

УДК 577.24

РИБОСОМЫ И КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ

Ивко О.М.

*АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»,
г. Санкт-Петербург*

В обзоре проанализированы данные о взаимосвязи трансляции белка на рибосомах, клеточного старения и продолжительности жизни. Продолжительность жизни может увеличиваться при снижении интенсивности процессов трансляции. Таким образом, важным аспектом биogerонтологии является исследование экспрессии протеинов, входящих в состав субъединиц рибосом. Белок L7a является компонентом большой рибосомной субъединицы 60S и играет критическую роль в стабилизации рибосом путем связывания с рибосомной РНК. Белок L7a участвует в пролиферации и дифференцировке клеток, взаимодействуя с рецептором гормонов щитовидной железы человека THR и рецептором ретиноевой кислоты RAR. Нарушение экспрессии белка L7a у лиц старших возрастных групп приводит к ускоренному старению организма, дезрегуляции процессов адаптации, развитию ишемической болезни, новообразований, катаракты.

Ключевые слова: рибосома, старение, белок L7a, ассоциированная с возрастом патология.

RIBOSOMES AND CELL SENEESCENCE

Ivko O.M.

Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint Petersburg

The review had analyzed the correlation between ribosomal protein synthesis, cell senescence and longevity. The longevity can increase in the case of decrease of translation process. Thus, the important aspect of biogerontology is the investigation of protein synthesis in composition of ribosomal subunits. L7a protein is the component of the large subunits of ribosome 60S and plays the critical role in ribosomal stabilization by the way of ribosomal RNA binding. L7a protein takes part in cell proliferation and differentiation by the way of interaction to hormone of human thyroid gland receptor THR and retinoid acid receptor RAR. The dysfunction of L7a protein expression in elderly groups of people can be the reason of accelerated organism aging, dysregulation of adaptation processes, ischemic disease development, oncology, cataract.

Key words: ribosome, aging, L7a protein, age-related disease.

Введение. Исследование возрастных нарушений трансляционных процессов является важной задачей биogerонтологии. Ядрышко – субъядерная структура, в которой синтезируются рибосомная РНК (rRNA) и рибосомные субъединицы. Эти процессы являются скоординированными. Внутри ядрышка rRNA транскрибируется РНК-полимеразой-I (Pol-I). Полученные предшественники rRNA (pre-rRNA) затем обрабатываются и модифицируются для генерации 28S, 18S, 5,8S rRNA. Затем зрелые rRNA собираются с рибосомными белками и экспортируются в цитоплазму для белкового синтеза. Размер ядрышка варьируется и отражает скорость биогенеза рибосом в различных типах клеток. Большие ядрышки обнаруживаются в активно пролиферирующих клетках, которые требуют непрерывного биосинтеза рибосом, тогда как размер ядрышка уменьшается при остановке клеточного цикла.

В настоящее время установлено, что ядрышко активно участвует в поддержании пула стволовых клеток и регуляции продолжительности жизни, играет роль в различных клеточных функциях. Проведен ряд исследований, направленный на изучение связи интенсивности работы ядрышкового аппарата и старения. Используя *Caenorhabditis elegans* в качестве модельного организма, Hansen et al. показали, что снижение уровней рибосомных протеинов/белков (RP) увеличивает продолжительность жизни модельных организмов. Кроме того, *Caenorhabditis elegans*, подвергнутые нокдауну siRNA NOG-1, который кодирует нуклеолярную ГТФазу, необходимую для биогенеза рибосомы 60S, демонстрируют увеличение продолжительности жизни.

Другое исследование было проведено Demontis et al., которые изучали связь между миокином (Mnt), ядрышковой функцией и старением у дрозофил. Было показано, что избыточная экспрессия Mnt подавляет экспрессию генов, кодирующих нуклеолярные белки, которые, в свою очередь, снижают уровни rRNA. Нокдаун белков, участвующих в синтезе rRNA и биогенезе рибосом, продлевает среднюю продолжительность жизни [11].

Роль рибосом в процессе старения в норме и при патологии. Эукариотические рибосомы являются эволюционно консервативными рибозимами, состоящими из рибосомных белков (RP) и rRNA. В цитоплазме рибосомы обеспечивают синтез белка. Механизмы контроля данного процесса представляют большой интерес для исследований, направленных на поиск геропротекторов [10].

В недавних исследованиях были описаны механизмы регуляции трансляции, которые могут влиять на продолжительность жизни организмов [1, 3]. Первым из них является контроль инициации трансляции - eIF4F, он рекрутирует 43S пре-иницирующий комплекс, который затем принимает участие в поиске СТАРТ-кодона на котором соединяется с 60S рибосомой. На данном этапе, если биологический объект испытывает стресс, то трансляция прерывается путем фосфорилирования белка eIF2 α . Затем происходит активация транскрипционного фактора ATF4, который способствует адаптации организма. Установлено, что увеличение экспрессии ATF4 способствует увеличению продолжительности жизни.

Еще одним механизмом на этапе инициации является ингибирование TOR при пищевом стрессе за счет чего происходит повышение активности белка 4E-BP, который ингибирует трансляцию. Данный механизм распространяется не на все белковые единицы. Компоненты митохондрий в таких условиях синтезируются активно, что увеличивает продолжительность жизни.

В условиях протеотоксического стресса, обычно связанного с рибосомой, белок теплового шока Hsp70 ассоциируется с неправильно сложенными цитозольными белками, что

приводит к прекращению функций рибосом. При нормальных условиях N-ацетил-цистеин (NAC) препятствует сортировке митохондриальных белков в эндоплазматическом ретикулуме (ER). Когда NAC истощается, рецептор сортировки белка (SRP) направляет, как митохондриальные, так и ER-белки в эндоплазматический ретикулум, что приводит к стрессу.

Во время старения или протеотоксического стресса NAC ассоциируется с агрегированными белками. Фактор удлинения трансляции eEF2 подавляется во время стресса, что приводит к диссоциации от рибосом.

Malinovskaya E.M. и соавторы [6], исследовали динамику изменение копийности рибосом с возрастом на модели фибробластов кожи человека. В процессе исследования ученые установили, что в пожилой группе среднее значение рибосомальной ДНК (rDNA) одинаково, но диапазон ее модификаций уже по сравнению с более молодыми субъектами. Рибосомная ДНК эукариот организована в виде кластеров, состоящих из повторяющихся копий генов, кодирующих 18S, 5.8S и 28Sp РНК, и двух спейсеров, - ITS1 и ITS2.

Во время репликативного старения геном фибробластов человека теряет гиперметилированные копии rDNA. По результатам эксперимента были выдвинуты две гипотезы: индивидуумы с очень низким или очень высоким содержанием rDNA в геномах не доживают до возраста средней продолжительности жизни населения и/или во время старения геном человека удаляет гиперметилированные копии rDNA.

Позднее, схожие результаты получили Wang M. и соавторы [14]. Им удалось разработать методику, по которой при определении степени метилирования rDNA возможно определить возраст живого организма.

Porokhovnik L.N. и соавторы провели анализ современных данных о взаимосвязи экспрессии rRNA с продолжительностью жизни [7]. Авторы выявили, что пациенты с ревматоидным артритом, дети с расстройствами аутистического спектра и пациенты с гнойными инфекциями, осложненными полиорганной недостаточностью, имели низкое количество копий генов rRNA. У пациентов с шизофренией содержится большое количество как активных, так и общих рибосомных генов, что подтверждает гипотезу выдвинутой Malinovskaya E.M. и соавторов.

Последние данные относительно связи нарушения процессов трансляции при старении были систематизированы и опубликованы Turí Z. и соавторами [12]. Авторы утверждают, что с возрастом происходит накопление нарушений в рибосомальной DNA за счет чего наблюдаются изменения в синтезе рибосомальной RNA. При этом количество копий rRNA может как увеличиваться, так и уменьшаться в зависимости от типа патологии.

Из всего вышеописанного наибольшую значимость имеют данные о том, что продолжительность жизни организмов может увеличиваться при снижении интенсивности процессов трансляции, которого можно добиться путем воздействия на рибосомальные белки [10, 12]. Таким образом, исследование экспрессии протеинов, входящих в состав субъединиц рибосом, будет способствовать лучшему пониманию механизмов, лежащих в основе старения.

Рибосомальные белки представляют собой разнообразную группу протеинов, которые помимо участия в сборке рибосом могут выполнять и другие функции. Во время транскрипции и процессинга *pre-rRNA* многих RP, таких как S15, S19, S24, собираются на участках зрелой *rRNA pre-rRNA* и участвуют в различных стадиях процессинга *rRNA*.

Кроме того, некоторые RP (L22, L24, L29) участвуют во взаимодействии между малыми и большими субъединицами и стабилизации рибосомы, окружая канал выхода полипептида, тогда как другие RP (S7, S9, S12, S13, L1, L5) отвечают за прямой контакт с *rRNA*. В дополнение к участию в биогенезе рибосом, многие RP имеют экстрарибосомальные функции.

Так, рибосомальные белки способны влиять на апоптоз. Например, протеин S3 индуцировал апоптоз в ответ на внеклеточный стресс, активируя JNKs (с-Jun N-терминальные киназы) зависимым от каспаз образом. Белок S6, особенно в его нефосфорилированной форме, проявлял проапоптотическую активность, индуцируя экспрессию DR4 в TRAIL-индуцированной гибели клеток.

Напротив, некоторые RP, такие как S27 и L23, проявляют антиапоптотическую активность. Также, помимо регуляции апоптоза, RP участвуют в регуляции прогрессирования клеточного цикла посредством p53-зависимых и независимых механизмов. Примечательно, что многие RP (S3, S7, S14, S15, S20, S25, S26, S27, S27a, S27L, L5, L6, L11, L23, L26, L37) активируют p53 и индуцируют p53-зависимую остановку клеточного цикла, а также апоптоз при рибосомном стрессе [16].

Одним из рибосомальных белков, имеющих наиболее разнообразные функции, в том числе связанные со старением, является протеин L7a. Данный белок является компонентом большой рибосомной субъединицы 60S и играет критическую роль в стабилизации рибосом путем связывания с *rRNA*. Этот протеиновый придаток очень подвижен, взаимодействует с факторами элонгации и участвует в выявлении их GTPase-активности. Этот белок может участвовать в росте и дифференцировке клеток, взаимодействуя с рецептором гормонов щитовидной железы человека (THR) и рецептором ретиноевой кислоты (RAR) [4]. Человеческий *r*-белок L7a является высоко консервативным, содержит 266 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу 30 кДа [2]. L7a состоит из трех различных доменов,

компетентных в ядерной локализации, определяемых: аминокислотные остатки 23-51 (домен I), аминокислотные остатки 52-100 (домен II) и аминокислотные остатки 101-220 (домен III).

R-белки попадают в ядро неклассическим путем, поэтому для их транспорта требуются специфические последовательности. Так домен I содержит пептид $^{34}\text{KRPKNFGIGQDIQPKR}^{49}$, который может представлять собой двудольную консенсусную последовательность, несущую сигнал о ядерной локализации (NLS). Домен II содержит аминокислотные остатки 52-100, содержащие один кластер аминокислот $^{72}\text{KRLK}^{75}$, который соответствует консенсусному тетрапептиду NLS. Эта область положительно заряжена. Способный к ядерной локализации домен III, содержит остатки 101-220 [9].

Попав в ядро, ядрышковый белок может накапливаться в ядрышке за счет взаимодействия функциональных доменов с RNA или белками, находящимися в ядрышке. Эффективность ядерной транслокации, продвигаемой тремя NLS-содержащими доменами, различна: домены II и III более эффективны, чем домен I.

Белок L7a содержит два РНК-связывающих мотива: один охватывает 52–100 (RNAB1), а другой - 101–161 (RNAB2). Структура мотива RNAB1 в настоящий момент является неисследованной, в то время как область RNAB2 является высококонсервативной в некоторых других белковых компонентах комплекса рибонуклеопротеинов [8].

На данный момент проведен ряд исследований, направленных на изучение экспрессии белка R7a при различных патологиях. Zhang W. и соавторы [17] установили, что катаракта у лиц старших возрастных групп связана с изменением экспрессии L7a. Также установлено увеличение экспрессии данного рибосомального белка во время реакции адаптации к травме, связанной с ишемической болезнью [5]. Существуют исследования, показавшие увеличение концентрации L7a при клеточном старении, карциноме предстательной железы и колоректальной карциноме человека [13, 15].

Заключение. При снижении интенсивности уровня репликации через воздействие на субъединицу 60S происходит увеличение продолжительности жизни живых организмов, что подчеркивает актуальность изучения данной структуры. Перспективным маркером для визуализации 60S рибосомальной субъединицы является белок L7a, входящий в ее состав. Установлено, что экспрессия этого белка способна отражать характер развития процессов опухолевого роста и старения, что придает изучению его экспрессии высокую фундаментальную и диагностическую ценность.

Литература

1. Calamita P. Translating the Game: Ribosomes as Active Players / P. Calamita, G. Gatti, A. Miluzio, A. Scagliola, S. Biffo // *Front Genet.* – 2018. – Vol. 15, N 9. - P. 533. doi: 10.3389/fgene.2018.00533.
2. De Falco S. Human L7a ribosomal protein: sequence, structural organization, and expression of a functional gene / S. De Falco, G. Russo, A. Angiolillo, C. Pietropaolo // *Gene.* – 1993. – Vol. 126, N 2. – P. 227-235.
3. Gonskikh Y., Polacek N. Alterations of the translation apparatus during aging and stress response // *Mech Ageing Dev.* – 2017. – Vol. 168. - P. 30-36. doi: 10.1016/j.mad.2017.04.003.
4. Jang T.H. Crystallization and preliminary X-ray crystallographic studies of the N-terminal domain of human ribosomal protein L7a (RPL7a) / T.H. Jang, J.H. Park, J.H. Jeon, D.S. Lee, K. Choi, I.G. Kim, Y.W. Kim, H.H. Park // *Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.* – 2011. – Vol. 67(Pt 4). – P. 510-512. doi: 10.1107/S1744309111006415.
5. Jiang Q. Elucidation of the FKBP25-60S Ribosomal Protein L7a Stress Response Signaling During Ischemic Injury / Q. Jiang, G. Wu, L. Yang, Y.P. Lu, X.X. Liu, F. Han, Y.P. Deng, X.C. Fu, Q.B. Liu, Y.M. Lu // *Cell Physiol. Biochem.* 2018. – Vol. 47, N 5. – P. 2018-2030. doi: 10.1159/000491470.
6. Malinovskaya E.M. Copy Number of Human Ribosomal Genes With Aging: Unchanged Mean, but Narrowed Range and Decreased Variance in Elderly Group / E.M. Malinovskaya, E.S. Ershova, V.E. Golimbet, L.N. Porokhovnik, N.A. Lyapunova // *Front Genet.* - 2018. – Vol. 7, N 9. – P. 306. doi: 10.3389/fgene.2018.00306.
7. Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A. Dosage effects of human ribosomal genes (rDNA) in health and disease // *Chromosome Res.* – 2019. – Vol. 27, N 1-2. – P. 5-17. doi: 10.1007/s10577-018-9587-y.
8. Russo G. Ribosomal protein L7a binds RNA through two distinct RNA-binding domains / G. Russo, M. Cuccurese, G. Monti, A. Russo, A. Amoresano, P. Pucci, C. Pietropaolo // *Biochem J.* – 2005. – Vol. 385(Pt 1). – P. 289-299.
9. Russo G., Ricciardelli G., Pietropaolo C. Different domains cooperate to target the human ribosomal L7a protein to the nucleus and to the nucleoli // *J. Biol. Chem.* - 1997. - Vol. 272, N 8. – P. 5229-5235.
10. Steffen K.K., Dillin A. A Ribosomal Perspective on Proteostasis and Aging // *Cell Metab.* - 2016. – Vol. 23, N 6. – P. 1004-1012. doi: 10.1016/j.cmet.2016.05.013.
11. Takada H., Kurisaki A. Emerging roles of nucleolar and ribosomal proteins in cancer, development, and aging // *Cell Mol. Life Sci.* – 2015. – Vol. 72, N 21. – P. 4015-25. doi: 10.1007/s00018-015-1984-1.

12. Turi Z. Impaired ribosome biogenesis: mechanisms and relevance to cancer and aging / Z. Turi, M. Lacey, M. Mistrik, P. Moudry // *Aging (Albany NY)*. – 2019. – Vol. 11, N 8. – P. 2512-2540. doi: 10.18632/aging.101922.
13. Vaarala M.H. Several genes encoding ribosomal proteins are over-expressed in prostate-cancer cell lines: confirmation of L7a and L37 over-expression in prostate-cancer tissue samples / M.H. Vaarala, K.S. Porvari, A.P. Kyllönen, M.V. Mustonen, O. Lukkarinen, P.T. Vihko // *Int. J. Cancer*. – 1998. – Vol. 78, N 1. – P. 27-32.
14. Wang M., Lemos B. Ribosomal DNA harbors an evolutionarily conserved clock of biological aging // *Genome Res*. – 2019. – Vol. 29, N 3. – P. 325-333. doi: 10.1101/gr.241745.118.
15. Wang Y. Ribosomal protein L7a gene is up-regulated but not fused to the tyrosine kinase receptor as chimeric trk oncogene in human colorectal carcinoma. / Y. Wang, D. Cheong, S. Chan, S.C. Hooi // *Int. J. Oncol*. – 2000. – Vol. 16, N 4. – P. 757-762.
16. Xu X., Xiong X., Sun Y. The role of ribosomal proteins in the regulation of cell proliferation, tumorigenesis, and genomic integrity // *Sci. China Life Sci*. – 2016. – Vol. 59, N 7. – P. 656-672. doi: 10.1007/s11427-016-0018-0.
17. Zhang W. Decreased expression of ribosomal proteins in human age-related cataract / W. Zhang, J. Hawse, Q. Huang, N. Sheets, K.M. Miller, J. Horwitz, M. Kantorow // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. – 2002. – Vol. 43, N 1. –P. 198-204.