

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЙОТИЧЕСКИХ КОГЕЗИНОВ STAG3 В СРАВНЕНИИ С ИХ МИТОТИЧЕСКИМИ ПАРАЛОГАМИ SCC3/STAG1

Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г.Москва

Гришаева Т.М.
Дадашев С.Я.,
Богданов Ю.Ф.
Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН

Важным процессом, предшествующим любому клеточному делению (митозу и мейозу), является возникновение связи (когезии) между сестринскими хроматидами. Этот процесс происходит еще до стадии профазы с участием специального типа белковых комплексов – когезинов. Всего в установлении когезии участвует 14 разных белков [1].

Большая часть компонентов когезинового комплекса является общей для митоза и мейоза, однако у позвоночных в мейозе наряду с митотическими компонентами когезина – белками RAD21, SMC α и SA1-2/STAG1-2 – появляются их паралоги – REC8, SMC1 β и STAG3 соответственно [2]. Вместе с SMC3, для которого не найден мейотический паралог, эти белки формируют когезиновую ось хромосомы. У дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* ортологом митотического белка Scc3 является Rec11 [3]. Специфические мейотические компоненты когезинового комплекса появляются для связи хромосомных осей с белками латеральных элементов (в частности, с SYCP3 [4]) синаптонемного комплекса – структуры, формирующейся в профазе I деления мейоза для коордации гомологичных хромосом в биваленте и для прохождения мейотической рекомбинации.

Ранее мы провели сравнительный анализ белков пары Rad21-Rec8 у шести видов эукариот из разных таксономических групп – от дрожжей до человека [5]. Были установлены различия митотических и мейотических белков этой группы как в пределах функционального домена (порядок расположения консервативных аминокислотных мотивов), так и в остальной части молекулы. Были также выявлены различия во вторичной структуре этих белков (способности формировать протяженные участки альфа-спиральной конфигурации). Это свидетельствует о различии функций митотических и мейотических когезинов и о различии их белков-партнеров.

В настоящей работе была исследована другая пара компонентов когезинового комплекса – мейотические белки STAG3 и их митотические паралоги Scc3/SA1/STAG1. Цель данной работы, как и предыдущей, – определить, на чем базируются функциональные различия этих двух групп белков. В работе была использована база данных и программное обеспечение NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>): NCBI BLAST – для поиска гомологичных аминокислотных последовательностей в протеомах изучаемых организмов, NCBI CDART (Conserved Domain Architecture Tool) – для выявления функциональных доменов белков. Для определения набора и последовательности консервативных мотивов использовали программу MEME (Multiple Em for Motif Elicitation, <http://meme.sdsc.edu/meme/website/intro.html>).

Были исследованы следующие компоненты мейотического когезинового комплекса млекопитающих: стромалин SA3 человека *Homo sapiens* (далее в тексте – STAG3 Hs), STAG3 мыши *Mus musculus* (Mm) и похожие на стромалин SA3 белки быка *Bos taurus* и собаки *Canis lupus familiaris* (далее STAG3 Bt и STAG3 Cf). Для каждого вида в базе данных содержались сведения лишь об одном белке. Был также исследован их аналог у дрожжей *S. pombe* – Rec11 Sp. Для сравнения были изучены белки митотического когезинового комплекса тех же видов, являющиеся ортологами STAG3: SA1 человека (далее STAG1 Hs), STAG1 мыши и белки быка и собаки, подобные SA1 (STAG1-1 Bt и STAG1-1 Cf). Поскольку в базе данных аннотировано от 2 до 11 изоформ каждого белка, мы отобрали для анализа наибольшие по размеру формы. У быка не была аннотирована полноразмерная форма SA1, и наш поиск ортологов человеческого стромалина в протеоме *B. taurus* результатов не дал. Укороченная изоформа STAG1-1 оказалась, тем не менее, вполне информативной.

Так как изучаемые белки когезинового комплекса эукариот принадлежат к одному семейству [3], мы взяли для сравнительного анализа еще одну группу белков-ортологов STAG1: Scc3 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (SCC3 Sc), Psc3 *S. pombe* (далее для однообразия – SCC3 Sp), SCC3 растения *Arabidopsis thaliana*

(SCC3 At), гомолог SCC3 в протеоме нематоды *Caenorhabditis elegans* (SCC3 Ce), а также их ортологи в протеоме *Drosophila melanogaster* (новый белок SA, далее – STAG1 Dm) и рыбы *Danio rerio* (белок, похожий на SA1 – STAG1 Dr).

Из литературы было известно, что мейотические формы компонента когезинового комплекса STAG имеются только у дрожжей *S. pombe* и у позвоночных [3]. Но в протеоме рыбы *D. rerio* не было аннотировано ни одного белка, сходного со STAG3. Мы отобрали одну из форм STAG, наиболее отличную от других, и предположили, что это может быть мейотический белок. То же самое мы проделали в отношении дрозофилы, т.к. она хоть и является беспозвоночным животным, но во многом своеобразна. Отобранные белки мы назвали STAG3 Dr и STAG3 Dm соответственно. Предварительное исследование, однако, показало, что эти белки оказались гораздо ближе к STAG1, нежели к мейотическим STAG3, поэтому мы исключили их из дальнейшего анализа.

С помощью программы NCBI CDART мы определили, какие функциональные домены содержатся в изучаемых белках. Оказалось, что у дрожжей существует только один когезиновый домен большого размера (свыше 500 а.к.) – IRR1 – характерный для низших эукариот. У остальных видов кроме этого домена, укороченного с С-конца, выявлен другой когезиновый домен меньшего размера (STAG), как правило, заключенный внутри IRR1. Мы определили приблизительные координаты этих доменов и с помощью программы MEME сравнили SCC3, STAG1 и STAG3 по набору консервативных мотивов. Оказалось, что у позвоночных митотические и мейотические формы STAG не различаются по этому параметру в пределах обоих доменов (IRR1 и STAG). У беспозвоночных от дрожжей до дрозофилы наблюдалось разнообразие набора и порядка мотивов, что повторилось и на следующем этапе исследования (см. ниже). Это отличает белки STAG от белков пары Rec8/Rad21, которые довольно сходны и у низших, и у высших эукариот, но в то же время имеют различия внутри функционального домена [5].

Аналогичный поиск общих мотивов мы провели и для целых молекул SCC3/Rec11/STAG1/STAG3. У дрожжей выявлено малое сходство как Rec11 с Scc3 (у *S. pombe*), так и этих двух белков с Scc3 другого вида дрожжей – *S. cerevisiae*. Общими у этих трех белков были два мотива среднего размера и два мелких, разделенные негомологичными последовательностями. Интересно, что *A. thaliana* «унаследовал» от дрожжей один из консервативных мотивов в N-концевом отрезке белка. У арабидопсиса найден также один мотив, характерный для позвоночных. В то же время у нематоды (SCC3 Ce) появляется три протяженных мотива, характерных для STAG1/3 позвоночных, а у дрозофилы (STAG1 Dm) к ним добавляется еще один. У дрозофилы и нематоды обнаружены также общие мотивы, отсутствующие у других изученных видов: два – в С-концевом фрагменте белка и один – в N-концевом,

У высших эукариот, начиная с рыбы (Dr) и кончая человеком (Hs), прослеживается общий блок консервативных мотивов разной величины (от 15 до 165 а.к.) в составе обоих белков - STAG1 и STAG3. Этот блок намного превышает по размеру когезиновый домен. В то же время выявлен ряд четких отличий митотической формы от мейотической внутри этого блока (замена одного мотива на другой и две небольших вставки у STAG1). В С-концевом отрезке белка наблюдали замену мотивов и изменение их порядка. N-концевые отрезки всех исследованных STAG1 млекопитающих сходны между собой, но отличаются от начальных фрагментов белков STAG3, которые тоже похожи друг на друга за исключением человеческого STAG3.

Таким образом, мы можем сделать вывод, что в ходе эволюции для выполнения специфических мейотических функций белки STAG3 сохранили активный центр белка (когезиновый домен IRR1/STAG), но приобрели важные изменения в других частях молекулы, необходимые, по-видимому, для взаимодействия когезинового комплекса с другими белками-партнерами.

Литература

1. *Jounes S., Sgouris J.* The cohesion complex: sequence homologies, interaction networks and shared motifs// *Genome Biol.* 2001. V.2. #3. P.0009.1-0009.12.

2. *Revenkova E., Jessberger R.* Keeping sister chromatids together: cohesions in meiosis// *Reproduction*. 2005. V.130. P.783-790.
3. *Nasmyth K.* Disseminating the genome: joining, resolving, and separating sister chromatids during mitosis and meiosis// *Ann. Rev. Genet.* 2001. V.35. P.673-745.
4. *Prieto I., Tease C., Pezzi N. et al.* Cohesin component dynamics during meiotic prophase I in mammalian oocytes// *Chrom. Research*. 2004. V.12. P.197-213.
5. *Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф.* Сравнительное исследование *in silico* мейотического когезина REC8 и его митотического ортолога RAD21// *Молекулярная биология*. 2007. Т.41. №4. С.743-745.