
СРАВНЕНИЕ КОНСЕРВАТИВНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В МЕЙОТИЧЕСКОМ САЙЛЕНСИНГЕ ХРОМАТИНА, И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭТИХ ДАННЫХ В ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Гришаева Т.М.

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

Гришаева Т.М.
ФГБУН Институт общей
генетики им. Н.И.
Вавилова РАН

Сайленсинг хроматина, или подавление экспрессии генов, – это эпигенетический процесс регуляции генов. Сайленсинг может проходить как на уровне транскрипции, так и на посттранскрипционном уровне. Сайленсинг на уровне транскрипции происходит с помощью модификации гистонов, так что соответствующий участок ДНК становится недоступным для аппарата транскрипции. В процессе мейоза гены также могут выключаться с помощью метилирования ДНК – это другой путь сайленсинга. Механизмы сайленсинга генов могут быть частью эволюционно древней иммунной системы, защищающей от чужеродной ДНК.

В мейозе потребность в сайленсинге возникает прежде всего у видов с гетероморфными половыми хромосомами, которые по большей части остаются неспаренными. Чтобы клетка прошла контрольный пункт и не реагировала на неспаренную ДНК, чтобы не происходила транскрипция с этих участков ДНК, включается механизм сайленсинга. В нём участвуют разные белки. Этот процесс обнаружен в разных линиях развития эукариот: у грибов, червей, насекомых, птиц и млекопитающих. Механизм сайленсинга общий для всех, но детали процесса могут различаться.

Основной задачей данного исследования являлся анализ консервативности ключевых белков сайленсинга мейотического хроматина методами биоинформатики.

Всего компьютерными методами было исследовано 26 белков. Это ортологи SUMO1 (Small ubiquitin-related modifier 1 длиной около 100 а.к.), ATR (серин-треониновой протеинкиназы размером около 2600 а.к.) и гистона H2AX длиной 130-150 а.к., который метилируется для осуществления процесса сайленсинга. Проведено сравнение аминокислотных последовательностей ортологов этих белков у грибов *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, растения *Arabidopsis thaliana*, нематоды *Caenorhabditis elegans*, насекомого *Drosophila melanogaster*, рыбы *Danio rerio*, мыши *Mus musculus* и человека *Homo sapiens*. Гистон H2AX отсутствует в протеомах дрозофилы и дрожжей *S. pombe*. В этом случае мы сравнивали соответствующие белки других объектов (гистоны лягушки *Lithobates catesbeiana*, плоского червя *Schistocephalus solidus*, насекомого *Lygus hesperus*, амёбы *Dictyostelium fasciculatum*, гриба *Beauveria bassiana*).

Аминокислотные последовательности белков находили в базах данных UniProtKB/TrEMBL, NCBI и GeneCards. В ряде случаев эти базы данных противоречили друг другу, и мы исследовали несколько белков одного наименования.

Наличие консервативных функциональных доменов выявляли с помощью программы CDART, набор и последовательность консервативных аминокислотных мотивов – с помощью программы MEME. Для определения вторичной структуры использовали программу COILS, изоэлектрические точки белков (pI) выявляли с помощью Compute pI/Mw tool.

Вторичная структура, т.е. способность формировать альфа-спиральную конфигурацию, отсутствовала почти у всех изученных белков за исключением ATR арабидопсиса и дрозофилы.

Изоэлектрические точки ортологов двух белков находились в довольно узких интервалах. Так, белок SUMO1 оказался весьма кислым (pI от 4,62 до 5,34). Гистон H2AX, напротив, являлся щелочным (интервал pI от 9,83 до 10,83). Для ATR интервал значений pI был немного шире – от 6,62 до 8,54.

Таким образом, по этим двум параметрам белок ATR является менее консервативным, чем два других. Этот вывод подтвердился при изучении

функциональных доменов и консервативных аминокислотных мотивов этих белков.

У большинства изученных видов гистон H2AX имеет один большой домен из суперсемейства H2A. Немного видоизменён он у амёбы, плоского червя и насекомого. У гриба *Beauveria bassiana* имеется только фрагмент такого домена на С-конце белка. Видимо, гистон, аннотированный у этого вида как H2AX, таковым не является. Набор и последовательность консервативных мотивов оказались практически идентичными для всех видов, кроме гриба. Предыдущий вывод был подтверждён. Гистон H2AX оказался наиболее консервативным из трёх изученных белков. В базе данных GeneCards отмечено, что соответствующий ген присутствовал у предков всех эукариот.

Белок SUMO1, по данным сайта GeneCards, отсутствует у арабидопсиса, дрозофилы и дрожжей *S. pombe*. Однако в других базах данных белки для арабидопсиса и дрожжей присутствовали, и мы включили их в анализ. В молекулах этого белка найден один домен, занимающий почти всю молекулу. При этом у дрожжей *S. pombe* присутствовал другой домен, хотя и принадлежащий к этому же семейству. По набору консервативных мотивов все изученные белки оказались более сходными. Различались только N-концевые участки молекул. Таким образом, SUMO1 также является довольно консервативным белком.

Что касается белка ATR, то его ортологи различались уже на уровне функциональных доменов (разное количество доменов и разный их размер). Сходными в этом отношении оказались только представители позвоночных, а также дрозофила (4 домена). У арабидопсиса выявлено три из четырёх доменов, у нематоды и дрожжей – по одному, но они разные.

По набору и последовательности консервативных аминокислотных мотивов N-концевые фрагменты белков сходны только у позвоночных, средняя часть молекулы не имеет сходства, и лишь С-концевые мотивы присутствуют у всех изученных видов, хотя их набор слегка отличается. Этот белок является наименее консервативным из трёх изученных белков сайленсинга.

В заключение следует подчеркнуть практическую значимость полученных результатов. В нашей лаборатории, где проводятся иммуноцитохимические исследования на клетках млекопитающих, пресмыкающихся, растений и грибов, важно подобрать антитела, подходящие к разным объектам (видам), поскольку это дорогостоящие реактивы. Знание расположения и размеров консервативных мотивов помогает сделать этот выбор, потому что антитела подбираются на основе сходства аминокислотных последовательностей в белках-ортологах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-04-01447а.