© В. Х. Хавинсон, Л. К. Шатаева

МОДЕЛЬ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОЛИГОПЕПТИДОВ С ДВОЙНОЙ СПИРАЛЬЮ ДНК

*Член-корреспондент РАМН ХАВИНСОН В. Х., ШАТАЕВА Л. К.**
Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН,
**Институт высокомолекулярных соединений РАН,*
Санкт-Петербург

Хавинсон В. Х., Шатаева Л. К. Модель комплементарного взаимодействия олигопептидов с двойной спиралью ДНК // Мед. акад. журн. 2005. Т. 5. № 1. С. 15–23. Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург.

Сравнение пространственного расположения функциональных групп нуклеиновых оснований на поверхности большой канавки двухспиральной ДНК и функциональных групп коротких пептидов показывает, что эти полиамфолитные структуры имеют возможность многоточечного комплементарного взаимодействия. В качестве примера представлена модель комплементарного связывания синтетического тетрапептида *Ala-Glu-Asp-Gly* (эпиталона) с последовательностью нуклеотидов ATTTC в составе ведущей цепи двойной спирали ДНК, которая многократно повторяется на промоторных участках генов теломеразы и РНК полимеразы II. Показано, что регуляторные пептиды и комплементарные им блоки в составе двухспиральной ДНК могут быть связаны протон-донорными и протон-акцепторными взаимодействиями с участием молекул гидратационной воды.

Ключевые слова: олигопептиды, двойная спираль ДНК, структурная комплементарность, водородные связи, промоторные участки гена, инициирование транскрипции.

Khavinson V. H., Shataeva L. K. A model of the complementary interaction of oligopeptides with the DNA double helix // Med. Acad. Journ. T. 5. № 1. P. 15–23. St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology NWB RAMS; Institute of High-molecular Compounds RAS, St. Petersburg.

A comparison of the spatial arrangement of nucleic bases on the surface of the double-strand DNA major groove and functional groups of short peptides demonstrates that there is a possibility of multiple-site interaction between these polyampholytic structures. As an example we present a model of complementary binding of the synthetic tetrapeptide Ala-Glu-Asp-Gly to the nucleotide sequence ATTTC inside the DNA leading strand. This sequence is frequently repeated in the promoter regions of telomerase and RNA polymerase II genes. We show that the regulatory peptides and their complementary blocks in the DNA double helix can be connected by proton-donor and proton-acceptor interactions in which the hydration water molecules are involved.

Key words: oligopeptides, DNA double helix, structural complementarity, hydrogen bonds, promoter regions, transcription initiation.

Как известно, нормальная клетка отвечает на внешние или внутренние изменения изменением интенсивности транскрипции активных генов и синтеза мРНК. Одним из факторов патологического состояния организма является замедление этих процессов, в частности, нарушение процессов инициирования транскрипции [12]. В то же время появились сообщения о том, что некоторые белки, контролирующие клеточный цикл, могут быть активны как факторы транскрипции [16].

Вопрос о механизме инициирования транскрипции решается исследованием структур факторов транскрипции и определением их сайтов связывания с двойной спиралью ДНК на промоторном (некодирующем) участке гена. Со времени появления первых работ в этой области в начале 80-х годов были найдены общие структурные мотивы в строении факторов транскрипции некоторых генов и их комплексов с определенными последовательностями нуклеотидных пар двой-

ной спирали ДНК на промотерных участках генов [34, 35]. Установлено, что в эукариотических клетках активация хроматина и контроль транскрипции осуществляются сложной системой агонистов и факторов транскрипции, включающей как высокомолекулярные белки, так и низкомолекулярные пептиды и олигопептиды [22, 37].

Тогда казалось, что специфическая активность многих высокомолекулярных факторов транскрипции локализована на сравнительно коротких участках пептидной цепи, состоящих из 30–100 аминокислотных остатков [31]. Эти наблюдения выделили новую проблему фармакологии и медицины. Требовалось определить, какова минимальная длина и аминокислотная последовательность короткого пептида, непосредственно и селективно контактирующего с промотерным участком гена и способного имитировать действие фактора транскрипции. Более подробно молекулярные механизмы инициирования транскрипции в эукариотических клетках представлены в монографии [27. P. 341–403].

Обычный подход к отысканию сайта связывания в структуре белка состоит в использовании иммуноспецифических (RIA и FIA) методов. Так, например, был определен участок B_1-цепи ламинина, состоящий из 14 аминокислотных остатков, ответственный за адгезию эпителиальных клеток. Дальнейшие исследования показали, что этот пептид может быть укорочен до пяти аминокислотных остатков с полным сохранением селективности связывания с рецептором [19]. Аналогичная задача была поставлена и практически решалась для пептидного гормона эритропоэтина. Гормон эритропоэтин (ММ 46000) способствует пролиферации, дифференциации и выживанию клеток – предшественников эритроцитов. В библиотеке пептидов методом селекции были найдены короткие пептиды (14 аминокислотных остатков), проявляющие активность, аналогичную нативному гормону, т. е. миметики эритропоэтина [41].

В то же время были выделены и исследованы эндогенные регуляторные пептиды человека, которые проявляли тканеспецифическую активность при использовании в ультрамалых концентрациях. Исследование продуктов гидролиза гемоглобина и пептидов, содержащихся в питательной среде при культивировании человеческих эритроцитов, показало, что короткие отрезки цепей α- и β-глобинов проявляют активность, несвойственную исходному гемоглобину: они связываются с опиатными рецепторами, потенцируют действие брадикинина [24]. Регуляторные пептиды были также выделены из супернатанта культуры клеток костного мозга, исследованы в отношении специфической регуляторной активности и названы миелопептидами [6].

Эксперименты последних лет показали, что как природные пептидные препараты, так и их синтетические аналоги – тетрапептиды определенной структуры – проявляют тканеспецифическую активность, участвуя в активации хроматина и нормализуя ритм белкового синтеза в культуре тканей [1, 4, 8, 9] и на уровне целого организма [10, 13, 26, 32]. Можно предполагать, что короткие пептиды, поддерживающие аутокринную регуляцию, являются миметиками и агонистами высокомолекулярных факторов транскрипции.

Механизмы проникновения коротких пептидов в клетку и в клеточное ядро могут быть различны. По мнению И. П. Ашмарина, механизм проникновения нейропептидов в клетку и в геном нейрона аналогичен механизму проникновения стероидных гормонов. Более гидрофильные короткие пептиды в отличие от стероидных гормонов для преодоления липидных мембран связываются с гидрофильными группами фосфолипидов на внешней стороне мембран, группируются и входят в клетку, используя механизм, близкий к пиноцитозу [2]. Образование комплексов «белок–белок» и их диссоциация – общий механизм внутриклеточных транспортных процессов. В цитозоле находятся стероидные рецепторы, содержащие в структуре домен «C_4 цинковый палец». В отсутствие стероидного гормона этот рецептор связан с белком hsp 90 (heat shock protein), который всегда присутствует в цитоплазме. При появлении стероидного гормона этот неактивный комплекс диссоциирует, и стероидный гормон связывается с рецептором, образуя активный комплекс, который направляется в ядро, где связывается с регуляторным участком целевого гена и активирует (или репрессирует) его транскрипцию [31].

Современные представления о проницаемости цитоплазматической и ядерной мембран показывают, что для проникновения через эти мембраны существуют и диффузионные пути.

Кроме известных ранее ионных каналов и процессов пиноцитоза, были открыты пориновые каналы, образованные семейством трансмембранных белков поринов, присутствующих в митохондриальной и цитоплазматической мембранах [25]. Эти белки имеют в своем составе до 50% гидрофильных аминокислот и структурные мотивы амфифильной α-спирали. Однако большая часть пептидной цепи находится в β-конформации. Несколько трансмембранных цепей поринов образуют бочкообразные (barrel-shaped) поры, которые проницаемы для малых гидрофильных и амфифильных молекул (мочевина, глицерин, триптофан и др.) с коэффициентом диффузии

10^{-6}–10^{-7} см/сек. Например, при разнице концентраций триптофана 0.001 М его диффузионный поток через мембрану составит 600 молекул в секунду через 1 мкм^2 поверхности мембраны [12. P. 509].

Семейство поринов включает подсемейство аквапоринов – белков, контролирующих потоки воды в клетку и из клетки в зависимости от небольших изменений pH внешней среды [17].

Мембраны ядра также имеют развитую систему транспортных пор, образованных белковыми комплексами – нуклеопоринами, которые контролируют транспорт нуклеопротеиновых комплексов в ядро и из ядра [33]. Внутренний диаметр нуклеопор имеет порядок 42 нм, так что они проницаемы для диффундирующих молекул с молекулярной массой до 5000 Да [27. P. 69].

Таким образом, возможность проникновения коротких пептидов в клетку и в клеточное ядро не вызывает принципиальных сомнений. Наши экспериментальные исследования согласуются с представлениями о проникновении коротких пептидов в клетку и ее ядро, так как после добавления пептида в культуру клеток выявлены изменения в состоянии хроматина. В работах [1, 8, 13] на клетках в культуре тканей было доказано, что короткие синтетические пептиды не только проникают в клетку через цитоплазматическую и ядерную мембраны, но и участвуют в активации отдельных генов, в частности гена теломеразы [8].

В работе [9] было исследовано воздействие коротких синтетических пептидов на изменения гетерохроматина в лейкоцитах и обнаружена активация рибосомных генов, деконденсация плотно упакованных фибрилл хроматина и высвобождение генов, репрессированных в результате возрастной конденсации эухроматиновых районов клеток.

Однако до настоящего времени существует очевидный разрыв между многочисленными наблюдениями регуляторных воздействий нейрогормонов и синтетических олигопептидов на состояние хроматина и представлениями о молекулярных механизмах селективного связывания этих пептидов с промотерными участками генов.

Среди коротких синтетических пептидов, исследованных нами ранее в отношении активации хроматина, наибольшую эффективность проявил синтетический тетрапептид эпиталон (Ala-Glu-Asp-Gly) [1, 4, 8, 9]. Этот пептид представляет также особый интерес, так как он проявляет высокую геропротекторную активность. Мы исследовали особенности строения этого пептида для отыскания параметров соответствия между специфической для этого пептида аминокислотной последовательностью и последовательностью нуклеотидов в структуре двойной спирали ДНК. Предлагается модель специфического связывания олигопептида с сайтом узнавания на промотерном участке гена, построенная по принципу геометрической и электрохимической комплементарности двух правоспиральных молекул – пептида и двойной спирали ДНК.

ОСНОВЫ КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В СИСТЕМЕ «ОЛИГОПЕПТИД – ОЛИГОНУКЛЕОТИД»

Цель нашей работы состояла в отыскании возможного механизма селективного узнавания и связывания коротких пептидов с той частью генетического аппарата, которая ответственна за инициирование белкового синтеза.

Механизм узнавания в системе «пептид – ДНК» по принципу «одна аминокислота – одна пара нуклеотидов» не может быть специфическим [14]. Из 20 аминокислот по крайней мере 8 (*H, Y, N, Q, D, E, K, R*) могут связываться одновременно с функциональными группами двух соседних пар оснований, так как имеют достаточно длинные и подвижные боковые функциональные группы. Однако селективность такого связывания невелика. Аминокислоты с ароматическими боковыми группами (*F, Y, H, W*) могут связываться с двойной спиралью ДНК по механизму интеркаляции в результате взаимодействия ароматических колец аминокислот и нуклеотидов при $\pi - \pi$ перекрывании электронных орбит с частичным переносом заряда [5, 20].

Более высокая селективность (избирательность) узнавания и связывания обеспечивается кооперативным многоточечным взаимодействием в системе «олигопептид – олигонуклеотид».

Молекулярное узнавание в биологии основано на точном соответствии молекулярных поверхностей взаимодействующих молекул и совпадении метрических параметров расположения на этой поверхности взаимодействующих функциональных групп [39]. Структурное соответствие такого рода называется ***матричной комплементарностью.***

Пептидная цепь, состоящая из L-изомеров, может иметь несколько конформаций. В частности, β-структурные формы пептидной цепи имеют наиболее вытянутую форму и относятся к развернутому типу (шейпу) пептидных конформаций, при которых расстояние, приходящееся на один аминокислотный остаток, равняется 3.4 Å [12. P. 114]. Эта конформация обеспечивает достаточную свободу боковых групп и позволяет им осуществлять наибольшее число межмолекулярных взаимодействий [7]. Ориентация боковых групп

аминокислотных остатков зависит от возможности межмолекулярных взаимодействий с другой макромолекулой или с компонентами окружающей среды.

При построении модели матричной комплементарности тетрапептида с соответствующим участком двойной спирали ДНК использованы литературные данные о геометрических характеристиках двойной спирали ДНК и пептидной цепи [5, 38, 7] и о закономерностях полифункционального взаимодействия ДНК с полиамфолитами [3, 18].

В конкретном случае при исследовании конформационных особенностей тетрапептида Ala-Glu-Asp-Gly было найдено, что его наиболее энергетически выгодная конформация в водном растворе (однородное окружение) имеет максимальную длину 15.5 Å, максимальную ширину – 8.5 Å. В физиологических условиях, т. е. в нейтральной области pH в растворе низкомолекулярных электролитов и при многоточечном взаимодействии с ДНК, которое определяется расстоянием между нуклеотидными парами, этот тетрапептид принимает развернутую вытянутую форму β-структуры с транс-конфигурацией расположения боковых групп этих остатков [7]. Очевидно, что в результате взаимного отталкивания расположенных рядом и отрицательно заряженных боковых групп остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот и концевой карбоксильной группы только вытянутая конформация будет энергетически выгодна.

Нуклеотидные пары двойной спирали ДНК в активном хроматине располагаются друг над другом в почти параллельных плоскостях. На один оборот невозмущенной двойной спирали ДНК приходится 10 пар оснований; среднее расстояние между плоскостями пар оснований составляет 3.4 Å [5]. Известно, что фосфодиэфирные каркасные цепи разделяют поперечное сечение двойной спирали ДНК на два неравных участка. В связи с этим на молекулярной поверхности двойной спирали различают большую и малую канавки шириной 22.2 и 11.8 Å соответственно, разделенные двумя фосфодиэфирными цепями [12, 38].

На рис. 1 представлена ортогональная проекция на плоскость страницы β-конформации тетрапептида Ala-Glu-Asp-Gly. Этот тетрапептид с достаточно объемными боковыми группами может разместиться только в большой канавке двойной спирали ДНК и взаимодействовать с теми функциональными группами, которые экспонированы на поверхность этой канавки нуклеотидными парами двойной спирали. Взаимодействие пептида с малой канавкой двойной спирали энергетически не выгодно из-за взаимного отталкивания фосфатных групп ДНК и карбоксильных групп пептида [36].

Таким образом, двойная спираль ДНК и пептидная цепь имеют определенное метрическое соответствие: длина пептидной цепи в β-конформации, приходящаяся на одну аминокислоту, равна 3.47 Å, а расстояние между парами оснований в цепи ДНК равняется 3.4 Å. Так как оба участника взаимодействия имеют правоспиральную ориентацию основных цепей, то олигопептид может без дополнительного напряжения встроиться в большую канавку ДНК. При этом возникают условия для многоточечного межмолекулярного взаимодействия РП и ДНК, в котором участвуют полярные и гидрофобные группы обоих участников.

При поиске последовательности нуклеотидных пар, комплементарной этому тетрапептиду по расположению протон-донорных, протон-акцепторных и гидрофобных групп, учитывались структурные характеристики расположения нуклеотидных пар на поверхности большой канавки ДНК [5], данные о парных взаимодействиях ами-

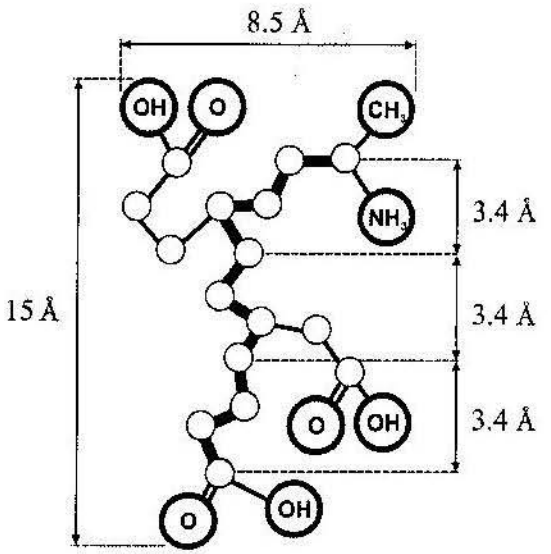

Рис. 1. Ортогональная проекция развернутой конформации пептида Ala-Glu-Asp-Gly (проекция на плоскость). Представлены концевые и боковые функциональные группы, способные к комплементарным взаимодействиям с ДНК.

Утолщенная линия обозначает основную пептидную цепь.

Атомы основного пептидного каркаса не обозначены, атомы водорода и кислорода, принадлежащие плоскости пептидной связи, не изображены:

—NH_3, —OH – протон-донорные группы;

=O – протон-акцепторные группы;

—CH_3 – гидрофобная (метильная) группа

нокислот и олигопептидов с нуклеиновыми основаниями [3, 20] и оценка электростатического потенциала молекулярной поверхности ДНК [39]. При этом определенную роль играют ориентационные взаимодействия пептида с нуклеиновыми основаниями [29].

Большинство промотерных (некодирующих) участков генов содержат в цепях многочисленные повторения сравнительно коротких последовательностей (нуклеотидных блоков). Длина таких блоков обычно составляет 6–10 пар оснований (п. о.), т. е. не превышает одного витка двойной спирали. В структуре факторов транскрипции и регуляторных пептидов также содержатся повторяющиеся аминокислотные последовательности, состоящие обычно из 5–6 аминокислотных остатков (а. о.) в пептидном блоке [11]. Мы предполагаем, что повторяющиеся нуклеотидные блоки на промотерных участках генов являются сайтами селективного связывания для пептидных блоков, повторяющихся в составе регуляторных пептидов. Регуляторный пептид и специфическая последовательность нуклеотидов ДНК узнают друг друга в тех случаях, когда аминокислотная последовательность на достаточном протяжении цепи комплементарно соответствует расположению функциональных групп нуклеотидной последовательности в большой канавке двойной спирали ДНК.

МОДЕЛЬ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТЕТРАПЕПТИДА *Ala-Glu-Asp-Gly (AEDG)* С ДВОЙНОЙ СПИРАЛЬЮ ДНК

(С целью унификации обозначений далее в тексте все символы аминокислот, пептидов и белков представлены курсивом, а нуклеотидов – жирным шрифтом.)

Для наших исследований мы выбрали семейство высокомолекулярных факторов транскрипции, имеющих характерный мотив «спираль–петля–спираль», структуры которых подробно изучены [14, 31, 34]. Многие из них участвуют в инициировании транскрипции жизненно важных генов: теломеразы и РНК полимеразы II [30, 31, 40, 41]. Известно, что участок петли этих белков состоит из 14 остатков, в основном, аспарагиновой, глутаминовой аминокислот и треонина [27. P. 59]. Исследуемый нами синтетический пептид качественно подобен этой петле по соотношению гидрофильных и гидрофобных групп.

Представленный на рис. 1 тетрапептид *AEDG* имеет три карбоксильных и одну аминогруппу. В физиологических условиях протонированная аминогруппа этого пептида способна участвовать в водородной связи с переносом протона, а карбоксильные группы, имеющие отрицательный заряд, участвуют в ион-ионных и полярных взаимодействиях. Боковая метильная группа остатка аланина может взаимодействовать с гидрофобными группами ДНК. Преобладающий отрицательный электростатический заряд этого пептида исключает возможность его взаимодействия с фосфатными группами фосфодиэфирных каркасных цепей.

На рис. 2 представлены метрические характеристики расположения функциональных групп отдельных нуклеотидных пар, которые оказываются на поверхности большой канавки двойной спирали ДНК при объединении нуклеотидных пар в общую структуру и определяют потенциал молекулярной поверхности большой канавки [39]. Очевидно, что каждая последовательность нуклеотидных пар экспонирует на поверхность большой канавки ДНК собственный уникальный орнамент функциональных групп. Эти группы могут участвовать в водородных, ионных связях и в гидрофобных взаимодействиях с пептидной цепью, если расположение боковых групп пептида комплементарно соответствует этому орнаменту. Полярные взаимодействия коротких пептидов с парами оснований в большой канавке двойной спирали ДНК определяются электростатическими

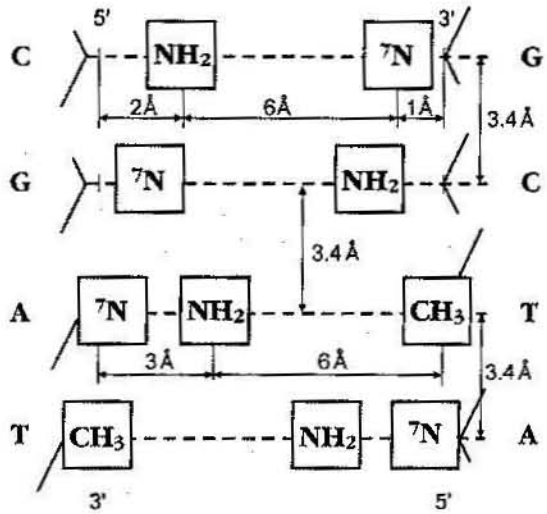

Рис. 2. Метрическое расположение функциональных групп каждой нуклеотидной пары на поверхности большой канавки двойной спирали ДНК.

Штриховая линия представляет перпендикулярную плоскость, в которой расположены ароматические структуры нуклеиновых оснований:

—NH_2 – протон-донорные группы;

=^7N – протон-акцепторные группы гуанина и аденина;

—CH_3 – гидрофобная (метильная) группа

взаимодействиями карбоксильных групп пептида с аминогруппами аденина и цитозина, водородными связями протонированных аминогрупп и карбоксильных групп пептида с атомом азота ^{7}N аденина и гуанина [5, 38]. Гидрофобные взаимодействия в системе определяются боковыми группами пептида и метильными группами тимина.

Известно, что нуклеотиды в водном растворе находятся в гидратированном состоянии. Так как расположение полярных и гидрофобных групп различно в каждой паре нуклеотидов, можно предполагать, что эти различия отражаются на энергетике взаимодействия спирали ДНК с пептидом. Исследование тепловых эффектов парных взаимодействий нуклеиновых оснований с аминокислотами показало, что эти пары ассоциируются с разной энергией и разной селективностью. Наибольшую селективность связывания с нуклеотидами проявляют гидрофильные аминокислоты. Так, коэффициенты комплексообразования для пар *Asp* – **C**, *Glu* – **A**, *Lys* – **T**, *Asp* –**A** равны 71, 63, 32 и 4 соответственно [3]. Комплексообразование дипептидов с нуклеиновыми основаниями в воде возрастает, по-видимому, за счет кооперативности.

Простая перестановка нуклеотидных пар, представленных на рис. 2, позволяет определить их последовательность, при которой расположение функциональных групп на поверхности большой канавки ДНК окажется комплементарным расположению боковых групп определенного пептида.

Межмолекулярные взаимодействия между пептидом *AEDG* и ДНК осуществляются в виде водородных связей между функциональными группами обоих участников. Длина водородной связи в таких системах обычно равняется 2.0–2.5 Å, т. е. превосходит половину расстояния между плоскостями спаренных оснований двойной спирали. Перестановкой нуклеотидных пар была определена их последовательность **ATTTC**, комплементарная тетрапептиду *AEDG*. Такая нуклеотидная последовательность представлена на рис. 3.

При построении этой модели комплементарных межмолекулярных связей тетрапептида с ДНК учитывалась длина ковалентных связей 1.5 Å, ион-ионной связи 2.5 Å и водородной связи 2.0–2.5 Å. Возможные изменения углов наклона плоскостей нуклеотидных пар по отношению к оси двойной спирали не учитывались.

На рис. 4 представлена ортогональная проекция этого пептида, комплементарно совмещенного с последовательностью нуклеотидных пар двойной спирали ДНК. Показано, как тетрапептид *AEDG* расположен в большой канавке двой-

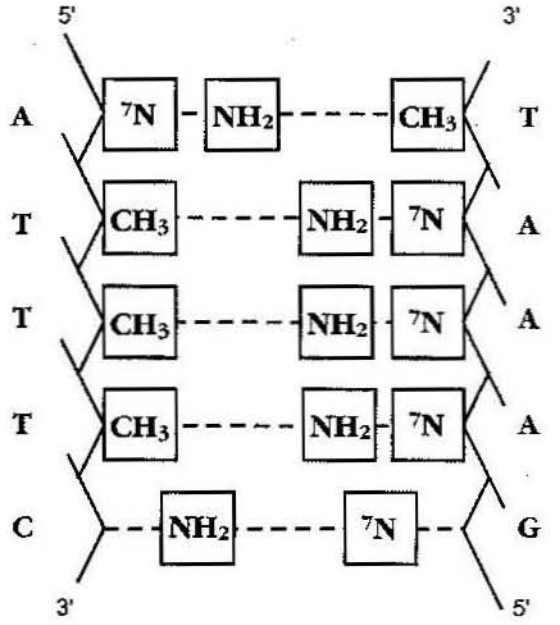

Рис. 3. Последовательность нуклеотидных пар и их функциональные группы в двойной спирали ДНК, при которой функциональные группы нуклеотидов расположены комплементарно функциональным группам пептида Ala-Glu-Asp-Gly.

Эта последовательность нуклеотидных пар многократно повторяется на промотерном участке гена теломеразы

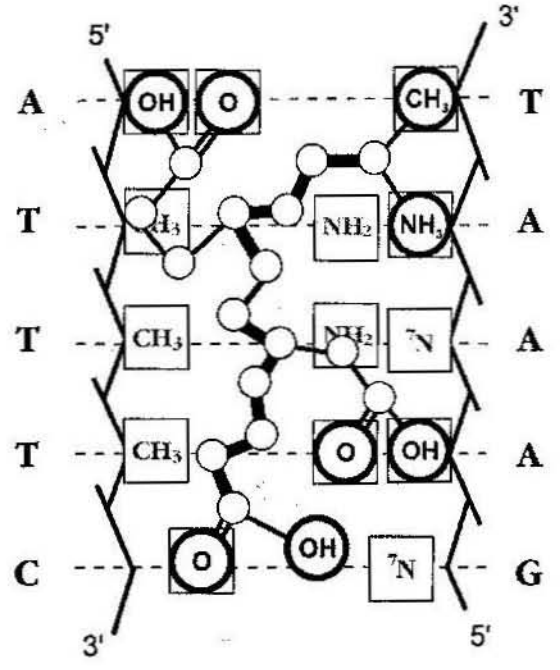

Рис. 4. Ортогональная проекция модели комплементарного связывания тетрапептида Ala-Glu-Asp-Gly с двойной спиралью ДНК

ной спирали ДНК в соответствии с требованием комплементарности функциональных групп этого тетрапептида функциональным группам нуклеотидных пар. Отличительной особенностью предлагаемой модели является то обстоятельство, что пептид в большой канавке взаимодействует одновременно с функциональными группами оснований обеих цепей двухспиральной ДНК.

Следует отметить, что сходная метрика расположения функциональных групп на поверхности большой канавки двойной спирали для нуклеотидных пар **A – T** и **G – C** (см. рис. 2), высокая подвижность функциональных групп концевых аминокислотных остатков аланина и глицина, а также вариабельность угла наклона плоскости нуклеотидных пар по отношению к оси двойной спирали ДНК позволяют тетрапептиду *AEDG* связываться комплементарно с последовательностями **ATTTG**, **GTTTC**, **CTTTC**, хотя прочность этих связей будет слабее, чем с **ATTTC**.

Как уже указывалось, тетрапептид *AEDG* представляет особый интерес именно из-за его высокой геропротекторной эффективности. В экспериментах на животных показано его достоверное влияние на увеличение продолжительности жизни и торможение процессов злокачественной трансформации тканей. Существует гипотеза о том, что общая продолжительность сроков существования клеточных популяций коррелирует с длиной хромосомных теломер и, соответственно, с активностью фермента теломеразы. В процессе пролиферации уменьшается число повторов **TTAGGG** на концевых участках хромосом из-за проблем с репликацией [21]. Это постоянное укорочение может быть преодолено, если в клетке имеется достаточно высокий уровень активной теломеразы. Большинство нормальных соматических клеток не имеет активной теломеразы, и укорочение теломер завершается потерей жизнеспособности таких клеток [15]. Используя литературные данные, мы нашли, что последовательность нуклеотидов **ATTTC**, определенная нами с помощью модели комплементарного взаимодействия РП-ДНК, обнаруживается 9 раз в составе промотерного участка гена теломеразы (на отрезке 3729 п. о. от начала транскрипции) [40]. По-видимому, комплементарное взаимодействие олигопептида *AEDG* с блоками **ATTTC** может приводить к реактивации теломеразного промотера в соматических клетках, которая инициирует внутриклеточный синтез теломеразы, элонгацию теломер, повышение пролиферативного потенциала тканей и тем самым может существенно влиять на продолжительность жизни [8].

Специфический ретинальный ген, расположенный в субтеломерной области, также содержит блок **ATTTC** в составе своего промотерного участка и может служить сайтом связывания синтетического тетрапептида эпиталона [28].

Одной из причин старения организма является замедление синтеза белка. Транскрипция всех белковых генов осуществляется ферментом ДНК-зависимой РНК полимеразой II после инициирования этого процесса факторами транскрипции [16]. Биосинтез собственно РНК полимеразы II также не может быть осуществлен без инициирования ее транскрипции соответствующими ФТ. Ранее в литературе сообщалось, что блок **ATTTGCAT** является одним из сайтов связывания ФТ РНК полимеразы II [41]. На промотерном участке гена большой субъединицы РНК полимеразы II последовательность **ATTTC** встречается 3 раза на ведущей цепи и 5 раз в составе цепи отстающей (антипараллельной), а последовательность **ATTTG** – 6 раз [30, 41].

В текущей литературе можно обнаружить значительное количество публикаций о регуляторном действии коротких пептидов [37, 43]. Разница между высокомолекулярными факторами транскрипции и короткими пептидами, участвующими в инициировании транскрипции генов, проявляется, прежде всего, в процессах транспорта этих молекул из внешней среды в ядро клетки. Кроме того, короткие пептиды тканеспецифичны, но не видоспецифичны и не проявляют иммуногенности.

Предлагаемая нами молекулярная модель взаимодействия коротких пептидов с двойной спиралью ДНК на промотерном участке гена заслуживает экспериментальной проверки на уровне физико-химического исследования синтетических систем «олигопептид – олигонуклеотид».

Выводы. Структуры пептидов и двойной спирали ДНК обеспечивают условия для узнавания и комплементарного связывания пептида с определенной последовательностью функциональных групп нуклеотидов на поверхности большой канавки двойной спирали ДНК в области промотерного участка гена. В связывании участвуют обе цепи двойной спирали ДНК. Предложенный метод молекулярного моделирования комплементарного связывания пептида на промотерном участке гена может быть полезен для нахождения потенциально активных коротких пептидов – миметиков факторов транскрипции – по данным о последовательности нуклеотидов на промотерном участке целевого гена.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Анисимов С. В., Бохелер К. Р., Хавинсон В. Х., Анисимов В. Н.* Изучение действия пептидов вилона и эпиталона на экспрессию генов в сердце мыши с помощью технологии на основе микрочипов // Бюлл. экспер. биологии и медицины. 2002. Т. 133. № 3. С. 340–347.
2. *Ашмарин И. П., Каразеева Е. П.* Нейропептиды // Биохимия мозга. СПб.: Изд-во С.-Петербургского университета, 1999. С. 232–266.
3. Биологически активные вещества в растворах / Под ред. академика А. М. Кутепова. М.: Наука, 2001. С. 234–253.
4. *Бродский В. Я., Хавинсон В. Х., Золотарев Ю. А.* и др. Ритм синтеза белка в культурах гепатоцитов крыс разного возраста. Норма и действие пептида ливагена // Изв. АН. Серия биология. 2001. № 5. С. 517–521.
5. *Зенгер В.* Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. М.: Мир, 1987. 584 с.
6. *Петров Р. В., Михайлова А. А., Фомина Л. А., Степаненко Р. Н.* Миелопептиды. М.: Наука, 2000. 181 с.
7. *Попов Е. М.* Структурная организация белка // Проблема белка. В 5 т. Т. 3. М.: Наука, 1997. 606 с.
8. *Хавинсон В. Х., Бондарев И. Э., Бутюгов А. А.* Пептид эпиталон индуцирует теломеразную активность и элонгацию теломер в соматических клетках человека // Бюлл. экспер. биологии и медицины. 2003. Т. 135. № 6. С. 692–695.
9. *Хавинсон В. Х., Лежава Т. А., Малинин В. В.* Влияние коротких пептидов на хроматин в лимфоцитах лиц старческого возраста // Бюлл. экспер. биологии и медицины. 2004. Т. 137. № 1. С. 89–93.
10. *Хавинсон В. Х.* Пептидная регуляция старения // Вестн. РАМН. 2001. С. 16–20.
11. *Шатаева Л. К., Ряднова И. Ю., Хавинсон В. Х.* Исследование информационной ценности олигопептидных блоков в регуляторных пептидах и белках // Успехи совр. биологии. 2002. Т. 122. № 3. С. 281–288.
12. *Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D.* Molecular biology of the cell. 3ed ed. New York: Garland Publishing, 1994. 1294 p.
13. *Anisimov S. V., Boheler K. R., Khavinson V. Kh., Anisimov V. N.* Elusidation effect of brain cortex tetrapeptide Cortagen on gene expression in mouse heart by microarray // Neuroendocrinology Letters. 2004. Vol. 25. № 1–2. P. 87–93.
14. *Atchley W. R., Wollenberg K. R., Fitch W. M., Terhalle W., Dress A. W.* Correlation among Amino Acid Sites in bHLH protein domains: an information theoretic analysis // Molec. Biol. Evolution 2000. Vol. 17. P. 164–178.
15. *Blasco M. A.* Telomerase beyond telomeres // Nature Reviews. 2002. August. P. 1–6.
16. *Dynlacht B. D.* Regulation of transcription by proteins, that control the cell cycle // Nature. 1997. Vol. 389. P. 149–152.
17. *Echevarria M., Ilundain A. A.* Aquaporins // J. Physiol. Biochem. 1998. Vol. 54. № 2. P. 107–118.
18. *Gallagher K., Sharp K.* Electrostatic contributions to heat capacity changes of DNA-ligand binding // Biophys. J. 1998. Vol. 75. № 2. P. 769–776.
19. *Graf J., Ogle R. C., Robey F. A.* et al. Pentapeptide from the laminin B1 chain mediates cell adhesion and binds the 67 000 Laminin receptor // Biochemistry. 1987. Vol. 26. № 22. P. 6896–6900.
20. *Gromiha M. M., Santhosh C., Suwa M.* Influence of cation-p interaction in protein-DNA complexes // Polymer. 2004. Vol. 45. P. 633–639.
21. *Harley C. B., Futcher A. B., Greider C. W.* Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts // Nature. 1990. Vol. 351. P. 458–460.
22. *Harrison S. C.* A structural taxonomy of DNA-binding domains // Nature. 1991. Vol. 353. P. 715–719.
23. *Jen-Jacobson L.* Structural-Perturbation approaches to thermodynamics of site-specific protein-DNA interactions // Methods in Enzymo-logy / Ed. M. L. Johnson and G. K. Ackers. 1995. Vol. 259. P. 305–344.
24. *Ivanov V. T., Karelin A. A., Philippova M. M.* et al. Hemoglobin as a source of endogenous bioactive peptides: the concept of tissue-specific peptide pool // Biopolymers. 1997. Vol. 43. № 2. P. 171–188.
25. *Kayser H., Kratzin Y. D.* et al. Identification of human porins. II Characterisation and primary structure of a 31-IDa porin from human B lymphocytes // Biol. Chem. Hoppe-Seyler. 1989. B. 370. № 12. S. 1265–1278.
26. *Khavinson V. Kh.* Peptides and Ageing // Neuroendocrinology Letters. 2003. Vol. 23. Suppl. 3. 144 p.
27. *Lodish H., Berk A., Zipursky S. L., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J.* Molecular cell biology / Library of Congress cataloguing-in-publication data. 2000. 1084 p.
28. *Mah N., Stoehr H., Schulz H. L., White K., Weber H. F.* Identification of a novel retina-specific gene located in a subtelomeric region with polymorphic distribution among multiple human chromosomes // BBA. 2001. Vol. 1522. P. 167–174.

29. *Matsumura S., Takahashi T., Ueno A., Mihara H.* Complementary nucleobase interaction enhances peptide-peptide recognition and self-replicating catalysis // Chem. Eur. J. 2003. Vol. 9. P. 4829–4837.
30. *Mita K., Tsuji H., Morimyo M., Takahashi E., Nenoi M., Ichimura S., Yamauchi M., Hongo E., Hayashi A.* The human gene encoding the largest subunit of RNA polymerase II // Gene. 1995. Vol. 159. № 2. P. 285–286.
31. *Mitchell P. J., Tijan R.* Transcriptional regulation in mammalian cells by sequence-specific DNA-binding proteins // Science. 1989. Vol. 245. P. 371–378.
32. *Morozov V. G., Khavinson V. Ch.* Natural and synthetic thymic peptides as therapeutics for immune disfunction // Intern. J. Immunopharm. 1997. Vol. 19. № 9/10. P. 501–505.
33. *Ohno M., Fornered M., Mattaj I. W.* Nucleocytoplasmic transport: the last 200 nanometers // Cell. 1998. Vol. 92. № 2. P. 327–336.
34. *Pabo C. O., Sauer R. T.* Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition // Annu. Rev. Biochem. 1992. Vol. 61. P. 1053–1095.
35. *Parkinson G., Wilson C., Gunasekera A., Ebright Y. W., Ebright R. E., Berman H. M.* Structure of the CAP-DNA complex at 2.5 Å resolution: a complete picture of the protein-DNA interface // J. Mol. Biol. 1996. Vol. 260. № 3. P. 395–408.
36. *Rentzeperis D., Marky L. A.* Interaction of minor groove ligands to an AAATT / AATTT site and correlation of thermodynamic characterization and solution structure // Biochemistry. 1995. Vol. 34. № 9. P. 2937–2945.
37. *Ryu S., Zhou S., Ladurner A. G., Tjian R.* The transcriptional cofactor complex CRSP is required for activity of the enhancer-binding protein Sp1. // Nature. 1999. Vol. 397. P. 446–450.
38. *Van Holde K. E.* Chromatin. New York–London: Springer-Verlag, 1988. 497 p.
39. *Wainer P. K., Langridge R., Blaney J. M., Kollman P. A.* Electrostatic potential of molecular surfaces // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1982. Vol. 79. № 12. P. 3754–3758.
40. *Wick V., Zubov D., Hagen G.* Genomic organisation and promoter characterization of the gene encoding the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) // Gene. 1999. Vol. 232. № 1. P. 97–106.
41. *Woychik N. A., Hampsey M.* The RNA polymerase II machinery: structure illuminates function // Cell. 2002. Vol. 108. P. 453–463.
42. *Wrighton N. C., Farrell F. X.* et al. Small peptides as potent mimetics of the protein hormone Erytropoietin // Science. 1996. Vol. 273. July. P. 458–463.
43. *Yang W., Van Duyne G. D.* Protein-nucleic acid interactions. Editorial overview // Current opinion in Structural Biology. 2004. Vol. 14. P. 1–3.