

СХОДСТВО СТРУКТУРНЫХ МЕЙОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ЭУКАРИОТ С БЕЛКАМИ БАКТЕРИЙ

Гришаева Т.М., Захаров И.А.

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

grishaeva@vigg.ru

Исследовано сходство основных белков синаптонемного и когезинового комплексов эукариот с белками из протеомов всех архей и всех бактерий, содержащихся в базе данных NCBI. Показано, что практически все эти белки ближе к белкам бактерий, а не архей, что противоречит данным литературы. Взятые для контроля митохондриальные и цитоплазматические белки рибосом, как и ожидалось, показали сходство с белками бактерий и архей соответственно.

Морфологически оформленное ядро – одно из основных отличий эукариот от прокариот – бактерий и архей. Большинству эукариот свойствен мейоз – особый тип ядерного деления, обеспечивающий поддержание определённого уровня пloidности в ряду поколений. Аналога мейоза у прокариот нет.

Схема митоза эволюционно консервативна, несмотря на частные различия в разных царствах организмов. Секрет этого – в универсальности структуры эукариотических хромосом, ахроматического веретена клеточного деления и клеточных мембран. Цитологический механизм мейоза сложнее, чем в митозе, но и в этом случае наблюдается единообразие основных внутриклеточных явлений [1].

Механизм мейоза отличается от механизма митоза рядом черт.

В профазе I мейоза белки когезиновых осей гомологичных хромосом взаимодействуют с аппаратом рекомбинации и способствуют синапсису между хромосомами вместе со специфичными белками синаптонемного комплекса [2, 3]. Формированию синаптонемного комплекса (СК) предшествует формирование проаксиальных элементов хромосом с участием мейотического когезина REC8 (паралога митотического Rad21). Кроме REC8, специфически мейотическими являются также когезины Rec11 и STAG3 [4].

Далее мейотический когезин SMC1 β , когезин SMC3 и белки осевых элементов SCP2 и SCP3 формируют нормальный осевой элемент. В пахитене из двух осевых элементов и вновь собираемого центрального элемента формируется СК. Центральный элемент СК строится в виде застёжки-молнии из упорядоченных палочковидных белков, не имеющих гомологии первичной структуры у разных таксонов эукариот, но обладающих сходной пространственной организацией [5]. Это белки SCP1 у позвоночных животных, Zip1 у дрожжей-сахаромицетов, ZIP1 у представителя растений – арабидопсиса, C(3)G у насекомого дрозофилы. Кроме того, в последнее время был открыт ряд новых белков (Табл. 1), чья роль не до конца определена [6].

Мы поставили перед собой задачу выяснить, есть ли в мире прокариот гомологи тех белков, которые принимают участие в процессе мейоза у эукариот. Для этого мы исследовали структурные белки синаптонемного комплекса и белки когезинового комплекса, входящие в состав хромосомных осей. Для сравнения мы также взяли в анализ рибосомные белки цитоплазмы и митохондрий.

В качестве объектов при сравнении белков эукариот с белками из протеомов Archaea и Bacteria мы использовали следующие виды эукариот, представляющие их основные таксоны: растение *Arabidopsis thaliana*, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, насекомое *Drosophila melanogaster*, нематоду *Caenorhabditis elegans*, рыб *Danio rerio* или *Anoplopoma fimbria*, мышь *Mus musculus*.

Для поиска сходных белков были проанализированы все доступные протеомы архей (90 видов) и бактерий (1398 видов), имеющиеся в базе данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Аминокислотные последовательности белков синаптонемного

и когезинового комплекса эукариот находили в базах данных NCBI и UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>). Для поиска гомологичных аминокислотных последовательностей в протеомах изучаемых прокариот был использован NCBI BLAST (protein-protein BLAST). Параметры: Expect threshold – 1000, Max target sequences – 20000, остальные – по умолчанию. Высокое значение Expect threshold необходимо для того, чтобы проанализировать как можно больше последовательностей в протеомах архей и бактерий. При этом повышается риск подбора случайных последовательностей, не родственных изучаемым, но мы считаем, что, сравнивая один и тот же белок с протеомами всех архей и всех бактерий, заложенных в базу данных NCBI, мы нивелируем возможные погрешности.

Оценка сходства изученных белков была проведена с использованием интегрального показателя Score (получаемого в результате работы программы BLAST), учитывающего три параметра: число совпадений аминокислот, число аминокислот одного типа и число так называемых gaps, т.е. тех случаев, когда в одном белке на данном месте есть аминокислота, а в другом она отсутствует. Достоверность различий показателя Score для архей и бактерий оценивали с помощью t-теста программы STATISTICA v.7 (StatSoft [7]), при этом сравнивали полученные величины для 10 видов бактерий и 10 архей, чьи белки показали наибольшее сходство с соответствующим эукариотическим белком. Результаты проведенного анализа представлены в таблицах.

Таблица 1. Сходство структурных белков синаптонемного комплекса эукариот с белками прокариот

Белок	Объект*	Максимальное // среднее значения показателя		p
		сходства**	Археи	
Zip1	Sc	40 // 35,4	44 // 39,8	0,000345
Zip1	Sp	33 // 29,6	37 // 35,1	<0,000001
C(3)G	Dm	41 // 36,3	41 // 36,9	0,637454
ZIP1A	At	44 // 35,2	46 // 41,4	0,000084
SCP1	Dr	42 // 38,2	43 // 40,9	0,002365
SYCP1	Dr	51 // 39,3	57 // 41,2	0,463745
SYCP1	Mm	43 // 36,5	44 // 38,9	0,134770
CORONA	Dm	33 // 30,7	37 // 36,2	<0,000001
SYP-1	Ce	35 // 33,0	55 // 39,0	0,004940
SYP-2	Ce	33 // 29,6	37 // 34,7	<0,000001
SYP-3	Ce	35 // 31,5	41 // 37,2	0,000001
SYP-4	Ce	36 // 32,3	48 // 45,5	<0,000001
SYCE1	Dr	33 // 29,9	35 // 32,8	0,000028
SYCE2	Dr	34 // 31,0	38 // 35,2	0,000036
TEX12	Af	30 // 28,3	34 // 32,1	<0,000001
SYCE1	Mm	35 // 32,1	45 // 38,6	0,000003
SYCE2	Mm	35 // 31,5	42 // 34,5	0,011968
TEX12	Mm	31 // 28,5	35 // 32,0	0,000005
Hop1	Sc	33 // 31,0	36 // 35,3	<0,000001
Hop1	Sp	34 // 31,0	38 // 36,9	<0,000001
ASY1	At	34 // 31,3	41 // 36,5	0,000001
ASY2	At	39 // 34,5	39 // 38,3	0,000012
HIM-3	Ce	36 // 31,3	35 // 33,6	0,010568
Red1	Sc	34 // 31,7	38 // 36,0	<0,000001
Rec10	Sp	33 // 30,7	40 // 36,6	<0,000001
SYCP2	Mm	34 // 32,3	41 // 37,8	<0,000001
SYCP3-like	Dr	35 // 32,9	38 // 35,2	0,019577

SYCP3	Mm	33 // 28,7	38 // 36,0	<0,000001
C(2)M	Dm	33 // 30,7	37 // 36,1	<0,000001
ORD	Dm	36 // 32,2	43 // 35,9	0,001833

* Sc – Saccharomyces cerevisiae, Sp - Schizosaccharomyces pombe, Dm – Drosophila melanogaster, At – Arabidopsis thaliana, Ce - Caenorhabditis elegans, Dr - Danio rerio, Af – Anoplopoma fimbria, Mm – Mus musculus

**Интегральный показатель Score. Жирным шрифтом выделены значения, достоверно превышающие этот показатель для другого прокариотического таксона; *курсивом* – значения, различие для которых статистически недостоверно.

В таблице 1 представлены результаты анализа структурных белков синаптонемного комплекса (СК). Первая группа – белки центрального элемента СК, вторая – белки центрального пространства СК, третья – белки латеральных элементов СК, четвертая группа – белки СК дрозофилы, не включенные ни в одну группу.

Все белки явно имеют большее сходство с бактериальными белками, за исключением трех, для которых различие недостоверно. Необходимо отметить, что белки этой группы не гомологичны друг другу, т.е. являются не ортологами, а функциональными аналогами, обладающими сходной вторичной структурой [5].

Обращают на себя внимание очень близкие значения средних показателей сходства (Score) для всех изученных групп белков начиная от дрожжей и заканчивая мышью. При этом сам показатель Score весьма небольшой, так что все эти белки одинаково далеко ушли от прокариотических белков, если вообще произошли от них.

Таблица 2. Сходство белков-компонентов когезинового комплекса эукариот с белками прокариот

Белок	Объект*	Максимальное// среднее значения показателя сходства**		p
		Археи	Бактерии	
Scc3	Sc	35 / 32,3	38 // 36,5	0,000001
Scc3	Sp	39 // 32,6	40 // 36,7	0,000179
SA1	Dm	40 // 32,8	37 // 36,6	0,000197
SCC3	At	36 // 35,1	35 // 35,5	0,054371
SCC3	Ce	35 // 31,7	38 // 36,7	<0,000001
STAG1	Dr	35 // 33,4	37 // 36,3	<0,000001
STAG1	Mm	33 // 32,2	37 // 36,1	<0,000001
SA2A	Dm	34 // 32,0	38 // 36,5	<0,000001
STAG2	Dr	35 // 33,9	39 // 37,2	0,000001
STAG2	Mm	33 // 32,1	40 // 38,1	<0,000001
Rec11	Sp	35 // 31,8	40 // 37,5	<0,000001
STAG3	Mm	36 // 30,4	38 // 36,5	0,000001
Rad21	Sc	32 // 30,2	40 // 35,9	<0,000001
Rad21	Sp	32 // 30,2	40 // 35,9	<0,000001
RAD21	Dm	35 // 32,3	41 // 37,7	0,000005
RAD21	At	33 // 31,9	39 // 36,9	<0,000001
RAD21	Ce	34 // 32,1	38 // 37,2	<0,000001
RAD21	Dr	36 // 32,1	39 // 35,8	0,000562
RAD21	Mm	50 // 37,1	39 // 36,1	0,547785
Rec8	Sc	33 // 30,1	37 // 36,0	<0,000001
Rec8	Sp	33 // 31,0	37 // 36,0	<0,000001

REC8	Dm	-***	-	-
REC8	At	32 // 29,1	37 // 35,4	<0,000001
REC8	Ce	39 // 33,8	52 // 44,7	0,000025
REC8	Dr	33 // 29,2	35 // 34,2	0,000001
REC8	Mm	33 // 31,2	37 // 35,6	<0,000001

* Sc – *Saccharomyces cerevisiae*, Sp - *Schizosaccharomyces pombe*, Dm – *Drosophila melanogaster*, At – *Arabidopsis thaliana*, Ce - *Caenorhabditis elegans*, Dr - *Danio rerio*, Mm – *Mus musculus*

**Интегральный показатель Score. Жирным шрифтом выделены значения, достоверно превышающие этот показатель для другого прокариотического таксона; курсивом – значения, различие для которых статистически недостоверно.

***Этот белок отсутствует в протеоме *Drosophila melanogaster*.

В таблице 2 представлены данные по белкам, являющимся наиболее важными компонентами когезинового комплекса. Ортологи сгруппированы (Rec11 и STAG3 ортологами не являются). Все изученные белки-когезины, как и структурные белки СК, явно тяготеют к бактериальным за двумя исключениями. Значения показателя Score, как и в случае с белками СК, очень близки.

Для контроля нами были исследованы рибосомные белки цитоплазмы (RPL19, RPL24) и митохондрий (MRPL1, MRPL10, MRPS10, MRPS14), которые распределились на две большие группы (Табл. 3). Цитоплазматические белки тяготеют к архейным, митохондриальные – к бактериальным, что соответствует принятым представлениям об их эволюционном происхождении [8-10].

Таблица 3. Сходство цитоплазматических и митохондриальных рибосомных белков эукариот с белками прокариот

Белок*	Объект**	Максимальное // среднее значения показателя сходства***		p
		Археи	Бактерии	
RPL19	Sc	119 // 111,3	35 // 33,1	<0,000000
RPL19	Sp	133 // 126,6	40 // 35,6	<0,000000
RPL19	Dm	142 // 136,8	38 // 35,2	<0,000000
RPL19	At	33 // 29,6	93 // 91,4	<0,000000
RPL19-3	At	130 // 127,9	39 // 33,8	<0,000000
RPL19-2	At	135 // 132,3	37 // 34,6	<0,000000
RPL19-1	At	131 // 127,2	36 // 35,1	<0,000000
RPL19 “	At	129 // 126,3	38 // 35,3	<0,000000
RPL19	Ce	148 // 143,9	36 // 33,9	<0,000000
RPL19	Dr	137 // 133,3	34 // 32,6	<0,000000
RPL19	Mm	135 // 130,7	35 // 33,6	<0,000000
RPL24	Sc	61 // 58,4	41 // 36,2	<0,000000
RPL24	Sp	60 // 55,6	39 // 37,3	<0,000000
RPL24	Dm	64 // 61,3	41 // 36,9	<0,000000
RPL24	At	55 // 50,1	38 // 35,4	<0,000000
RPL24	Ce	59 // 57,2	43 // 37,2	<0,000000
RPL24	Dr	60 // 57,5	41 // 36,6	<0,000000
RPL24	Mm	61 // 58,4	41 // 35,4	<0,000000
MRPL1	Sc	41 // 36,7	103 // 95,0	<0,000000
MRPL1	Sp	56 // 55,0	110 // 107,0	<0,000000
MRPL1	Dm	45 // 37,5	84 // 80,4	<0,000000
MRPL1	At	75 // 71,9	209 // 206,5	<0,000000
MRPL1	Ce	-****	-	-

MRPL1	Dr	41 // 33,4	73 // 68,6	<0,000000
MRPL1	Mm	48 // 33,6	77 // 72,8	<0,000000
MRPL10	Sc	36 // 31,2	114 // 111,4	<0,000000
MRPL10	Sp	32 // 30,6	107 // 104,2	<0,000000
MRPL10	Dm	36 // 30,0	68 // 59,6	<0,000000
MRPL10	At	52 // 43,6	106 // 100,6	<0,000000
MRPL10	Ce	-	-	-
MRPL10	Dr	33 // 31,1	71 // 68,1	<0,000000
MRPL10	Mm	31 // 30,0	75 // 67,4	<0,000000
MRPS14 (Mrp2p)	Sc	29 // 27,4	67 // 63,5	<0,000000
MRPS14	Sp	29 // 26,5	75 // 72,5	<0,000000
MRPS14	Dm	31 // 28,4	74 // 71,0	<0,000000
MRPS14	At	31 // 28,4	84 // 81,7	<0,000000
MRPS14	Ce	34 // 30,6	54 // 51,6	<0,000000
MRPS14	Dr	171 // 163,2	107 // 88,3	<0,000000
Similar to MRPS14	Dr	31 // 28,7	85 // 78,1	<0,000000
MRPS14	Mm	30 // 29,1	81 // 76,3	<0,000000
MRPS10	Sc	47 // 44,9	78 // 74,6	<0,000000
MRPS10	Sp	36 // 33,6	69 // 67,0	<0,000000
MRPS10	Dm	32 // 29,1	55 // 52,0	<0,000000
MRPS10	At	34 // 30,3	54 // 54,0	<0,000000
MRPS10	Ce	-	-	-
MRPS10	Dr	30 // 28,8	59 // 55,4	<0,000000
MRPS10	Mm	36 // 30,6	58 // 56,5	<0,000000

*Названия ортологов унифицированы

** Sc – *Saccharomyces cerevisiae*, Sp - *Schizosaccharomyces pombe*, Dm – *Drosophila melanogaster*, At – *Arabidopsis thaliana*, Ce - *Caenorhabditis elegans*, Dr - *Danio rerio*, Mm – *Mus musculus*

***Интегральный показатель Score

****Белок не найден в использованных базах данных

Различия Score для архей и бактерий высоко достоверны во всех случаях. Интересно, что значения Score сильно различаются как между группами белков, так и внутри групп в отличие от тенденции, наблюдаемой в табл. 1 и 2.

В каждой группе есть одно исключение. Что касается RPL19 арабидопсиса, то из пяти белков, аннотированных под этим названием в базах данных, только один уклоняется от общей тенденции. Либо это результат неправильной аннотации, либо действительно исключение, которое может объясняться горизонтальным переносом соответствующего гена из генома пластид. С белком MRPS14 рыбы *Danio rerio* дело обстоит интереснее. В аннотации к этому белку сказано, что он из семейства S11. Белок MRPS11 мыши явно бактериального происхождения (макс. значения Score составляют 50 и 90 для архей и бактерий соответственно). А вот MRPS11 *Danio rerio* тоже является архейным (соответствующие Score 119 и 48). Возможно, рыба действительно является исключением из общего правила.

Для сравнения уровня родства прокариотических и эукариотических белков мы изучили по той же методике, насколько сходны между собой некоторые белки мыши *Mus musculus* и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Для рибосомного белка RPL19 максимальное значение Score составляет 191 (при сравнении с пшеницей – также 191). Для когезина RAD21 показатель сходства составил 62. Таким образом, оба изученных белка мыши ближе к дрожжевым ортологам, чем к сходным белкам архей или бактерий, что кажется вполне

логичным. Для белка MRPL1 (митохондриального) максимальный Score равен 38, что близко к значениям в табл. 1 и 2.

Известно [1, 5], что у представителей разных крупных таксонов эукариот белки ЦП СК не имеют сходства по первичной структуре, но часто выполняют одинаковую функцию (например, SYCP1, Zip1, C(3)G). Несмотря на это обстоятельство, все структурные белки, принимающие участие в организации СК, у представителей разных таксономических групп эукариот оказались ближе к белкам бактерий, чем к белкам архей (Табл. 1). Та же тенденция наблюдалась и для белков когезинового комплекса.

Использованный нами метод показал свою пригодность при исследовании рибосомных белков, ибо в соответствии с принятыми теориями происхождения эукариот (теория симбиогенеза [8-10]) эти белки разделились на две группы. Что касается белков синаптонемного комплекса и когезинов, то наши данные, напротив, противоречат литературным. Так, японские исследователи [9, 10] показали, что «ядерные» гены, к которым были отнесены гены клеточного цикла, процессинга ДНК, транскрипции, синтеза белков, сборки белковых комплексов и эндоплазматического ретикулюма, имеют больше сходства с генами архей, а не бактерий. Однако пока никто не исследовал довольно специфическую группу структурных белков, а именно, белков синаптонемного комплекса и хромосомных осей. Возможно, эти важные белки были унаследованы эукариотами от бактерий.

Настоящая работа поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 15 «ПРОИСХОЖДЕНИЕ БИОСФЕРЫ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕО-БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ» (Подпрограмма 2 «Эволюция гео-биологических систем»).

Литература

1. Богданов Ю.Ф., Гришаева Т.М., Карпова О.И., Пенкина М.В. // Роль специфических белков в эволюции мейоза // Современные проблемы биологической эволюции: труды конференции. К 100-летию Государственного Дарвиновского музея. 17—20 сентября 2007, г. Москва. М.: Изд-во ГДМ, 2008. С. 7-30.
2. Eijpe M., Heyting C., Gross B., Jessberger R. // Association of mammalian SMC1 and SMC3 proteins with meiosis chromosomes and synaptonemal complexes // J. Cell Sci. 2000. V.113. P.673-682
3. Pelttary J., Hoja M.-R., Yuan L., Liu J.-G., Brundell E., Moens P., Santucci-Darmanin S., Jessberger R., Barbero J.L., Heyting C., Höög C. // A Meiotic Chromosomal Core Consisting of Cohesin Complex Proteins Recruits DNA Recombination Proteins and Promotes Synapsis in the Absence of an Axial Element in Mammalian Meiotic Cells // Mol. Cell. Biol. 2001. V.21. P.5667–5677.
4. Revenkova E., Jessberger R. Shaping meiotic prophase chromosomes: cohesins and synaptonemal complex proteins // Chromosoma. 2006. V. 115. # 3. P. 235-240.
5. Yu.F. Bogdanov, T.M. Grishaeva, S.Ya. Dadashev. Similarity of the domain structure of proteins as a basis for the evolutionarily conservation of meiosis // Int. Rev. Cytol. 2007. V. 257. P. 83-142.
6. Smolikov S., Eizinger A., Schild-Prufert K., Hurlburt A., McDonald K., Engebrecht J., Villeneuve A.M., Colaiácovo M.P. // SYP-3 restricts synaptonemal complex assembly to bridge paired chromosome axes during meiosis in *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 2007. V. 176. # 4. P. 2015-2025.
7. StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 7.0 (<http://www.statsoft.com>)
8. Gupta R.S. // Molecular sequences and the early history of life. In: Microbial phylogeny and evolution, ed. J. Sapp. Oxford Univ. Press, 2005. P. 160-183.

9. *Horiike T., Hamada K., Miyata D., Shinozawa T.* // The origin of eukaryotes is suggested as the symbiosis of pyrococcus into gamma-proteobacteria by phylogenetic tree based on gene content // *J. Mol. Evol.* 2004. V. 59. # 5. P. 606-619.
10. *Saruhashi S., Hamada K., Miyata D., Horiike T., Shinozawa T.* // Comprehensive analysis of the origin of eukaryotic genomes. *Genes Genet. Syst.* 2008. V. 83. # 4. P. 285-291.