СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* МЕЙОТИЧЕСКОГО КОГЕЗИНА REC8 И ЕГО МИТОТИЧЕСКОГО ГОМОЛОГА RAD21

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

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

Фундаментальной проблемой биоинформатики является соотношение структуры и функции биологических молекул. Хорошей моделью являются белки, выполняющие сходную функцию в разных биологических процессах у одного организма. В частности, важным процессом, предшествующим любому клеточному делению, является возникновение связи (когезии) между сестринскими хроматидами. Этот процесс происходит с участием специального типа белковых комплексов – когезинов. Часть когезинов является общей для митоза и мейоза. Другая часть митотических когезинов заменяется в мейозе сходными, но не идентичными белками. Так, SMC1 меняется на SMC1β, Rad21 на REC8, Rec11 на STAG3. Необходимо отметить, что мейотические когезины не замещают митотические в ходе мейоза, как считалось ранее, а сосуществуют в одних и тех же клетках. Мейотические когезины появляются именно для специфической связи когезинового комплекса с белками СК, в первую очередь, с белками латеральных элементов СК.

Мейотические когезины являются довольно консервативными белками, но высокое сходство существует лишь в районе домена Rec8/Rad21. Наличие этого домена позволяет предположить, что различие между белками Rad21 и Rec8 в пределах одного организма меньше, чем между одноименными белками у разных видов.

Для проверки этого предположения мы исследовали *in silico* следующие белки из группы Rec8: Rec8 дрожжей, Rec8-подобный белок мыши, REC8L1 человека, W02A2.6p нематоды *Caenorhabditis elegans* (названный REC-8 Pasierbek et al. [1], первый вариант белка Syn1/Dif1 арабидопсиса [2]. Кроме того, мы провели поиск гомолога мышиного Rec8 в протеоме рыбы *Danio rerio* и обнаружили 8 разных белков, из которых выбрали один, аннотированный как мейоз-специфичный когезин. Все эти белки для удобства помечены на рисунках как Rec8. Для сравнения были взяты представители из группы Rad21: известные белки мыши и дрожжей, Rad21-подобный белок человека, Rad21-1 вариант 1 арабидопсиса, аннотированный как Rad21 белок *D.rerio*, гипотетический белок нематоды, содержащий домен Rad21/Rec8. На первом этапе с помощью программы TreeTop – Phylogenetic Tree Prediction из пакета GeneBee (Институт физико-химической биологии МГУ) мы проанализировали пригонку двух групп аминокислотных последовательностей. Наибольшее сходство наблюдалось в начальном отрезке белков размером около 80 а.к. и на концевом отрезке немного меньшего размера. Интересно, что Rad21 оказался более консервативным, т.к. для него были выявлены некоторые общие мотивы. Для Rec8 общих мотивов не обнаружено. Программа CDART подтвердила полученные для Rad21 данные, выявив два домена Rad21/Rec8 – большего размера на N-конце белковой молекулы и небольшой – на C-конце. Выбранные нами из базы данных белки арабидопсиса и рыбы оказались полностью сходными по доменной организации с остальными белками из этой группы. Что касается белков Rec8, то все они также имели два этих домена за исключением белков нематоды и рыбы, у которых присутствовал лишь первый, больший домен Rad21/Rec8. Белок *D.rerio* аннотирован в базе данных NCBI именно как мейоз-специфичный когезин, а белок *C.elegans* выбран Pasierbek et al /2001/ из четырех сходных белков на основе экспериментальных данных. Мы со своей стороны попытались найти гомолог дрожжевого Rec8 в протеоме нематоды с помощью программы BLAST, однако не нашли ни одного кандидата.

Далее мы получили с помощью программы TreeTop филогенетические деревья как для целых молекул белков Rec8 и Rad21 (дерево1), так и отдельно для N-конца (200 а.к., дерево 2) и остальной части молекулы (дерево 3). На первом дереве все Rec8 группировались вместе, включая сомнительный белок рыбы. Rad21 также входили в одну группу, кроме белка арабидопсиса, сближенного с Rec8 нематоды (рис.1).

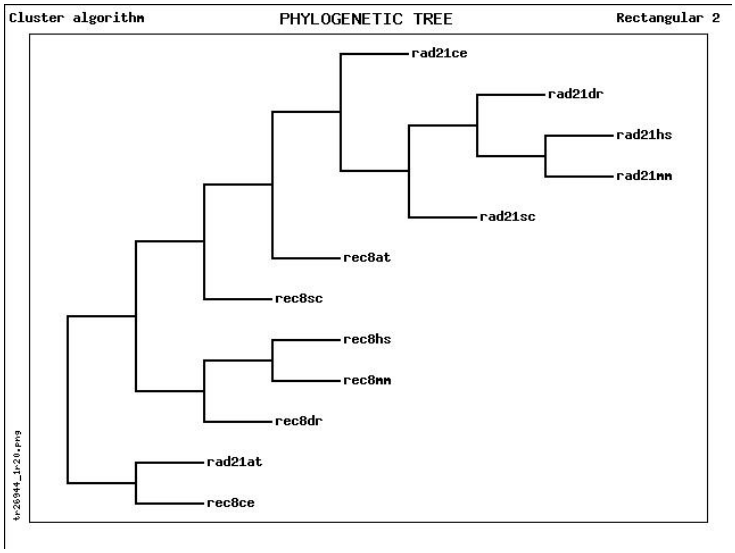

Рис.1. Филогенетическое древо, построенное для когезинов Rec8 и Rad21 у следующих видов: sc – Saccharomyces cerevisiae, ce – Caenorhabditis elegans, at – Arabidopsis thaliana, dr – Danio rerio, hs – Homo sapiens, mm – Mus musculus.

Дерево №2 показало бо̀льшую гомологию N-концевых доменов молекул, чем целых белков, так как даже Rad21 арабидопсиса группировался со своими гомологами. С-концевые части молекул оказались более дивергированными за счет Rad21 *A.thaliana*. Таким образом, можно сделать заключение, что белки Rad21 и Rec8 формируют два отдельных подсемейства, отличающихся как по основному домену, так и по остальной части молекулы. Это свидетельствует, по нашему мнению, о существенном различии функций этих белков.

Для того, чтобы понять, в чем особенность мейотических когезинов этой группы по сравнению с митотическими, мы с помощью программы MEME (Multiple EM for Motif Elicitation), проводящей поиск консенсусных последовательностей, проанализировали детальную структуру домена Rad21/Rec8 этих белков. Результат представлен на Рис.2.

Все белки Rad21 имели почти идентичное строение домена Rad21/Rec8. В группе белков Rec8 наблюдалось гораздо большее разнообразие. Обязательным для всех этих белков являлось наличие мотива №1. Различались же когезины Rad21 и Rec8 по порядку расположения мотивов 2,3,1.

Мы получили другую группу филогенетических деревьев, включив в анализ белок C(2)M, предположительно являющийся белком латерального элемента синаптонемного комплекса дрозофилы. Этот белок относится к семейству α-клейсинов, в которое входит и Rec8 /Heidmann et al, 2004/. Правда, авторы отмечают, что C(2)M - сильно дивергированный клейсин, по целому ряду признаков не выполняющий роль когезина. Наши исследования подтвердили эти данные, т.к. мы не обнаружили в составе этого белка известных консервативных доменов, а на филогенетических деревьях он не группировался ни с одним представителем семейства Rad21/Rec8.

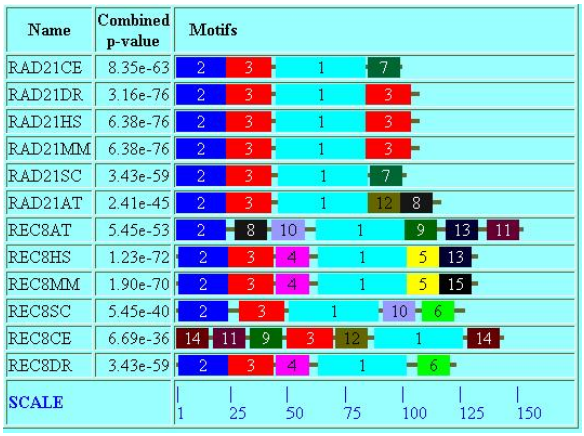

Рис.2. Консервативные мотивы в домене Rec8/Rad21 изученных когезинов. Обозначения как на рис.1.

Мы проанализировали также вторичную структуру REC8 и Rad21 у разных организмов, представляющих разные таксономические группы. В целом способность формировать альфа-спиральную конфигурацию на отдельных участках молекул этих белков у разных организмов сильно различалась. В пределах же одного организма вторичная структура Rec8 и Rad21 либо различалась (у арабидопсиса, рыбы *D. rerio*), либо была довольно сходной (у млекопитающих, нематоды, дрожжей).

Полученные результаты свидетельствуют о полифункциональности изученных белков-когезинов. Для успешной работы таких белков важно взаимодействие как с субстратом, что обеспечивает функциональный домен, так и с другими белками, за что могут отвечать (прямо или косвенно) участки альфа-спиральной конфигурации. Такая структура является особенностью сложных многофункциональных белков, принимающих участие в формировании мультипротеиновых комплексов типа когезинового. Выявленные нами различия митотического когезина Rad21 и его мейотического гомолога Rec8 могут свидетельствовать о специфичности субстрата и партнеров у этих двух групп белков.

Таким образом, нами на конкретном примере показаны принципы реорганизации доменной структуры белков при выполнении одной и той же функции в разных клеточных процессах у одного и того же организма.

Литература

1. *Pasierbek P., Jantsch M., Melcher M., Schleiffer A., Schweizer D.,Loidl J.* Meiotic chromosome pairing and disjunction cohesion protein with functions in *Caenorhabditis elegans* // Genes and Dev. 2001. V.15. P. 1349-1360.
2. *Caryl A.P., Jones G.H.,Franklin F.C.H.* Dissecting plant meiosis using *Arabidopsis thaliana* mutants // J. Exp. Bot. 2003. V.54. P.25-38.
3. *Heidmann D., Horn S., Heidmann S., Schleiffer A., Nasmyth K., Lehner C.F.* The *Drosophila* meiotic kleisin C(2)M functions before the meiotic divisions // Chromosoma. 2004. V.113. P.177-187.