

ISSN 0365-9615

**БЮЛЛЕТЕНЬ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ
И МЕДИЦИНЫ**

9

2003

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ НА ТРАНСКРИПЦИЮ ГЕНОВ

В.Х.Хавинсон*, Л.К.Шатаева*, А.А.Чернова*,**

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН;

**Центр математической биологии, Математический институт, Университет Оксфорда, Великобритания

Анализ опубликованных экспериментальных результатов о геропротекторном действии синтетических олигопептидов и конформационный анализ тетрапептида эпиталона позволили выдвинуть гипотезу о прямом участии регуляторных олигопептидов в процессах инициирования транскрипции генов жизненно важных белков. На промоторных участках генов сетчатки F379, теломеразы и РНК-полимеразы II определены последовательности нуклеотидных пар, которые могут играть роль сайтов связывания для тетрапептида эпиталона.

Ключевые слова: пептиды, геропротекторы, эпиталон, факторы транскрипции, ДНК

Старение организма сопровождается снижением активности хроматина и замедлением синтеза белка. В последние годы нами экспериментально доказано, что природные регуляторные пептиды (РП) и их синтетические аналоги проявляют тканеспецифическую активность, участвуя в активации хроматина и нормализуя ритм белкового синтеза в культуре тканей [3,5,6]. При этом РП существенно увеличивают продолжительность жизни животных [1,3-5,10]. Особый интерес представляют комплексы пептидов эпифиза (эпиталамин) и синтетический тетрапептид эпиталон, сконструированный на основе рангового анализа аминокислотного состава эпиталамина. При изучении влияния эпиталона на экспрессию генов в сердце мыши обнаружено, что этот РП более чем в 2 раза увеличивает уровень экспрессии ряда генов по сравнению с контролем [2]. Однако в настоящее время существует очевидный разрыв между многочисленными фактами специфических воздействий РП на активизацию белкового синтеза и ограниченностью представлений о молекулярных механизмах влияния РП на транскрипцию генов и синтез белков.

Транскрипция генов осуществляется ДНК-зависимой РНК-полимеразой II после инициирования этого процесса высокомолекулярными

белками — факторами транскрипции (ФТ) [8]. Биосинтез собственно РНК-полимеразы II также не может осуществляться без инициирования ее транскрипции. Кроме того, существует гипотеза о том, что общая продолжительность существования клеточных популяций коррелирует с длиной хромосомных теломер и, соответственно, с активностью фермента теломеразы [8]. Таким образом, инициирование транскрипции генов является ключевым моментом синтеза белков при старении. При этом остается неясным механизм участия РП в инициировании транскрипции таких жизненно важных генов, как гены теломеразы и РНК-полимеразы II.

В данной работе мы предлагаем механизм специфического межмолекулярного взаимодействия синтетического тетрапептида эпиталона (Ala-Glu-Asp-Gly) с промоторными участками генов, транскрипция которых важна для геропротекторного действия.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

При использовании стандартной программы "CS Chem3Dpro" определяли энергетически выгодные конформации тетрапептида Ala-Glu-Asp-Gly. Установлено, что его наиболее энергетически выгодная конформация в воде (в однородном окружении) имеет в длину 15.5 Å и максимальную ширину 8.5 Å.

В солевом растворе и при многоточечном взаимодействии с ДНК этот тетрапептид при-

Адрес для корреспонденции: 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3. Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СО РАМН. khavinson@gerontology.ru. Хавинсон В.Х.

нимает развернутую вытянутую форму, близкую к β -структуре, которая обеспечивает наибольшую конформационную свободу боковых групп пептидной цепи и позволяет им осуществлять наибольшее число межмолекулярных взаимодействий.

С помощью оригинальной программы ранее исследовали количество повторяющихся аминокислотных блоков в составе регуляторных белков [7]. Аналогичный подход был использован для определения повторяющихся нуклеотидных последовательностей в структуре промоторных участков генов сетчатки F379 — большой субъединицы РНК-полимеразы II и теломеразы [11,12,15].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Большая часть нетранскрибируемых участков исследованных генов содержит в цепях многочисленные повторения одинаковых последовательностей нуклеотидов, длина которых обычно составляет 6-10 п.о., т.е. не превышает одного витка двойной спирали ДНК. Эти упорядоченные (регулярные) последовательности нуклеотидов на промоторном участке гена могут служить специфическими сайтами для селективного связывания регуляторных пептидов, в частности эпیتالона. Двойная спираль ДНК и пептидная цепь в развернутой конформации имеют определенное метрическое соответствие: длина пептидной цепи, приходящаяся на одну аминокислоту, равна 3.47 Å, а расстояние между парами оснований в цепи ДНК равняется 3.4 Å. Ширина эпیتالона составляет 8.5 Å, поэтому он может встроиться только в большую канавку ДНК, ширина которой оценивается в 9.5 Å [8]. При этом возникают условия для многоточечного межмолекулярного взаимодействия эпیتالона и ДНК, в котором участвуют полярные и гидрофобные группы обеих молекул. Полярные взаимодей-

ствия РП с двойной спиралью ДНК определяются электростатическими взаимодействиями карбоксильных групп пептида с аминогруппами аденина и цитозина и водородными связями карбоксильных групп пептида с атомом азота N аденина и гуанина [9,13]. Гидрофобные взаимодействия в системе определяются боковыми группами пептида и метильными группами тимина. Простая перестановка нуклеотидных пар позволяет определить именно ту последовательность, при которой расположение функциональных групп нуклеотидов на поверхности большой канавки ДНК оказывается комплементарным расположению боковых групп эпیتالона. Так мы обнаружили, что последовательность нуклеотидов

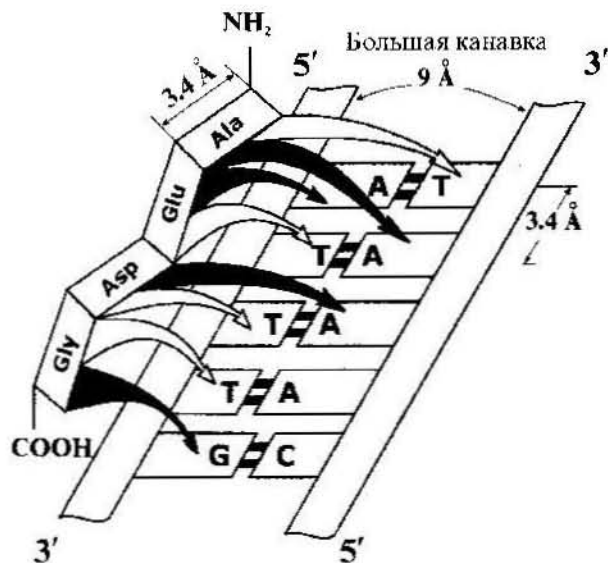


Схема многоточечного взаимодействия тетрапептида эпیتالона с функциональными группами последовательности нуклеотидов ATTTG, расположенными в большой канавке двойной спирали ДНК. Светлые стрелки — водородные связи, темные — гидрофобные.

Комплементарное связывание эпیتالона (Ala-Glu-Asp-Gly) с промоторными участками генов

Функция эпیتالона	Сайт связывания эпیتالона на промоторном участке гена	Литература*
Активация транскрипции гена теломеразы	ATTTG _{x6} TAAAC	[15]
Активация транскрипции гена РНК полимеразы II	ATTTG _{x3} TAAAC	[12]
Активация транскрипции гена сетчатки F379	CTTTG _{x2} GAAAC	[11]

Примечание. Жирный шрифт сайта связывания — ведущая цепь ДНК; нижний индекс — число повторов данного блока нуклеотидов на промоторном участке гена.

*Источник литературы, в котором указаны данные о промоторном участке гена.

АТТТГ оптимально соответствует расположению боковых групп эпиталона. Отличительной особенностью подобного взаимодействия является то обстоятельство, что РП в большой канавке взаимодействует одновременно с функциональными группами оснований обеих цепей 2-спиральной ДНК (рисунок). Эта последовательность нуклеотидных пар многократно обнаруживается на промоторных участках исследованных генов (таблица). Подвижность N-концевой аминокислотной группы эпиталона позволяет этому тетрапептиду комплементарно взаимодействовать не только с нуклеотидной последовательностью АТТТГ, но и с последовательностью СТТТГ. По-видимому, повторение определенных нуклеотидных последовательностей на промоторном участке генов облегчает их доступность для связывания с РП.

Учитывая строение ядерной мембраны, можно представить механизм транспорта РП из цитоплазмы в ядро. Известно, что 10% поверхности ядерной мембраны занято сквозными нуклеопорами, размер которых оценивается как $90 \times 150 \text{ \AA}$. Транспорт высокомолекулярных ФТ в ядро обеспечивается белковыми комплексами этих пор, которые активно переносят или тормозят специфические макромолекулы, допуская в то же время свободную диффузию для воды и растворимых в воде веществ с молекулярной массой, не превышающей 5 кД [14]. Таким образом, олигопептиды могут свободно диффундировать в ядро и взаимодействовать с активным хроматином.

Результаты исследования позволяют выдвинуть гипотезу о том, что РП являются активато-

рами и агонистами ФТ, причем первичным стартовым сигналом для связывания ФТ с промотором является сайт-специфическое связывание РП в большой канавке ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. // Докл. АН СССР. 1991. Т. 319. С. 250-253.
2. Анисимов С.В., Бохлер К.Р., Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. // Бюл. exper. биол. 2002. Т. 133. С. 340-347.
3. Бродский В.Я., Хавинсон В.Х., Золотарев Ю.А. и др. // Изв. АН. Сер. Биол. 2001. № 5. С. 517-521.
4. Хавинсон В.Х. // Вестн. РАМН. 2001. С. 16-20.
5. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. // Докл. РАН. 2000. Т. 372. С. 421-423.
6. Хавинсон В.Х., Малинин В.В., Трофимова С.В., Земчихина В.Н. // Бюл. exper. биол. 2002. Т. 134. С. 560-563.
7. Шатаева Л.К., Ряднова И.Ю., Хавинсон В.Х. // Успехи соврем. биол. 2002. Т. 122. С. 282-289.
8. Alberts B., Bray D., Lewis J. et al. Molecular biology of the cell. 3rd ed. N.Y., 1994.
9. Harrison S.C. // Nature. 1991. Vol. 353. P. 715-719.
10. Khavinson V.Kh. // Neuroendocrin. Lett. 2002. Vol. 23. Suppl. 3. P. 11-144.
11. Mah N., Stoehr H., Schulz H. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1522. P. 167-174.
12. Mita K., Tsuji H., Morimyo M. et al. // Gene. 1995. Vol. 159. P. 285-286.
13. Mitchell P.J., Tijan R. // Science. 1989. Vol. 245. P. 371-378.
14. Pante N., Aebi U. // J. Cell. Biol. 1993. Vol. 122. P. 977-984.
15. Wick V., Zubov D., Hagen G. // Gene. 1999. Vol. 232. P. 97-108.

Получено 11.07.03