

1. Новый биоинформатический метод определения генов, потерянных на определённых этапах эволюции

Введение. Высокая регенеративная потенция холоднокровных позвоночных по сравнению с теплокровными остаётся мало объяснённой. Обычно эту разницу считают результатом перестройки той же самой регуляторной сети генов. Мы предполагаем, что она может быть, в том числе, результатом потери некоторых генов, существенных для регенерации. Используя оригинальный алгоритм поиска и собственную компьютерную программу, мы определили короткий список потерянных генов лягушки, один из которых (названный нами *c-answer*) был подвергнут тщательным прямым опытам.

Мы предполагаем, что высокая (с учётом массы тела) видовая продолжительность жизни (ПЖ) у грызунов и приматов может быть результатом, в том числе, потери некоторых генов, присутствующих у короткоживущих из тех же отрядов. Например, у голого землекопа ПЖ более 34 лет, у человека более 120 лет. Здесь труднее осуществить прямые опыты, аналогичные тем, которые были выполнены над эмбрионами лягушки. Поэтому найденные нами гены мы сопоставили с уровнем их экспрессии в разных органах. Результат сопоставления можно интерпретировать в свете известной теории Вильямса: такие гены улучшают видовую приспособленность у видов с низкой ПЖ и не имеют такого значения или даже вредны у видов с высокой ПЖ. Для поиска генов использовалась ровно та же программа, и она определила короткий список потерянных генов. Таким образом сравнивались теплокровные vs холоднокровные, долгоживущие vs короткоживущих, исходные данные для нашей программы значительно различались.

Результаты. В частности, наш метод позволил определить неизвестный ранее модулятор специфической (FGF и ADP) сигнализации – трансмембранный белок, стимулирующий регенерацию и влияющий на развитие конечного мозга у холоднокровных позвоночных, но исчезнувший у теплокровных, включая человека. Опыты над эмбрионом лягушки *Xenopus laevis* (как модели холоднокровных) показали, что *c-answer* регулирует регенерацию придатков тела и развитие конечного мозга посредством связывания с рецепторами FGFR и P2ry1 и активирования MAPK/ERK и пуринергического сигнальных путей. Можно предположить, что потеря *c-answer* у теплокровных привела к понижению активности, по крайней мере, двух сигнальных путей, что, в свою очередь, послужило вкладом в изменение механизма регуляции регенерации и развития переднего мозга. (Совместно с Лабораторией молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН.)

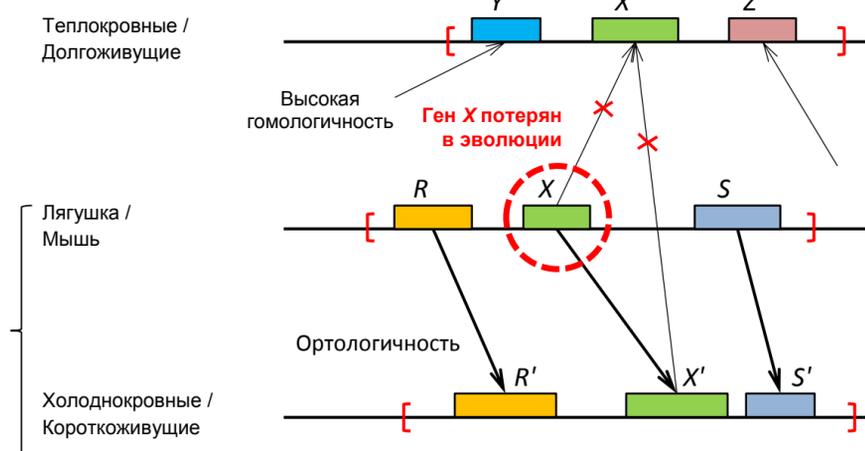
Метод позволил определить короткий список генов, присутствующих у короткоживущих приматов и грызунов и отсутствующих у долгоживущих, включая человека, белоплечего капуцина и голого землекопа (рассмотрены и другие виды из Euarchontoglires), – приведены в Таблице.

В целом, метод позволяет эффективно находить гены, потерянные или приобретённые в эволюции, по любой паре множеств видов, антагонистических по любому признаку. Как и гены, удовлетворяющие любому набору требований на их присутствие/отсутствие в заданных (в любом числе) множествах видов.

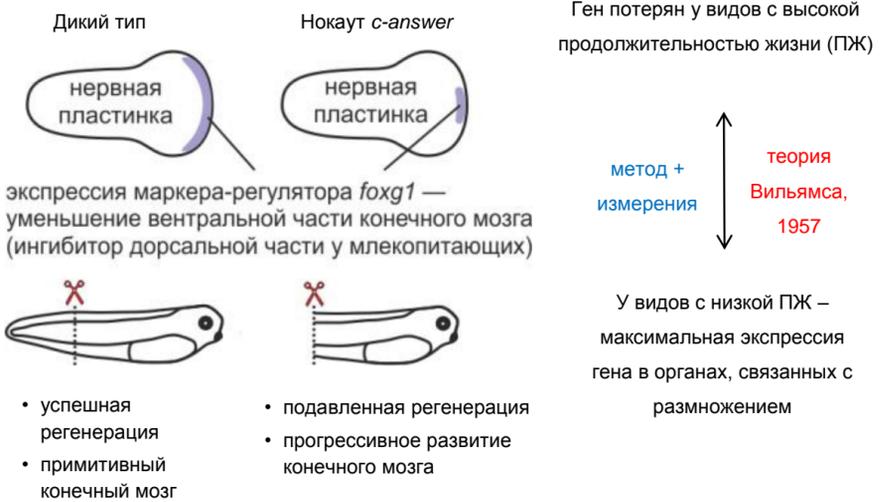
Таблица. Примеры потерянных генов, которые определены нашим методом.

Гены лягушки, утраченные теплокровными		Гены мыши, утраченные долгоживущими грызунами, зайцеобразными и приматами	
ENSXETG00000033176	<i>c-answer</i>	cold-blooded animal-specific wound epithelial receptor-binding protein	ENSXETG00000033176
ENSXETG00000016048	<i>foxo1</i>	forkhead box O1A (rhabdomyosarcoma)	ENSXETG00000016048
ENSXETG00000006008	<i>ptmap12</i>	prothymosin alpha like, E3 ubiquitin ligase	ENSXETG00000006008
ENSXETG00000023966	<i>sfrpx</i>	secreted frizzled-related protein	ENSXETG00000023966
ENSXETG00000025525	<i>pnhd</i>	pinhead, secreted inhibitor of Wnt/β-Catenin signaling	ENSXETG00000025525
ENSXETG00000033120		<i>endonuclease 4 isoform X7 homolog</i>	ENSXETG00000033120
ENSXETG00000031627		<i>F-box protein</i>	ENSXETG00000031627
ENSXETG00000033543		<i>paramyosin-like</i>	ENSXETG00000033543
ENSXETG00000030282		<i>E3 ubiquitin/ISG15 ligase TRIM25</i>	ENSXETG00000030282
			ENSXETG00000071724
			ENSXETG00000038057
			ENSXETG00000014529
			ENSXETG00000044937
			ENSXETG00000079606
			ENSXETG00000052642
			ENSXETG00000013353
			ENSXETG00000020434
			ENSXETG00000043727
			ENSXETG00000056436
			ENSXETG00000046196
			ENSXETG00000022818
			ENSXETG00000038994
			ENSXETG00000050870

Метод:



Согласие компьютерного предсказания и опытов:



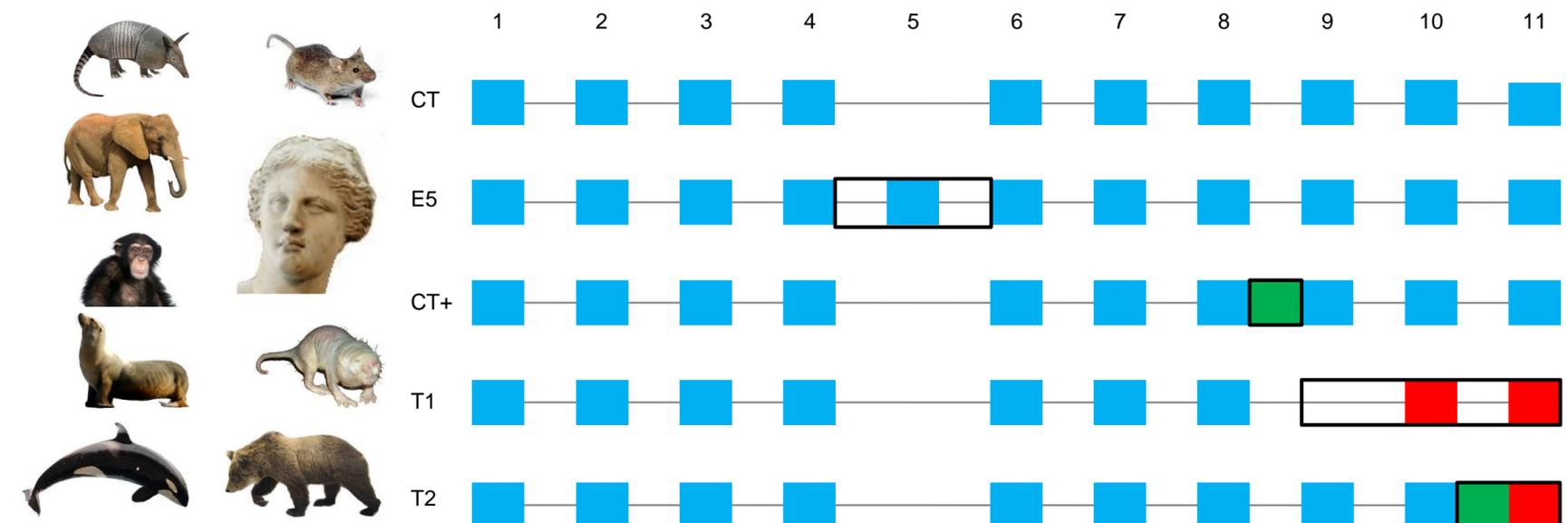
D.D. Korotkova, V.A. Lyubetsky, A.S. Ivanova, L.I. Rubanov, A.V. Seliverstov, O.A. Zverkov, N.Yu. Martynova, A.M. Nesterenko, M.B. Tereshina, L. Peshkin, A.G. Zaraisky. Bioinformatics screening of genes specific for well-regenerating vertebrates reveals *c-answer*, a regulator of brain development and regeneration. *Cell Reports*, 2019, Vol. 29, Iss. 4, P. 1027–1040.E6.

L.I. Rubanov, A.G. Zaraisky, G.A. Shilovsky, A.V. Seliverstov, O.A. Zverkov, V.A. Lyubetsky. Screening for mouse genes lost in mammals with long lifespans. *BioData Mining*, 2019, Vol. 12, Art. 20.

2. Новые изоформы таффазина – ремоделятора кардиолипина у млекопитающих и рыб

Введение. Кардиолипин взаимодействует со многими белками внутренней мембраны митохондрий и, наряду с цитохромом С и креатин-киназой, активирует их. Его можно рассматривать как функциональный “клей”, связывающий части респираторной цепи митохондрий в единую систему, которая обеспечивает эффективный перенос электронов и протонов. Главный, если не единственный, фактор, регулирующий созревание кардиолипина, – фермент таффазин. Изменение процентного соотношения различных изоформ таффазина может стать причиной тяжёлых заболеваний, например, синдрома Барта. Можно думать, что нестандартные изоформы таффазина направлены на достижение оптимального баланса между повышением биохимической активности митохондрий, обязанным особенностям среды обитания или питания, и поддержанием долголетия, и что функциональная роль таких изоформ связана с изменением первичной и вторичной аминокислотных структур на С-концах.

Результаты. Ниже показана экзон-интронная структура найденных нами типов таффазина и для сравнения классическая изоформа (СТ). Изоформы соответствуют пропуску 9-го экзона (Т1) или удержанию интрона между 10-м и 11-м экзонами (Т2) – в обоих случаях происходит сдвиг рамки считывания, как и формированию экзона между 4-м и 6-м (Е5) или удержанию интрона между 8-м и 9-м экзонами (СТ+). Экзоны нумеруются по человеку, места изменений выделены чёрными рамками: удержания интронов отмечены зелёным цветом, сдвиги рамки считывания – красным. Новые изоформы представлены во многих отрядах млекопитающих, включая разных животных, живущих при недостатке кислорода. У плацентарных появление новых изоформ таффазина связано с увеличением видовой продолжительности жизни. Новые изоформы таффазина естественно искать не только у млекопитающих. Например, Е5 кроме многих плацентарных, включая человека, и некоторых сумчатых, например, тасманийского дьявола, присутствует у многих рыб, например, электрического угря, хотя не у всех, например, он отсутствует у данио-рерио. У рыб вставка Е5 не консервативна, но фланкирующие её участки белка соответствуют 4-му и 6-му экзонам и очень консервативны; в областях вставки формируются сходные альфа-спирали. Определены и другие нестандартные изоформы таффазина, связанные с укорочением белка.



G.A. Shilovsky, O.A. Zverkov, A.V. Seliverstov, V.V. Ashapkin, T.S. Putyatina, L.I. Rubanov, V.A. Lyubetsky. New C-terminal conserved regions of tafazzin, a catalyst of cardiolipin remodeling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, Vol. 2019, Art. 2901057, 13 pp.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ, проект 18-29-13037.