ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ, 2019, том 55, № 4, с. 350–355

УДК 577.112:577.112.824

АНАЛИЗ ИЗОФОРМ АЛЬБУМИНА СЫВОРОТКИ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ МЕМБРАНОТРОПНЫХ ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2019 г.
А. П. Ильина[1], Е. В. Сидорский[1], П. А. Елистратов[2, *], В. М. Чекова[2], В. П. Ямскова[2, **], И. А. Ямсков[1]

[1]*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, 119991 Россия*

[2]*Институт проблем биорегуляции, Москва, 119991 Россия*

**e-mail: flora85@mail.ru*

***e-mail: Yamskova-vp@yandex.ru*

Поступила в редакцию 03.11.2018 г.
После доработки 19.12.2018 г.
Принята к публикации 20.02.2019 г.

Основу мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов, выделенных из различных тканей крупного рогатого скота (*Bos taurus*) и крыс (*Rattus norvegicus*), составляют пептид-белковые комплексы, в состав которых входят полипептиды с молекулярными массами 1000–6000 Да и сывороточный альбумин, представленный в базах данных NCBI тремя изоформами для каждого вида: gi|1351907, gi|367460260, gi|74267962 и gi|124028612, gi|158138568 и gi|55628 соответственно. Установлены места замены аминокислотных остатков в первичной последовательности этих альбуминов, которые расположены во втором и третьем домене их молекул. Полипептиды, входящие в состав мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов, представляли собой продукты протеолиза ферментов и адгезивных белков.

Ключевые слова: биорегуляторы, пептидно-белковый комплекс, альбумин

DOI: 10.1134/S0555109919040056

В различных тканях млекопитающих, в том числе тканях глаза, были обнаружены биорегуляторы, которые в низких дозах оказывали влияние на такие важнейшие биологические процессы, как клеточная адгезия, миграция, дифференцировка и пролиферация, вызывающие увеличение жизнеспособности клеток *in vitro* [1]. Было установлено, что эти биорегуляторы локализованы во внеклеточном пространстве тканей, а их активность характеризуется наличием тканевой, но отсутствием видовой специфичности [1]. Из-за сходства физико-химических свойств и характера биологического действия они получили название мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (**МГТБ**).

Было обнаружено, что МГТБ проявляли устойчивость к воздействию различных физико-химических факторов и присутствовали в растворах в виде частиц размером 50–300 нм, причем наноразмерное состояние определяло характер их активности, была обнаружена также связь между наноразмерным состоянием биорегуляторов и их активностью [2].

На примере изучения МГТБ, выделенного из сыворотки крови крупного рогатого скота (**КРС**) [3], а также из тканей печени и легкого крыс [4], было показано, что они имеют сложный состав, включающий в качестве основы белково-пептидные комплексы, ответственные за биологическое действие биорегуляторов этой группы. Эти комплексы состоят из полипептидов с молекулярными массами (**ММ**) от 1 до 10 кДа, которые по значениям ММ отличались друг от друга, как в МГТБ, выделенных из различных тканей [5], так и альбумина сыворотки крови. Альбумин, взаимодействующий с пептидами по кальцийсвязывающему механизму и модулирующий их активность, получил название белка-модулятора [1, 3]. Как было показано при изучении МГТБ, выделенных из тканей печени и легкого крыс, их белки-модуляторы представляли собой две изоформы сывороточного альбумина соответственно, и различались по аминокислотному составу [4]. Оба белка-модулятора отличались и от альбумина, входящего в состав МГТБ, выделенного из сыворотки крови крыс, представляя изоформы альбумина. Предполагали,

что именно они обуславливают тканеспецифический характер биологического действия изученных МГТБ. Следует отметить, что альбумины сыворотки крови позвоночных (млекопитающих) образуют суперсемейство [6].

Цель работы – изучение белков-модуляторов, входящих в состав МГТБ, выделенных из тканей различных органов КРС и крыс, а также глаза, которые проявляли тканеспецифическую активность.

МЕТОДИКА

Выделение и очистка белков-модуляторов. В работе были использованы печень, легкое и сыворотка крови крыс Wistar обоего пола весом 220–250 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Перед декапитацией животных наркотизировали эфиром, собирали кровь, перфузировали через портальную вену печень и кровь физиологическим раствором в течение 3–5 мин и вырезали органы.

Для выделения МГТБ использовали также ткани органов молодых особей КРС (*Bos taurus*) обоего пола, достигших репродуктивного возраста, которые получали на мясоперерабатывающих предприятиях Московской области. Источниками получения МГТБ являлись такие свежеизвлеченные ткани, как головной мозг, сердце, аорта, семенники и яичники, а также отдельные ткани свежеэнуклеированных глаз, включая склеру, роговицу, влагу передней камеры глаза, радужку, стекловидное тело, цилиарное тело, нейральную сетчатку, пигментный эпителий и зрительный нерв.

МГТБ выделяли из сыворотки крови КРС, используя коммерческий препарат “Сыворотка крупного рогатого скота стерильная, инактивированная, питательная добавка при культивировании клеток и тканей”, произведенный в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова (Россия).

Кровь, полученную от крыс, инкубировали в течение 10 мин при 37°С, а затем в течение 1 ч при 4–8°С. Сыворотку крови аккуратно собирали пипеткой, центрифугировали при 2000 g в течение 30 мин при 4–8°С.

Свежеизвлеченные ткани различных органов крыс или КРС очищали от других тканей, нарезали на фрагменты размером 1–1.5 см и из них экстрагировали вещества в течение 3 ч при 4°С раствором, содержащим 1 мМ $CaCl_2$, 0.15 М NaCl и 1.0 мМ HEPES (pH 7.0–7.2). Полученные тканевые экстракты фильтровали через четыре слоя марли и центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин при 4°С. Надосадочную жидкость собирали, осаждали белки сернокислым аммонием (78 г соли на 100 мл раствора) в течение 96 ч при 4°С. Аналогичным образом получали экстракты сыворотки крови млекопитающих. После образования осадка белки отделяли центрифугированием при 15000 g в течение 45 мин. Супернатант и осадок собирали отдельно для каждого органа или сыворотки крови.

Надосадочную жидкость (супернатант) и осадок обессоливали на хроматографе NGC Chromatography System Quest Plus (“Bio-Rad”, США) с колонкой EnRich SEC 70 (1 × 30 см, “Bio-Rad”, США), сорбент в которой уравновешивали водой со скоростью 0.5 мл/мин. Элюцию осуществляли водой с той же скоростью. В полученных фракциях определяли присутствие МГТБ, оценивая мембранотропную активность [1].

Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Обессоленные фракции осадка экстрактов тканей органов КРС и крысы подвергали обращенно-фазовой ВЭЖХ на жидкостном хроматографе высокого давления “Agilent 1260” (“Agilent Technologie”, США) с колонкой Kromasil C_4 (4.6 × 250 мм, “AkzoNobel”, Швеция) и сорбентом которой уравновешивали 0.1%-ной трифторуксусной кислотой, pH 2.2. Связавшийся с сорбентом материал элюировали в течение 60 мин градиентом концентрации ацетонитрила 0–60% в 0.1%-ной трифторуксусной кислоте, pH 2.2. Скорость элюции – 1 мл/мин. Содержание продуктов определяли спектрофотометрически при 210 нм.

Содержание белка. На всех стадиях работы определяли количественное содержание белка во всех изучаемых фракциях спектрофотометрически по методу Варбурга и Кристиана [7].

Метод оценки мембранотропной активности. Мембранотропную активность изучали на мышах F1 C57BL/CBA (самцы, 18–20 г) методом, разработанным ранее для идентификации МГТБ [1, 8]. Метод основан на определении вязкоупругих свойств ткани печени и легкого мыши в условиях деформации сдвига после органотипического культивирования. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента.

Масс-спектрометрический анализ. Анализ осуществляли на времяпролетном MALDI-TOF-масс-спектрометре UltraFlex 2 (“Bruker Daltonics”, Германия), оснащенном азотным лазером 337 нм с частотой импульса до 20 Гц. Все измерения проводили в линейном и рефлекторном режиме, определяя положительные ионы. Для накопления масс-спектров мощность лазерного излучения устанавливали на уровне минимального порогового значения, достаточного для десорбции-ионизации образца. Внешнюю калибровку проводили с использованием точных значений ММ известных белков. Образец наносили на три

ячейки планшета, для каждой из которых записывали спектр, полученный в результате суммирования 10 серий спектров по 50 импульсов лазера для каждой. Для записи, обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение (“Bruker Daltonics”, Германия): flexControl 2.4 (Build 38) и flexAnalysis 2.4 (Build 11). Точность измерения масс составляла ±2 Да. В качестве матрицы использовали насыщенный раствор α-циано-4-гидроксикоричной кислоты (“Sigma-Aldrich”, Германия) в смеси 50%-ного ацетонитрила и 2.5%-ной трифторуксусной кислоты. Все использованные реактивы, включая воду, были аналитической или специальной для масс-спектрометрии чистоты.

Определение N-концевой аминокислотной последовательности. Аминокислотную последовательность определяли на автоматическом секвенаторе белков Shimadzu PPSQ-33A (“Shimadzu”, Япония) по методу Эдмана [9] с использованием программы производителя.

Электрофорез белков в полиакриламидном геле (ПААГ). Электрофорез проводили по методу Лэммли [10] на вертикальных пластинах толщиной 0.75 мм в ПААГ, содержащего 12.5% акриламида в разделяющем и 4% в концентрирующем геле, при постоянном токе 20–30 мА в течение 1 ч. После окончания электрофореза гель фиксировали и окрашивали кумасси R250. Из геля вырезали фрагменты, соответствующие белку с ММ 66000 Да. Для определения молекулярной массы использовали маркерные белки 2–250 кДа (“Bio-Rad”, США).

Трипсинолиз белка в геле *in situ*. Полученную в результате электрофореза в ПААГ полосу белка вырезали из геля (площадью 3 мм^2), промывали 100 мкл 50%-ного метанола и дегидратировали в 400 мкл ацетонитрила. Восстановление дисульфидных связей проводили 100 мкл 10 мМ дитиотреитола (“Fermentas”, Латвия) с последующим их алкилированием 100 мкл 55 мМ йодацетамида (“Sigma-Aldrich”, Германия). Затем модифицированный белок подвергали гидролизу в геле, добавляя 20 мкл (1.0 мг/мл) трипсина (“Promega”, США) в 25 мМ NH_4HCO_3, после чего инкубировали в течение ночи при 37°С. Полученные пептиды экстрагировали 10 мкл 50%-ного ацетонитрила в 1%-ной трифторуксусной кислоте и анализировали. Супернатант (1 мкл) смешивали на стальной мишени с 0.5 мкл (20 мг/мл) раствора α-циано-4-гидроксикоричной кислоты (“Sigma-Aldrich”, Германия) в смеси 50%-ного ацетонитрила и 2.5%-ной трифторуксусной кислоты и подвергали масс-спектрометрическому анализу.

Идентификация белков по базам данных. Белки идентифицировали с помощью программного пакета Mascot (http://www.matrixscience.com/search_form_select.html). Поиск осуществляли по данным масс-спектров белков всех организмов с указанием типа гидролиза (трипсин с фиксированной модификацией цис-карбамоилметил) в базе данных Swiss-Prot и NCBI (Национальный центр США по биотехнологической информации).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как было показано ранее, использованный в работе метод выделения позволил получить из межклеточного пространства тканей различных органов млекопитающих МГТБ, оказывающие влияние на такие основные биологические процессы, как адгезия, миграция, дифференцировка, пролиферация и увеличение жизнеспособности клеток *in vitro*, а также стимулирующие восстановительные и репаративные процессы в поврежденных тканях [1]. При высаливании белков тканевых экстрактов насыщенным раствором сульфата аммония были получены две фракции – надосадочная жидкость (супернатант) и осадок. Было установлено, что характерная для МГТБ мембранотропная активность обнаруживалась только во фракции супернатанта. После концентрирования и повторного высаливания белков супернатанта был получен второй осадок, проявляющий мембранотропную активность. Изучение его состава методами электрофореза в ПААГ и обращенно-фазовой ВЭЖХ показало, что осадок представлял собой альбумин сыворотки крови КРС практически в гомогенном состоянии. Данную фракцию можно было получить в препаративных количествах из любого источника, поэтому она была использована для анализа и характеристики компонентов МГТБ, выделенных из тканей различных органов, а также сыворотки крови КРС и крыс Wistar. Следует отметить, что такое изучение представляло несомненный интерес для понимания молекулярных основ тканеспецифичности биологического действия МГТБ [1].

При анализе пептидно-белковых компонентов МГТБ, выделенных из тканей различных органов, в том числе, глаз, КРС и крыс Wistar, а также сыворотки крови, с помощью метода “пептидного отпечатков” (PMF, peptide mass fingerprint) было установлено, что в образовании МГТБ принимали участие три изоформы сывороточного альбумина (табл. 1 и 2). Было показано, что альбумины, выделенные из сыворотки крови, стекловидного тела, склеры, цилиарного тела, радужки, нейтральной сетчатки, головного мозга, сердца, аорты, семенников и яичников КРС, имели ту же аминокислотную последовательность, что и сывороточный альбумин *B. taurus.* Аальбумины из пигментного эпителия роговицы и зрительного нерва соответствовали другому сывороточному альбумину *B. taurus,* а альбумин из передней камеры – третьему. Эти альбумины внесены в базу данных NCBI под номерами gi|1351907, gi|367460260 и gi|74267962 соответственно. Их аминокислотные

Таблица 1. Структурные группы альбуминов, входящих в состав МГТБ, выделенных из различных тканей *B. taurus*

№ п/п	Источник альбумина	Номер белка в базе данных NCBI	Положения аминокислот в изоформах сывороточного альбумина
1	Сыворотка крови, стекловидное тело, склера, цилиарное тело, радужка, нейральная сетчатка, головной мозг, сердце, аорта, яичники, семенники	gi|1351907	116 – Глу 214 – Ала 429 – Ала 579 – Асп
2	Пигментный эпителий, роговица, зрительный нерв	gi|367460260	116 – Глу 214 – Тре 429 – Ала 579 – Асп
3	Влага передней камеры глаза	gi|74267962	116 – Ала 214 – Тре 429 – Глу 579 – Гли

Таблица 2. Структурные группы альбуминов, входящих в состав МГТБ, выделенных из тканей различных органов крыс Wistar

№ п/п	Источник альбумина	Номер белка в базе данных NCBI	Положения аминокислот в изоформах сывороточного альбумина
1	Легкое	gi|158138568	262 – Лей 317 – Тре 431 – Иле
2	Печень	gi|55628	262 – Лей 317 – Тре 431 – Вал
3	Сыворотка крови, головной мозг	gi|124028612	262 – Вал 317 – Иле 431 – Вал

последовательности различны. Так, в первой группе альбуминов в положении 214 находится аланин, в то время как во второй группе в данном положении расположен треонин. В аминокислотной последовательности альбумина, выделенного из передней камеры, обнаружены четыре замены остатков Глу116Ала, Ала214Тре, Ала429Глу, Асп579Гли по сравнению с альбуминами из первой группы (табл. 1). Используя метод “пептидных отпечатков” (PMF), был проведен сравнительный анализ триптических фрагментов альбуминов, выделенных из сыворотки, печени, легкого и головного мозга крысы Wistar. Оказалось, что альбумины, выделенные из сыворотки крови и головного мозга крысы, идентичны сывороточному альбумину крысы (*Rattus norvegicus)*, имеющему в базе данных NCBI номер gi|124028612, а легкого и печени – другим альбуминам, номера которых gi|158138568 и gi|55628 соответственно. Эти альбумины различались тремя заменами аминокислотных остатков в положении 262: Вал → Лей → Вал, в 317 – Иле → Тре → Тре, в 431 – Вал → Иле → Вал (табл. 2). Установленные замены остатков в первичной последовательности альбуминов, входящих в состав МГТБ, выделенных из тканей КРС и крысы, расположенные во втором и третьем доменах их молекул.

Масс-спектрометрический анализ пептидов, входящих в состав МГТБ, выделенных из различных тканей крысы и КРС, показал, что в нескольких тканях таких органов, как головной мозг и кость (большая берцовая) крысы, сетчатка, хрусталик, стекловидное тело, радужка, цилиарное тело, пигментный эпителий, склера и эмбриональная сыворотка крови и роговица глаза КРС, присутствовал пептид с ММ 4301 ± 2 Да [5]. Дан-

ный пептид не был обнаружен в биорегуляторах, выделенных из сыворотки крови и печени взрослых особей КРС, а также печени и сердца крысы [5]. Следует отметить, что в биорегуляторах, выделенных из тканей глаза КРС, присутствовали еще сигналы со значениями *m/z*, равными 4530 и 4818 [5]. Изучение структуры пептидных компонентов некоторых МГТБ показало, что они были фрагментами тех или иных регуляторных белков и ферментов. Так, методами протеомных исследований установлено, что полипептид с ММ 4749 ± 2 Да, который отвечает за проявление биологической активности МГТБ, выделенного из головного мозга крыс, представлял собой N-концевой фрагмент гуанин-нуклеотидсвязывающего G_O-белка (субъединицы α-1) мозга крысы [11]. Биорегулятор, выделенный из пигментного эпителия глаза КРС, в качестве функциональной основы содержал пептид с ММ 4372 ± 2 Да, структура, которого идентична n-концевому фрагменту фосфодиэстеразы циклического ГМФ (КФ 3.1.4.17) сетчатки КРС [11]. Из набора полипептидов МГТБ сыворотки крови были выделены и методом леддерного секвенирования карбоксипептидазой Y идентифицированы частичные С-концевые последовательности двух пептидов. Так, аминокислотная последовательность пептида с ММ 1448 ± ± 2 Да имела 100%-ную гомологию с N-концевым фрагментом Р-кадгерина эндотелия бычьей аорты, а частичная С-концевая аминокислотная последовательность пептида с ММ 1151 ± 2 Да оказалась гомологичной N-концевой последовательности фрагмента киназного домена регуляторного белка TRB-2 гранулоцитов КРС.

Полученные данные показали, что только три изоформы сывороточного альбумина обладали способностью проникать в межклеточное пространство тканей КРС и крысы. В каждом виде у альбуминов существовали определенные места замен аминокислотных остатков, они были строго постоянны и не зависели от таких факторов, как порода, пол, условия содержания и прочее. Конформация соответствующих изоформ альбуминов позволяла сайтам связывания с полипептидами, входящими в состав МГТБ, оказаться в строго определенном положении доступными для взаимодействия с ними.

Этот факт может объяснить способность альбумина в различной степени влиять на активность полипептидов МГТБ. Например, в сыворотке крови взаимодействие с альбумином обратимо ингибирует биологическую активность регуляторного пептида. В роговице и склере глаза КРС, а также в печени и легком крыс альбумин ответственен за проявление тканевой специфичности МГТБ. В тканях заднего отдела глаза (пигментного эпителия, радужки и стекловидного и цилиарного тел) альбумин дополнительно активирует биологическое действие полипептидов МГТБ [1, 12]. Можно предположить, что, поскольку существует избирательный транспорт через гистогематические барьеры, то только определенные изоформы альбумина способны попадать в межклеточное пространство и связываться с полипептидами МГТБ по кальций связывающему механизму. Основная функция этих изоформ сывороточного альбумина и состоит в образовании определенной макромолекулярной структуры межклеточного пространства, исключительно важной для установления и поддержания межклеточных адгезионных взаимодействий. Как было показано ранее, данная структура образуется в межклеточном пространстве за счет выраженной тенденции пептид-белковых комплексов из состава МГТБ к межмолекулярной агрегации с образованием крупных наноразмерных частиц. Наличие агрегации в различных тканях было показано иммуногистологическими методами [1, 12]. Она оказывает влияние на плазматическую мембрану клеток, увеличивая ее проницаемость, а также вязко-упругие свойства в условиях сдвиговой деформации (основной адгезиометрический метод биотестирования МГТБ) [13]. Предполагают, что данная структура связана с мембраной клеток посредством углеводной компоненты, которая обнаруживается в составе всех МГТБ животного происхождения. Решение данного вопроса явится предметом наших дальнейших исследований.

Работы с животными проводили в соответствии с законодательством Российской Федерации и Директивой Европейского Парламента и Совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях [14].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ямскова В.П., Краснов М.С., Ямсков И.А.* Новые экспериментальные и теоретические аспекты в биорегуляции. Механизм действия мембранотропных гомеостатических биорегуляторов. Starbucken: Lambert Academic Publishing, 2012. 127 p.

2. *Ямскова В.П., Скрипникова В.С., Молявка А.А., Ильина А.П., Краснов М.С., Маргасюк Д.В., Борисенко А.В., Березин Б.Б., Кузнецова Е.С., Буряк А.К., Ямсков И.А.* // Биохимия. 2009. Т. 74. № 9. С. 1195–1203.

3. *Ямскова В.П., Рыбакова Е.Ю., Виноградов А.А., Вечеркин В.В., Ямсков И.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 4. С. 407–413.

4. *Мальцев Д.И., Ямскова В.П., Ильина А.П., Березин Б.Б., Ямсков И.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 3. С. 346–350.

5. *Ильина А.П., Куликова О.Г., Мальцев Д.И., Краснов М.С., Рыбакова Е.Ю., Скрипникова В.С., Кузнецова Е.С., Буряк А.К., Ямскова В.П., Ямсков И.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 2. С. 135–140.

6. *Kragh-Hansen U., Minchiotti L., Galliano M., Peters T.Jr.* // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1830. № 12. P. 5405–5417.
7. *Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.* Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 544 с.
8. *Ямскова В.П., Резникова М.М.* // Журн. общей биологии. 1991. Т. 52. № 2. С. 181–191.
9. *Edman P.* // Arch. Biochem. 1949. V. 22 № 3. P. 475–483.
10. *Laemmli U.K.* // Nature. 1970. V. 227. № 5259. P. 680–685.
11. *Ильина А.П., Молявка А.А., Ямскова В.П., Буряк А.К., Ямсков И.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2014. Т. 50. № 4. С. 442–448.
12. *Ямскова В.П., Краснов М.С., Ямсков И.А.* Наноразмерные биорегуляторы тканей глаза млекопитающих как основа для фармакологических препаратов нового поколения. М.: Изд. Макс Пресс, 2009. 82 с.
13. *Ямскова В.П., Нечаева Н.В., Туманова Н.Б., Юровицкий Ю.Г., Новикова Т.Е., Фатеева В.И., Гвазава И.Г.* // Известия РАН. Сер. биол. 1994. № 2. С. 190–196.
14. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб.: Rus-LASA “НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными”, 2010. 48 с.

Analysis of Serum Albumin Isophorms, Including Membranotropic Homeostatic Tissues-Specific Bioregulators, Obtained from Different Mammalian Tissues

A. P. Ilyina[a], E. V. Sidorskiy[a], P. A. Elistratov[b,*], V. M. Chekova[b], V. P. Yamskova[b,], and I. A. Yamskov[a]**

[a] *Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of Russian Academy of Science, Moscow, 119991 Russia*

[b] *Institute of Bioregulation Problems LLC, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: flora85@yandex.ru*

***e-mail: Yamskova-vp@yandex.ru*

Received November 03, 2018; revised December 19, 2018; accepted February 20, 2019

The basis of membranotropic homeostatic tissue-specific bioregulators (MHTB), isolated from various tissues of *Bos taurus* cattle and *Rattus norvegicus* rats, are peptide-protein complexes, which include polypeptides with molecular masses of 1000–6000 Da and serum albumin, which according to NCBI databases represented by three isoforms for each species: gi|1351907, gi|367460260, gi|74267962 and gi|124028612, gi|158138568, gi|55628, respectively. The sites of the replacement of amino acids in the primary sequence of albumin, which are part of MHTB, isolated from cattle and rat tissues, are located in the second and third domains of the albumin molecule. Polypeptides included in MGTB are products of proteolysis of enzymes and adhesive proteins.

Keywords: bioregulators, peptide-protein complex, albumin