cryopyrin inflammasome. *Curr. Biol.* 2004, 14(21), 1929–1934.

CHARACTERISTICS OF IMMUNE RESPONSE INDUCED BY GMDP PEPTIDE MIMETIC RN: A COMPARATIVE ANALYSIS WITH MURAMYLPEPTIDES

© 2019 L. G. Alekseeva^{1*}, E. A. Meshcheryakova¹, A. G. Laman²,
T. M. Andronova³, V. T. Ivanov¹

*E-mail: luda.alekseeva@mail.ru

¹M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow, Russia;

²Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
RAS, Pushchino, Moscow region, Russia;

³Joint-Stock Company “PEPTEK”, Moscow, Russia

Received: 14.01.2019. Accepted: 25.01.2019

To study the mechanism of action of the GMDP peptide mimetic RN, its effect on the expression level of mRNA of the pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α and some molecules involved in the activation of the NF- κ B signaling pathway in human leukemic monocyte cells THP-1 was evaluated. For comparison, GMDP itself and its two analogues with well-characterized biological activity, GMDP-acid and GMDP-Lys, were used. All compounds demonstrated significant differences during the development of the immune response: GMDP-Lys turned out to be the strongest stimulator of the immune response; GMDP-acid to a greater extent enhanced the expression of the p100/p52 subunit (NF- κ B2) and to a lesser extent the expression of IL-1 β in comparison with GMDP; the peculiarities of peptide RN response were low level of IL-1 β production and stimulation of the adapter protein RIP2 of innate immunity NOD2 receptor. All compounds studied are valuable tools for finding new ways for immune response correction.

Key words: muramylpeptides, NOD2 and TLR4 receptors, NF- κ B

Authors:

Alekseeva L. G., ☐ Ph.D, senior researcher, Laboratory of Peptide Chemistry, Moscow, Russia.

117997, Russia, Moscow, Miklukho-Maklaya ul., 16/10, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences. Tel: 7 (495) 335-61-77. **E-mail:** luda.alekseeva@mail.ru;

Meshcheryakova E. A., Ph.D., researcher, Laboratory of Peptide Chemistry, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow, Russia;

Laman A. G., senior researcher, Laboratory of Immunochemistry, Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Pushchino, Moscow region, Russia;

Andronova T. M., Ph.D., president of Closed Stock Joint Company «Peptek», Moscow, Russia;

Ivanov V. T., academician, Leader of Laboratory of Peptide Chemistry, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow, Russia