

ПОИСК БЕЛКОВ, РОДСТВЕННЫХ БЕЛКАМ СИНАПТОНЕМНОГО КОМПЛЕКСА: НЕОЖИДААННЫЕ ПОБОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Гришаева Т.М.

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

г. Москва

grishaeva@vigg.ru

В ходе in silico поиска белков, сходных с известными белками синаптонемных комплексов (СК) семи видов эукариот от дрожжей до мыши, в протеомах споровиков, пластинчатых, моллюсков, иглокожих и полухордовых выявлены белки, показывающие сходство не только с белками поперечных фибрилл СК, но и со случайными наборами аминокислот, генерированными на их основе. С-концевые фрагменты этих крупных белков формируют альфа-спирали и сходны по этому параметру с белками поперечных фибрилл СК.

Принципиальным отличием хромосом в клетках, делящихся путем мейоза, от хромосом в соматическом митозе является формирование в мейозе синаптонемных комплексов. Синаптонемный комплекс (СК) – это белковая структура, формирующаяся в профазе I деления мейоза между синаптирующими гомологичными хромосомами у подавляющего большинства эукариот [1-4]. На основе осевых элементов хромосом, соединяющих сестринские хроматиды и состоящих в основном из когезиновых белков, в профазе I мейоза строятся латеральные элементы СК, которые затем соединяются в единую структуру с помощью застёжки-«молнии» из поперечных фибрилл, пронизывающих центральное пространство СК. В середине центрального пространства перекрывающиеся «головки» поперечных фибрилл формируют центральный элемент СК.

Структурные элементы синаптонемных комплексов состоят из мейоз-специфичных белков. Белки поперечных фибрилл СК (табл.) у разных организмов не гомологичны между собой, однако имеют сходную вторичную структуру и частично сходные домены. Их N- и C-концевые фрагменты являются глобулярными, а большая часть молекулы представляет собой протяжённую альфа-спираль (coiled-coil), которая позволяет этим белкам формировать палочковидные димерные структуры [1-5].

Белки центрального пространства синаптонемных комплексов (СК), их размеры и функциональные домены

Белки центрального пространства СК (длина молекулы)	Функциональные домены белков
Zip1 Sc* (875 а.к.)	SMC бактериальный, Smc, AAA_13
C(3)G Dm (744 а.к.)	2 бактериальных домена SMC (SMC_prok_B)
CORONA Dm (207 а.к.)	– (нет доменов)
SYP-1 Ce (489 а.к.)	Smc
SYP-2 Ce (213 а.к.)	–
SYP-3 Ce (224 а.к.)	SGNH_plant_lipase_like
SYP-4 Ce (605 а.к.)	–
ZYP1a At (871 а.к.)	2 бактериальных домена SMC
ZYP1b At (856 а.к.)	2 бактериальных домена SMC, PRK00409
SYCP1 Dr (537 а.к.)	SCP-1
SYCP1 Mm (993 а.к.)	SCP-1
SYCE1-like Dr (206 а.к.)	–
SYCE1 Mm (329 а.к.)	SMC бактериальный
SYCE2 Dr (187 а.к.)	–
SYCE2 Mm (177 а.к.)	–
SYCE3 Mm (88 а.к.)	–
TEX12 Af (135 а.к.)	–
TEX12 Mm (123 а.к.)	–

*Sc, Sp – дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, Dm – насекомое *Drosophila melanogaster*, At – растение *Arabidopsis thaliana*, Ce – нематода *Caenorhabditis elegans*, Dr, Af – рыбы *Danio rerio* и *Anoplopoma fimbria*, Mm – млекопитающее *Mus musculus*. Жирным шрифтом отмечены белки, формирующие поперечные фибриллы СК и имеющие сходную вторичную структуру.

Основной задачей данного исследования являлся поиск в протеомах разных групп эукариот белков, сходных с известными белками синаптонемных комплексов модельных видов эукариот. Частично результаты этой работы опубликованы [6-8]. В ходе исследования нами были получены нетипичные результаты, о которых мы расскажем в настоящем докладе.

Всего нами было исследовано компьютерными методами около 11 млн. белков из протеомов всех основных групп эукариот. Мы использовали тот вариант таксономии объектов исследования, который содержится в базе данных NCBI. Объектами для сравнения с указанными выше белками были белки синаптонемных комплексов (СК) семи модельных видов эукариот от дрожжей до мыши (часть их приведена в таблице).

Аминокислотные последовательности белков СК искали в базах данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) и UniProtKB/TrEMBL (<http://www.uniprot.org/uniprot/>). Функциональные домены этих белков определяли с помощью программы CDART (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi?>). В качестве контроля (для оценки степени сходства белков) использовали случайные аминокислотные последовательности, генерированные из оригинальных белков программой RandSeq (ExPASy Proteomics Server, <http://au.expasy.org/tools/randseq.htm>). С помощью программы NCBI Protein BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&BLAST_PROGRAMS=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&SHOW_DEFAULTS=on&LINK_LOC=blasthome#) вели поиск сходных последовательностей в протеомах основных групп эукариот. Некоторые таксоны, для которых в базе данных имелось малое количество белков, были объединены в группы.

Параметры поиска программы PROTEIN BLAST: Max. target sequences – 1000 или 5000, Expect threshold – 100, остальные – по умолчанию. Достоверность сходства характеризуется показателем E-value, означающим количество сходных белков, которые могут быть подобраны программой BLAST случайно. Показатель сходства Score (результат работы программы BLAST) учитывает 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. При анализе каждого белка СК сравнивали показатели сходства (Score) этого белка и его «случайного» аналога с белками из протеомов изучаемой группы эукариот. В случае близких показателей сходства для оригинального и «случайного» белков сравнивали средние значения их Score, для чего брали по 10 лучших результатов поиска. Сравнение проводили с помощью t-теста Стьюдента (t-test independent by variables) программы STATISTICA (STATISTICA software v.7, www.statsoft.com).

Значения Score зависят от длины молекулы, поэтому сравнивать эти показатели для белков разной величины не очень корректно. Однако сравнение их «по вертикали», т.е. для разных групп эукариот, вполне уместно. Кроме того, белки поперечных фибрилл СК, в основном, обладают сходными размерами.

При анализе сходства белков поперечных фибрилл синаптонемного комплекса (ПФ СК) с белками споровиков, пластинчатых, моллюсков, иглокожих и полухордовых нами обнаружены значимые показатели сходства не только для «оригинальных» белков, но и для полученных на их основе специальной программой случайных аминокислотных последовательностей, содержащих аминокислоты в тех же пропорциях, что и оригинальные белки, и имеющих ту же длину. Причём эти найденные белки были одинаковыми для «оригинальных» и «случайных» белков СК. Score для «случайных» (контрольных)

последовательностей обычно не превышает 40, а во многих случаях и 30. В указанных же группах эукариот максимальные показатели сходства доходили до 70 (например, в случае SYCP1 мыши). При этом максимальные значения Score для «оригинальных» белков из разных протеомов были невысоки, но достоверны: 70-77 для Zip1, 63-70 для C(3)G, 56-83 для ZYP1a, 53-70 для ZYP1b, 67-99 для SYCP1 мыши, 44-66 для SYCP1 рыбы и от 50 до 68 для белка SYP-1 нематоды. Значения E-value были достаточно высоки: например, для «оригинальных» белков пластинчатых они составляли от e^{-9} до e^{-18} , для «случайных» – от e^{-07} до e^{-12} .

Для того, чтобы выяснить природу данного феномена, мы провели доменный анализ белков из протеомов указанных групп, показавших высокое сходство с белками ПФ СК и их «случайными» аналогами, а также определили их вторичную структуру. Таких белков было немного, у моллюсков, полухордовых и иглокожих вообще по одному. Во всех протеомах эти белки отличались большой длиной (от 3906 а.к. у полухордовых до 7710 а.к. у пластинчатых). Сходством с белками СК обладали лишь С-концевые фрагменты этих белков. На них мы и сосредоточили своё внимание.

По доменному составу С-концевые фрагменты этих особых белков немного различались. Так, у моллюсков выявлены функциональные домены миозина 10 и GCC2-GCC3. У споривиков имеется домен Smc, отвечающий за клеточное деление и расхождение хромосом. У полухордовых найдены домены GCC2_GCC3 и Trichoplein, у иглокожих – Trichoplein, у пластинчатых – много разных доменов, в том числе два Trichoplein и домены миозина (рис. 1). Очень важными являются также домены SMC, структурирующие хроматин и рекрутирующие другие белки. Они присутствуют у некоторых белков СК (табл.).

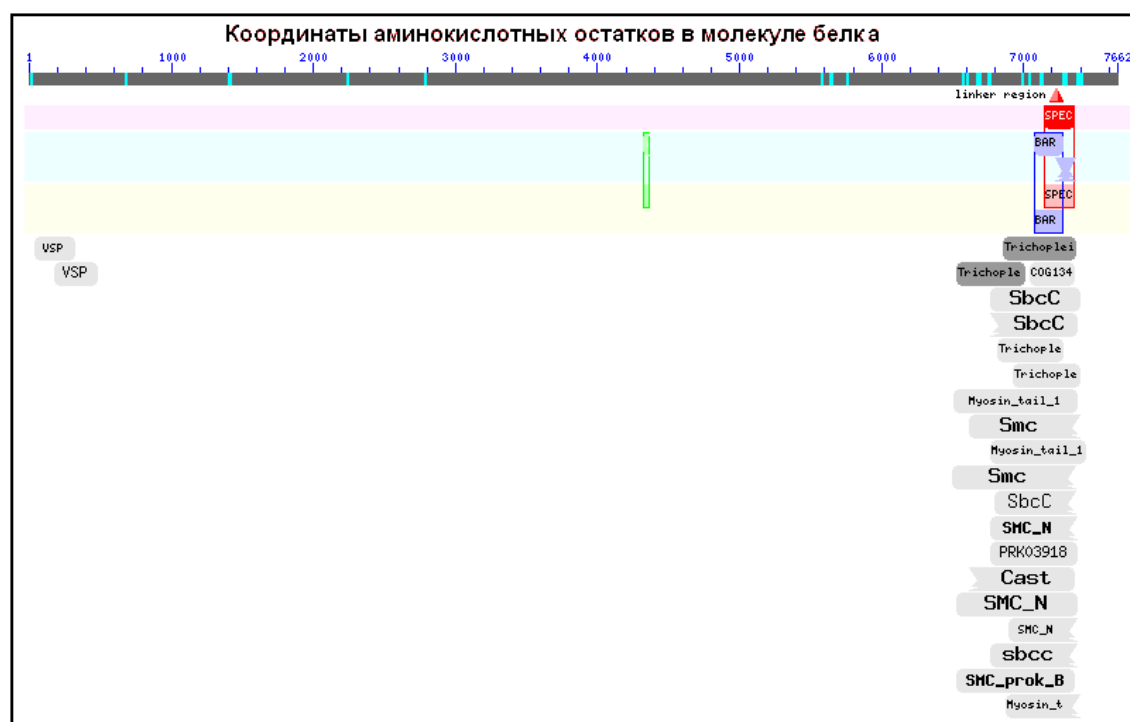


Рис.1. Доменная структура белка XP_002107637.1 *Trichoplax adhaerens*

Замечательным является то, что все эти домены (т.е. соответствующие участки белка) формируют выраженную альфа-спираль (рис. 2), как и белки поперечных фибрилл СК (рис. 3). Домен Trichoplein интересен ещё и тем, что в его аннотации присутствуют слова «мейоз-специфичный ядерный структурный белок».

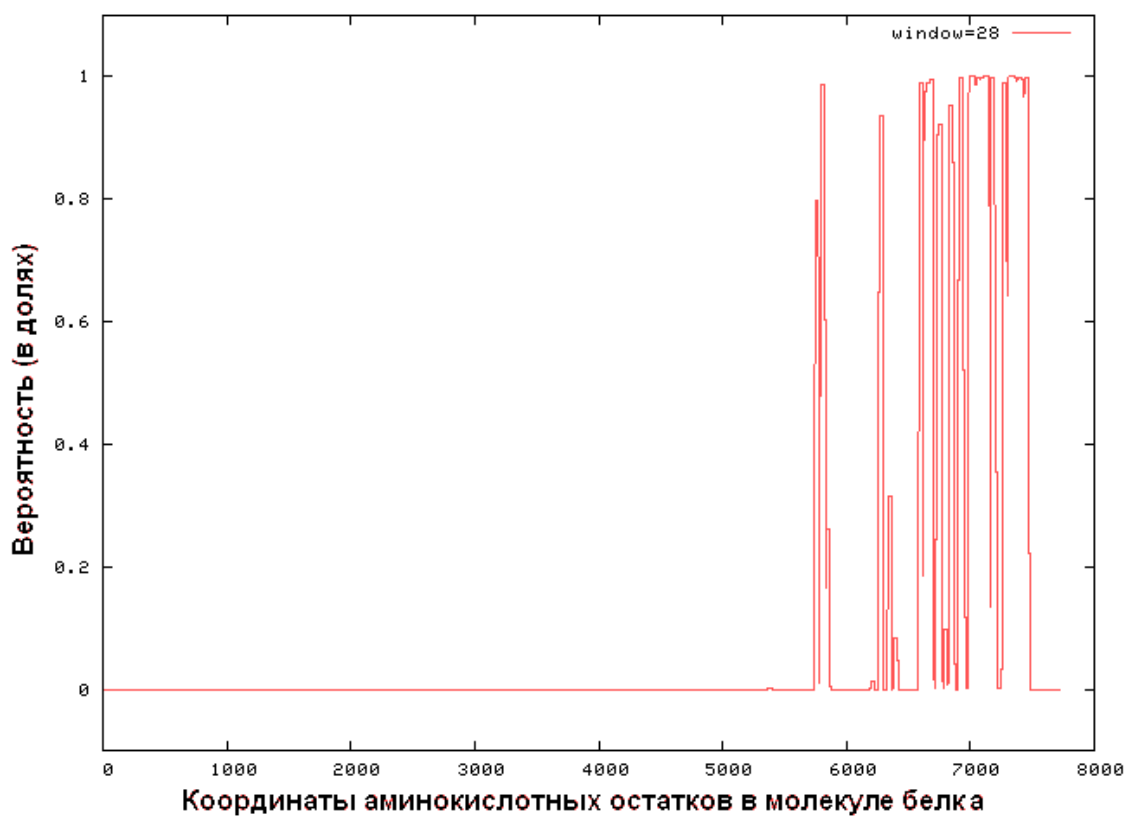


Рис.2. Вероятность формирования альфа-спиральной структуры молекулой белка XP_002107637.1 *Trichoplax adhaerens*

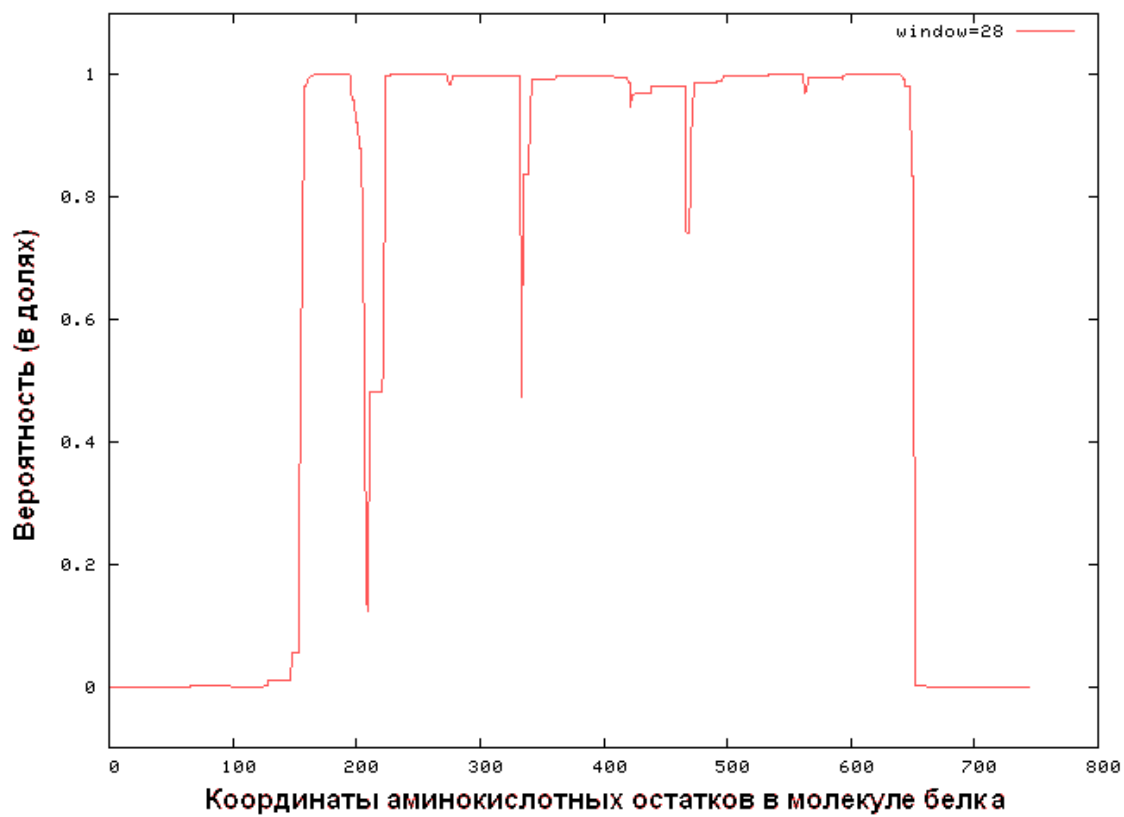


Рис.3. Вероятность формирования альфа-спиральной структуры молекулой белка C(3)G *Drosophila melanogaster*

Мы провели «обратный» BLAST для некоторых белков. Так, мы искали белки из протеомов мыши и дрозофилы, сходные с белками XP_002107637.1 и XP_002111687.1 пластинчатого *Trichoplax adhaerens*. За одним исключением, сходство с белками мыши и дрозофилы показали С-концевые фрагменты обоих белков. Первый белок сходен, в основном, с разными миозинами из обоих изученных протеомов. Второй белок также сходен с миозинами из протеома мыши, а в протеоме дрозофилы с ним сходны разные цитоплазматические линкерные белки и миозины. И миозины, и линкерные белки имеют в своём составе альфа-спиральные домены (наши данные).

В литературе ранее отмечалось, что белки ПФ СК при биоинформатическом анализе группируются с так называемыми интермедиатными белками, к которым относятся белки ядерной ламины и ядерного матрикса, полярного тельца веретена, тяжёлая цепь миозина и некоторые другие белки. Они образуют альфа-спиральную структуру, а все альфа-спирали имеют около 20% сходства между собой за счёт повторяющихся «реперных» гидрофобных аминокислот [9-11]. Это явление мы и наблюдаем в данном случае.

Почему же выявленные нами белки у некоторых групп эукариот сходны не только с белками поперечных фибрилл СК, но и со случайными наборами аминокислот, генерированными на основе «оригинальных» белков? Возможны два объяснения. (1) Сочетание аминокислот в «случайных» аналогах белков СК за счёт повторов, характерных для альфа-спиралей оригинальных белков, оказалось похожим на сами белки СК. (2) В процессе машинной сборки секвенированных геномов и соответствующих протеомов произошли сбои, и С-концевые фрагменты найденных нами белков, которых в протеомах совсем немного, на самом деле представляют собой белки поперечных фибрилл СК или какие-либо ещё интермедиатные белки. Эта гипотеза возникла потому, что альфа-спиральные белки имеются во многих протеомах, а наблюдаемый нами феномен выявлен только для считанных белков из некоторых протеомов эукариот.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №13-04-02071а.

Литература

1. *Heyting C.* Synaptonemal complex: structure and function // *Curr. Opin. Cell Biol.* 1996. V.8. P. 389-396.
2. *Пенкина М.В., Карпова О.И., Богданов Ю.Ф.* Белки синаптонемного комплекса – специфические белки мейотических хромосом // *Молекулярная биология.* 2002. Т.36. №3. С. 1-11.
3. *Page S.L., Hawley R.S.* The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2004. V.20. P. 525-558.
4. *Anuradha S., Muniyappa K.* Molecular aspects of meiotic chromosome synapsis and recombination // *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology.* 2005. V.79. P. 49-132.
5. *Bogdanov Y.F., Grishaeva T.M., Dadashev S.Y.* Similarity of the domain structure of proteins as a basis for the conservation of meiosis // *Intern. Rev. Cytol.* 2007. V.257. P. 83-142.
6. *Гришаева Т.М.* К вопросу об эволюции мейоза: как возникли белки синаптонемного комплекса эукариот? // *Актуальные проблемы современной науки 2012. Межвузовский сборник научных трудов с материалами 7-ой телеконференции.* Томск: ООО «Крокус», 2012. С. 55-57.
7. *Гришаева Т.М.* Поиск методами *in silico* белков, сходных с известными белками синаптонемного комплекса, в протеомах мхов, высших грибов и простых Metazoa // *Тезисы на конференции on-line «ИВТН-2012»* (http://www.ivtn.ru/2012/pdf/t12_29.pdf).
8. *Гришаева Т.М.* Поиск белков, родственных белкам синаптонемного комплекса, в протеомах разных групп эукариот от простейших до губок и червей // *Актуальные*

- проблемы современной науки 2013. Межвузовский сборник научных трудов с материалами X телеконференции. Т. II. № 1. Томск: ООО «Крокус», 2013. С. 77-79.
9. *Meuwissen R.L.J., Offenberg H.H., Dietrich A.J.J., Riesewijk A., van Iersel M., Heyting C.* A coiled-coil related protein specific for the synapsed regions of meiotic prophase chromosomes // *EMBO J.* 1992. V.11. P. 5091-5100.
 10. *Богданов Ю.Ф., Дадашев С.Я., Гришаева Т.М.* Сравнительная геномика и протеомика дрозофилы, нематоды Бреннера и арабидопсиса. Идентификация функционально сходных генов синапсиса мейотических хромосом // *Генетика.* 2002. Т.38. №8. С. 1078-1089.
 11. *Bogdanov Yu.F., Dadashev S.Ya., Grishaeva T.M.* *In silico* search for functionally similar proteins involved in meiosis and recombination in evolutionarily distant organisms // *In silico Biology.* 2003. V.3. #.1-2. P. 173-185.