



ФРАГМЕНТ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ ВОССТАНАВЛИВАЕТ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ ЖИВОТНЫХ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

© 2015 г. О. М. Вольпина*, Д. О. Короев*, Т. Д. Волкова*^{#,}
А. В. Камынина*, М. П. Филатова*, Я. В. Запорожская*, А. Н. Самохин**,
И. Ю. Александрова**, Н. В. Бобкова**

*ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН),
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

**ФГБУН Институт Биофизики клетки Российской академии наук (ИБК РАН),
142290 Пущино, ул. Институтская, 3

Поступила в редакцию 26.05.2015 г. Принята к печати 29.05.2015 г.

Изучена способность ряда синтетических пептидов, моделирующих потенциально важные участки четырех мембранных белков, известных в качестве клеточных мишеней бета-амилоида, восстанавливать пространственную память животных в экспериментальной модели болезни Альцгеймера. Синтезированы девять фрагментов белка-рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE), повторяющих, согласно данным рентгеноструктурного анализа, все его экспонированные неструктурированные участки. Изучено действие этих пептидов, а также синтезированных ранее иммунопротективных фрагментов трех других белков (ацетилхолинового рецептора альфа-7-типа, прионного белка и рецептора нейротрофинов р75) при интраназальном введении, исключающем развитие иммунного ответа на пептид. Показано, что только один фрагмент RAGE-(60–76) проявляет при этом терапевтическую активность, восстанавливая пространственную память бульбэктомированных мышей и приводя к снижению уровня мозгового бета-амилоида.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, рецептор конечных продуктов гликозилирования, бета-амилоид, синтетические пептиды, интраназальное введение.

DOI: 10.7868/S0132342315060184

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важных этапов патогенеза болезни Альцгеймера является накопление нейротоксического бета-амилоида, приводящее к каскаду нейродегенеративных процессов и гибели нейронов. Предполагают, что такое накопление происходит при участии белковых компонентов клеточных мембран. В связи с этим данные белки рассматривают как перспективные терапевтические мишени для создания лекарственных препаратов против болезни Альцгеймера.

Мы предположили, что можно предотвратить нарушения альцгеймеровского типа у экспериментальных животных при помощи введения в организм коротких фрагментов этих белков, предположительно связывающих бета-амилоид. В настоящей работе мы изучили влияние ряда синтетических

пептидов, моделирующих потенциально важные участки нескольких мембранных белков, на состояние пространственной памяти животных в экспериментальной модели болезни Альцгеймера.

Работа проведена на фрагментах четырех белков, известных в качестве клеточных мишеней бета-амилоида: рецепторе конечных продуктов гликозилирования (RAGE) [1, 2], ацетилхолиновом рецепторе альфа 7-типа (AChR) [3], прионном белке (PrP) [4, 5] и рецепторе нейротрофинов р75 [6, 7]. RAGE представляет собой полифункциональный клеточный рецептор, который взаимодействует с множеством лигандов, в том числе, с конечными продуктами гликозилирования и белками семейства S100 [8, 9]. Показано, что с помощью белка RAGE происходит транспорт бета-амилоида через гематоэнцефалический барьер в мозг, а также реализуется нейротоксическое действие бета-амилоида на нейроны и глию [2]. RAGE принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов и состоит из трех

[#] Автор для связи (тел.: +7 (495) 336-57-77; эл. почта: tdvol@mx.ibch.ru).

Таблица 1. Синтезированные пептиды – фрагменты белков

| Пептид | Фрагмент белка | Аминокислотная последовательность |
|--------|----------------|-----------------------------------|
| (I) | RAGE-(28–32) | ARIGE-G |
| (II) | RAGE-(38–45) | CKGAPKKP-G |
| (III) | RAGE-(60–76) | AWKVLSPQGGGPWDSVA |
| (IV) | RAGE-(134–141) | TAGVPNKV-G |
| (V) | RAGE-(162–169) | KPLVPNEKG-G |
| (VI) | RAGE-(163–175) | PLVPNEKGVSVKE-G |
| (VII) | RAGE-(179–186) | RHPETGLF-G |
| (VIII) | RAGE-(195–206) | TPARGGDPRPTF-G |
| (IX) | RAGE-(331–340) | GSVGGSGLTG |
| (X) | AChR-(173–193) | EWDLVGIPIKRSERFYECCKE |
| (XI) | PrP-(17–33) | SDLGLCKKRPKPGGWNT |
| (XII) | p75-(155–164) | SDEANHVDPC-G |
| (XIII) | p75-(167–176) | CTVCEDTERQ-G |

экспонированных иммуноглобулиновых доменов, трансмембранного участка и короткого цитоплазматического района [10]. К этому белку привлечено наше особое внимание, поскольку в литературе имеется информация о том, что встречающаяся в организме растворимая форма RAGE (sRAGE) обладает протективным действием на клетки нервной системы. sRAGE состоит из внеклеточной части белка, которая синтезируется в различных клетках, в том числе и нейронах, а затем секретируется во внеклеточное пространство [11]. Нейропротективное действие sRAGE, продемонстрированное в опытах *in vivo* и *in vitro*, объясняют связыванием с бета-амилоидом либо непосредственно в мозге на ранней стадии формирования им олигомеров, либо в кровяном русле, что препятствует его проникновению в мозг. Оба механизма приводит к уменьшению взаимодействия бета-амилоида с мембранными RAGE – клеточными мишенями для реализации им токсического действия на нейроны [2, 12, 13]. Мы высказали гипотезу, что аналогичным действием могут обладать и короткие синтетические фрагменты sRAGE, предположительно содержащие сайт связывания с бета-амилоидом.

Три других белка – AChR, PrP и p75 – также являются мембранными мишенями бета-амилоида [3–7]. Ранее нами были синтезированы фрагменты этих белков, иммунизация которыми приводила к сохранению пространственной памяти и снижению уровня мозгового бета-амилоида у экспериментальных животных с индуцированной формой нейроде-

генерации альцгеймеровского типа [14–18]. В исследованиях *in vitro* на культуре клеток нами было показано, что иммунотерапевтическое действие фрагментов реализуется через индукцию противопептидных антител [19, 20]. Мы предположили, что протективным эффектом могут обладать и сами пептиды – фрагменты белковых мишеней.

Цель настоящего исследования состояла в выборе в последовательности четырех белков – RAGE, AChR, PrP и p75 – участков, являющихся потенциальными сайтами связывания бета-амилоида, синтезе соответствующих им пептидов и изучении влияния этих пептидов на состояние пространственной памяти животных с экспериментально индуцированной формой болезни Альцгеймера. Исследование протективного действия синтетических пептидов проводили на бульбэктомированных (БЭ) мышцах, развивающих в отдаленные сроки после удаления обонятельных луковиц поведенческие, морфологические и биохимические признаки нейродегенерации альцгеймеровского типа. [21–23]. Поскольку мы предполагали, что в организме должно быть реализовано прямое действие пептидов, без участия иммунного ответа, то применили интраназальное введение пептидных препаратов БЭ-мышам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для настоящего исследования были выбраны и синтезированы фрагменты рецепторов RAGE, AChR, PrP и p75, приведенные в табл. 1.

Наиболее подробно изучены фрагменты белка RAGE. Выбор фрагментов был осуществлен на основе опубликованных данных рентгеноструктурного анализа этого белка [24]. Для синтеза были выбраны преимущественно экспонированные неструктурированные участки белка. Нумерация приведена по последовательности белка RAGE человека (Q15109.1, UniProtKB/Swiss-Prot).

Пептиды (I)–(III) относятся к V-домену рецептора, пептиды (IV)–(VIII) являются фрагментами C1-домена, а пептид (IX) примыкает к трансмембранному участку [25].

Среди фрагментов других мембранных мишеней бета-амилоида были выбраны такие, которые ранее при иммунизации животных с экспериментально индуцированной формой болезни Альцгеймера (БЭ) оказывали наиболее выраженное протективное действие. Это иммунопротективные фрагменты ацетилхолинового рецептора AChR-(173–193) (X) [15], прионного белка PrP-(17–33) (XI) [17] и рецептора нейротрофинов р75-(155–164) (XII) и р75-(167–176) (XIII) [18]. Иммунизация БЭ-животных этими пептидами приводила к сохранению пространственной памяти и снижению уровня мозгового бета-амилоида по сравнению с неиммунизированными БЭ-животными, а для пептида AChR-(173–193) (X) была показана также эффективность защиты противопептидными антителами при пассивной иммунизации [15] и в клеточной модели болезни Альцгеймера [19]. Мы предположили, что и сами перечисленные фрагменты могут оказывать протективное действие за счет связывания бета-амилоида, препятствуя его взаимодействию с мишенями на поверхности клеток.

Синтез пептидов был осуществлен твердофазным методом на полимере Ванга с использованием Fmoc-*трет*-бутильной схемы защиты на автоматическом пептидном синтезаторе SYRO-I. Пептиды (I), (II), (IV)–(VIII), (XII) и (XIII) имеют в качестве C-концевой аминокислоты глицин, что связано с удобством проведения твердофазного синтеза. Для защиты α -аминогруппы присоединяемых аминокислотных остатков использовали 9-флуоренилметоксикарбонильную (Fmoc) группу, для защиты боковых карбоксильных групп глутаминовой и аспарагиновой кислот использовали O^tBu-группу, для защиты гидроксильных групп треонина, тирозина и серина – Bu^t-группу, для защиты боковой цепи аргинина – 2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонильную группу, для защиты ϵ -аминогруппы лизина – Boc-группу, для защиты сульфгидрильной группы цистеина и имидазольной группы гистидина – Trt-группу. Отщепленные от полимера и деблокированные пептиды очищали с помощью препаративной обращен-

но-фазовой ВЭЖХ и охарактеризовывали методами аналитической обращенно-фазовой ВЭЖХ, масс-спектрометрии MALDI и аминокислотного анализа. Степень гомогенности синтезированных пептидов по данным ВЭЖХ составляла >98%.

Влияние пептидов (I)–(XII) на состояние пространственной памяти изучали на БЭ-мышцах линии NMRI, которым через 14 дней после операции бульбэктомии ежедневно интраназально вводили раствор пептида. На 29-й день после операции, не прекращая введение пептида, проводили обучение в водном лабиринте Морриса, а затем тестировали состояние пространственной памяти животных. В качестве контрольных использовали ложнопериоперированных (ЛО) и БЭ-животных, которым вместо пептидов вводили физраствор.

Результаты тестирования пространственной памяти экспериментальных животных приведены на рис. 1. Как видно из приведенных данных, ЛО-животные достоверно выделяли сектор обучения (3) как по времени нахождения в нем, так и по числу заходов в него, а БЭ-животные теряли способность выделять сектор обучения. Показано, что только введение пептида RAGE-(60–76) (III) восстанавливало пространственную память БЭ животных. Введение пептида PrP-(17–33) (XI) (рис. 1), также как и всех остальных изученных пептидов (I), (II), (IV)–(X), (XII) и (XIII) (данные не приведены) не оказывало терапевтического действия на память БЭ-животных. Ни активный пептид (III), ни неактивные пептиды (I), (II), (IV)–(XIII) не оказывали влияния на память ЛО-животных.

В мозге животных после введения активного пептида RAGE-(60–76) (III) был определен уровень бета-амилоида в экстрактах ткани коры и гиппокампа и проведено сравнение с уровнем бета-амилоида в мозге контрольных БЭ- и ЛО-животных. Из данных, приведенных на рис. 2, видно, что интраназальное введение пептида RAGE-(60–76) (III) достоверно снижает уровень бета-амилоида в указанных структурах мозга.

Таким образом, изучение способности девяти фрагментов RAGE, одного фрагмента AChR, одного фрагмента PrP и двух фрагментов р75 восстанавливать пространственную память БЭ-животных при интраназальном введении показало, что только фрагмент RAGE-(60–76) (III) проявляет терапевтическую активность в данной модели болезни Альцгеймера. Введение этого пептида приводило также к снижению уровня мозгового бета-амилоида. Важно отметить, что в рамках настоящей работы было синтезировано и изучено большинство экспонированных неструктурированных по данным рентгено-

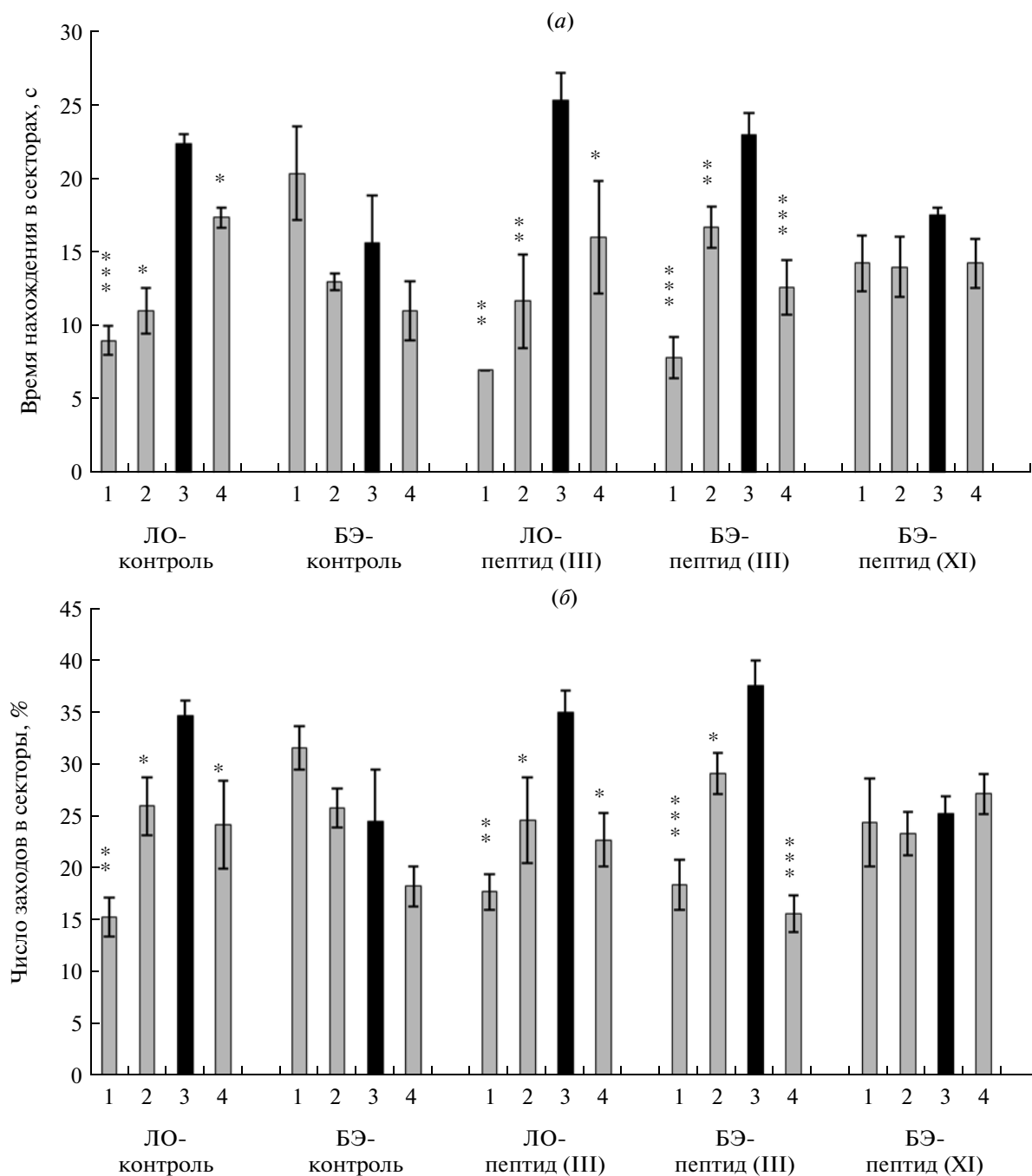


Рис. 1. Влияние интраназального введения пептидов на пространственную память бульбэктомированных мышей: *a* – по времени нахождения в секторах; *б* – по числу заходов в секторы. 1–4 – секторы лабиринта Морриса, 3 – сектор обучения. $p < 0.01$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$.

структурного анализа участка белка RAGE и лишь один фрагмент RAGE-(60–76) проявил активность.

Интересно сопоставить проявленную фрагментом активность с известными данными о пространственной структуре RAGE. Этот фрагмент является частью V-домена, где предположительно находятся сайты связывания RAGE с большин-

ством лигандов [25]. Если этот фрагмент содержит сайт связывания с бета-амилоидом, то пептид может препятствовать взаимодействию бета-амиоида с мембранным RAGE и его аккумуляции в мозге, что согласуется с полученными нами данными о снижении уровня мозгового бета-амиоида у мышей. С другой стороны, фрагмент RAGE-(60–76)

перекрывается с участком 54–67, на котором расположен сайт связывания этого рецептора с белком S100B, играющим важную роль в функционировании центральной нервной системы и в патогенезе болезни Альцгеймера [24]. Возможно, что пептид изменяет аффинность связывания RAGE с S100B, что проявляется в восстановлении пространственной памяти экспериментальных животных. Не исключена реализация и других механизмов протективного действия. Изучение механизма проявления протективной активности пептидом RAGE-(60–76) является предметом дальнейших исследований.

Представляет интерес также тот факт, что фрагменты AChR, PrP и p75 (пептиды(X)–(XIII)), иммунизация которыми предотвращала нарушение пространственной памяти БЭ-животных, при интраназальном введении не оказали защитного действия. Возможно, выяснение механизма проявления протективной активности пептидом RAGE (60–76) прольет свет и на отсутствие активности фрагментов AChR, PrP и p75. Необходимо подчеркнуть, что защитное действие пептида RAGE (60–76) реализуется при неинвазивном интраназальном введении, которое обеспечивает преодоление гематоэнцефалического барьера и попадание вводимого вещества непосредственно в ткань мозга. Мы полагаем, что выявленный пептид может стать основой для разработки лекарственного препарата для терапии пациентов с болезнью Альцгеймера.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза пептидов использовали реактивы и производные аминокислот (Merck, ФРГ; Fluka, Швейцария). ВЭЖХ проводили при помощи хроматографа Стайер (Аквилон, Россия) с использованием колонок Jupiter 5 μ C18 300A 250 \times 4.6 мм (Phenomenex, США) для аналитической хроматографии и Jupiter 10 μ C18 300A 250 \times 10 мм (Phenomenex, США) – для препаративной хроматографии. Масс-спектрометрию осуществляли методом MALDI на приборе VISION 2000 (Bioanalysis, Великобритания). Аминокислотный анализ проводили на приборе Biotronik LC-3000 (ФРГ) после гидролиза пептидов смесью 6 М HCl–TFA (2 : 1) в течение 45 мин при 170 $^{\circ}$ C. Влияние пептидов на состояние пространственной памяти изучали на десятидневных самцах NMRI мышей весом 25 \pm 0.6 г (питомник “Пушино”). Содержание бета-амилоида определяли с использованием бета-амилоида-(1–40) (Invitrogen, Camarillo, CA), набора для определения бета-амилоида в мозге нетрансгенных мышей (Invitrogen, Camarillo, CA).

Твердофазный синтез и очистка пептидов. Синтез пептидов проводили на *para*-алкоксибензильном полимере с содержанием гидроксильных групп

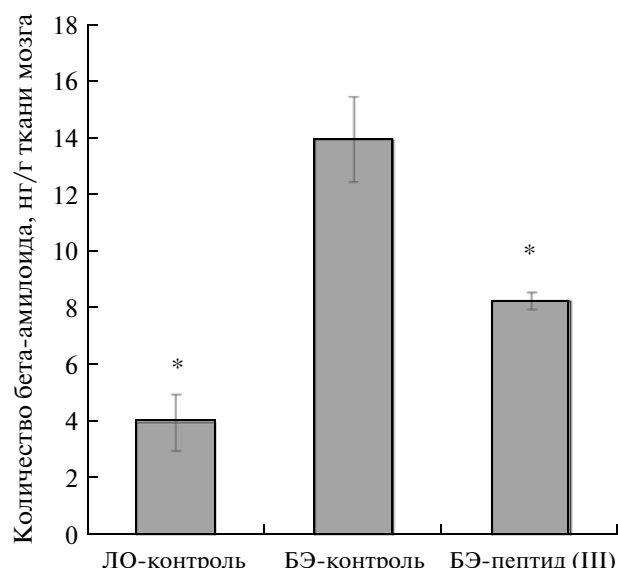


Рис. 2. Уровень бета-амилоида в мозге БЭ мышей после введения пептида (III).

* $p \leq 0.0001$.

0.5 ммоль/г. Нарастивание пептидной цепи выполняли последовательно с использованием 1-гидроксисбензотриазола и *N,N'*-диизопропилкарбодимида либо тетрафторбората *O*-(бензотриазол-1-ил)-*N,N,N',N'*-тетраметилмочевины. Отщепление пептидов от полимера с одновременным деблокированием функциональных групп боковых цепей проводили смесью TFA (94%), триизопропилсилана (1%), этандитиола (2.5%) и воды (2.5%) из расчета 1–2 мл смеси на 100 мг пептидиполимера. Очистку пептидов осуществляли с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиенте концентрации ацетонитрила 10–70% в 0.1% TFA за 1 ч при расходе элюента 3 мл/мин. Оптическое поглощение элюата измеряли при длине волны 226 нм.

Синтетические пептиды характеризовали данными аналитической ВЭЖХ, масс-спектрометрии MALDI и аминокислотного анализа. Аналитическую ВЭЖХ пептидов проводили в условиях, аналогичных препаративной ВЭЖХ, при расходе элюента 1 мл/мин. Все синтезированные пептиды имели корректный аминокислотный состав. Характеристики пептидов приведены в табл. 2.

СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТА

В каждой исследуемой группе было по десять мышей, которых подвергали операции бульбэктомии и которым вводили пептиды. Контрольные группы состояли из десяти БЭ-мышей и десяти -мышей.

1 день – операция бульбэктомии;

Таблица 2. Характеристики синтезированных пептидов

| Пептид | Время удерживания в условиях ВЭЖХ, мин | Молекулярная масса | |
|----------------|---|--------------------|------------------------------|
| | | теоретическая | экспериментальная (MH^+) |
| RAGE-(28–32) | 6.20 | 602 | 603 |
| RAGE-(38–45) | 14.41 | 885 | 886 |
| RAGE-(60–76) | 23.63 | 1754 | 1756 |
| RAGE-(65–76) | 8.99 | 1157 | 1158 |
| RAGE-(60–70) | 9.29 | 1099 | 1100 |
| RAGE-(62–74) | 8.93 | 1240 | 1239 |
| RAGE-(134–141) | 7.87 | 842 | 843 |
| RAGE-(162–169) | 9.58 | 1038 | 1038 |
| RAGE-(163–175) | 13.38 | 1453 | 1453 |
| RAGE-(179–186) | 17.59 | 1013 | 1014 |
| RAGE-(195–206) | 12.21 | 1328 | 1329 |
| RAGE-(331–340) | 7.31 | 791 | 791 |

15–33-й дни — ежедневное интраназальное введение пептидов;

29-й день — начало обучения в водном лабиринте Морриса;

33-й день — тестирование пространственной памяти мышей.

Операцию бульбэктомии проводили под нембутовым наркозом (40 мг/кг, в/б) путем аспирации через трепанационное отверстие в черепе, как описано в работе [18]. Контрольными служили ЛО-животные, которых подвергали аналогичной процедуре, но без удаления обонятельных луковиц. Всем животным по окончании операции в мышцы задней лапы вводили антибиотик “Бициллин 5” в дозе 6000 ед. для профилактики развития инфекции.

Интраназальное введение пептидов. Животным ежедневно вводили интраназально по 4 мкл раствора пептида в стерильном физиологическом растворе в концентрации 5 мг/мл. Для этого каждой мыши с помощью микропипетки наносили каплю раствора в непосредственной близости от ноздри так, чтобы капля попадала в носовой проход в процессе нормального дыхания. В период обучения и тестирования памяти раствор вводили за 1 ч до проведения экспериментов в лабиринте Морриса.

Обучение и тестирование пространственной памяти животных. Состояние пространственной памяти мышей оценивали после выработки у мышей пространственного навыка в водном лабиринте Морриса. Экспериментальная камера представляла собой круглый бассейн диаметром 80 см, заполненный на 30 см водой с температурой 23°C. Площадь бассейна условно делили на четыре равных сектора, в одном из которых находилась спасательная платформа диаметром 5 см, погруженная на 0.5 см в воду. Воду закрашивали молоком, для того чтобы животные не могли визуально обнаружить спасательную платформу. До начала курса обучения проверяли способность всех животных плавать, а также сохранность зрения у БЭ-животных. Обучение проводили в течение пяти дней по четыре сеанса ежедневно, при этом фиксировали латентный период обнаружения платформы. Через 24 ч после окончания обучения у животных тестировали уровень пространственной памяти в течение одной минуты в отсутствие спасательной платформы. При анализе полученных результатов были использованы два показателя: число заходов и время нахождения мышей в каждом секторе. Статистическую обработку результатов поведенческих и биохимических данных проводили с использованием пакета статистических программ “Statistica 6.0, результаты представлены как $x \pm SEM$. Достовер-

ность различий данных оценивали с использованием двустороннего критерия Стьюдента.

Для проведения **биохимических исследований** проводили перфузию мозга охлажденным физиологическим раствором у глубоко анестезированных животных, получавших летальную дозу нембутала (60 мг/кг в/б). Мозг извлекали на холоду. Навески коры и гиппокамп хранили при температуре -80°C до проведения процедур по определению суммарного количества бета-амилоида.

Уровень бета-амилоида в ткани мозга определяли иммуноферментным методом, как описано в работе [18]. Выявляли бета-амилоид-(1–40), поскольку бета-амилоид-(1–42) у мышей присутствует в крайне низких концентрациях, выходящих за рамки чувствительности метода определения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №15-04-01360 и №13-04-00633.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arancio O., Zhang H.P., Chen X., Lin C., Trinchese F., Puzzo D., Liu S., Hegde A., Yan S.F., Stem A. et al. // *Embo J.* 2004. V. 23. P. 4096–4105.
2. Deane R., Du Yan S., Subramanyam R.K., LaRue B., Jovanovic S., Hogg E., Welch D., Manness L., Lin C., Yu J. et al. // *Nature medicine.* 2003. V. 9. P. 907–913.
3. Liu Q., Kawai H., Berg D.K. // *PNAS.* 2001. V. 98. P. 4734–4739.
4. Lauren J., Gimbel D.A., Nygaard H.B., Gilbert J.W., Strittmatter S.M. // *Nature.* 2009. V. 457. P. 1128–1134.
5. Gimbel D.A., Nygaard H.B., Coffey E.E., Gunther E.C., Lauren J., Gimbel Z.A., Strittmatter S.M. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30(18). P. 6367–6374.
6. Yaar M., Zhai S., Pilch P.F., Doyle S.M., Eisenhauer P.B., Fine R.E., Gilchrist B.A. // *The Journal of clinical investigation.* 1997. V. 100. P. 2333–2340.
7. Fombonne J., Rabizadeh S., Banwait S., Mehlen P., Bredesen D.E. // *Annals of neurology.* 2009. V. 65. P. 294–303.
8. Bierhaus A., Humpert P.M., Morcos M., Wendt T., Chavakis T., Arnold B., Stern D.M., Nawroth P.P. // *J. of Molecular Medicine.* 2005. V. 83. P. 876–886.
9. Bierhaus A., Nawroth P.P. // *Diabetologia.* 2009. V. 52. P. 2251–2263.
10. Neeper M., Schmidt A.M., Brett J., Yan S.D., Wang F., Pan Y.C., Elliston K., Stern D., Shaw A. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 14998–15004.
11. Cheng C., Tsuneyama K., Kominami R., Shinohara H., Sakurai S., Yonekura H., Watanabe T., Takano Y., Yamamoto H., Yamamoto Y. // *Mod. Pathol.* 2005. V. 18. P. 1385–1396.
12. Yan S.S., Chen D., Yan S., Guo L., Du H., Chen J.X. *Front Biosci. (Schol Ed).* 2012. T. 4. P. 240–250.
13. Ding Q., Keller J.N. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2005. V. 1746. P. 18–27.
14. Вольпина О.М., Волкова Т.Д., Тумова М.А., Гершович Ю.Г., Медвинская Н.И., Самохин А.Н., Камынина А.В., Шалгунов В.С., Короев Д.О., Филатова М.П., Обозная М.Б., Бобкова Н.В. // *Биоорган. химия.* 2008. T. 34(1). С. 50–55.
15. Kamynina A.V., Volpina O.M., Medvinskaya N.I., Aleksandrova I.J., Volkova T.D., Koroev D.O., Samokhin A.N., Nesterova I.V., Shelukhina I.V., Kryukova E.V., Tsetlin V.I., Ivanov V.T., Bobkova N.V. // *J. Alzheimers Dis.* 2010. V. 21(1). P. 249–261.
16. Bobkova N.V., Medvinskaya N.I., Kamynina A.V., Aleksandrova I.Y., Nesterova I.V., Samokhin A.N., Koroev D.O., Filatova M.P., Nekrasov P.V., Abramov A.Y., Leonov S.V., Volpina O.M. // *Neurobiol. Learn. Mem.* 2014. V.107. P. 50–64.
17. Вольпина О.М., Волкова Т.Д., Медвинская Н.И., Камынина А.В., Запорожская Я.В., Александрова И.Ю., Короев Д.О., Самохин А.Н., Нестерова И.В., Дейгин В.И., Бобкова Н.В. // *Биоорган. химия.* 2015. T. 41. № 2. С. 145–153. [Volpina O.M., Volkova T.D., Medvinskaya N.I., Kamynina A.V., Zaporozhskaya Ya.V., Aleksandrova I.Yu., Koroev D.O., Samokhin A.N., Nesterova I.V., Deygin V.I., Bobkova N.V. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2015. V. 41. N. 2. P. 125–132.]
18. Вольпина О.М., Медвинская Н.И., Камынина А.В., Запорожская Я.В., Александрова И.Ю., Короев Д.О., Самохин А.Н., Волкова Т.Д., Арсеньев А.С., Бобкова Н.В. // *Биоорган. химия.* 2014. T. 40. № 4. С. 451–457. [Volpina O.M., Medvinskaya N.I., Kamynina A.V., Zaporozhskaya Ya.V., Aleksandrova I.J., Koroev D.O., Samokhin A.N., Volkova T.D., Arseniev A.S., Bobkova N.V. // *Russ. J. of Bioorgan. Chem.* 2014. V. 40. №4. P. 417–422].
19. Kamynina A.V., Holmstrom K.M., Koroev D.O., Volpina O.M., Abramov A.Y. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2013. V. 45(4). P. 899–907.
20. Камынина А.В., Филатова М.П., Короев Д.О., Абрамов А.Ю., Вольпина О.М. // *Биоорг. химия.* 2013. T. 39(2). С. 131–140. Kamynina A.V., Filatova M.P., Koroev D.O., Abramov A.Y., Volpina O. M. // *Russ. J. Bioorgan. Chem.* 2013. V. 39 (2). P. 113–120.
21. Hozumi S., Nakagawasai O., Tan-No K., Nijima F., Yamadera F., Murata A., Arai Y., Yasuhara H., Tadano T. // *Behav. Brain Res.* 2003. V. 138. P. 9–15.
22. Bobkova N.V., Nesterova I.V., Dana R., Dana E., Nesterov V.I., Aleksandrova Y., Medvinskaya N.I., Samokhin A.N. // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2004. V. 34(7). P. 671–676.
23. Александрова И.Ю., Кувичкин В.В., Каушаров И.А., Медвинская Н.И., Нестерова И.В., Лунин С.М., Самохин А.Н., Бобкова Н.В. // *Биохимия.* 2004. T. 69(2). С. 176–180.
24. Park H., Boyington J.C. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 40762–40770.
25. Koch M., Chitayat S., Dattilo B.M., Schiefner A., Diez J., Chazin W.J., Fritz G. // *Structure.* 2010. V. 18. P. 1342–1352.

Fragment of Receptor for Advanced Glycation End Products Improves Memory State in a Model of Alzheimer's Disease

O. M. Volpina*, D. O. Koroev*, T. D. Volkova*., A. V. Kamynina*, M. P. Filatova*,
Y. V. Zaporozhskaya*, A. N. Samokhin**, I. J. Aleksandrova**, N. V. Bobkova**

#Phone: +7 (495) 336-57-77; e-mail: tdvol@mx.ibch.ru

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10,
117997, Moscow, Russia

**Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya, 3. 142290, Pushchino, Russia

A number of synthetic peptides corresponding to potentially important regions in the sequence of the four membrane proteins known as beta-amyloid cell receptors have been investigated on their ability to improve memory state in experimental model of Alzheimer's disease. Nine fragments repeating all the exposed nonstructural regions of the RAGE protein according to X-ray data, have been synthesized. The activity of these peptides and synthesized earlier immunoprotective fragments of other three proteins (acetylcholine receptor alpha7-type, prion protein and neurotrophin receptor p75) has been investigated under intranasal administration, without immune response to the peptide. Only one fragment RAGE (60–76) was shown to have a therapeutic activity improving the memory state of bulbectomized mice and leads to decreasing in the level of brain beta-amyloid.

Keywords: Alzheimer's disease, receptor for advanced glycation end products, beta-amyloid, synthetic peptides, intranasal administration