

## РОЛЬ ТРИПЕПТИДНОГО ФРАГМЕНТА КОЛЛАГЕНА GER В АКТИВАЦИИ АДГЕЗИИ И МОДИФИКАЦИИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ФОСФОЛИПИДОВ МЕМБРАН КЛЕТОК ЛИНИИ СНО-К1

© В. П. Иванова,<sup>1</sup> З. В. Ковалева,<sup>2</sup> С. А. Забелинский,<sup>1</sup> Т. М. Гринчук,<sup>2</sup> А. И. Кривченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН и

<sup>2</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;  
электронный адрес: valet@iephb.ru

Показано, что многократно повторяющийся трипептидный фрагмент коллагена GER (Gly-Glu-Arg) стимулирует неспецифическую адгезию клеток линии СНО-К1. При этом активация клеточной адгезии сопровождается изменениями в жирнокислотном составе фосфолипидных молекул клеточных мембран. Инкубация клеток в присутствии синтетического пептида приводит к увеличению индекса ненасыщенности у фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА) и фосфатидилинозитола (ФИ). Установлено, что основной вклад в увеличение этого показателя у ФИ вносит арахидоновая (С20:4 $\omega$ 6) кислота, а у ФХ и ФЭА — не только арахидоновая, но и другие полиненасыщенные жирные кислоты: докозатетраеновая (С22:4 $\omega$ 6), докозапентаеновая (С22:5 $\omega$ 3) и докозагексаеновая (С22:6 $\omega$ 3). Кроме того, в группе ФИ-молекул увеличение относительного содержания молекул с полиненасыщенными жирными кислотами сопровождается сокращением количества молекул с моноеновыми кислотами, главным образом за счет падения уровня олеиновой (С18:1) кислоты. Обсуждается роль изученного пептида в активации клеточной адгезии в качестве регулятора активного или неактивного состояния интегринных рецепторов и в изменениях жирнокислотного состава основных классов фосфолипидных молекул в качестве модулятора степени жидкостности в зонах аннулярных липидов вокруг этих адгезивных молекул.

Ключевые слова: пептидный фрагмент коллагена, жирные кислоты, фосфолипиды, адгезия, клетки СНО-К1.

Принятые сокращения: ВКМ — внеклеточный матрикс, ФИ — фосфатидилинозитол, ФС — фосфатидилсерин, ФХ — фосфатидилхолин, ФЭА — фосфатидилэтаноламин.

Коллаген является основным компонентом внеклеточного матрикса (ВКМ) соединительной ткани у млекопитающих (Пальцев и др., 2003). Кроме формирования структуры соединительной ткани коллагены могут участвовать в межклеточной коммуникации посредством взаимодействия с клеточными рецепторами и другими белками ВКМ. В настоящее время описано 27 типов коллагенов (Hulmes, 1992; Boot-Handford et al., 2003).

Как известно, коллагены являются лигандами четырех интегринных рецепторов —  $\alpha_1\beta_1$ ,  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_{10}\beta_1$  и  $\alpha_{11}\beta_1$  (Gullberg, Lundgren-Akerlund, 2002). Перечисленные интегрины, точнее их  $\alpha$ -субъединицы, содержат так называемый вставочный домен (inserted domain) — I-домен, который опосредует связывание с нативными коллагенами. В связи с этим в исследованиях последних лет основное внимание уделялось выявлению в аминокислотных последовательностях коллагенов фрагментов, узнаваемых интегринными рецепторами в нативной форме (Grab et al., 1996). Используя методику химического формирования из исследуемых пептидных фрагментов коллагенов тройной суперспирали, были обнаружены гексапептиды, взаимодействующие с L-доменом  $\alpha_1\beta_1$ ,  $\alpha_2\beta_1$  и  $\alpha_{11}\beta_1$  интегринов в нативной, т. е. физиологической, конформации, но теряющие свою активность при переходе в неспе-

циализованное состояние (Knight et al., 2000; Xu et al., 2000; Zhang et al., 2003; Siljander et al., 2004; Raynal et al., 2006).

Безусловно, указанное направление исследований заслуживает внимания, вместе с тем нельзя отказываться и от изучения роли линейных пептидных фрагментов коллагенов в регуляции процессов клеточной адгезии. Действительно, узнавание интегринными рецепторами одних пептидных фрагментов молекулы коллагенов в нативной форме не исключает узнавания ими других участков коллагенов в линейной одноцепочечной форме, например при разрыве полипептидных цепей коллагенов ферментами в ходе ремоделирования соединительной ткани при заживлении ран и других процессов.

Цель данной работы состояла в изучении влияния на адгезивные свойства клеток СНО-К1 наиболее часто встречающегося в аминокислотной последовательности коллагенов различных типов пептида GER (Gly-Glu-Arg). Учитывая зависимость клеточной адгезии от функционального состояния мембраны, исследовали влияние пептида GER на жирнокислотный состав фосфолипидов как наиболее лабильной части фосфолипидных молекул плазматических мембран.

## Материал и методика

В опытах использовали эпителиоподобную линию клеток CHO-K1 (Chinese Hamster Ovary cells, клетки яичника китайского хомячка), полученную из коллекции Института цитологии РАН. Клетки выращивали в пластиковых флаконах (Corning, США) в среде DMEM/F12 (Биолот, Санкт-Петербург) с добавлением 2 мМ L-глутамина, 100 мкг/мл гентамицина и 10 % сыворотки крупного рогатого скота (Биолот, Санкт-Петербург) в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub> при 37 °С. Клетки пересеивали с помощью смеси равных объемов 0.25%-ного раствора трипсина и 0.02%-ного раствора ЭДТА каждые 3—4 сут. В экспериментах по изучению адгезии использовали клетки, достигшие субмонослоя. Клетки отмывали дважды в растворе Хенкса и ресуспендировали их в питательной среде, не содержащей сыворотки.

Влияние пептида GER, синтезированного на кафедре химии природных соединений СПбГУ, на адгезию клеток CHO-K1 оценивали по описанному методу (Yukuva et al., 1989). Для этого клетки инкубировали в питательной среде без сыворотки с пептидом (в концентрациях от 10<sup>-10</sup> до 10<sup>-4</sup> М) или без него в течение 30 мин при 37 °С, затем в среду добавляли сыворотку. Полученную клеточную суспензию (10<sup>6</sup> кл./мл) переносили в 96-луночный плоскодонный планшет (Nunc, Германия) по 100 мкл в каждую лунку и затем инкубировали 1 ч при 37 °С. Прикрепившиеся клетки фиксировали 70%-ным этанолом и окрашивали 0.3%-ным раствором кристаллического фиолетового. Связанный краситель экстрагировали этанолом. Оптическую плотность полученного экстракта измеряли на анализаторе Униплан (Пикон, Россия) при λ = 570 нм. По величине оптической плотности судили об изменении количества прикрепившихся клеток.

Для определения липидного и жирнокислотного составов клеточных мембран клеток CHO-K1 за 24 ч до снятия клеток в среду культивирования вносили пептид в конечной концентрации 10<sup>-6</sup> М. Клетки снимали механически и дважды промывали раствором Хенкса. Липиды экстрагировали из клеток смесью хлороформа с метанолом (2 : 1) (Folch et al., 1957). Для разделения фосфолипидов на отдельные фракции использовали двухмерную тонкослойную хроматографию на силикагеле КСК в следующих системах растворителей: хлороформ, метанол и 28%-ный аммиак (81.2 : 31.2 : 6.0) и хлороформ, метанол, ацетон, уксусная кислота и вода (62.00 : 12.50 : 25.00 : 12.50 : 6.25) (Rouser et al., 1966). Содержание липидов определяли по фосфору (Lowry et al., 1954) и выражали в процентах к суммарному количеству липидов в экстракте или каждой фракции фосфолипида. Метилловые эфиры жирных кислот получали щелочным трансметилированием 0.21 М NaOH на абсолютном метаноле (Fote et al., 1965). Анализ метиловых эфиров проводили на газожидкостном хроматографе (Pye-104, Англия) на хромосорбе W при 194 °С. Содержание отдельных жирных кислот оценивали по площади пика. Результаты выражали в процентах от суммы всех жирных кислот пробы. Идентификацию жирных кислот проводили сравнением относительных времен удерживания проб и стандартов.

При статистической обработке результатов использовали критерий Стьюдента.

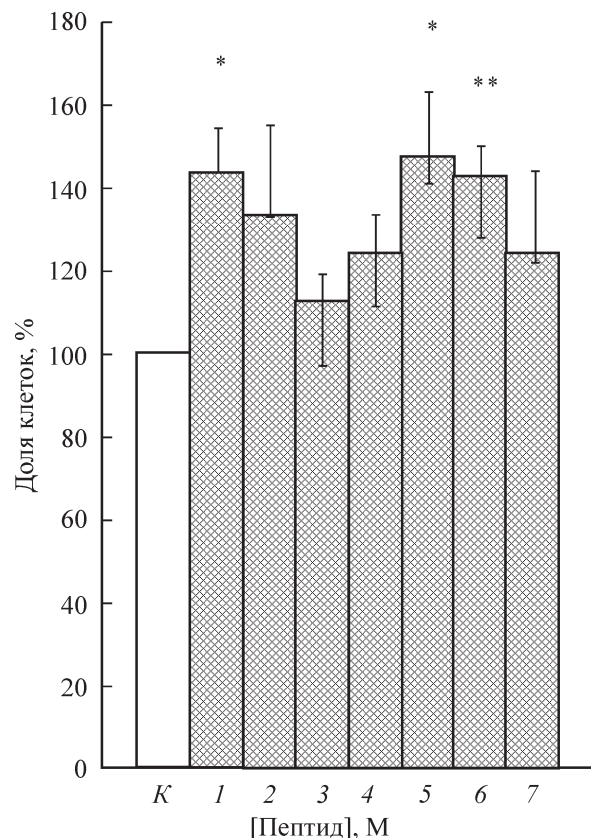
## Результаты

В результате проведенного анализа установлено, что пептид GER увеличивал количество прикрепившихся клеток при концентрациях 10<sup>-10</sup> ( $P < 0.05$ ), 10<sup>-6</sup> ( $P < 0.05$ ) и 10<sup>-5</sup> ( $P < 0.01$ ) М соответственно на 43, 48 и 42 % по сравнению с контролем (см. рисунок).

Способность клеток к адгезии очень важна для дифференцировки и в целом для адаптации клеток к изменяющимся условиям окружающей среды. В подобные адаптивные процессы не могут быть вовлечены структурные компоненты клеточной мембраны. В первую очередь это относится к молекулам фосфолипидов — стабилизаторам липидного бислоя клеточных мембран.

Как уже отмечалось выше, самой лабильной частью фосфолипидных молекул являются жирнокислотные остатки. В связи с этим нас интересовал вопрос о том, не сопровождается ли усиление адгезии клеток CHO-K1 под действием пептида GER изменениями в жирнокислотном составе фосфолипидов клеточных мембран. Поэтому исследовали влияние пептида GER на жирнокислотный состав фосфолипидов мембран клеток CHO-K1.

Полученные нами данные показывают, что культивирование клеток CHO-K1 с пептидом GER приводит к изменению жирнокислотного состава фосфатидилхолина (ФХ) (табл. 1), фосфатидилэтаноламина (ФЭА) (табл. 2),



Влияние пептида GER на адгезию клеток CHO-K1.

Концентрация пептида (в М): контроль (K), 1 — 10<sup>-10</sup>, 2 — 10<sup>-9</sup>, 3 — 10<sup>-8</sup>, 4 — 10<sup>-7</sup>, 5 — 10<sup>-6</sup>, 6 — 10<sup>-5</sup>, 7 — 10<sup>-4</sup>. Клетки инкубировали в течение 30 мин с пептидом GER в питательной среде без сыворотки, затем оценивали количество прикрепившихся клеток через 1 ч инкубации в полной среде при 37 °С. Достоверность отличий от контроля отмечена одной ( $P < 0.05$ ) или двумя ( $P < 0.01$ ) звездочками. Представлены данные четырех экспериментов.

Таблица 1

Таблица 2

**Влияние пептида GER на жирнокислотный состав фосфатидилхолина мембран клеток CHO-K1**

Жирные кислоты	Содержание ( $n = 3$ ), %, $\bar{x} \pm s_x$	
	контроль	пептид GER ( $10^{-6}$ )
C14 : 0	2.7 ± 0.1	2.3 ± 0.5
C16 : 0	25.7 ± 1.2	27.9 ± 1.1
C16 : 1ω7	7.8 ± 0.3	6.6 ± 0.7
C18 : 0	7.3 ± 0.4	7.0 ± 0.7
C18 : 1ω9	46.3 ± 1.0	39.6 ± 2.6
C18 : 2ω6	3.1 ± 0.3	3.6 ± 0.5
C20 : 0	Сл.	Сл.
C20 : 1ω9	2.3 ± 0.4	1.7 ± 0.2
C20 : 2ω6	Сл.	Сл.
C20 : 3ω6	»	0.8 ± 0.1
C20 : 4ω6	2.3 ± 0.2	4.3 <sup>a</sup> ± 0.4
C20 : 4ω3	Сл.	0.6 ± 0.1
C20 : 5ω3	»	Сл.
C22 : 3ω6	»	»
C22 : 4ω6	»	0.7 ± 0.1
C22 : 5ω6	—	—
C22 : 5ω3	1.6 ± 0.2	2.9 <sup>a</sup> ± 0.3
C22 : 6ω3	0.9 ± 0.1	2.0 <sup>a</sup> ± 0.2
Насыщенные жирные кислоты	35.7 ± 0.9	37.2 ± 1.7
Ненасыщенные жирные кислоты	64.3 ± 0.9	62.8 ± 1.7
Индекс ненасыщенности	85	106
Моноеновые жирные кислоты	56.4 ± 0.9	47.9 ± 2.3
Диеновые жирные кислоты	3.1 ± 0.3	3.6 ± 0.5
Полиеновые жирные кислоты	4.8 ± 0.3	11.3 <sup>a</sup> ± 0.5

**Влияние пептида GER на жирнокислотный состав фосфатидилэтаноламина мембран клеток CHO-K1**

Жирные кислоты	Содержание ( $n = 3$ ), %, $\bar{x} \pm s_x$	
	контроль	пептид GER ( $10^{-6}$ )
C14 : 0	0.8 ± 0.1	Сл.
C16 : 0	9.3 ± 0.3	8.6 ± 0.3
C16 : 1ω7	2.9 ± 0.2	1.6 ± 0.4
C18 : 0	23.1 ± 1.3	22.5 ± 0.6
C18 : 1ω9	34.8 ± 1.3	32.6 ± 1.0
C18 : 2ω6	2.1 ± 0.1	2.5 ± 0.2
C20 : 0	1.6 ± 0.1	Сл.
C20 : 1ω9	1.4 ± 0.1	1.0 ± 0.1
C20 : 2ω6	—	Сл.
C20 : 3ω6	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.2
C20 : 4ω6	5.3 ± 0.2	7.9 <sup>a</sup> ± 0.7
C20 : 4ω3	4.9 ± 0.2	1.8 <sup>a</sup> ± 0.4
C20 : 5ω3	0.6 ± 0.1	Сл.
C22 : 3ω6	—	»
C22 : 4ω6	1.7 ± 0.1	3.3 <sup>a</sup> ± 0.2
C22 : 5ω6	—	—
C22 : 5ω3	5.7 ± 0.5	9.1 <sup>a</sup> ± 1.1
C22 : 6ω3	5.0 ± 0.6	7.9 <sup>a</sup> ± 0.6
Насыщенные жирные кислоты	34.8 ± 1.6	31.1 ± 0.8
Ненасыщенные жирные кислоты	65.2 ± 1.6	68.9 ± 0.8
Индекс ненасыщенности	155	189
Моноеновые жирные кислоты	39.1 ± 1.0	35.2 ± 0.8
Диеновые жирные кислоты	2.1 ± 0.1	2.5 ± 0.2
Полиеновые жирные кислоты	24.0 ± 1.0	31.2 <sup>a</sup> ± 0.5

Примечание. Здесь и в табл. 2—4: Сл. — следы, т. е. менее 0.5 % от общего содержания, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

фосфатидилинозитола (ФИ) (табл. 3) и фосфатидилсерина (ФС) (табл. 4) в клеточных мембранах. Индекс ненасыщенности у всех исследованных фосфолипидов возрастает под действием пептида. По степени увеличения этого параметра фосфолипиды можно расположить в следующий ряд:  $ФС < ФХ \approx ФИ < ФЭА$ . При этом под действием пептида GER индекс ненасыщенности (количество двойных связей на 100 молекул жирных кислот) возрастает в этом ряду соответственно на 12, 21, 23 и 34 единицы (табл. 1—4) по сравнению с соответствующими показателями контрольных клеток. Как видно из данных табл. 1, внесение пептида GER в культуральную среду приводит к увеличению содержания полиеновых кислот в ФХ в 2.4 раза по сравнению с контролем, практически не изменяя содержания моно- и диеновых жирных кислот. При этом наибольший вклад в увеличение относительного содержания полиеновых кислот в ФХ вносят арахидоновая (C20:4ω6), купанодоновая (C22:5ω3) и цервоновая

(C22:6ω3) кислоты. Таким образом, выявленные изменения в жирнокислотном составе ФХ клеточных мембран под действием пептида показывают, что возрастание значения индекса ненасыщенности ФХ в основном связано с интенсификацией процессов включения в этот фосфолипид указанных полиненасыщенных жирных кислот.

Показано также, что пептид GER изменяет состав жирных кислот у ФЭА (табл. 2). Увеличение индекса ненасыщенности ФЭА в мембранах клеток, обработанных пептидом GER, в большей степени связано с изменением спектра полиненасыщенных кислот в составе этого фосфолипида, чем с изменением количественного уровня этих кислот. Пептид GER стимулирует накопление всех выявленных длинноцепочечных кислот ω6-ряда. Что касается жирных кислот ω3-ряда, то отмечено увеличение содержания докозапентаеновой (C22:5ω3) и докозагексаеновой (C22:6ω3) кислот с одновременным падением уровня эйкозатетраеновой (C20:4ω3) кислоты. На основании

Таблица 3

Таблица 4

## Влияние пептида GER на жирнокислотный состав фосфатидилинозитола мембран клеток CHO-K1

Жирные кислоты	Содержание ( $n = 3$ ), %, $\bar{x} \pm s_x$	
	контроль	пептид GER ( $10^{-6}$ )
C14 : 0	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1
C16 : 0	10.5 ± 1.1	6.8 ± 0.7
C16 : 1ω7	1.7 ± 0.1	1.1 ± 0.2
C18 : 0	27.4 ± 1.1	34.4 ± 3.0
C18 : 1ω9	25.3 ± 0.7	14.0 <sup>b</sup> ± 1.9
C18 : 2ω6	2.2 ± 0.3	1.8 ± 0.1
C20 : 0	—	—
C20 : 1ω9	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1
C20 : 2ω6	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2
C20 : 3ω6	2.1 ± 0.3	2.6 ± 0.4
C20 : 4ω6	17.7 ± 1.2	24.8 <sup>a</sup> ± 0.9
C20 : 4ω3	4.1 ± 0.3	4.1 ± 0.7
C20 : 5ω3	Сл.	0.5 ± 0.04
C22 : 3ω6	»	Сл.
C22 : 4ω6	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.1
C22 : 5ω6	—	—
C22 : 5ω3	4.0 ± 0.2	4.2 ± 0.2
C22 : 6ω3	1.5 ± 0.2	2.0 ± 0.2
Насыщенные жирные кислоты	38.4 ± 1.0	42.1 ± 2.8
Ненасыщенные жирные кислоты	61.6 ± 1.0	57.9 ± 2.8
Индекс ненасыщенности	162	185
Моноеновые жирные кислоты	27.8 ± 0.8	15.7 <sup>b</sup> ± 1.7
Диеновые жирные кислоты	3.2 ± 0.5	2.8 ± 0.2
Полиеновые жирные кислоты	30.6 ± 1.0	39.4 <sup>a</sup> ± 1.6

<sup>b</sup>  $P < 0.01$ .

полученных данных можно заключить, что увеличение индекса ненасыщенности может быть связано со стимулированием пептидом GER включения в состав ФЭА жирных кислот ω3-ряда с 22 углеродными атомами и всех длинноцепочечных кислот ω6-ряда.

Влияние пептида GER на жирнокислотный состав ФИ несколько отличается от его влияния на другие проанализированные фракции фосфолипидов (табл. 3). Так, в группе ненасыщенных жирных кислот этого фосфолипида основные изменения коснулись моноеновых кислот. Концентрация этих кислот уменьшилась в 1.8 раза ( $P < 0.01$ ) по сравнению с контрольным значением, главным образом за счет падения уровня олеиновой кислоты ( $P < 0.01$ ). Содержание полиеновых кислот у ФИ несколько увеличивается под действием пептида. При этом основной вклад в увеличение индекса ненасыщенности этого фосфолипида вносит арахидоновая кислота, а не кислоты с 22 углеродными атомами.

## Влияние пептида GER на жирнокислотный состав фосфатидилсерина мембран клеток CHO-K1

Жирные кислоты	Содержание ( $n = 3$ ), %, $\bar{x} \pm s_x$	
	контроль	пептид GER ( $10^{-6}$ )
C14 : 0	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1
C16 : 0	4.2 ± 0.6	4.7 ± 0.8
C16 : 1ω7	1.7 ± 0.3	1.2 ± 0.2
C18 : 0	35.2 ± 1.6	37.2 ± 1.2
C18 : 1ω9	29.8 ± 0.6	25.3 ± 1.0
C18 : 2ω6	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
C20 : 0	Сл.	Сл.
C20 : 1ω9	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1
C20 : 2ω6	Сл.	Сл.
C20 : 3ω6	1.0 ± 0.1	1.6 ± 0.2
C20 : 4ω6	Сл.	0.6 ± 0.1
C20 : 4ω3	6.8 ± 0.7	3.0 <sup>a</sup> ± 0.4
C20 : 5ω3	—	—
C22 : 3ω6	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1
C22 : 4ω6	2.4 ± 0.3	3.8 <sup>a</sup> ± 0.6
C22 : 5ω6	0.8 ± 0.1	—
C22 : 5ω3	8.8 ± 0.5	11.6 ± 1.0
C22 : 6ω3	5.6 ± 0.4	7.8 ± 0.7
Насыщенные жирные кислоты	40.3 ± 1.1	42.7 ± 0.6
Ненасыщенные жирные кислоты	59.7 ± 1.1	57.3 ± 0.6
Индекс ненасыщенности	158	170
Моноеновые жирные кислоты	32.4 ± 0.4	27.3 ± 0.9
Диеновые жирные кислоты	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
Полиеновые жирные кислоты	26.0 ± 1.0	28.9 ± 0.9

Менее существенные изменения в составе жирных кислот под действием пептида GER выявлены в ФС (табл. 4). Пептид практически не изменял общего содержания моно-, ди- и полиеновых жирных кислот. А некоторый рост индекса ненасыщенности ФС после обработки клеток пептидом GER связан с изменением соотношения отдельных жирных кислот в группе полиеновых кислот этого фосфолипида. Так, содержание эйкозатетраеновой (C20:4ω3) кислоты падает в 2.3 раза ( $P < 0.05$ ), а количество докозатетраеновой (C22:4ω6) кислоты возрастает в 1.6 раза ( $P < 0.05$ ) по сравнению с соответствующими контрольными значениями. По-видимому, изменения, выявленные нами в жирнокислотном составе ФС при культивировании клеток с пептидом GER, вносят наименьший вклад в трансформирование структурных и функциональных свойств клеточных мембран.

Полученные результаты дают основание предполагать, что ускорение адгезии клеток CHO-K1 под действи-

ем пептида GER может быть связано с изменением состава жирнокислотных остатков в ФХ, ФЭА и ФИ в клеточных мембранах.

### Обсуждение

Способность исследованного пептида GER стимулировать адгезию клеток CHO-K1, вероятно, связана с регуляцией активности интегринов, которые, как известно, являются основными рецепторными молекулами, опосредующими взаимодействия как с соседними клетками, так и с белками ВКМ (Calderwood, 2004). Активация интегриновых рецепторов может происходить двумя способами: либо через ускорение процессов кластеризации интегринов, которое приводит в конечном итоге к усилению процессов лиганд-рецепторного взаимодействия; либо с помощью конформационных переходов определенных доменов рецептора, обеспечивающих необходимое в данный момент времени активное или неактивное состояние молекулы рецептора (Shattil et al., 1998; Hantgan et al., 2003; Calderwood, 2004). По-видимому, выявленный нами эффект ускорения адгезии при обработке клеток пептидом GER может быть связан с активацией интегриновых рецепторов посредством регуляции одного из указанных процессов или обоих процессов одновременно.

То, что исследованный трипептидный фрагмент коллагена (GER) стимулирует клеточную адгезию, не противоречит имеющимся в литературе данным, согласно которым в структуре ряда белков ВКМ выявлены короткие аминокислотные последовательности, участвующие в регуляции адгезивных свойств различных типов клеток (Mould, Humphries, 1991; Staatz et al., 1991; Moyano et al., 1997; Plow et al., 2000; Feng, Mrksich, 2004).

Большая часть проведенных ранее исследований посвящена поиску в структуре белков ВКМ минимальных участков, обеспечивающих прямое связывание лигандов с интегринами. Первым был обнаружен трипептид RGD (фрагмент 461—463 фибронектина), обладающий способностью связываться с интегринами  $\alpha_3\beta_1$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_8\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_1$  и  $\alpha_{IIb}\beta_3$  (Plow et al., 2000). Впоследствии RGD-содержащие домены были выявлены и в других белках ВКМ. Однако не только через RGD-последовательности может осуществляться связывание лигандов с интегриновыми молекулами. Установлено, что лиганд-рецепторное взаимодействие может происходить и по другим участкам белков ВКМ, не содержащим RGD-последовательностей. Так, пептиды PHSRN (фрагмент 175—179 центрального домена фибронектина), а также IDAPS и KLDAPT (соответственно фрагменты 581—585 и 995—1000 С-концевой области гепаринсвязывающего домена фибронектина) опосредуют связывание с интегринами  $\alpha_5\beta_1$  и  $\alpha_4\beta_1$  (Mould, Humphries, 1991; Moyano et al., 1997; Feng, Mrksich, 2004), а тетрапептид DGEA (фрагмент 435—438  $\alpha_1$ -цепи коллагена типа I) связывается с интегрином  $\alpha_2\beta_1$  (Staatz et al., 1991).

Некоторые фрагменты белков ВКМ участвуют в регуляции таких клеточных функций, как распластывание, миграция и хемотаксис. Так, фибронектиновые фрагменты PHSRN, RGD, LDV (последний соответствует остаткам 948—950), WQPPRARI (соответствует остаткам 1802—1809) и SPPRRARVT (соответствует остаткам 1905—1913) способствуют распластыванию клеток (Kotomoriya et al., 1991; Mooradian et al., 1993; Feng, Mrksich, 2004), при этом пента- и октапептид ускоряют миграцию клеток (Mooradian et al., 1993; Kimura et al., 2007). Уда-

лось установить, что влияние пентапептида PHSRN на клеточную подвижность обусловлено его влиянием на аккумуляцию F-актина и фосфорилирование фокальных адгезивных киназ, участвующих в образовании фокальных клеточных контактов. Пептиды RKRLQVQLSIRT и KNRLTIELEVRT, представляющие собой фрагменты цепи ламинина-1 2743—2754 ( $\alpha_1$ ) и 2784—2795 ( $\alpha_2$ ) соответственно, способствуют формированию отростков у нейронов (Richard et al., 1996), а гексадекапептид AQARSAASKVKVSMKF, являющийся фрагментом 2724—2739  $\alpha_5$ -цепи ламинина, индуцирует хемотаксис нейтрофилов и макрофагов, а также синтез этими клетками матриксной металлопротеиназы-9 (Adair-Kirk et al., 2003). Нонапептид CDPGYIGSP (фрагмент III домена В1-цепи ламинина) стимулирует миграцию и хемотаксис эпителиальных клеток (Graf et al., 1987).

Как известно, интегрин представляют собой трансмембранные рецепторы, состоящие из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц (Пальцев и др., 2003). Каждая субъединица рецептора содержит большой внеклеточный домен (1000—1500 аминокислот для  $\alpha$ - и 740—780 аминокислотных остатков для  $\beta$ -субъединиц) и короткие трансмембранный (приблизительно 20 остатков) и цитоплазматический (около 40—50 остатков) домены. Несмотря на малые размеры трансмембранных доменов обеих субъединиц интегрина рецептора, они играют определяющую роль в проведении сигнала из клетки и внутрь нее. Поскольку трансмембранный участок рецептора окружен фосфолипидными молекулами, составляющими липидный бислой, скорее всего, существует зависимость между структурно-функциональным состоянием рецепторного домена и характеристиками близлежащей группы фосфолипидных молекул. Это предположение подтверждается данными, согласно которым связывающая активность рецептора витронектина изменяется в зависимости от фосфолипидного состава липосом, содержащих этот рецептор (Conforti et al., 1990). Однако вопрос о влиянии на этот процесс особенностей строения фосфолипидных молекул, прежде всего ацильной части липида, не рассматривался авторами.

Наши исследования показали, что ускорение адгезии клеток CHO-K1 под влиянием изученного пептида GER сопровождается изменением спектра жирнокислотных остатков, определяющих жидкостно-кристаллическую структуру клеточных мембран (Крепс, 1981).

Из полученных данных следует, что у ФХ и ФИ под действием пептида GER отношение моноеновых кислот к полиеновым уменьшилось соответственно в 2.8 и 2.3 раза по сравнению с соответствующими контрольными показателями (табл. 1, 3). Уменьшение соотношения указанных жирных кислот у этих фосфолипидов свидетельствует об уменьшении степени упакованности молекул ФХ и ФИ в местах их локализации в клеточных мембранах. Так как цепи полиеновых кислот более изогнуты, они способствуют разрыхлению структуры гидрофобного слоя мембран. Как уже отмечалось выше, индекс ненасыщенности ФХ и ФИ после обработки клеток пептидом возрастает практически в равной степени — соответственно на 21 и 23 единицы на 100 молекул жирных кислот (табл. 1, 3), что свидетельствует об увеличении подвижности жирнокислотных остатков у этих фосфолипидов в липидном бислое. Очевидно, как уменьшение соотношения моноеновых к полиеновым кислотам, так и возрастание индекса ненасыщенности у ФХ и ФИ указывают на то, что под действием пептида увеличивается текучесть клеточных мембран в местах локализации этих фосфолипидов.

Если обратиться к ФЭА, то в жирнокислотном составе этого фосфолипида отношение моноеновых к полиеновым кислотам также уменьшается под действием пептида GER, но изменения эти не столь значительны. Одновременно отмечен максимальный рост индекса ненасыщенности у ФЭА, решающее значение в увеличении которого вносит интенсификация процессов включения в этот фосфолипид полиеновых длинноцепочечных жирных кислот с 22 углеродными атомами (табл. 2). На основании этого можно заключить, что увеличение содержания полиненасыщенных жирных кислот в ФЭА после воздействия исследуемого пептида GER на культуру клеток является единственным фактором, способным обеспечить возрастание степени жидкости в липидных доменах с повышенной концентрацией молекул ФЭА.

Известно, что в наружном монослое клеточной мембраны находится основная часть молекул ФХ, а во внутреннем монослое — большая часть молекул ФЭА и ФС (Кагава, 1985; Devaux, 1991), что и обуславливает неодинаковую степень ненасыщенности монослоев, поскольку ФЭА, ФС и ФИ являются более ненасыщенными фосфолипидами, чем ФХ. Установлено, что на долю внутреннего монослоя приходится 2/3 двойных связей, имеющихся у жирных кислот липидов, а в наружном — только 1/3 таковых, т. е. внутренний монослой мембраны является более текучим по сравнению с наружным (Крепс, 1981).

Полученные нами данные показывают, что культивирование клеток СНО-К1 с пептидом GER приводит к увеличению жидкости обоих монослоев клеточной мембраны, при этом в большей степени возрастает текучесть внутреннего монослоя за счет структурных изменений в ФЭА и ФИ. Косвенным подтверждением в пользу возможности существования такого явления могут быть результаты, позволившие установить факт селективного включения в аминокислотные фосфолипиды (ФЭА и ФС) внутреннего липидного монослоя эритроцитарных мембран экзогенных полиеновых жирных кислот  $\omega$ 3-ряда (Knapp et al., 1994). Можно предположить, что увеличение жидкости клеточной мембраны под действием пептида GER облегчит латеральную диффузию рецепторных молекул в бислое, что приведет к ускорению процессов кластеризации интегриновых рецепторов (Yauch et al., 1997; Vítte et al., 2004). В результате этого возрастет количество эффективных взаимодействий цитоплазматических доменов интегринов с интегрированными белками, непосредственно контактирующими с компонентами цитоскелета клетки (LaFlamme et al., 1992; Aplin et al., 1998), что не может не стимулировать процессы клеточной адгезии.

Нельзя также не отметить, что изменение соотношения жидкости внешнего и внутреннего монослоев липидного бислоя является необходимым условием для осуществления процессов деформации клеточной мембраны в местах контакта клетки с какой-либо поверхностью (другими клетками, белками ВКМ), являющихся базисными в ходе формирования отростков у клетки в процессе ее распластывания. Другими словами, без изменения соотношения жидкости верхнего и нижнего монослоев клеточной мембраны невозможна дискретность проявления адгезивных свойств у клетки.

В отличие от ФХ и ФЭА, основная функциональная нагрузка которых сводится к поддержанию структуры липидного бислоя, фосфолипидам ФИ и ФС свойственна регуляторная активность (Wadec, Rabson, 1983; Mimura et al., 1993; Filomotori, Rega, 2003), которая, вероятно, связана с увеличением концентрации этих фосфолипидов в

зоне аннулярных липидов, расположенных вокруг рецепторных структур. Как уже отмечалось выше, обработка клеток пептидом GER приводит к уменьшению степени упакованности ФИ-молекул за счет увеличения изогнутости остатков полиеновых жирных кислот, в результате чего могут ускоряться процессы перехода от неактивной к активной конформации функционально значимых участков полипептидной цепи интегриновых рецепторов (Hato et al., 1998), обеспечивающих проведение сигнала из внеклеточного пространства в клетку и (или) наоборот (Schoenwaelder, Burrige, 1999; Hynes, 2002), что в конечном счете может выражаться в ускорении процессов, приводящих к клеточной адгезии.

Кроме того, относительное увеличение в группе ФИ- и ФЭА молекул, содержащих арахидоновую кислоту, может изменить не только структуру липидного бислоя в отдельных зонах мембраны, но и свидетельствовать о возможности высвобождения молекул арахидоновой кислоты с последующим образованием ее метаболитов, способных непосредственно влиять на адгезивные клеточные процессы (Brash, 2001; Fitzpatrick, Soberman, 2001).

Возможность образования биологически активных пептидных фрагментов из коллагеновых молекул *in vivo* достаточно высока. Известно, что процесс деградации коллагенов может происходить либо внутриклеточно в ходе фагоцитоза этих белков, либо внеклеточно при действии металлопротеиназ, выделяемых в основном фибробластами в ходе ремоделирования ВКМ (Knowles et al., 1991; van der Zee et al., 1995). В зависимости от условий окружения может активироваться или первый, или второй путь катаболизма коллагенов. При этом в ходе внутриклеточного расщепления коллагена образующиеся пептиды могут воздействовать на интегринассоциированные белковые компоненты, контактирующие с элементами цитоскелета клетки, и таким образом могут участвовать в регуляции проведения сигнала из клетки на внеклеточные домены интегриновых рецепторов. При внеклеточном распаде этого белка освобождающиеся пептидные фрагменты могут изменять пространственную ориентацию боковых радикалов некоторых аминокислотных остатков, определяющих «активное» или «неактивное» состояние функционально значимых участков внеклеточных доменов интегриновых рецепторов, обеспечивая тем самым ускорение или ингибирование соответствия пространственных конформаций определенных доменов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц интегринов, необходимого для проведения сигнала внутрь клетки.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что обработка клеток СНО-К1 пептидом GER вызывает ускорение клеточной адгезии и модифицирует жирнокислотный состав фосфолипидных молекул клеточных мембран. При этом наибольшим изменениям под действием исследуемого пептида подвержена у фосфолипидов группа ненасыщенных ацильных остатков. Увеличение в составе ФХ, ФЭА и ФИ количества полиненасыщенных жирных кислот с 20—22 углеродными атомами может свидетельствовать об эффекте разжижения липидных доменов с повышенным содержанием указанных фосфолипидных молекул, более вероятно, зон аннулярных липидов, локализованных вокруг белков, в том числе и интегринов. Несомненно, что флуктуации в жирнокислотном составе фосфолипидов, вызванные исследуемым пептидом GER, будут влиять на липид-белковые взаимодействия, приводя к изменению либо процессов латеральной диффузии интегрино-

вых рецепторов и их кластеризации, либо пространственной структуры определенных доменов интегринов, непосредственно определяющих активное или неактивное состояние рецепторных молекул, модулируя тем самым адгезивную способность клетки.

### Список литературы

- Кагава Я. 1985. Биомембраны. М.: Мир. 304 с.
- Крэнс Е. М. 1981. Липиды клеточных мембран. Л.: Наука. 339 с.
- Пальцев М. А., Иванов А. А., Северин С. Е. 2003. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина. 288 с.
- Adair-Kirk T. L., Atkinson J. J., Brockelmann T. J., Doi M., Tryggvason K., Miner J. H., Mechem R. P., Senior R. M. 2003. A site on laminin  $\alpha 5$ , AQARSAASKVKVSMKF, induces inflammatory cell production of matrix metalloproteinase-9 and chemotaxis. *J. Immunol.* 171 : 398—406.
- Aplin A. E., Howe A., Alahari S. K., Juliano R. L. 1998. Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules and selectins. *Pharmacol. Rev.* 50 : 197—263.
- Boot-Handford R. P., Tuckwell D. S., Plumb D. A., Rock C. F., Poulson R. 2003. A novel and highly conserved collagen (pro  $\alpha 1$  (XXVII)) with a unique expression pattern and unusual molecular characteristics establishes a new clade within the vertebrate fibrillar collagen family. *J. Biol. Chem.* 278 : 31 067—31 077.
- Brash A. R. 2001. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *J. Clin. Invest.* 107 : 1339—1345.
- Calderwood D. A. 2004. Integrin activation. *J. Cell Sci.* 117 : 657—666.
- Conforti G., Zanetti A., Pasquali-Ronchetti I., Quaglini D., Neyroz J. P., Dejana E. 1990. Modulation of vitronectin receptor binding by membrane lipid composition. *J. Biol. Chem.* 265 : 4011—4019.
- Devaux P. F. 1991. Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes. *Biochemistry.* 30 : 1163—1173.
- Feng Y., Mrksich M. 2004. The synergy peptide PHSRN and the adhesion peptide RGD mediate cell adhesion through a common mechanism. *Biochemistry.* 43 : 15 811—15 821.
- Filomotori C. V., Rega A. F. 2003. On the mechanism of activation of the plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase by ATP and acidic phospholipids. *J. Biol. Chem.* 278 : 22 265—22 271.
- Fitzpatrick F. A., Soberman R. 2001. Regulated formation of eicosanoids. *J. Clin. Invest.* 107 : 1347—1351.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stenley G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 : 497—509.
- Foote J. L., Allen R. J., Agranoff B. W. 1965. Fatty acids in esters and cerebrosides of human brain in phenylketonuria. *J. Lipid Res.* 6 : 518—524.
- Grab B., Miles A. J., Furcht L. T., Fields G. B. 1996. Promotion of fibroblast adhesion by triple-helical peptide models of type I collagen-derived sequences. *J. Biol. Chem.* 271 : 12 234—12 240.
- Graf J., Iwamoto Y., Sasaki M., Martin G. R., Kleinman H. K., Robey F. A., Yamada Y. 1987. Identification of an amino acid sequence in laminin mediating cell attachment, chemotaxis and receptor binding. *Cell.* 48 : 989—996.
- Gullberg D. E., Lundgren-Akerlund E. 2002. Collagen-binding I domain integrins — what do they do? *Progr. Histochem. Cytochem.* 37 : 3—54.
- Hantgan R. R., Lyles D. S., Mallett T. C., Rocco M., Nagaswami C., Weisel J. W. 2003. Ligand binding promotes the entropy-driven oligomerization of integrin  $\alpha_{11b}\beta_3$ . *J. Biol. Chem.* 278 : 3417—3426.
- Hato T., Pampori N., Shattil S. J. 1998. Complementary roles for receptor clustering and conformational change in the adhesive and signaling functions of integrin  $\alpha_{11b}\beta_3$ . *J. Cell Biol.* 141 : 1685—1695.
- Hulmes D. J. 1992. The collagen superfamily — diverse structures and assemblies. *Essays Biochem.* 27 : 49—67.
- Hynes R. O. 2002. Integrins. Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell.* 110 : 673—687.
- Kimura K., Hattori A., Usui Y., Kitazawa K., Naganuma M., Kawamoto K., Teranishi S., Nomizu M., Nishida T. 2007. Stimulation of corneal epithelial migration by a synthetic peptide (PHSRN) corresponding to the second cell-binding site of fibronectin. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 48 : 1110—1118.
- Knapp H. R., Hullin F., Salem N. J. 1994. Asymmetric incorporation of dietary n-3 fatty acids into membrane aminophospholipids of human erythrocytes. *J. Lipid Res.* 35 : 1283—1291.
- Knight C. G., Morton L. F., Peachey A. R., Tuckwell D. S., Farndale R. W., Barnes M. J. 2000. The collagen-binding A-domain of integrins  $\alpha_1\beta_1$  and  $\alpha_2\beta_1$  recognize the same specific amino acid sequence, GFOGER, in native (triple-helical) collagens. *J. Biol. Chem.* 275 : 35—40.
- Knowles G. C., McKeown M., Sodek J., McCulloch C. A. 1991. Mechanism of collagen phagocytosis by human gingival fibroblasts: importance of collagen structure in cell recognition and internalization. *J. Cell Sci.* 98 : 551—558.
- Komoriyama A., Green L. J., Mervic M., Yamada S. S., Yamada K. M., Humphries M. J. 1991. The minimal essential sequence for a major cell type-specific adhesion site (CS1) within the alternatively spliced type III connecting segment domain of fibronectin is leucine—aspartic acid—valine. *J. Biol. Chem.* 266 : 15 075—15 079.
- LaFlamme S. E., Akiyama S. K., Yamada K. M. 1992. Regulation of fibronectin receptor distribution. *J. Cell Biol.* 117 : 437—447.
- Lowry O. H., Roberts N. R., Leiner K. Y., Wu M.-L., Farr A. L. 1954. The quantitative histochemistry of brain. I. Chemical methods. *J. Biol. Chem.* 207 : 1—17.
- Mimura K., Matsui H., Takagi T., Hayashi Y. 1993. Change in oligomeric structure of solubilized  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase induced by octaethylene glycol dodecyl ether, phosphatidylserine and ATP. *Biochim. biophys. acta.* 1145 : 63—74.
- Mooradian D. L., McCarthy J. B., Skubitz A. P., Cameron J. D., Furcht L. T. 1993. Characterization of FN-C/H-V, a novel synthetic peptide from fibronectin that promotes rabbit corneal epithelial cell adhesion, spreading and motility. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 34 : 153—164.
- Mould A. P., Humphries M. J. 1991. Identification of a novel recognition sequence for the integrin alpha 4 beta 1 in the COOH-terminal heparin-binding domain of fibronectin. *EMBO J.* 10 : 4089—4095.
- Moyano J. V., Carnemolla B., Dominguez-Jimenez C., Garcia-Gila M., Albar J. P., Sanchez-Aparicio P., Leprini A., Querze G., Zardi L., Garcia-Pardo A. 1997. Fibronectin type III 5 repeat contains a novel cell adhesion sequence, KLDAPT, which binds activated  $\alpha_4\beta_1$  and  $\alpha_4\beta_7$  integrins. *J. Biol. Chem.* 272 : 24 832—24 836.
- Plow E. E., Haas T. A., Zhang L., Loftus J., Smith J. W. 2000. Ligand binding to integrins. *J. Biol. Chem.* 275 : 21 785—21 788.
- Raynal N., Hamaia S. W., Siljander P. R., Maddox B., Peachy A. R., Fernandez R., Foley L. J., Slatter D. A., Jarvis G. E., Farndale R. W. 2006. Use of synthetic peptides to locate novel integrin  $\alpha_2\beta_1$ -binding motifs in human collagen III. *J. Biol. Chem.* 281 : 3821—3831.
- Richard B. L., Nomizu M., Yamada Y., Kleinman H. K. 1996. Identification of synthetic peptides derived from laminin  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  chains with cell type specificity for neurite outgrowth. *Exp. Cell Res.* 228 : 98—105.
- Rouser G., Siarotus N. N., Fleischer S. 1966. Quantitative analysis of phospholipids by thin-layer chromatography and phosphorus analysis of spots. *Lipids.* 226 : 85—86.
- Schoenwaelder S. M., Burridge K. 1999. Bidirectional signaling between the cytoskeleton and integrins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11 : 274—286.
- Shattil S. J., Kashiwagi H., Pampori N. 1998. Integrin signaling: the platelet paradigm. *Blood.* 91 : 2645—2657.
- Siljander P. R., Hamaia S. W., Peachy A. R., Slatter D. A., Smethurst P. A., Ouwehand W. H., Knight C. G., Farndale R. W.

2004. Integrin activation state determines selective for novel recognition sites in fibrillar collagens. *J. Biol. Chem.* 279 : 47 763—47 772.

Staatz W. D., Fok K. F., Zutter M. M., Adams S. P., Rodriguez B. A., Santoro S. A. 1991. Identification of a tetrapeptide recognition sequence for the alpha 2 beta 1 integrin in collagen. *J. Biol. Chem.* 266 : 7363—7367.

Vitte J., Benoliel A. M., Eymeric P., Bongrand P., Pierres A. 2004. Beta-1 integrin-mediated adhesion may be initiated by multiple incomplete bonds, thus accounting for the functional importance of receptor clustering. *Biophys. J.* 86 : 4059—4074.

Wadee A. A., Rabson A. R. 1983. Binding of phosphatidylethanolamine and phosphatidylinositol to OKT8<sup>+</sup> lymphocytes activates suppressor cell activity. *J. Immunol.* 130 : 2271—2276.

Xu Y., Gurusiddappa S., Rich R. L., Owens R. T., Keene D. R., Mayne R., Höök A., Höök M. 2000. Multiple binding sites in collagen type I for the integrins  $\alpha_1\beta_1$  and  $\alpha_2\beta_1$ . *J. Biol. Chem.* 275 : 38 981—38 989.

Yauch R. L., Felsenfeld D. P., Kraeft S.-K., Chen L. B., Sheetz M. P., Hemler M. E., 1997. Mutational evidence for control of cell adhesion through integrin diffusion / clustering, independent of ligand binding. *J. Exp. Med.* 186 : 1347—1355.

Yukuva N., Ivone T., Tadashi E. A. 1989. A novel neutrophil adherence test effectively reflects the activated state of neutrophils. *Microbiol. Immunol.* 33 : 834—852.

Zee E., van der, Everts V., Hoeben K., Beertsen W. 1995. Cytokines modulate phagocytosis and intracellular digestion of collagen fibrils by fibroblast in rabbit periosteal explants. Inverse effects on procollagenase production and collagen phagocytosis. *J. Cell Sci.* 108 : 3307—3315.

Zhang W.-M., Käpylä J., Puranen J. S., Knight C. G., Tiger C.-F., Pentikäinen O. T., Johnson M. S., Farndale R. W., Heino J., Gullberg D. 2003.  $\alpha_{11}\beta_1$  Integrin recognizes the GFOGER sequence in interstitial collagens. *J. Biol. Chem.* 278 : 7270—7277.

Поступила 14 IV 2007

THE ROLE OF THE COLLAGEN TRIPEPTIDE FRAGMENT GER IN THE ADHESION  
ACTIVATION AND MODIFICATION OF FATTY ACID COMPOSITION  
IN MEMBRANE PHOSPHOLIPIDS OF CHO-K1 CELLS

V. P. Ivanova,<sup>1</sup> Z. V. Kovaleva,<sup>2</sup> S. A. Zabelinskii,<sup>1</sup> T. M. Grinchuk,<sup>2</sup> A. I. Krivchenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS  
and <sup>2</sup> Institute of Cytology, RAS, St. Petersburg;  
e-mail: valet@icphb.ru

It has been found that multiply repeated tripeptide fragment GER (Gly-Glu-Arg) from different collagen types stimulates nonspecific adhesion of CHO-K1 cells. Activation of cell adhesion is accompanied by modifications in fatty acid composition of cell membrane phospholipids. Cell incubation with the synthetic peptide increases the unsaturation indexes of phosphatidylcholin (PC), phosphatidylethanolamine (PEA) and phosphatidylinositol (PI). Arachidonic (C20:4 $\omega$ 6) acid is mainly contributed to the increased unsaturation index of PI. In the case of PC and PEA not only arachidonic acid but also other unsaturated fatty acids: docosatetraenoic (C22:4 $\omega$ 6), docosapentaenoic (C22:5 $\omega$ 3) and docosahexaenoic (C22:6 $\omega$ 3) acids are implicated in the index increasing. Besides, the elevation of relative content of molecules with polyenoic fatty acids in the group of PI molecules is accompanied by decrease in monoenoic fatty acids caused mainly by decrease in the oleic (C18:1) acid level. The role of the investigated peptide: 1) in the activation of cell adhesion as a regulator of active or non active state of integrin receptors: 2) in the alterations of fatty acid composition in main classes of phospholipids as modulator of fluidity level in annular lipid zones around these adhesive molecules is discussed.

Key words: collagen peptide fragment, fatty acids, phospholipids, adhesion, CHO cells.