

# Полногеномное секвенирование РНК как метод оценки эффектов синтетических производных меланокортина в норме и условиях острого стресса

Филиппенков И.Б.<sup>1</sup>, Ставчанский В.В.<sup>1</sup>, Глазова Н.Ю.<sup>1</sup>, Себенцова Е.А.<sup>1</sup>, Левицкая Н.Г.<sup>1,2</sup>, Мясоедов Н.Ф.<sup>1</sup>, Лимборская С.А.<sup>1</sup>, Дергунова Л.В.<sup>1</sup>

1 — ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук  
123182, г. Москва, пл. Курчатова, д. 2

2 — ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»  
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1

В целях исследования молекулярных механизмов действия пептидов меланокортинового ряда был проведен сравнительный анализ действия семакса и его структурного аналога АКТГ(6-9)PGP на транскриптом гиппокампа крыс в норме и условиях острого стресса с помощью метода RNA-Seq. Полученные результаты выявили общие и специфические эффекты пептидов меланокортинового ряда в регулировании экспрессии генов в условиях острого стресса и нормы. Предложена модель формирования ответа транскриптома на введение пептидов, основанная на аллостерическом взаимодействии пептидов с рецепторами.

**Ключевые слова:** острый стресс, пептиды меланокортинового ряда, экспрессия генов.

**Для цитирования:** Филиппенков И.Б., Ставчанский В.В., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Левицкая Н.Г., Мясоедов Н.Ф., Лимборская С.А., Дергунова Л.В. Полногеномное секвенирование РНК как метод оценки эффектов синтетических производных меланокортина в норме и условиях острого стресса. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 101-102.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.05.101-102

**Автор для корреспонденции:** Филиппенков Иван Борисович, e-mail: Filippenkov@img.ras.ru

**Финансирование.** Исследование было выполнено при поддержке грантов РФФИ (№19-14-00268) и РФФИ КОМФИ (№17-00-00104).

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 20.05.2020.

## Genome-wide RNA sequencing as a method for assessing the effects of synthetic derivatives of melanocortin under normal conditions and under acute stress

Filippenkov I.B.<sup>1</sup>, Stavchansky V. V.<sup>1</sup>, Glazova N.Yu.<sup>1</sup>, Sebentsova E.A.<sup>1</sup>, Levitskaya N.G.<sup>2</sup>, Myasoedov N.F.<sup>1</sup>, Limborska S.A.<sup>1</sup>, Dergunova L.V.<sup>1</sup>

1 — Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences  
Kurchatov Sq. 2, Moscow, 123182, Russian Federation

2 — Lomonosov Moscow State University  
Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

In order to study the molecular mechanisms of action of the peptides of the melanocortin series, a comparative analysis of the effect of Semax and its structural analogue of ACTH(6-9)PGP on transcripts of rat hippocampus under normal and acute stress conditions was performed using the RNA-Seq method. The results revealed common and specific effects of peptides in the regulation of gene expression under acute stress and normal conditions. We proposed a model for the formation of transcriptome response to peptide administration based on allosteric interaction of peptides with receptors.

**Keywords:** acute stress, peptides of the melanocortin series, gene expression.

**For citation:** Filippenkov I.B., Stavchansky V.V., Glazova N.Yu., Sebentsova E.A., Levitskaya N.G., Myasoedov N.F., Limborska S.A., Dergunova L.V. Genome-wide RNA sequencing as a method for assessing the effects of synthetic derivatives of melanocortin under normal conditions and under acute stress. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 101-102. (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.05.101-102

**Corresponding author:** Ivan B. Filippenkov, e-mail: Filippenkov@img.ras.ru

**Funding.** This work was supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant 17-74-10189 and by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), grant 17-00-00104.

**Conflicts of interest.** The authors declare no conflict of interests.

**Accepted:** 20.05.2020.

**М**ногочисленные данные свидетельствуют, что острый стресс оказывает влияние на поведение, память и способность к обучению животных и человека. Все более остро встает проблема поиска путей фармакологической коррекции стресс-вызванных изменений когнитивных функций. В настоящее время при разработке противострессовых препаратов большое значение придается созданию лекарственных средств на основе естественных регуляторных белков и пептидов. Так, было показано, что синтетическое производное меланокортина АКТГ(4-7)PGP (семакс) ослабляет последствия непредсказуемого хронического стресса, а также оказывает протекторное действие в модели вызванных стрессом нарушений памяти и поведения у крыс [1, 2]. Вместе с тем остаются не выясненными механизмы действия семакса при стрессе и связь структуры данного пептида с проявляемыми им свойствами. Транскриптомный анализ, основанный на полногеномном секвенировании клеточных РНК (RNA-Seq), является одним из наиболее современных и эффективных молекулярно-генетических подходов для установления возможных мишеней воздействия пептидов и выяснения метаболических путей, связанных с их действием.

В целях исследования молекулярных механизмов действия пептидов меланокортинового ряда был проведен сравнительный анализ действия семакса и его структурного аналога АКТГ(6-9)PGP на транскриптом гиппокампа крыс в норме и условиях острого стресса с помощью метода RNA-Seq.

### Материалы и методы

Модель острого стресса у крыс была основана на иммобилизации со световым и акустическим воздействием в течение 1ч. Пептиды (100 мкг/кг) или физиологический раствор вводили животным внутривенно за 30 мин до стресса. Уровень тревожности крыс исследовали в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «О-образный лабиринт». Анализ изменения экспрессии генов в гиппокампе крыс проводили методом RNA-Seq. Для биоинформатического анализа использовали программу David.

### Результаты

RNA-Seq анализ содержания мРНК в гиппокампе крыс, подвергнутых стрессу, выявил более 900 дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ) спустя 6ч после введения как семакса, так и АКТГ(6-9)PGP. Сравнение результатов показало, что оба пептида при стрессе преимущественно однонаправленно изменяют содержание мРНК более 300 генов. Под действием обоих пептидов наблюдалась активация экспрессии генов, кодирующих структурные белки рибосом (*Rpl9*, *Rpl39*, *Rps18* и др.), а также изменение экспрессии генов ферментных систем (*Cox7a2*, *Ntmt1*, *Hibadh* и др.) и транспорта (*Atp5j*, *Atp5l*, *Atp6ap1* и др.). Активность

семакса была связана, кроме того, с модуляцией экспрессии генов, ассоциированных с нейросигнализацией (*Gabrg1*, *Gabrb3*, *Grik3* и др.) и сплайсингом (*Crhr2*, *Nudt6*, *Slc38a5* и др.). Также под действием семакса значительно сниженной оказалась экспрессия генов, связанных с функционированием лизосом (*Glb1*, *Ctsh*, *Ctms* и др.). При этом АКТГ(6-9)PGP, в отличие от семакса, демонстрировал действие на экспрессию генов белков с РНК-связывающей активностью (*Ptbp2*, *Elavl4* и др.) и значительно снижал экспрессию генов, связанных с убиквитин-зависимым протеолизом (*Cul4b*, *Uba6*, *Ube2l6* и др.). Важно отметить, что при изучении действия семакса и АКТГ(6-9)PGP на транскриптом в норме было выявлено на порядок меньше ДЭГ — 22 и 37 соответственно. Эти гены практически не перекрывались с генами, экспрессию которых пептиды модулировали при стрессе. Такой результат указывает на отличный в сравнении с условиями стресса механизм модуляции ответа генома на введение пептидов в норме.

### Выводы

Полученные результаты выявили общие и специфические эффекты пептидов меланокортинового ряда в регулировании экспрессии генов в условиях острого стресса и нормы и позволили предложить модель формирования ответа транскриптома на введение пептидов, основанную на аллостерическом взаимодействии пептидов с рецепторами. Таким образом, сравнительный анализ изменения транскриптома в мозге крыс в ответ на введение пептидов семакса и АКТГ(6-9)PGP в норме и условиях стресса позволил выявить возможные мишени воздействия пептидов, а также предположить механизмы, обуславливающие пептидную регуляцию в мозге.

### Литература

1. Яценко К.А., Глазова Н.Ю., Иноземцева Л.С., Андреева Л.А., Каменский А.А., Гривенников И.А., Левицкая Н.Г., Долотов О.В., Мясоедов Н.Ф. Гептапептид семакс ослабляет последствия непредсказуемого хронического стресса у крыс. *Доклады академии наук* 2013; 453(5): 581–585.
2. Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Андреева Л.А., Дергунова Л.В., Левицкая Н.Г., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф. Протекторное действие семакса в модели вызванных стрессом нарушений памяти и поведения у белых крыс. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая* 2018; (4): 431–437.

### References

1. Yatsenko K.A., Glazova N.Yu., Inozemtseva L.S., Andreeva L.A., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Levitskaya N.G., Dolotov O.V., Myasoedov N.F. Heptapeptide semaks weakens consequences of unpredictable chronic stress in rats. [Heptapeptide Semax attenuates the effects of chronic unpredictable stress in rats]. *Doklady akademii nauk [Doklady Biological Sciences]* 2013; (453): 353–357. (In Russ.)
2. Glazova N.Yu., Sebensova E.A., Manchenko D.M., Andreeva L.A., Dergunova L.V., Levitskaya N.G., Limborska S.A., Myasoedov N.F. Protektornoe dejstvie semaksa v modeli vyzvannyh stressom narushenij pamyati i povedeniya u belyh krys. [The protective effect of Semax in a model of stress-induced impairment of memory and behavior in white rats]. *Izvestiya Rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya [Biology Bulletin]* 2018; (45): 394–399. (In Russ.)