

УДК 577.25

Сервер PepString для поиска коротких аминокислотных подпоследовательностей: определение возможных мишеней бета-амилоида

С. А. Козин¹, А. А. Анашкина^{1*}, Д. Г. Мацуга^{2,3}, Б. С. Суваан³, В. Г. Туманян¹,
В. А. Митькевич¹, А. А. Макаров¹

¹Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта, Москва, 119991 Россия

²Астраханский государственный медицинский университет, кафедра биологической химии и клинической лабораторной диагностики, Астрахань, 414000 Россия

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, 119991 Россия

*E-mail: anastasia.a.anashkina@mail.ru

Поступила в редакцию 09.02.2025

Принята к печати 22.04.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27630

РЕФЕРАТ Представлен новый биоинформатический инструмент для поиска коротких – от 3 и выше – аминокислотных последовательностей в белковых молекулах, аннотированных в публичных базах данных (UniprotKB, SwissProt), а также продемонстрировано его использование на примере поиска в протеоме человека тетрапептида EVNH, который является молекулярной детерминантой бета-амилоида и участвует в критических для патогенеза болезни Альцгеймера взаимодействиях. Актуальность создания такого инструмента, с одной стороны, связана с появлением экспериментальных данных о роли коротких тетрапептидных мотивов в архитектуре межмолекулярных интерфейсов. С другой стороны, в настоящее время нет доступных программных продуктов для эффективного поиска коротких (три и более) аминокислотных последовательностей в публичных базах данных, что резко ограничивает возможности выявления белков с точными вхождениями коротких подпоследовательностей. Представленная программа (сервер PepString, <http://pepstring.eimb.ru/>) позволяет с помощью интуитивно понятных запросов получить информацию обо всех возможных белках, в которых присутствуют интересующие последовательности, включая также и их комбинации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА болезнь Альцгеймера, бета-амилоид, короткие аминокислотные последовательности, PepString, лекарственная мишень, пептид, EVNH, HAEE.

ВВЕДЕНИЕ

Белок-белковые взаимодействия играют принципиальную роль практически во всех клеточных процессах. Особый интерес для биомедицины и фармацевтики имеют белок-белковые интерфейсы, в которых участвуют молекулы, ассоциированные с развитием патологических состояний. Нейродегенеративные заболевания ассоциированы с агрегацией определенных белков в упорядоченные надмолекулярные структуры, при этом инициирование патологической агрегации происходит по зародышевому механизму, в котором ключевую роль играют повторяющиеся белок-белковые взаимодействия с одинаковыми межмолекулярными интер-

фейсами. Одной из ведущих стратегий разработки болезнь-модифицирующих лекарственных средств для терапии нейродегенеративных заболеваний является использование агентов различной природы (например, антител, пептидов, пептидомиметиков), способных специфически разрушать образование болезнь-ассоциированных межмолекулярных интерфейсов и за счет этого предотвращать нежелательную агрегацию [1]. Соответственно, критически важна идентификация аминокислотных остатков, образующих такие интерфейсы.

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенное нейродегенеративное заболевание и ведущая причина деменции в мире [2]. БА характери-

зуется конформационной трансформацией молекул эндогенного амилоида- β (А β) из мономерного состояния в растворимые олигомеры и нерастворимые агрегаты [3], которые инициируют нейровоспаление и другие патологические процессы, связанные с развитием БА [4]. Нерастворимые агрегаты А β присутствуют в мозге как в виде диффузных агрегатов на стенках кровеносных сосудов, так и в виде фибриллярных агрегатов (амилоидных бляшек) на поверхности нейронов [5], и такие агрегаты находятся в динамическом равновесии с растворимыми олигомерами А β [6].

А β – это небольшая полипептидная молекула, состоящая из 38–43 аминокислотных остатков (а.о.) [7]. А β образуется в результате протеолиза белка-предшественника амилоида (APP) [8]. Аминокислотная последовательность наиболее часто встречающейся в амилоидных бляшках изоформы А β , А β 42, содержит 42 а.о. [9, 10]. Пептид А β присутствует как в тканях мозга, так и в периферических органах [11]. В крови А β образуется в основном в тромбоцитах [12] и проходит через гематоэнцефалический барьер [11]. В крови как здоровых людей, так и пациентов с диагнозом спорадической формы болезни Альцгеймера А β находится в пикомолярном диапазоне концентраций [13]. Физиологические функции А β заключаются в подавлении микробных инфекций, регуляции синаптической пластичности, содействии восстановлению после травмы мозга, герметизации гематоэнцефалического барьера и, возможно, в подавлении пролиферации опухолевых клеток [14, 15].

Агрегация молекул А β *in vivo* инициируется межмолекулярными взаимодействиями, в которых критическую роль играют металлсвязывающий домен (А β 16), расположенный на участке 1–16 А β , и ионы цинка. Соответственно, данные о трехмерной структуре А β 16 и молекулярном механизме цинкзависимой олигомеризации А β используются для рационального поиска и конструирования молекул-кандидатов в рамках антиамилоидной стратегии [16]. Определена пространственная структура А β 16 нескольких природных вариантов А β в свободном и связанном с ионами цинка состоянии [17–21]. Имеются также экспериментальные данные о структуре А β 16 в амилоидных фибриллах, выделенных из мозга пациентов с диагнозом БА [22]. На основании этих данных было установлено, что участок 11-EVHH-14 А β человека имеет такую структуру основной полипептидной цепи, которая остается практически неизменной как в свободной молекуле А β 16, так и в комплексе А β 16 с ионом цинка, а также в N-концевой части фибрилл А β , выделенных из ткани мозга больных БА.

В совокупности перечисленные свойства характеризуют сайт 11-EVHH-14 А β как структурный инвариант и позволяют предположить, что этот сайт играет важную роль во взаимодействии А β с другими биологическими молекулами. Действительно, установлено, что сайт 11-EVHH-14 А β : (1) является основным центром распознавания и связывания ионов цинка; (2) находится на межмолекулярном интерфейсе в комплексах между А β и никотиновым ацетилхолиновым рецептором подтипа α 4 β 2 [23, 24]; (3) образует симметричный цинкзависимый интерфейс как в димерах А β [25, 26], так и в олигомерах А β [17]; (4) участвует в цинкзависимом связывании нуклеиновых кислот [27]. Аминокислотная последовательность металлсвязывающего домена А β (А β 16) находится во внеклеточной мембранной части белка-предшественника амилоида (APP), а также составляет С-концевой фрагмент растворимой α -формы APP (sAPP α) [28], и оба эти белка, APP и sAPP α , выполняют жизненно важные физиологические функции [29]. Более того, и в APP, и в sAPP α область 11-EVHH-14 металлсвязывающего домена А β стерически доступна для взаимодействия как с ионами цинка, так и с другими биомолекулами, включая А β . Таким образом, оба эти белка могут выступать в качестве потенциальных партнеров для связывания А β посредством цинкзависимых взаимодействий через симметричные области 11-EVHH-14 металлсвязывающих доменов из соответствующих молекул.

В патогенезе болезни Альцгеймера взаимодействие А β с ионами цинка, которое опосредуется сайтом 11-EVHH-14 А β , является ключевым фактором формирования и распространения амилоидных бляшек, поэтому этот сайт представляет собой перспективную лекарственную мишень [16]. Важно отметить, что большинство моноклональных антител, используемых для нейтрализации олигомеров А β в терапии БА, блокируют сайт 11-EVHH-14 [30]. Однако моноклональные антитела имеют множество побочных эффектов [31], поэтому актуальным представляется поиск и разработка низкомолекулярных агентов различных химических классов [32], включая пептидомиметики и пептиды природного или искусственного происхождения [33].

Недавно было обосновано использование синтетического аналога сайта 35-NAEE-38 субъединицы α 4 никотинового ацетилхолинового рецептора подтипа α 4 β 2 в качестве эффективного средства ингибирования агрегации эндогенных молекул А β в патогенезе болезни Альцгеймера [23]. Такой аналог (далее NAEE) специфически связывается с 11-EVHH-14-сайтом А β как в отсутствие, так и в присутствии ионов цинка, приводя к образованию стабильных

Peptide Search

Here you can search peptide sequences with small size starting with 3 amino acids and greater. For sequences greater than 6 amino acids you may use this site or move to [UniProt peptide search](#) section. To apply some kind of sorting - use settings below.

Type your peptide sequence here, min length - 3

Example: ALCC

Operator

☒ AND
☐ OR (only Swiss-Prot)

Lineage taxon

Type NCBI ID or Taxon Name and choose from the list

Database

Swiss-Prot & Isoforms

Search Reset

You may type several sequences like this:

ALC, RADGG / ALC,RADGG / ALC RADGG.

Or you may put every peptide on a separate line.

Use only uppercase letters.

Max amount of sequences in one query is 5.

OPTIONS:

AND: find sequences with several peptides inside one sequence.

Example: ALC, RADGG

Result: **ALCCCCRADGGVLM**

OR: find sequences which contain at least one of the peptides from a list.

Example: ALC, RADGG

Result: MGLK**ALC**GLLCVLFV, WDM**DGLRADGG**GAGGAP

Lineage taxon: find peptide sequences in organisms that contain particular taxon inside taxon lineage. Example: Homo Sapiens as well as Mus musculus contain taxon Vertebrata 'vertebrates' inside its lineage so when you choose Vertebrata 'vertebrates' in lineage taxon option - both of these organisms will be used in peptide search.

Database: find peptide sequence in particular database. UniProtKB (Swiss-Prot + TrEMBL)

Рис. 1. Форма запроса для поиска последовательностей белков, содержащих точные вхождения коротких пептидов, с помощью сервера PepString (<http://pepstring.eimb.ru>)

комплексов, которые, в свою очередь, блокируют образование и распространение агрегатов Аβ [34]. Однако неизвестно, может ли НАЕЕ связываться с сайтами EVNH в других белках и как это может повлиять на пациентов при возможном использовании НАЕЕ в качестве лекарственного средства.

Учитывая ключевую роль тетрапептидного участка EVNH в формировании межмолекулярных интерфейсов с участием Аβ, важно идентифицировать все белки протеома человека, которые содержат этот сайт, так как такие белки могут быть потенциальными партнерами для Аβ. Однако к моменту настоящего исследования эффективные биоинформатические инструменты для поиска коротких (3 а.о. и более) подпоследовательностей в известных белках отсутствовали. В настоящей работе представлен оригинальный сервер PepString для поиска точных вхождений коротких фрагментов последовательности белка. Использование ресурсов сервера PepString показано на примере последовательности EVNH бета-амилоида, которая представляет собой перспективную мишень для разработки патогенетических препаратов антиамилоидного действия в терапии болезни Альцгеймера.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Сервер PepString

Сервер PepString (<http://pepstring.eimb.ru>) разработан на основе PostgreSQL-версии актуальных баз

данных UniprotKB и SwissProt. Этот сервер позволяет пользователю искать точные совпадения коротких пептидов в белковых последовательностях. Запрос может быть ограничен определенным таксоном, например, Mammalia, Bacteria или Vertebrata, или всеми видами. Запрос также может быть основан на наличии нескольких фрагментов в одной последовательности (пять или менее фрагментов) или на наличии в последовательности хотя бы одного фрагмента из списка. Снимок начальной страницы показан на *рис. 1*. Несколько последовательностей могут быть введены с использованием запятой или/и пробела в качестве разделителя, например, «ALC,RADGG», «ALC, RADGG», «ALC RADGG». Каждую из нескольких последовательностей можно разместить на отдельной строке. Один запрос может содержать не более пяти последовательностей. Для поиска можно использовать два оператора: AND и OR. Оператор AND позволяет найти белковые последовательности, включающие все пептиды из запроса. Оператор OR позволяет найти белковые последовательности, включающие хотя бы один пептид из списка запроса. Поиск можно ограничить, выбрав таксон любого уровня, например Vertebrata или Archaea, или Mammalia, или *Homo sapiens*.

На *рис. 2* приведен пример вывода результатов. Результаты отсортированы по названию организма. Пользователь может сохранить результат запроса в форматах FASTA или CSV. Поиск 3-аминокислотного фрагмента в базе данных SwissProt занима-

Entry	Entry name	Peptide name	NCBI ID	Organism name	UniProt name	Rank	Length	Sequence
Q8N2Y8	RUSC2_HUMAN	AP-4 complex accessory subunit RUSC2	9606	Homo sapiens[9606]	Homo sapiens	species	1516	MDSPPKLTGETLVHHIPLVHCQVDRQCCGGAGGGGGSTF
Q80U22	RUSC2_MOUSE	AP-4 complex accessory subunit RUSC2	10090	Mus musculus[10090]	Mus musculus	species	1514	MDSPPKLTGETLVHHIPLVHCQVDRQCCGGAGGGGGGTI
Q6PDK2	KMT2D_MOUSE	Histone-lysine N-methyltransferase 2D	10090	Mus musculus[10090]	Mus musculus	species	5588	MDSQKPPAEDKSDPAADGLAAPEKPGATEPDLPLICGEVS

The amount of species is 2 of 9792 (Mammalia[40674] species);

Total results: 3

[Download CSV](#)
[Download full CSV](#)
[Download FASTA](#)
[Download Tax info](#)

Рис. 2. Результат поиска двух пептидов ALC RADGG сервером PepString среди белков из видов Mammalia

ет несколько секунд, в то время как в базе данных UniprotKB – от 10 мин до нескольких часов.

Для создания базы данных белковых последовательностей на основе UniprotKB (SwissProt+TrEMBL) были использованы Python и PostgreSQL. Схема структуры базы данных приведена в Приложении, рис. S1. База данных обновляется автоматически практически в то же время, что и официальная база данных UniProtKB, то есть примерно 1 раз в 8 недель. Веб-интерфейс написан с использованием фреймворка Django.

Таксономия в нашей базе данных идентична таксономии NCBI. Обратите внимание, что идентификаторы NCBI и названия организмов могут не совпадать с данными из базы данных UniProt. Причина в том, что UniProt обновляет свою таксономию также 1 раз в 8 недель. Однако наша база данных использует базу данных NCBI Taxonomy, которая получает новые обновления ежедневно, поэтому может случиться так, что версия, которую мы использовали для обновления, отличается от версии UniProt.

Результат выполнения запроса пользователя хранится в таблице `django_celery_results_taskresult` в течение 24 ч, а затем удаляется.

Расчеты консервативности с помощью BLAST

Консервативность сайта EVNH рассчитывали по гомологичным белковым последовательностям других видов среди челюстноротых позвоночных с помощью программы BLAST [35]. Для каждого идентификатора белка Uniprot из табл. 1 найдено 1000 гомологичных последовательностей. Количество последовательностей, содержащих сайт EVNH (первое число в колонке Консервативность в табл. 1), делили на количество последовательностей со всеми вариантами этого сайта (второе число в колонке

Консервативность в табл. 1) и умножали на 100, чтобы получить значение Консервативности в %.

Варианты сайтов EVNH

Была написана короткая программа на C++ для разбора файлов последовательности fasta и подсчета всех вариантов сайтов EVNH. Текст программы доступен по запросу.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сервером PepString в протеоме человека найдены 63 последовательности изоформ 24 белков, содержащих фрагмент EVNH. Если взять 1000 гомологичных белков из базы данных Uniprot и подсчитать, сколько из них содержат фрагмент, гомологичный EVNH, и в скольких случаях этот фрагмент именно EVNH, то можно получить некоторое представление о консервативности этого фрагмента в белке у разных видов организмов. В табл. 1 мы собрали информацию о консервативности фрагмента EVNH в белковых последовательностях и положении этого фрагмента в последовательности. Более длинная версия таблицы, в которой перечислены все изоформы, содержащие фрагмент EVNH, и структурная информация, представлена в табл. S1 Приложения. Фрагмент EVNH в белке APP является наиболее консервативным (89.8%) (табл. 1). Несколько менее консервативны участки EVNH в последовательностях белка кадгерин-18 и рецептора вируса Коксаки и аденовирусов – 85.4 и 71.7% соответственно. Нейрональная изоформа дистонина также заслуживает внимания, поскольку, помимо консервативной формы EVNH, найденной в 168 из 779 последовательностей (21.6%), 315 из 779 последовательностей (40.4%) гомологичных белков из разных видов содержат очень похожую по физико-химическим свойствам последовательность этого сайта EANH.

Таблица 1. Консервативность фрагмента EVNH в белках человека, определенная с помощью BLAST*

Консервативность	Идентификатор Uniprot	Белок	Локализация EVNH
885/985 (89.8%)	P05067	Белок-предшественник амилоида-бета	682–685, YEVHHQ
683/800 (85.4%)	Q13634	Кадгерин-18	46–49, TEVHHR
667/930 (71.7%)	P78310	Рецептор коксакивируса и аденовируса	272–275, KEVNHD
437/995 (43.9%)	Q06124	Тирозин-протеинфосфатаза нерецепторного типа 11	441–444, EEVHHK
405/950 (42.6%)	Q9NH8M1	Митохондриальный гомолог В коэнзим-Q-связывающего белка COQ10	234–237, NEVNHT
276/965 (28.6%)	Q9Y2E6	Е3-убиквитин-протеинлигаза DTX4	575–578, NEVHHK
168/779 (21.6%)	Q03001-11	Нейрональная изоформа дистонина	101–104, VEVHHQ
154/844 (18.2%)	Q58FF7	Предполагаемый белок теплового шока HSP90-beta-3	4–7, EEVHHG
133/859 (15.5%)	P08238	Белок теплового шока HSP 90-beta	4–7, EEVHHG
134/990 (13.5%)	Q6ZSZ5	Фактор обмена гуаниновых нуклеотидов Rho 18	459–462, TEVHHV
105/1000 (10.5%)	O75676	Киназа рибосомного белка S6 альфа-4	471–474, NEVNHD
100/991 (10.1%)	Q86SQ4	Адгезионный G-белок-связанный рецептор G6	797–800, QEVHNP
81/872 (9.6%)	Q7Z3D6	D-глутаматциклаза, митохондриальная	273–276, PEVHHI
47/522 (9.0%)	Q9Y4G2	Член 1 семейства М, содержащего домен гомологии плекстрина	233–236, IEVHNS
87/974 (8.9%)	Q53F39	Металлофосфоэстераза 1	309–312, CEVHHG
60/1000 (6.0%)	P54296	Миомезин-2	751–754, REVHHK
48/959 (5.0%)	O76064	Е3-убиквитин-протеинлигаза RNF8	229–232, TEVHNE
48/1000 (4.8%)	Q5TG30	Белок 40, активирующий Rho GTPазу	392–395, DEVHHN
43/998 (4.3%)	Q2M3C7	A-киназный якорный белок SPHKAP	682–685, DEVHHK
25/960 (2.7%)	P10912	Рецептор гормона роста	71–74, DEVHHG
26/999 (2.6%)	Q8NH48	Обонятельный рецептор 5B3	171–174, NEVHHF
4/262 (1.5%)	Q9H0D2	Белок с цинковыми пальцами 541	218–221, YEVHHG
9/949 (0.9%)	Q5VT97	Активирующий Rho GTPазу белок SYDE2	567–570, REVHNT
4/998 (0.4%)	P41226	Убиквитин-подобный модификаторактивирующий фермент 7	283–286, QEVHNA

*Записи перечислены в порядке убывания консервативности.

В последовательности белка-предшественника амилоида человека (APP) EVNH находится в пептиде Aβ, может связывать ион Zn²⁺ и образовывать димеры и олигомеры [17, 21, 25]. Анализ последовательностей белка APP других видов челюстноротых позвоночных показал, что у всех птиц, рептилий, амфибий, рыб и почти у всех млекопитающих последовательности APP содержат высококонсервативный вариант EVNH, за некоторыми исключениями (табл. 2). Например, обе изоформы APP синих и полосатых китов содержат последовательность EVRH, хотя у других морских млекопитающих мы видим консервативный вариант EVNH. Тот же вариант EVRH встречается у некоторых грызунов – мышей, крыс, кротов, сусликов, дегу и голого землекопа (полный список см. в табл. 2). Замена встречается не у всех грызунов. Например, мы обнаружили консервативный вариант EVNH в последовательностях APP *Oryctolagus cuniculus* (кролик) и *Chrysochloris asiatica* (капский золотистый крот).

Другим исключением является *Puma concolor* (горный лев), который имеет единственную изоформу APP, содержащую в этом месте совершенно непохожий сайт RGGW.

Далее рассмотрим, что известно про функцию каждого найденного белка. Белок кадгерин-18 аннотирован в Uniprot как участвующий в кальцийзависимой межклеточной адгезии, клеточной миграции и морфогенезе. В последовательности кадгерина-18 фрагмент EVNH расположен в пропептиде 25–53, который выщепляется из белка во время созревания. В модели AlphaFold-структуры этого белка сайт EVNH расположен в неупорядоченной петле, на поверхности белка (табл. S1 Приложения). Функция этого пропептида пока не известна. По данным Uniprot, остаток аспарагина 36 может быть гликозилирован, что делает пропептид чувствительным к уровню глюкозы в крови. Известно, что кадгерин-18 ассоциирован с болезнью Альцгеймера. Экспериментально показано, что кад-

Таблица 2. Варианты сайтов EVNH, найденные среди гомологов человеческого белка APP (P05067) у разных видов челюстноротых позвоночных

Мотив	Число видов	Организм
EVNH	885	Все птицы, рептилии, амфибии, угри и костистые рыбы <i>Albula goreensis</i> , <i>Aldrovandia affinis</i> (галозавр Гильберта), <i>Latimeria chalumnae</i> (Коморская латимерия), <i>Megalops atlanticus</i> (атлантический тарпон), <i>Clupea gigantea</i> (ископаемая гигантская сельдь), рыбы, такие как <i>Salmonidae</i> и другие, и почти все млекопитающие
EVRH	64	<i>Balaenoptera acutorostrata scammoni</i> (кит северный малый полосатик), <i>Balaenoptera musculus</i> (синий кит), <i>Castor canadensis</i> (американский бобр), длиннохвостая шиншилла (<i>Chinchilla lanigera</i>), <i>Dipodomys ordii</i> (кенгуровая крыса Орда), <i>Fukomys damarensis</i> (дамараландская кротовая крыса), <i>Haplochromis burtoni</i> (ротан Бертон), голый землекоп (<i>Heterocephalus glaber</i>), <i>Ictidomys tridecemlineatus</i> (полосатый суслик), <i>Jaculus jaculus</i> (малый египетский тушканчик), <i>Marmota marmota marmota</i> (альпийский сурок), <i>Mesocricetus auratus</i> (золотистый хомяк), <i>Microtus ochrogaster</i> (прерийная полевка), <i>Mus musculus</i> (мышь), <i>Mus spicilegus</i> (степная мышь), <i>Nannospalax galili</i> (североизраильский слепыш), <i>Octodon degus</i> (дегу), <i>Peromyscus maniculatus bairdii</i> (олений хомячок), <i>Rattus norvegicus</i> (серая крыса), <i>Sciurus vulgaris</i> (евразийская рыжая белка), <i>Urocyon parryi</i> (арктическая земляная белка), <i>Pundamilia nyererei</i> (пундамия Найерера), <i>Maylandia zebra</i> (зебровая мбуна), <i>Atractosteus spatula</i> (крокодиловый гар), <i>Lepisosteus oculatus</i> (пятнистый гар), <i>Oreochromis aureus</i> (израильская тилapia), <i>Oreochromis niloticus</i> (нильская тилapia)
EVYH	24	<i>Cyprinus carpio carpio</i> (сазан), <i>Cirrhinus molitorella</i> (илистый карп), <i>Onychostoma macrolepis</i> , <i>Sinocyclocheilus rhinoceros</i> , <i>Sinocyclocheilus anshuiensis</i> , <i>Danio rerio</i> (полосатый данио), <i>Sinocyclocheilus grahami</i> (дианчинская золотая рыбка), <i>Triplophysa rosa</i> (пещерный вьюн)
AVNH	7	<i>Oryzias javanicus</i> (яванская рисовая рыба), <i>Oryzias latipes</i> (японская рисовая рыба), <i>Oryzias melastigma</i> (морская медака), <i>Oryzias sinensis</i> (китайская медака)
-VNH	1	<i>Clupea harengus</i> (атлантическая сельдь)
EVHP	1	<i>Denticeps clupeoides</i> (зубастая сельдь)
EV-H	1	<i>Astyanax mexicanus</i> (слепая пещерная рыба)
EVYP	1	<i>Triplophysa tibetana</i> (тибетский голец)
RGGW	1	<i>Puma concolor</i> (горный лев)

герин взаимодействует с пресенилином-1, роль которого в болезни Альцгеймера доказана [36].

Рецептор вирусов Коксаки и аденовируса является компонентом комплекса эпителиального апикального соединения, который может функционировать как гомофильная молекула клеточной адгезии и необходим для поддержания плотного контакта [37]. Также он участвует в трансэпителиальной миграции лейкоцитов через адгезивные взаимодействия с JAML – трансмембранным белком плазматической мембраны лейкоцитов. После связывания с эпителиальным рецептором вируса Коксаки и аденовируса (CXADR), JAML вызывает последующие сигнальные события в гамма-дельта Т-клетках через PI3-киназу и MAP-киназу. Это приводит к пролиферации и выработке Т-клетками цитокинов и факторов роста, которые, в свою очередь, стимулируют восстановление эпителиальных тканей [38]. Фрагмент EVNH расположен в домене 269–285 этого рецептора, аннотированном как домен, обогащенный заряженными аминокислотами. Это означает, что данный фрагмент очень подвижен и может изменять свою конформацию в зависимости от структуры партнера по взаимодействию. Рецептор вируса Коксаки и аденовируса ассоцииро-

ван с болезнью Альцгеймера. Показано, что инфицирование вирусами Коксаки [39] и аденовирусами [40] может служить пусковым моментом начала болезни Альцгеймера у пожилых людей, поскольку провоцирует экспрессию прионного белка.

Следующий по консервативности фрагмента EVNH белок – это тирозиновая фосфатаза нерецепторного типа 11, которая участвует в каскадах различных рецепторных и цитоплазматических тирозинкиназ, участвуя в передаче сигнала с поверхности клетки в ядро. Активация киназы подавляет функцию интегринов и вызывает дефосфорилирование киназы фокальной адгезии [41]. Она является одним из важных негативных регуляторов ядерного экспорта теломеразной обратной транскриптазы [42]. Мутации в этом белке связаны с рядом заболеваний, которые развиваются при нарушении регуляции внутриклеточной сигнализации через путь RAS/MAPK, таких как синдром LEOPARD [43] или синдром Нунана [44]. Данные про ассоциацию с болезнью Альцгеймера в настоящее время отсутствуют.

Митохондриальный гомолог В коэнзим Q-связывающего белка COQ10 (Q9H8M1) необходим для функционирования коэнзима Q10 в дыхательной

цепи и может служить шапероном или участвовать в переносе Q10 от места его синтеза к каталитическим сайтам дыхательных комплексов. Сайт EVNH, согласно модели AlphaFold, расположен на поверхности белка в составе β -стренда (см. табл. S1 Приложения). В научном сообществе существует мнение, что введение коэнзима Q10 увеличивает концентрацию митохондрий в мозге и оказывает нейропротекторное действие [45, 46], однако в клинических исследованиях II стадии эффект не был показан убедительно, поэтому клинические исследования III стадии было решено не проводить [47].

Е3-убиквитинлигаза DTX4 (Q9Y2E6) участвует в негативной регуляции интерферонового сигналинга I типа посредством NLRP4, направляя киназу TBK1 на деградацию [48]. В дополнение к 276/965 (28.6%) встречающимся консервативным последовательностям EVNH, в 687/965 (71.2%) последовательностях был обнаружен фрагмент EINH с очень похожими физико-химическими свойствами. Гомологичная убиквитинлигаза DTX2 ассоциирована с повреждением мелких сосудов на ранних стадиях болезни Альцгеймера [49].

Нейрональная изоформа дистонина (Q03001-11), помимо варианта сайта EVNH, найденного в 168 из 779 последовательностей (21.6%), встречается также в виде очень похожего по физико-химическим свойствам варианта сайта EANH в 315 из 779 последовательностей (40.4%). Мутации в гене этого белка приводят к прогрессирующей дегенерации сенсорных нейронов у мышей. Такие мыши страдают сенсорной атаксией и погибают к возрасту отъема [50], у них развивается тяжелое двигательное расстройство, приписываемое дегенерации сенсорных нейронов [51].

Нами рассмотрено расположение сайта EVNH в структуре белков и его конформацию. Конформации сайтов EVNH в структурах белков человека образуют четыре кластера (рис. 3). Самую близкую к структуре цинксвязывающего домена A β конформацию имеет сайт EVNH миомезина. Найдена также ассоциация миомезина-2 с болезнью Альцгеймера. Изучение кардиомиопатии у трансгенных мышей показало, что агрегаты, присутствующие в больных сердцах и образованные небольшим белком теплового шока α -B-кристаллином (CryAB), содержат амилоидный олигомер, который может представлять собой основной токсичный вид при болезни Альцгеймера и других дегенеративных заболеваниях, связанных с амилоидом [52]. Известно, что α -B-кристаллин взаимодействует с миомезином-2 [53].

В 21 структуре из 24 сайт EVNH расположен на поверхности белковой структуры. Для последо-

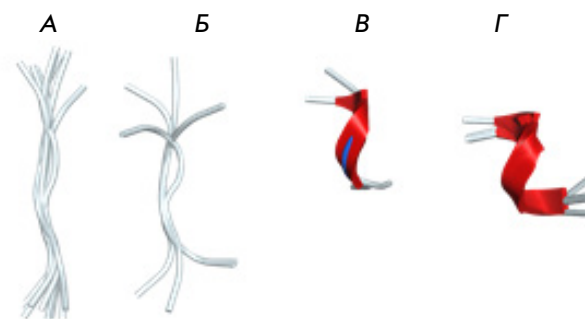


Рис. 3. Конформации сайтов EVNH в структурах белков человека образуют четыре кластера. А – развернутая (Q76064, Q9H8M1, Q5VT97, Q13634, Q7Z3D6, Q9Y4G2, P08238, Q58FF7, P10912, Q75676, Q53F39). Б – неструктурированная (Q9Y2E6, Q5TG30, Q8NH48, Q86SQ4). В – свернутая (P54296, 1ze9). Г – α -спираль (Q2M3C7 (сайт EVNH внутри глобулы), Q9H0D2, 3B7O, P78310, Q6ZSZ5 (сайт EVNH внутри глобулы), P41226). Только сайты EVNH из Q6ZSZ5 и Q2M3C7 утоплены в белковую глобулу и недоступны

вательности дистонина (Q03001-11) не существует модели AlphaFold, в модели структуры фактора обмена гуаниновых нуклеотидов Rho 18 (Q6ZSZ5) сайт EVNH расположен внутри белковой глобулы, а в модели структуры якорного белка А-киназы SPHKAP (Q2M3C7) сайт EVNH окружен неструктурированными петлями.

Суммируя, можно сказать, что сайт 11-EVNH-14 в последовательности A β является очень консервативным среди всех челюстноротых позвоночных. Челюстноротые составляют более 99% всех видов живых позвоночных, включая человека. Ранее было показано, что замена H13R защищает крыс от болезни Альцгеймера [18]. У *Balaenoptera acutorostrata scammoni* (кит северный малый полосатик) и *Balaenoptera musculus* (синий кит), а также у некоторых грызунов, таких как *Heterocephalus glaber* (голый землекоп) или *Nannospalax galili* (североизраильский слепыш) (табл. 2), наблюдается именно такая замена, преобразующая EVNH в EVRH, что, по-видимому, делает эти виды защищенными от патологической агрегации A β и, таким образом, не подверженными болезни Альцгеймера. Объяснение этому следует из молекулярного механизма Zn-зависимой олигомеризации A β [17], который указывает на ключевую роль сайта EVNH в патологическом процессе.

Мы обнаружили, что сайт EVNH присутствует в 63 изоформах 24 белков. Каждый из этих белков

может быть потенциальным молекулярным партнером цинкзависимого взаимодействия с молекулой бета-амилоида. Уже известно, что некоторые из них связаны с патогенезом болезни Альцгеймера, однако данные о механизмах действия отсутствуют. Шесть из 24 найденных белков, а именно APP, кадгерин-18, рецептор вируса Коксаки и аденовируса, G-белок адгезии, сопряженный с рецептором G6, рецептор гормона роста и обонятельный рецептор 5B3 расположены в клеточной мембране, являются рецепторами, и, вероятно, осуществляют передачу сигнала внутрь клетки.

Найденные белки являются как потенциальными мишенями для НАЕЕ, так и возможными партнерами Аβ. Как показано ранее [17, 25], остатки сайта 11–14 пептида Аβ (EVNH) образуют цинкопосредованный интерфейс с аналогичным участком другой молекулы Аβ. Логично предположить, что подобные взаимодействия могут происходить не только между идентичными молекулами бета-амилоида, но и с другими белками, имеющими аналогичный участок, доступный для взаимодействия.

Сделаем несколько предположений. Во-первых, APP функционирует как рецептор клеточной поверхности и выполняет физиологические функции на поверхности нейронов, связанные с ростом нейритов, адгезией нейронов и аксоногенезом [54]. В настоящее время известно, что взаимодействие между молекулами APP на соседних клетках способствует синаптогенезу [54]. Поскольку ионы цинка вовлечены в процесс синаптогенеза, логично предположить, что взаимодействие между молекулами APP происходит через Zn-зависимый интерфейс сайтов EVNH. Это смелое предположение, оно, несомненно, требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Сайты EVNH обнаружены в митохондриальных белках – D-глутаматциклазе и коэнзим-Q-связывающем белке Q9H8M1. Поскольку известно, что пептид Аβ вызывает AGER-зависимый путь, включающий активацию p38 MAPK, что приводит к интернализации пептида Аβ и митохондриальной дисфункции в культивируемых нейронах коры головного мозга [55], второе предположение заключается в том, что пептид Аβ способен проникать через мембрану митохондрий и образовывать цинкзависимые комплексы с одним или обоими белками.

Отметим, что другой из обнаруженных белков с сайтом EVNH, а именно тирозин-протеинфосфатаза нерецепторного типа 11, положительно регулирует путь передачи сигнала MAPK [44]. Третье предположение заключается в том, что Аβ регулирует путь трансдукции сигнала MAPK через цинкзависимый интерфейс с тирозин-протеинфосфатазой

нерецепторного типа 11. Еще один белок из этого списка, а именно рецептор вируса Коксаки и аденовируса, также запускает один из путей активации MAPK.

Еще одна группа белков, которая, как мы выяснили, участвует в регуляции активности нейронов, это кадгерин-18, рецептор вируса Коксаки и аденовируса, рецептор адгезии G-белка G6, который взаимодействует с ламинином-2, фактором обмена гуаниннуклеотидов Rho 18 и дистонином. Кадгерины – кальцийзависимые белки клеточной адгезии. Они преимущественно взаимодействуют между собой гомофильным образом при соединении клеток; таким образом, кадгерины могут способствовать сортировке гетерогенных типов клеток. Рецептор вируса Коксаки и аденовируса, помимо своей негативной роли в проникновении вируса, является компонентом комплекса эпителиального апикального контакта, который может функционировать как гомофильная молекула клеточной адгезии и необходим для целостности плотных контактов. G-белок адгезии, сопряженный с рецептором G6, является основным компонентом базальной мембраны. Он соединяется с G(i)-, а также с G(s)-белками и необходим для нормальной дифференцировки промиелинизирующих шванновских клеток и для нормальной миелинизации аксонов [56]. Фактор Rho 18 действует как фактор обмена гуаниннуклеотидов (GEF) для GTPазы RhoA, индуцируя образование актиновых стрессовых волокон и выработку реактивных видов кислорода (ROS). Он может быть активирован субъединицами бета-гамма G-белков [57]. Нейрональная изоформа дистонина изучена плохо, но известно, что мутации в гене этого белка у мышей приводят к прогрессирующей дегенерации сенсорных нейронов. Такие мыши страдают сенсорной атаксией и погибают к возрасту отъема [50]. Четвертое предположение заключается в том, что эти белки являются партнерами G-белка, и взаимодействие с ними через цинкзависимый интерфейс влияет на функцию G-белка и связанные с ним процессы в клетке. Модель структуры фактора обмена гуаниннуклеотидов Rho 18, однако, предполагает, что сайт EVNH находится внутри белковой глобулы и недоступен для растворителя.

Пятое предположение заключается в том, что пептид Аβ может образовывать комплексы с двумя белками теплового шока – HSP 90-beta (P08238) и 90-beta-3 (Q58FF7) через цинкзависимый интерфейс и влияет на созревание, поддержание структуры и правильную регуляцию специфических белков-мишеней. Помимо шаперонной активности, он также играет роль в регуляции механизма транскрипции. HSP90 и его кошаперо-

ны модулируют транскрипцию, по крайней мере, на трех различных уровнях. Во-первых, они изменяют стабильные уровни определенных факторов транскрипции в ответ на различные физиологические сигналы. Во-вторых, они модулируют активность некоторых эпигенетических модификаторов, таких как деацетилазы гистонов или ДНК-метилтрансферазы, и реагируют на изменения в окружающей среде. В-третьих, они участвуют в миграции гистонов из промоторной области определенных генов и тем самым включают экспрессию генов [58].

На экспрессию генов также может влиять белок типа «цинковых пальцев» 541 (Q9H0D2). Этот регулятор транскрипции необходим для мужской фертильности и завершения мейотической профазы в сперматоцитах. Упомянутая выше тирозин-протеинфосфатаза нерецепторного типа 11 (Q06124) также задействована в каскаде различных рецепторных и цитоплазматических протеин-тирозинкиназ, участвуя в передаче сигнала с поверхности клетки в ядро. Известно, что белки с цинковыми пальцами [59] и тирозиновые фосфатазы [60] связаны с болезнью Альцгеймера, но точный механизм взаимодействия пока неизвестен.

ВЫВОДЫ

В настоящей работе представлен оригинальный сервер PepString для поиска коротких аминокислотных последовательностей в базах данных UniprotKB и SwissProt. С использованием сервера PepString впервые показано, что тетрапептидный сайт EVNH, который является структурно-функциональной детерминантой бета-амилоида человека как в норме, так и при болезни Альцгеймера, присутствует в 63 изоформах 24 белков. На основании анализа данных об ассоциации этих белков с болезнью Альцгеймера предложена потенциальная роль кадгерина-18, рецептора Коксаки и аденовирусов, Е3-убиквитинлигазы DTX4, нейрональной изоформы дистонина и миомезина-2 в патогенезе болезни Альцгеймера. ●

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Российского научного фонда № 19-74-30007.*

*Авторы выражают благодарность
Ю.В. Кравацкому за помощь и ценные советы.*

*Приложения доступны на сайте
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.27630>.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Baig M.H., Ahmad K., Saeed M., Alharbi A.M., Barreto G.E., Ashraf G.M., Choi I. // Biomed. Pharmacother. 2018. V. 103. P. 574–581. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.025
- Livingston G., Huntley J., Sommerlad A., Ames D., Ballard C., Banerjee S., Brayne C., Burns A., Cohen-Mansfield J., Cooper C., et al. // Lancet Lond. Engl. 2020. V. 396. № 10248. P. 413–446. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30367-6
- Walker L.C. // Free Neuropathol. 2020. V. 1. P. 1–31. doi: 10.17879/freeneuropathology-2020-3025
- Long J.M., Holtzman D.M. // Cell. 2019. V. 179. № 2. P. 312–339. doi: 10.1016/j.cell.2019.09.001
- Querfurth H.W., LaFerla F.M. // N. Engl. J. Med. 2010. V. 362. № 4. P. 329–344. doi: 10.1056/NEJMra0909142
- Cohen S.I.A., Linse S., Luheshi L.M., Hellstrand E., White D.A., Rajah L., Otzen D.E., Vendruscolo M., Dobson C.M., Knowles T.P.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. № 24. P. 9758–9763. doi: 10.1073/pnas.1218402110
- Surguchov A., Emamzadeh F.N., Titova M., Surguchev A.A. // Biomedicines. 2023. V. 11. № 4. P. 1215. doi: 10.3390/biomedicines11041215
- Golde T.E., DeKosky S.T., Galasko D. // Science. 2018. V. 362. № 6420. P. 1250–1251. doi: 10.1126/science.aau0437
- Masters C.L., Selkoe D.J. // Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2012. V. 2. № 6. P. a006262. doi: 10.1101/cshperspect.a006262
- Kepp K.P. // Chem. Rev. 2012. V. 112. № 10. P. 5193–5239. doi: 10.1021/cr300009x
- Wang J., Gu B.J., Masters C.L., Wang Y.-J. // Nat. Rev. Neurol. 2017. V. 13. № 10. P. 612–623. doi: 10.1038/nrneurol.2017.111
- Cadoni M.P.L., Coradduzza D., Congiargiu A., Sedda S., Zinellu A., Medici S., Nivoli A.M., Carru C. // J. Clin. Med. 2024. V. 13. № 7. P. 2102. doi: 10.3390/jcm13072102
- Roher A.E., Esh C.L., Kokjohn T.A., Castaño E.M., van Vickle G.D., Kalback W.M., Patton R.L., Luehrs D.C., Dausg I.D., Kuo Y.-M., et al. // Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc. 2009. V. 5. № 1. P. 18–29. doi: 10.1016/j.jalz.2008.10.004
- Brothers H.M., Gosztyla M.L., Robinson S.R. // Front. Aging Neurosci. 2018. V. 10. P. 118. doi: 10.3389/fnagi.2018.00118
- Jeong H., Shin H., Hong S., Kim Y. // Exp. Neurol. 2022. V. 31. № 2. P. 65–88. doi: 10.5607/en22004
- Kozin S.A., Kechko O.I., Adzhubei A.A., Makarov A.A., Mitkevich V.A. // Int. J. Mol. Sci. 2024. V. 25. № 1. P. 72. doi: 10.3390/ijms25010072
- Istrate A.N., Kozin S.A., Zhokhov S.S., Mantsyzov A.B., Kechko O.I., Pastore A., Makarov A.A., Polshakov V.I. // Sci. Rep. 2016. V. 6. № 1. P. 21734. doi: 10.1038/srep21734
- Istrate A.N., Tsvetkov P.O., Mantsyzov A.B., Kulikova A.A., Kozin S.A., Makarov A.A., Polshakov V.I. // Biophys. J. 2012. V. 102. № 1. P. 136–143. doi: 10.1016/j.bpj.2011.11.4006
- Kulikova A.A., Tsvetkov P.O., Indeykina M.I., Popov I.A., Zhokhov S.S., Golovin A.V., Polshakov V.I., Kozin S.A., Nudler E., Makarov A.A. // Mol. Biosyst. 2014. V. 10. № 10. P. 2590–2596. doi: 10.1039/c4mb00332b
- Nisbet R.M., Nuttall S.D., Robert R., Caine J.M., Dolezal O., Hattarki M., Pearce L.A., Davydova N., Masters C.L., Varghese J.N., et al. // Proteins Struct. Funct. Bioinforma. 2013. V. 81. № 10. P. 1748–1758. doi: 10.1002/prot.24312
- Zirah S., Kozin S.A., Mazur A.K., Blond A., Cheminant M., Ségalas-Milazzo I., Debey P., Rebuffat S. // J. Biol. Chem. 2006. V. 281. № 4. P. 2151–2161. doi: 10.1074/jbc.M504454200
- Kollmer M., Close W., Funk L., Rasmussen J., Bsoul A.,

- Schierhorn A., Schmidt M., Sigurdson C.J., Jucker M., Fändrich M. // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 4760. doi: 10.1038/s41467-019-12683-8
23. Barykin E.P., Garifulina A.I., Tolstova A.P., Anashkina A.A., Adzhubei A.A., Mezentshev Y.V., Shelukhina I.V., Kozin S.A., Tsetlin V.I., Makarov A.A. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 17. P. 6272. doi: 10.3390/ijms21176272
24. Lawrence J.L.M., Tong M., Alfulaij N., Sherrin T., Contarino M., White M.M., Bellinger F.P., Todorovic C., Nichols R.A. // *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 2014. V. 34. № 43. P. 14210–14218. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0326-14.2014
25. Kozin S.A., Mezentshev Y.V., Kulikova A.A., Indeykina M.I., Golovin A.V., Ivanov A.S., Tsvetkov P.O., Makarov A.A. // *Mol. Biosyst.* 2011. V. 7. № 4. P. 1053–1055. doi: 10.1039/c0mb00334d
26. Kechko O.I., Adzhubei A.A., Tolstova A.P., Indeykina M.I., Popov I.A., Zhokhov S.S., Gnuchev N.V., Mitkevich V.A., Makarov A.A., Kozin S.A. // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 14. P. 11241. doi: 10.3390/ijms241411241
27. Khmeleva S.A., Radko S.P., Kozin S.A., Kiseleva Y.Y., Mezentshev Y.V., Mitkevich V.A., Kurbatov L.K., Ivanov A.S., Makarov A.A. // *J. Alzheimers Dis. JAD.* 2016. V. 54. № 2. P. 809–819. doi: 10.3233/JAD-160415
28. Zheng H., Koo E.H. // *Mol. Neurodegener.* 2006. V. 1. P. 5. doi: 10.1186/1750-1326-1-5
29. Chasseigneaux S., Allinquant B. // *J. Neurochem.* 2012. V. 120 Suppl 1. P. 99–108. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07584.x
30. van Dyck C.H., Swanson C.J., Aisen P., Bateman R.J., Chen C., Gee M., Kanekiyo M., Li D., Reyderman L., Cohen S., et al. // *N. Engl. J. Med.* 2023. V. 388. № 1. P. 9–21. doi: 10.1056/NEJMoa2212948
31. Kepp K.P., Robakis N.K., Høilund-Carlsen P.F., Sensi S.L., Vissel B. // *Brain J. Neurol.* 2023. V. 146. № 10. P. 3969–3990. doi: 10.1093/brain/awad159
32. Cummings J., Zhou Y., Lee G., Zhong K., Fonseca J., Cheng F. // *Alzheimers Dement.* 2023. V. 9. № 2. P. e12385. doi: 10.1002/trc2.12385
33. Ribarić S. // *Mol. Basel Switz.* 2018. V. 23. № 2. P. 283. doi: 10.3390/molecules23020283
34. Mitkevich V.A., Barykin E.P., Eremina S., Pani B., Katkova-Zhukotskaya O., Polshakov V.I., Adzhubei A.A., Kozin S.A., Mironov A.S., Makarov A.A., et al. // *Aging Dis.* 2023. V. 14. № 2. P. 309–318. doi: 10.14336/AD.2022.0827
35. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. // *J. Mol. Biol.* 1990. V. 215. № 3. P. 403–410. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
36. Zhou J., Liyanage U., Medina M., Ho C., Simmons A.D., Lovett M., Kosik K.S. // *Neuroreport.* 1997. V. 8. № 8. P. 2085–2090. doi: 10.1097/00001756-199705260-00054
37. Cohen C.J., Shieh J.T.C., Pickles R.J., Okegawa T., Hsieh J.-T., Bergelson J.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. № 26. P. 15191–15196. doi: 10.1073/pnas.261452898
38. Luissint A.-C., Artus C., Glacial F., Ganeshamoorthy K., Couraud P.-O. // *Fluids Barriers CNS.* 2012. V. 9. № 1. P. 23. doi: 10.1186/2045-8118-9-23
39. Nakamura Y., Sakudo A., Saeki K., Kaneko T., Matsumoto Y., Toniolo A., Itohara S., Onodera T. // *J. Gen. Virol.* 2003. V. 84. № Pt 12. P. 3495–3502. doi: 10.1099/vir.0.19222-0
40. Caruso P., Burla R., Piersanti S., Cherubini G., Remoli C., Martina Y., Saggio I. // *Virology.* 2009. V. 385. № 2. P. 343–350. doi: 10.1016/j.virol.2008.12.005
41. Miao H., Burnett E., Kinch M., Simon E., Wang B. // *Nat. Cell Biol.* 2000. V. 2. № 2. P. 62–69. doi: 10.1038/35000008
42. Jakob S., Schroeder P., Lukosz M., Büchner N., Spyridopoulos I., Altschmied J., Haendeler J. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 48. P. 33155–33161. doi: 10.1074/jbc.M805138200
43. Noda S., Takahashi A., Hayashi T., Tanuma S., Hatakeyama M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016. V. 469. № 4. P. 1133–1139. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.12.117
44. Pannone L., Bocchinfuso G., Flex E., Rossi C., Baldassarre G., Lisewski C., Pantaleoni F., Consoli F., Lepri F., Magliozzi M., et al. // *Hum. Mutat.* 2017. V. 38. № 4. P. 451–459. doi: 10.1002/humu.23175
45. Matthews R.T., Yang L., Browne S., Baik M., Beal M.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. № 15. P. 8892–8897. doi: 10.1073/pnas.95.15.8892
46. Yang X., Yang Y., Li G., Wang J., Yang E.S. // *J. Mol. Neurosci. MN.* 2008. V. 34. № 2. P. 165–171. doi: 10.1007/s12031-007-9033-7
47. Kaufmann P., Thompson J.L.P., Levy G., Buchsbaum R., Shefner J., Krivickas L.S., Katz J., Rollins Y., Barohn R.J., Jackson C.E., et al. // *Ann. Neurol.* 2009. V. 66. № 2. P. 235–244. doi: 10.1002/ana.21743
48. Cui J., Li Y., Zhu L., Liu D., Songyang Z., Wang H.Y., Wang R.-F. // *Nat. Immunol.* 2012. V. 13. № 4. P. 387–395. doi: 10.1038/ni.2239
49. Chen Y., Lu P., Wu S., Yang J., Liu W., Zhang Z., Xu Q. // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. № 4. P. 2293. doi: 10.3390/ijms25042293
50. Brown A., Dalpé G., Mathieu M., Kothary R. // *Genomics.* 1995. V. 29. № 3. P. 777–780. doi: 10.1006/geno.1995.9936
51. Young K.G., Kothary R. // *Cell Motil. Cytoskeleton.* 2007. V. 64. № 12. P. 897–905. doi: 10.1002/cm.20235
52. Sanbe A., Osinska H., Saffitz J.E., Glabe C.G., Kaye R., Maloyan A., Robbins J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 27. P. 10132–10136. doi: 10.1073/pnas.0401900101
53. Lutsch G., Vetter R., Offhauss U., Wieske M., Gröne H.J., Klemenz R., Schimke I., Stahl J., Benndorf R. // *Circulation.* 1997. V. 96. № 10. P. 3466–3476. doi: 10.1161/01.cir.96.10.3466
54. Baumkötter F., Schmidt N., Vargas C., Schilling S., Weber R., Wagner K., Fiedler S., Klug W., Radzimanowski J., Nickolaus S., et al. // *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 2014. V. 34. № 33. P. 11159–11172. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0180-14.2014
55. Ariyoshi M., Katane M., Hamase K., Miyoshi Y., Nakane M., Hoshino A., Okawa Y., Mita Y., Kaimoto S., Uchihashi M., et al. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 43911. doi: 10.1038/srep43911
56. Mogha A., Benesh A.E., Patra C., Engel F.B., Schöneberg T., Liebscher I., Monk K.R. // *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 2013. V. 33. № 46. P. 17976–17985. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1809-13.2013
57. Nakajima H., Tanoue T. // *J. Cell Biol.* 2011. V. 195. № 2. P. 245–261. doi: 10.1083/jcb.201104118
58. Khurana N., Bhattacharyya S. // *Front. Oncol.* 2015. V. 5. P. 100. doi: 10.3389/fonc.2015.00100
59. Bu S., Lv Y., Liu Y., Qiao S., Wang H. // *Front. Neurosci.* 2021. V. 15. P. 760567. doi: 10.3389/fnins.2021.760567
60. Fontán-Baselga T., Cañeque-Rufo H., Rivera-Illades E., Gramage E., Zapico J.M., de Pascual-Teresa B., Ramos-Álvarez M.D.P., Herradón G., Vicente-Rodríguez M. // *Front. Pharmacol.* 2024. V. 15. P. 1506049. doi: 10.3389/fphar.2024.1506049