
БИОГЕРОНТОЛОГИЯ

ПЕПТИДЫ (ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ) В СТРУКТУРЕ БЕЛКОВ ДОЛГО- И КОРОТКОЖИВУЩИХ ГРЫЗУНОВ

В.Х.Хавинсон^{*,***}, Д.Ю.Кормилец^{**}, А.Т.Марьянович^{***}

**Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, РФ;
Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург, РФ; *Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, Санкт-Петербург, РФ*

В структуре белков долгоживущего африканского грызуна голого землекопа *Heterocephalus glaber* присутствуют пептиды, идентичные пептидам, эпигенетическая активность которых была установлена ранее. Эти эпигенетические регуляторы в структуре белков заключены между остатками лизина и аргинина, что облегчает их высвобождение при ограниченном протеолизе. Некоторые из таких эпигенетических регуляторов отсутствуют в белках короткоживущих видов — серой крысы и домовый мыши.

Ключевые слова: старение, пептиды, эпигенетическая регуляция

В Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии созданы короткие пептиды (пептидные эпигенетические регуляторы — ПЭР, PEGRs), способствующие восстановлению пораженных тканей, в том числе в результате старения [2,5-7].

Африканский грызун голый землекоп (*naked-mole rat, Heterocephalus glaber*) привлекает внимание геронтологов из-за необычайного для его отряда долголетия: максимальная зафиксированная продолжительность его жизни — более 30 лет [8], т.е. в 10 раз больше, чем у эволюционно близких ему видов — серой крысы (*Rattus norvegicus*) и домовый мыши (*Mus musculus*). Голый землекоп устойчив к раку [3]; только недавно опубликованы первые случаи наблюдения злокачественных опухолей у двух самцов 20 и 22 лет [4].

Среди прочих предлагаемых объяснений долгожительств *H. glaber* — особая стабильность его белков [9], что подразумевает эффективные механизмы восстановления поврежденных молекул [10]. Геном голого землекопа описан и доступна первичная структура всех его белков.

Цель данного исследования — выяснить, присутствуют ли в структуре белков грызуна-долго-

жителя мотивы, соответствующие пептидам (ПЭР), и существуют ли структурные отличия названных мотивов от таковых у короткоживущих родственных видов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее вероятный сайт ферментативного расщепления, в результате которого из молекулы белка-предшественника “вырезается” регуляторный пептид, — сочетания основных аминокислот Lys-Arg (KR), Arg-Arg (RR), Arg-Lys (RK) и Lys-Lys (KK) [1]. С помощью специально разработанного нами программного обеспечения “AMS14_003” проводили поиск ПЭР в легко высвобождаемых формах K—ПЭР—K, K—ПЭР—R, R—ПЭР—K и R—ПЭР—R в первичной структуре всех белков *H. glaber*, *R. norvegicus* и *M. musculus*, включенных в базу данных MEDLINE (в виде FASTA — текстового формата для представления белковых последовательностей в однобуквенном коде).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Искомые мотивы мы обнаружили в 17 белках голого землекопа и сравнили содержащиеся их фрагменты

Адрес для корреспонденции: atm52@mail.ru. Марьянович А.Т.

Таблица 1. Короткие пептиды (ПЭР), присутствующие в легко высвобождаемой форме в структуре белков долгоживущего грызуна *H. glaber* и короткоживущих грызунов *R. norvegicus* и *M. musculus*

Пептиды	Белки
Эпиталон (Epitalon)	<p>von Willebrand factor A domain-containing protein 3B (vWA3B)</p> <p>SRYADGLFPQFHRAEDGRVYNLTANSELIY</p> <p>SRYADGLFPREFYTAEDGRLYNLTAKSELIY</p> <p>SRYADGLFPQIYTAEDGRLYNLTAKTELIC</p> <p>Tubulin-specific chaperone A</p> <p>MKAEDGKNYAIKKQAEILQESQTMIPDCQR</p> <p>MKAEDGENYAIKKQAEILQESRMMIPDCQR</p> <p>MKAEDGENYAIKKQAEILQESRMMIPDCQR</p>
Бронхоген (Bronhogen)	<p>Fascin (у крысы – Protein Phf14)</p> <p>MDEVEWMHRHPKAEDLRIGLISWAGTYLTF</p> <p>MAEVDWIHRHPKAEALRVGLISWAGTYLTF</p> <p>MAEVDWIHRHPKAEDLRVGLISWAGTYLTF</p> <p>Transcription factor AP-4</p> <p>EGIGSPDIWEDEKAEDLRREMIELRQQLDK</p> <p>EGIGSPDIWEDEKAEDLRREMIELRQQLDK</p> <p>EGIGSPDIWEDEKAEDLRREMIELRQQLDK</p> <p>Uncharacterized protein (human Nck-associated protein 5-like protein homolog)</p> <p>EPESLNISKLMAKAEDLRRALEEEEKAYLSR</p> <p>EAESLNISKLMAKAEDLRRALEEEEKAYLSR</p> <p>EAESLNISKLMAKAEDLRRALEEEEKAYLSR</p> <p>1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase, mitochondrial</p> <p>EIQSVLPENQMPRAEDLKKMPYLKACLKES</p> <p>У крысы близких по структуре белков в базе данных не обнаружено</p> <p>EIQSVLPDNQTPEAEDVRNMPYLKACLKES</p> <p>Leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 1 (LRRK1)</p> <p>KGSRSVAKNGVIRAEDLRMLLVGTGFTKQT</p> <p>KGSRSVAKNGVIRAEDLRMLLVGTGFTQQT</p> <p>KGSRSVAKNGVIQAEDLRMLLVGTGFTQQT</p> <p>Dynein heavy chain 2, axonemal</p> <p>YEIPHYVVNVAGRAEDLRILRENLLLVARD</p> <p>FETPHYVMNVADRAEDLRILRENLLLVARD</p> <p>FETPHYVMNVAERAEDLRILRENLLLVARD</p>

продолжение таблицы 1. Короткие пептиды (ПЭР), присутствующие в легко высвобождаемой форме в структуре белков долгоживущего грызуна *H. glaber* и короткоживущих грызунов *R. norvegicus* и *M. musculus*

Пептиды	Белки
Тестаген (Testagen)	<p>General transcription factor IIF (TFIIF) subunit 2 ANHQYNIEYERKKKEDGKRARADKQHVLDM ANHQYNIEYERKKKEDGKRARADKQHVLDM ANHQYNIEYERKKKEDGKRARADKQHVLDM</p> <p>Serrate RNA effector molecule-like protein, или Serrate RNA effector molecule homolog, или Arsenite-resistance protein 2 (SRRT, ARS2) GDGERKAGDKDDKEDGKQAENDGSNDDKT GDGERKVNDKDEKKEDGKQAENDSSNDDKT GEGERKANDKDEKKEDGKQAENDSSNDDKT</p> <p>Lipoxygenase-like protein domain-containing protein 1, или Lipoxygenase homology domains 1 (LOXHD1) EFLFLCGRWLSLKEDGRRLERLFYEKEYTG EFLFLCGRWLSLKEDGRRLERLFYEKEYTG EFLFLCGRWLSLKEDGRRLERLFYEKEYTG</p> <p>Patatin-like phospholipase domain-containing protein 7 (PNPLA7), или NTE-related esterase (NRE) YIVLSGRLRSVIRKEDGKKRLVGEYGLRDL YIVLSGRLRSVIRKDGGKRLAGEYGRGDL YIVLSGRLRSVIRKDGGKRLAGEYGRGDL</p>
Ливаген (Livagen)	<p>Prostaglandin reductase 1 (PGR1), или leukotriene B4 dehydrogenase GGRERRGQEEEEKEDAKKEKGRSLMMVRA У крысы и мыши близких по структуре белков в базе данных не обнаружено</p> <p>Short stature homeobox protein 2, или homeobox protein Og12X, или paired-related homeobox protein SHOT PRLTEVSPELKDRKEDAKGMEDEGQTKIKQ PRLTEVSPELKDRKEDAKGMEDEGQTKIKQ PRLTEVSPELKDRKDDAKGMEDEGQTKIKQ</p>

продолжение таблицы 1. Короткие пептиды (ПЭР), присутствующие в легко высвобождаемой форме в структуре белков долгоживущего грызуна *H. glaber* и короткоживущих грызунов *R. norvegicus* и *M. musculus*

Пептиды	Белки
Кардиоген (Cardiogen)	<p>Dehydrogenase/reductase SDR family member 4 (DHRS4)</p> <p>GLSVTGTVCHVGKAEDRKQLVATAVKLHGG GLSVTGVVCHVGKAEDREKLVNMALKLHQG GLSVTGIIVCHVGKAEDREKLIITALKRHRG</p> <p>Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A (EIF3A)</p> <p>LRSERDEVSSWRRAEDRKDDRAEERDPPRR LRSEREEASSWRRTDDRKDDRTEERDPPRR LRSEREEASSWRRTDDRKDDRTEERDPPRR</p>
Простамакс (Prostamax)	<p>MAP7 domain-containing protein 2 (у крысы – Brain-enriched E-MAP-115-like protein, у мыши – MAP7 domain-containing protein 2 isoform 2)</p> <p>KRTRKSDVSPEVKKEDPKVEIQPVVCVENK KRTRKSDASLEVKKEDPKVEIQPLPDVENK KRTRKSDASLEVKKEDPKVELQPPDVENK</p>

Примечание. Первичные структуры: верхние строки — *H. glaber*, средние — *R. norvegicus*, нижние — *M. musculus*. Совпадение аминокислотных остатков крысы и мыши с таковыми голого землекопа отмечено серым. Мотивы, соответствующие ПЭР, выделены полужирным шрифтом, окружающие их остатки лизина (K) и аргинина (R) подчеркнуты. Первичные структуры тубулинспецифического шаперона A и простагландинредуктазы-1 представлены полностью, прочие белки — в виде фрагментов ($n=30$), включающих в себя искомые короткие пептиды.

Таблица 2. Белок без названия *H. glaber* (фрагмент, $n=1003$)

XSSG**P**NCAPGSSSSSSSDEAGDPNEAPSPDTLLGALARR**Q**LN**L**GQLLED**T**ES**Y**LQAFLAGAAG
 PLNGDHPG**P**G**Q**SSSPD**Q**APP**Q**LSK**S**KGLPKSAWGGGTPEAHR**P**GFGATSEG**Q**G**P**LPFLSM**F**MG
 AGDAPLGS**R**PGHPHSSSQV**K**SK**L**Q**I**GPPSPGEAQ**P**LL**P**SPARG**L**K**F**L**K**LPPT**S**E**K**SPSPGG**P**
 QLSPQLPRNS**R**IPCRNSGSDGSP**S**PL**L**ARRGLGGEL**S**PEGA**Q**GLPTSP**S**PC**Y**T**T**PD**S**T**Q**LR**P**
 PQSAL**S**T**T**LSPGPVVSPCYENILDLSR**S**T**F**RG**P**SP**E**PP**S**PL**Q**VPT**Y**Q**L**T**L**EV**P**Q**A**PEV**L**RS
 PGVPP**S**PC**L**PES**Y**PYG**S**P**Q**E**K**SLDKAG**S**ESPH**P**GR**R**T**P**GN**S**SK**P**S**Q**SGRR**P**GD**P**GS**T**PL**R**D
 RLAALG**K**L**K**TG**P**E**G**AL**G**SE**K**NGV**P**AR**P**GT**E**K**T**RG**P**G**K**SG**S**AG**M**V**P**SI**H**RP**L**E**Q**LE**A**KG**G**IR
 GAVALG**T**NS**L**K**Q**Q**E**PL**M**GD**P**GAR**V**Y**S**SH**S**MGAR**V**D**L**EP**V**SP**R**SC**L**T**K**VEL**A**K**S**RLAG**A**LC**P**Q
 V**P**RT**P**AK**V**PT**S**AP**S**L**G**PN**K**SP**H**SS**P**T**K**L**P**SK**S**PT**K**V**V**PR**P**GA**P**L**V**T**K**ES**P**K**P**D**K**G**K**G**P**P**W**AD
 CG**S**T**T**A**Q**S**T**PL**V**PG**P**TD**P**S**Q**G**P**E**G**L**A**PH**S**A**I**E**E**K**V**M**K**G**I**E**N**V**L**R**L**Q**Q**ER**A**P**G**A**E**V**K**HR**N**TS
 S**I**AS**W**F**L**G**K**K**S**K**L**P**A**LN**R**RE**A**T**K**N**K**E**G**AG**G**S**P**L**R**EV**K**ME**A**R**K**LE**A**ES**L**N**I**SK**L**MA**K****A**ED**L**
 RR**A**LE**E**E**K**AY**L**SS**R**AR**P**RP**G**GA**P**AP**G**NT**G**L**Q**V**Q**Q**L**AG**M**Y**Q**G**A**DT**F**M**Q**LL**N**R**V**D**G**K**E**LP**S**K
 SW**R**EP**K**PE**Y**G**D**F**Q**PV**S**SD**P**K**S**P**W**AC**G**PR**N**GL**V**G**P**L**Q**G**C**G**K**PP**G**K**S**SE**P**GR**R**E**E**M**P**SE**D**SL**A**
 EP**V**PT**S**H**F**T**A**C**G**SL**R**TR**T**LD**S**G**I**G**T**F**P**PP**D**H**G**SS**G**T**P**SK**N**L**P**K**T**K**P**PR**L**D**P**PP**G**V**P**PAR**P**P**L**T
 KV**P**RR**A**HT**L**ER**E**VP**G**IE**L**L**V**SG**R**H**P**S**M**PA**F**P**A**LL**P**AA**P**G**H**R**G**H**E**T**C**P**D**D**P**CE**D**PG**P**T**P**P**V**Q**L**
 AK**N**W**T**F**P**N**T**RA**A**GS**S**SD**P**LM**C**PP**R**Q**L**E**G**L**P**RT**P**M**V**RI**A**AE**E**RE**R**ET**R**EQ**E**G**V**M**W**GD**Q**F**L**Q

Примечание. Серым фоном выделены аминокислотные остатки, общие для данного белка голого землекопа и человеческого белка *hitan* NAP5-LPH. Мотивы, соответствующие ПЭР, выделены полужирным шрифтом, окружающие их остатки лизина (K) и аргинина (R) подчеркнуты.

Таблица 3. Совпадения/несовпадения структур коротких пептидов (ПЭР), входящих в состав белков долго- (*H. glaber*) и короткоживущих (*R. norvegicus*, *M. musculus*) видов грызунов

Совпадающие структуры	Белок	ПЭР в составе белков
ПЭР и концевых Arg/Lys	Fascin	Lys-Bronhogen-Arg (KAEDLR)
	Transcription factor AP-4	Lys-Bronhogen-Arg (KAEDLR)
	Uncharacterized protein (human Nck-associated protein 5-like protein homolog)	Lys-Bronhogen-Arg (KAEDLR)
	General transcription factor IIF (TFIIF) subunit 2	Lys-Testagen-Lys (KKEDGK)
	Serrate RNA effector molecule-like protein, или Serrate RNA effector molecule homolog или Arsenite-resistance protein 2 (SRRT, ARS2)	Lys-Testagen-Lys (KKEDGK)
	Lipoxygenase-like protein domain-containing protein 1, или Lipoxygenase homology domains 1 (LOXHD1)	Lys-Testagen-Lys (KKEDGK)
Только ПЭР	MAP7 domain-containing protein 2	Lys-Prostamax-Lys (KKEDPK)
	von Willebrand factor A domain-containing protein 3B (vWA3B)	Epitalon (AEDG)
	Tubulin-specific chaperone A	Epitalon (AEDG)
	Dehydrogenase/reductase SDR family member 4 (DHRS4)	Cardiogen (AEDR)
3 из 4 аминокислот ПЭР	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A (EIF3A)	Cardiogen (XEDR)
	Patatin-like phospholipase domain-containing protein 7 (PNPLA7), или NTE-related esterase (NRE)	Testagen (KXDG)

с таковыми в белках серой крысы и домового мыши (табл. 1).

Бронхогенсодержащий белок *H. glaber*, до настоящего времени классифицируемый как uncharacterized protein, как установлено нами, на 85% гомологичен фрагменту human Nck-associated protein 5-like protein (табл. 2), что позволяет предложить для белка голого землекопа название human Nck-associated protein 5-like protein homolog, или human NAP5-LPH (Nck — non-catalytic region of tyrosine kinase adaptor protein).

В таблице 3 приведены данные о структурном сходстве ПЭР долгоживущего и короткоживущих видов грызунов.

Мотивы, соответствующие ПЭР, входят в состав белков грызунов, в том числе в окружении остатков лизина и аргинина, облегчающих выделение пептидов в виде целых молекул в ходе частичного протеолиза белков. В молекулах некоторых белков структура указанных мотивов у долгоживущего вида *H. glaber* существенно отличается от таковой у короткоживущих *R. norvegicus* и *M. musculus*: в эукариотическом факторе инициации трансляции-3; в содержащем домен пататинподобной

фосфолипазы белке-7 и в 4-м члене семейства короткоцепочечных дегидрогеназ/редуктаз. Менее значимые различия наблюдаются в структуре фактора фон Виллебранда и тубулинспецифическом шапероне А.

В структуре белков долгоживущего африканского грызуна голого землекопа *H. glaber* присутствуют короткие пептиды, идентичные ПЭР. Эти короткие пептиды заключены между остатками лизина и аргинина, что значительно облегчает их высвобождение при ограниченном протеолизе белков. Некоторые из таких пептидов, обнаруженных в белках голого землекопа, отсутствуют в белках короткоживущих видов — серой крысы и домового мыши. Структура и функции упомянутых белков заслуживают особого внимания при дальнейших исследованиях явления долгожительств.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Марьянович А.Т.* Общая теория пептидной регуляции физиологических функций: гематоэнцефалический барьер и эволюция связей между периферией и мозгом. СПб., 2014.

2. Хавинсон В.Х., Соловьев А.Ю., Тарновская С.И., Линькова Н.С. Механизм биологической активности коротких пептидов: проникновение в клетку и эпигенетическая регуляция экспрессии генов // Успехи соврем. биол. 2013. Т. 133, № 3. P. 310-316.
3. Buffenstein R. Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species // J. Comp. Physiol. B. 2008. Vol. 178, N 4. P. 439-445.
4. Delaney M.A., Ward J.M., Walsh T.F., Chinnadurai S.K., Kerns K., Kinsel M.J., Treuting P.M. Initial case reports of cancer in naked mole-rats (*Heterocephalus glaber*) // Vet. Pathol. 2016. Vol. 53, N 3. P. 691-696.
5. Khavinson V.Kh., Malinin V.V. Gerontological Aspects of Genome Peptide Regulation. Basel, 2005.
6. Khavinson V.Kh. Peptides, genome, aging // Adv. Gerontol. 2014. Vol. 27, N 2. P. 257-264.
7. Khavinson V.K., Solov'ev A.Y., Zhilinskii D.V., Shataeva L.K., Vanyushin B.F. Epigenetic aspects of peptide-mediated regulation of aging // Adv. Gerontol. 2012. Vol. 2, N 4. P. 277-286.
8. MacRae S.L., Croken M.M., Calder R.B., Aliper A., Milholland B., White R.R., Zhavoronkov A., Gladyshev V.N., Seluanov A., Gorbunova V., Zhang Z.D., Vijg J. DNA repair in species with extreme lifespan differences // Aging (Albany NY). 2015. Vol. 7, N 12. P. 1171-1184.
9. Pérez V.I., Buffenstein R., Masamsetti V., Leonard S., Salmon A.B., Mele J., Andziak B., Yang T., Edrey Y., Friguet B., Ward W., Richardson A., Chaudhuri A. Protein stability and resistance to oxidative stress are determinants of longevity in the longest-living rodent, the naked mole-rat // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2009. Vol. 106, N 9. P. 3059-3064.
10. Yu C., Li Y., Holmes A., Szafranski K., Faulkes C.G., Coen C.W., Buffenstein R., Platzer M., de Magalhães J.P., Church G.M. RNA sequencing reveals differential expression of mitochondrial and oxidation reduction genes in the long-lived naked mole-rat when compared to mice // PLoS One. 2011. Vol. 6, N 11. P. e26729.

Получено 02.08.16