

ВВЕДЕНИЕ В ИНФОРМАЦИОННУЮ БИОЛОГИЮ

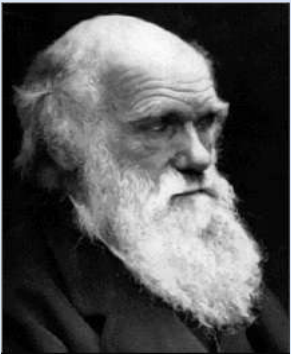
Н.А. Колчанов, С.А. Лашин

Электронно-лекционный курс
разработан в рамках реализации Программы развития НИУ-НГУ
2012 год

Лекция 2

Исследование механизмов адаптации организмов к различным условиям среды на молекулярном уровне

Дарвиновская идея естественного отбора

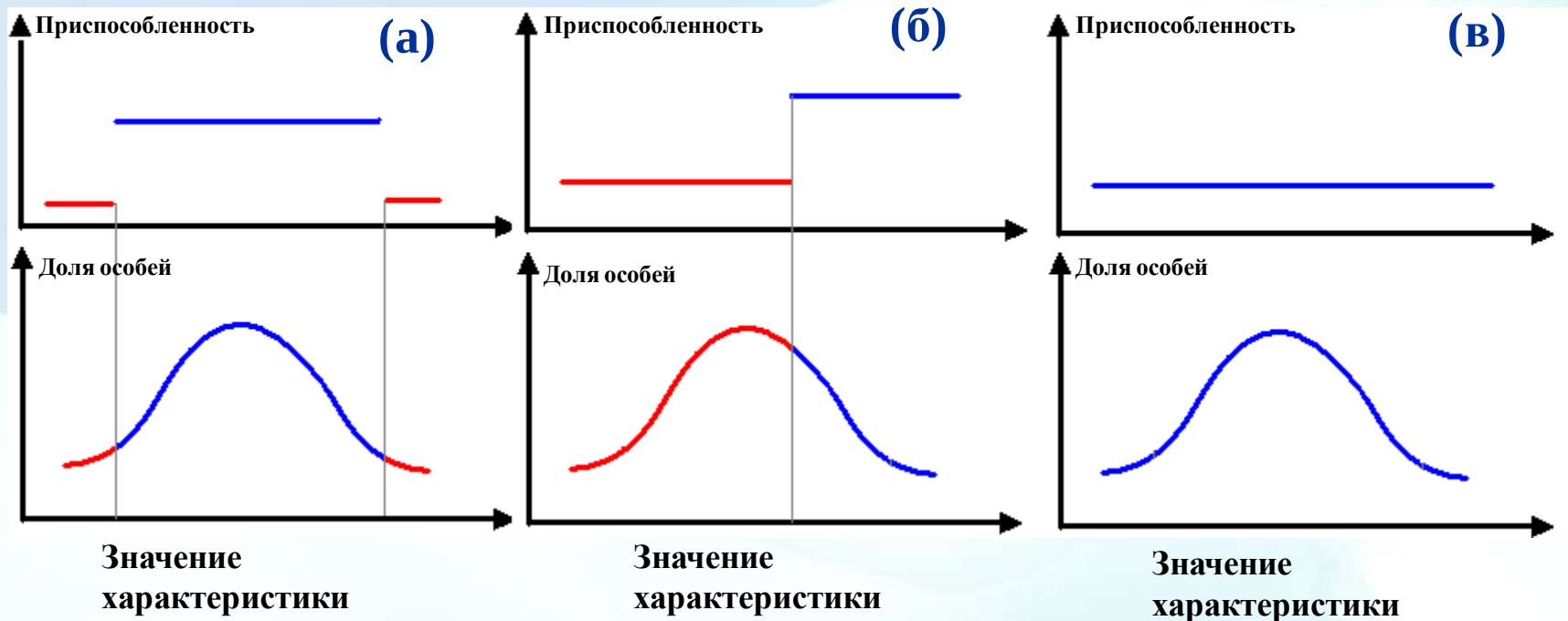


Три режима отбора:

(a) Стабилизирующий отбор (Purifying selection) ;

(b) Движущий (Дарвиновский) отбор (Positive selection);

(c) Нейтральная эволюция.





Отбор на уровне гена

Объекты: гены, белки и их последовательности

Изменчивость: нуклеотидные и аминокислотные замены

Интерпретация режимов отбора:

Стабилизирующий отбор

Ген (белок) функционально важен, мутации нарушают его структуру (функцию) и являются повреждающими, элиминируются в процессе эволюции.

Нейтральная эволюция

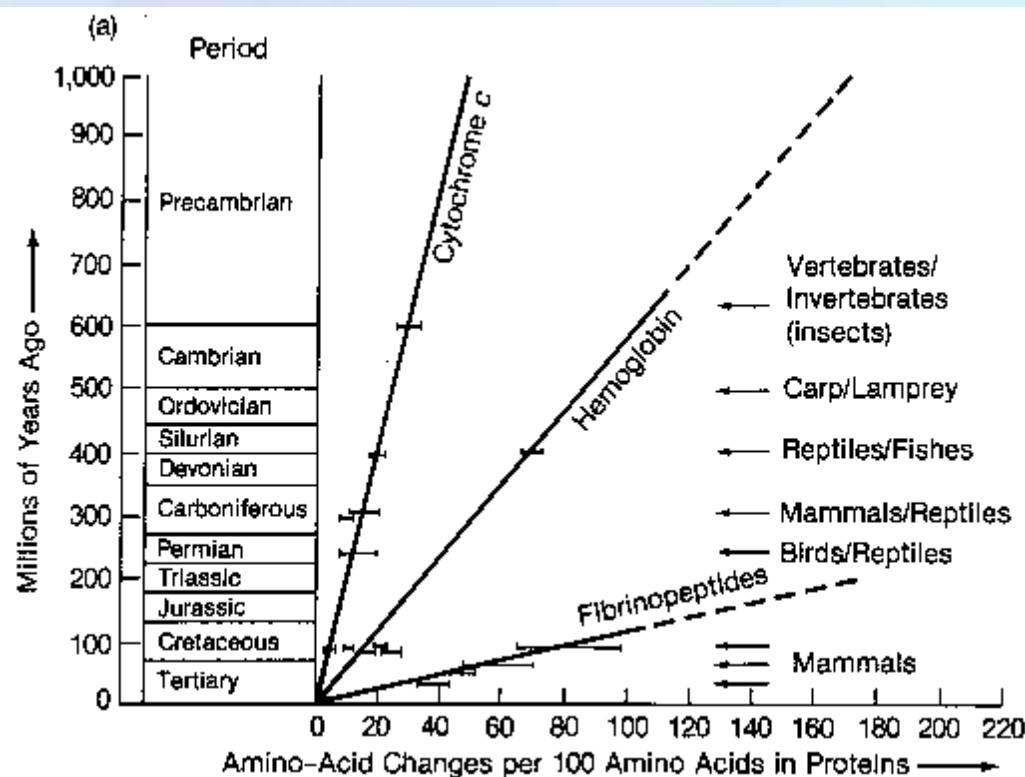
Ген (белок) функционально менее значим. Мутации, изменяющие структуру или функцию в основном нейтральны.

Движущий отбор

Ген или белок функционально важен. Некоторые мутации обладают селективным преимуществом. Они могут приводить к появлению новых функций у гена.



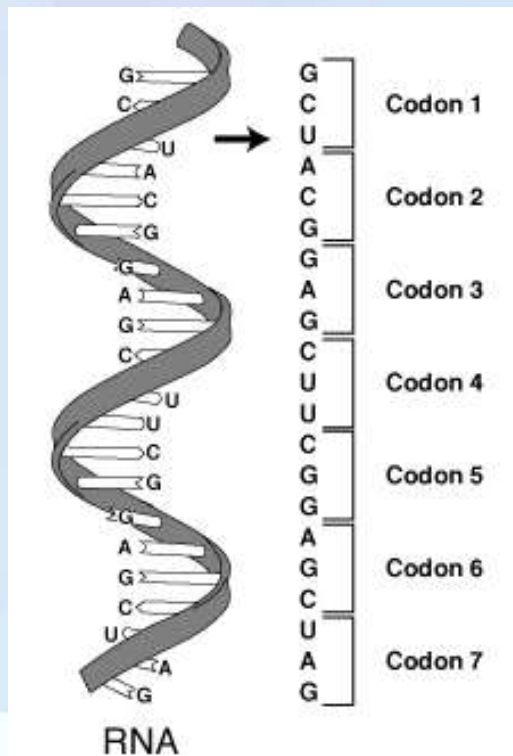
Сравнение скоростей накопления замен у разных белков (Кимура)



Замен аминокислот фиксируются примерно с постоянной скоростью. Скорость фиксации для разных белков может отличаться. Более важные белки изменяются с меньшей скоростью.

Picture from <http://nitro.biosci.arizona.edu/courses/EEB320/Lecture46/Lecture46.html>

Генетический код



Ribonucleic acid

Вторая позиция кодона					
Первая позиция кодона	U	C	A	G	Третья позиция кодона
	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly

Рисунок Darryl Leja

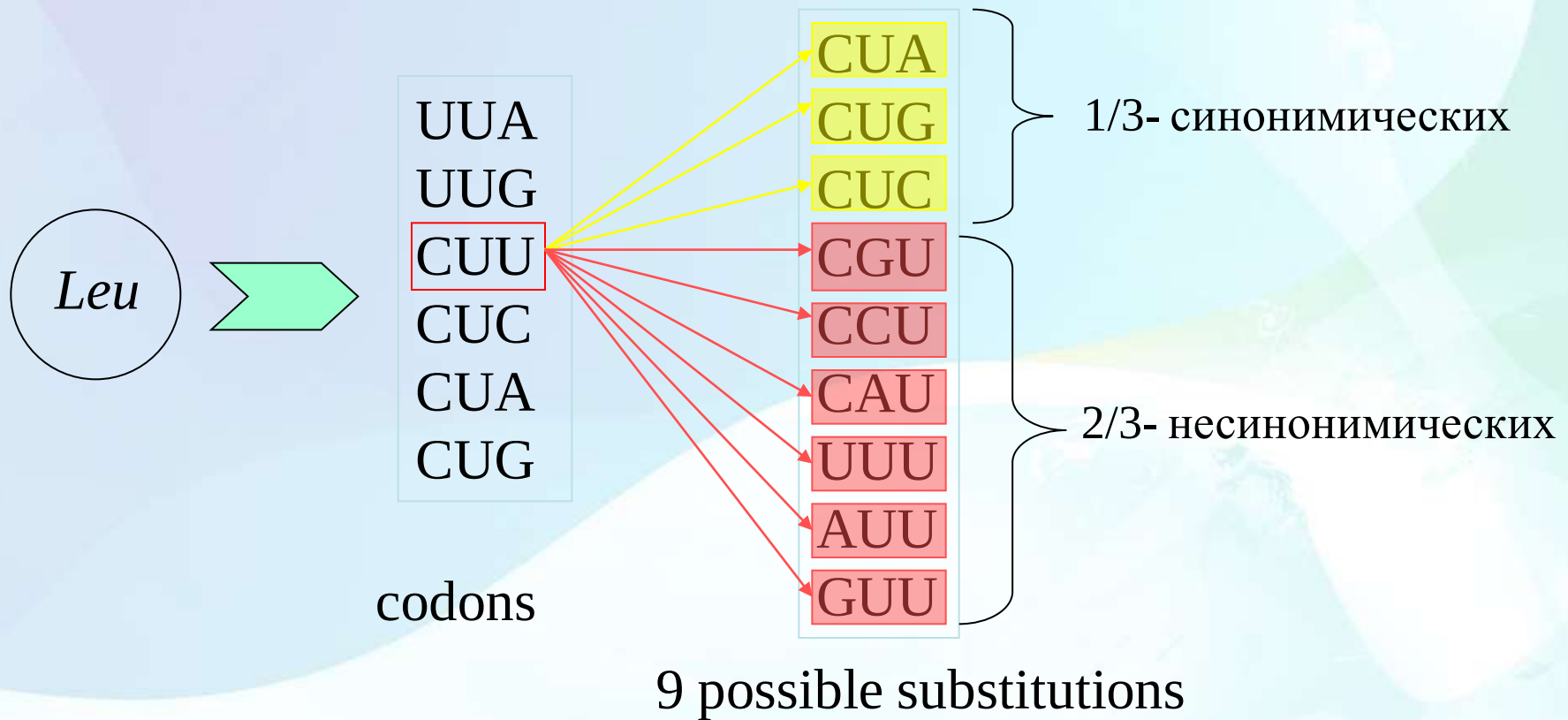
<http://www.accessexcellence.org/AB/GG/codon.html>

Рисунок из Молекулярная биология © 2000

Дымшиц Г.М.

<http://www.nsu.ru/education/biology/molbiol/>

Метод анализа: синонимические и несинонимические замены



Несинонимические замены считаются нейтральными, если отбор происходит на уровне структуры и функции белка.

Оценка скоростей синонимических и синонимических замен

Синонимические:

Sequence 1: AAU UUA GCU

Sequence 2: AAU UUG GCU

Amino acids : *Asn Leu Ala*

Несинонимические:

Sequence 1: AAU UUA GCU

Sequence 2: AAU UUU GCU

Amino acids : *Asn Leu Ala*
Phe

d_n и d_s обычно оцениваются на основе отношений наблюдаемых различий (S_d , N_d) ко всем возможным заменам в кодонах (S , N).

Как определить положительный отбор?

- d_n – скорость несинонимических замен
$$\frac{\text{Число несинонимических замен}}{\text{число кодонов с заменами а.к.}}$$
- d_s – скорость синонимических замен
$$\frac{\text{Число синонимических замен}}{\text{Число кодонов без замен а.к.}}$$
- $\omega = d_n/d_s > 1$ – положительный отбор

Определение режима эволюции: ω - отношение

$$\omega = d_n / d_s$$

- $\omega = 1$: нейтральная эволюция
- $\omega < 1$: стабилизирующий отбор
- $\omega > 1$: движущий отбор

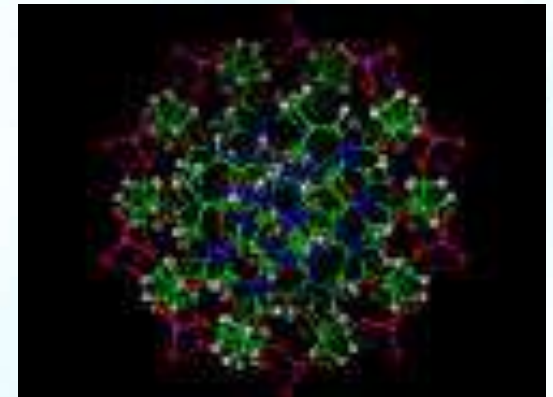
Сравнение скоростей синонимических/несинонимических замен

Оценки скоростей нуклеотидных замен на 1 позицию на 1000 млн. Лет при сравнении некоторых белков человека и грызунов (время дивергенции ~80 млн.лет согласно ископаемым)

Ген	Число КОДОНОВ	К(несин.)	К(син.)
histone 3	135	0.00	6.38
actin beta	349	0.03	3.13
myoglobin	153	0.56	4.44
In-gamma	136	2.79	8.59



Сравнительная эволюция белков в геномах мыши, шимпанзе и человека



Inferring Nonneutral Evolution from Human-Chimp-Mouse Orthologous Gene Trios

Andrew G. Clark,¹ Stephen Glanowski,³ Rasmus Nielsen,²
Paul D. Thomas,⁴ Anish Kejariwal,⁴ Melissa A. Todd,²
David M. Tanenbaum,⁵ Daniel Civello,⁶ Fu Lu,⁵ Brian Murphy,³
Steve Ferriera,³ Gary Wang,³ Xianqun Zheng,⁵
Thomas J. White,⁶ John J. Sninsky,⁶ Mark D. Adams,^{5*}
Michele Cargill^{6†}

1960

12 DECEMBER 2003 VOL 302 SCIENCE

7645 генов шимпанзе сравнивались с ортологами мыши и человека
Использовалась программа PAML (подпрограмма codeml)

Проверялись две модели эволюции:

- M1 Замены на ветке к человеку являются нейтральными. (отвергнута для 1216 генов (15.9%) при $p < 0.05$)
- M2 Замены в линии человека либо нейтральны, либо дестабилизирующие (альтернатива – наличие адаптивных замен) (отвергнута для 667 генов (8.7%) при $p < 0.05$)

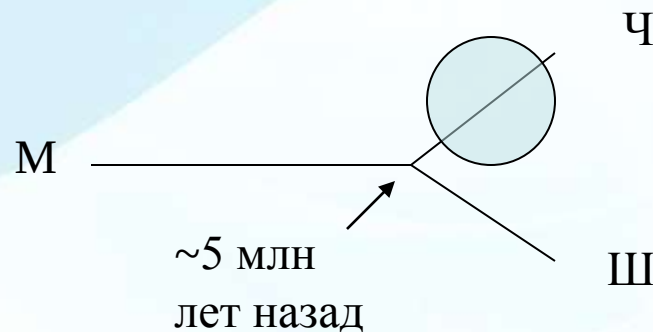


Table 1. Biological processes showing the strongest evidence for positive selection. The top panel includes the categories showing the greatest acceleration in human lineage, and the bottom panel includes categories with the greatest acceleration in the chimp lineage.

Biological process	Number of genes*	P_{MW} (human/Model 2)*	P_{MW} (chimp/Model 2)*
<i>Categories showing the greatest acceleration in human lineage</i>			
Olfaction	48	0	0.9184
Sensory perception	146 (98)	0 (0.026)	0.9691 (0.9079)
Cell surface receptor-mediated signal transduction	505 (464)	0 (0.0386)	0.199 (0.0864)
Chemosensory perception	54 (6)	0 (0.1157)	0.9365 (0.7289)
Nuclear transport	26	0.0003	0.2001
G-protein-mediated signaling	252 (211)	0.0003 (0.1205)	0.2526 (0.0773)
Signal transduction	1030 (989)	0.0004 (0.0255)	0.0276 (0.0092)
Cell adhesion	132	0.0136	0.3718
Ion transport	237	0.0247	0.8025
Intracellular protein traffic	278	0.0257	0.8099
Transport	391	0.0326	0.7199
Metabolism of cyclic nucleotides	20	0.0408	0.1324
Amino acid metabolism	78	0.0454	0.0075
Cation transport	179	0.0458	0.8486
Developmental processes	542	0.0493	0.2322
Hearing	21	0.0494	0.9634
<i>Categories with the greatest acceleration in the chimp lineage</i>			
Signal transduction	1030 (989)	0.0004 (0.0255)	0.0276 (0.0092)
Amino acid metabolism	78	0.0454	0.0075
Amino acid transport	23	0.1015	0.0102
Cell proliferation and differentiation	82	0.3116	0.0182
Cell structure	174	0.2633	0.0233
Oncogenesis	201	0.3132	0.0267
Cell structure and motility	239	0.2208	0.0299
Purine metabolism	35	0.9127	0.0423
Skeletal development	44	0.2876	0.0438
Mesoderm development	168	0.5813	0.0439
Other oncogenesis	39	0.2777	0.0469
DNA repair	49	0.9363	0.0477

*The number of genes and the P_{MW} values excluding olfactory receptor genes are shown in parentheses.



Обоняние



- Обоняние определяется рецепторами обоняния (olfactory receptors OR)
- Для человека характерно быстрое образование псевдогенов для этих рецепторов, потеря их функции. Этот процесс представляется как быстрое накопление несинонимичных замен.

- Гены, вовлеченные в метаболизм аминокислот так же эволюционировали адаптивно
- Причина – разница в питании, в частности человек привык есть мясо (белки)



Гены развития человека

- Два основных класса этих генов:

- Развитие скелета
- Нейрогенез (развитие интеллекта)



- Часть генов связаны с развитием беременности

- Progesterone receptor (PGR)



Речь и слух

- Некоторые гены в этих системах у человека эволюционировали адаптивно

–Forkhead-box P2 transcriptions factor, which is involved in speech development

–Alpha tectorin, protein plays major role in the tectorial membrane of the inner ear



- Что делает нас людьми (по сравнению с обезьянами)?
- Слабее различать запахи
- Способность расщеплять аминокислоты (есть мясо)
- Способность слышать
- Продвинутый нейрогенез

***Исследование молекулярной
эволюции микроорганизмов в связи
с процессами их адаптации к
условиям повышенных давлений.***

Гунбин К.В., Суслов В.В., Афонников Д.А. «Химия и жизнь», март 2010, с. 38.

Микроорганизмы – обитатели экстремальных экосистем



Высокие температуры



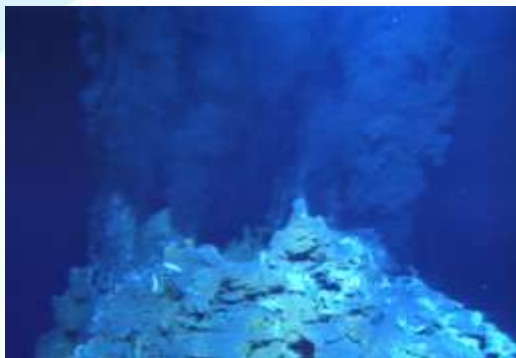
Низкие температуры



Экстремальные значения pH



Низкое давление



Высокое давление



Другие планеты ?

Глубоководные гидротермальные источники: высокая температура, высокое давление



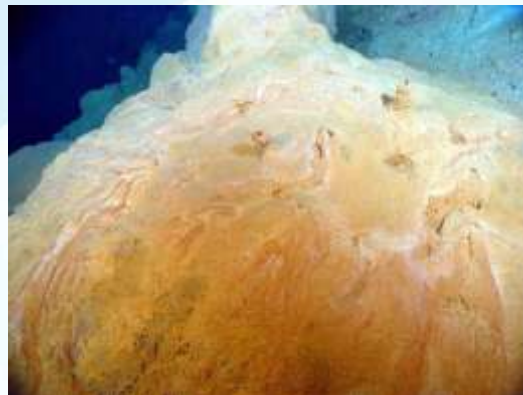
Черные курильщики



**Богаты минеральными
солями
(Cu, Fe, Mn, Zn, S, Si)**



Белые курильщики



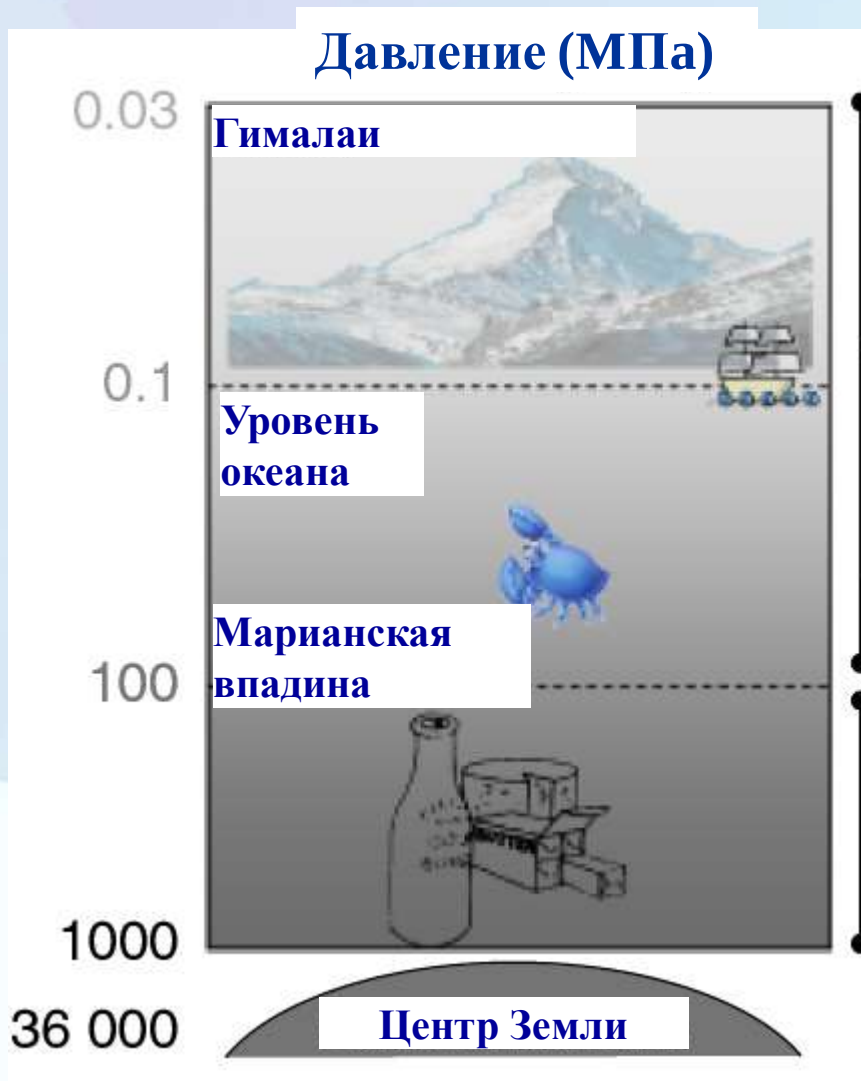
**Заселены крайне
мутуалистическими
сообществами**

**Температура: 300-
400°C, давление 500
атм, pH ~2-3.
Отсутствие света**

**Возможные места
происхождения жизни
(Daniel et al,
Chem.Soc.Rev., 2006)**

**“сокровищницы
инноваций для
биотехнологической
индустрии” (Bull et al.,
Mol. Microbiol. Rev.,
2000)**

Давление – важный фактор окружающей среды



Атмосферное давление 1 атм. ~ 0.1 МПа

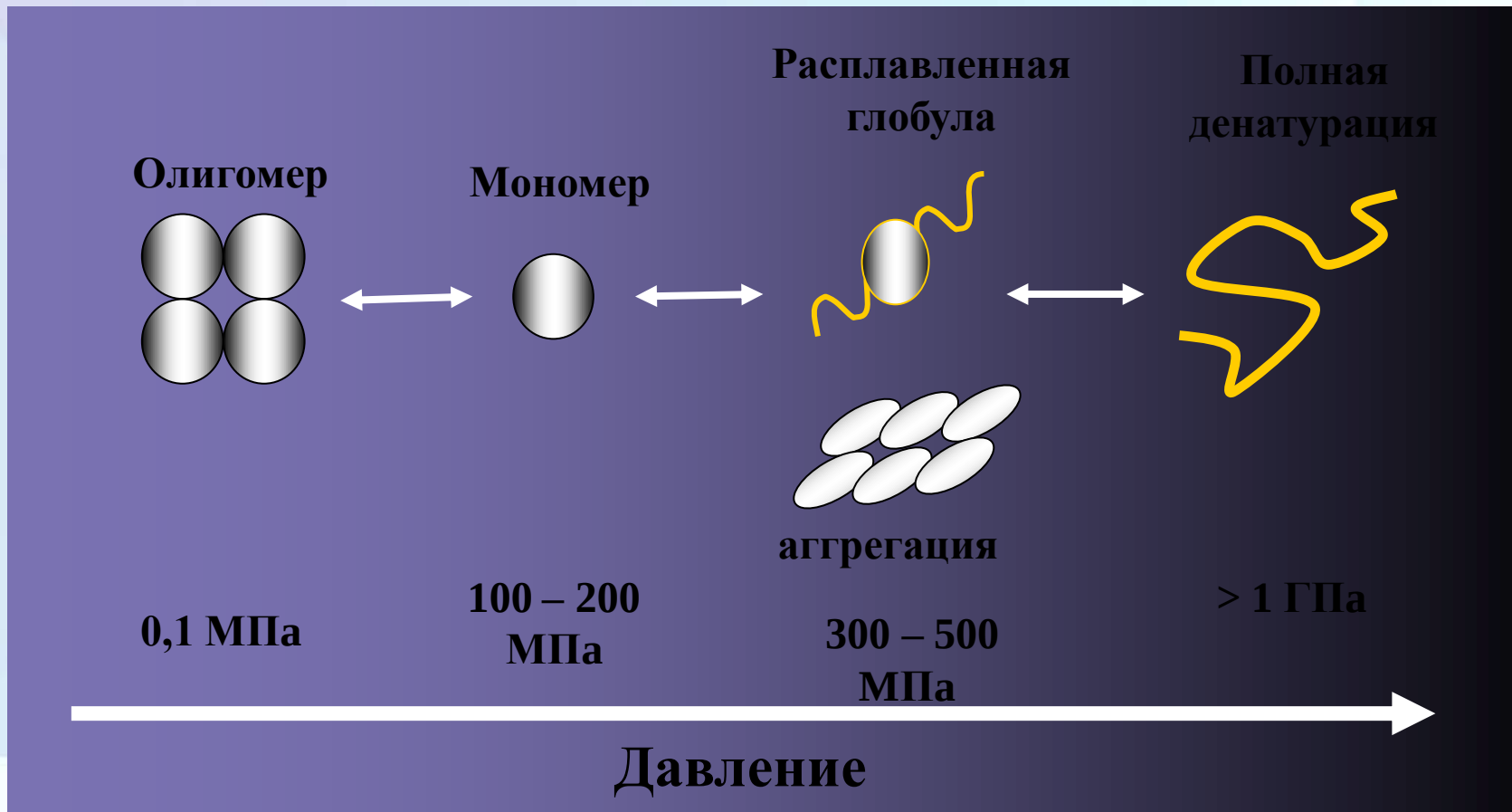
Давление в океане возрастает на 1 атм каждые 10 м (3 МПа на 1 км)

В глубочайшей точке океана (11 км – Марианская впадина) давление достигает 110 МПа

В литосфере давление возрастает на 10 МПа на 1 км

Высокое давление убивает микробов и является эффективным способом пастеризации продуктов

Стабильность белков и их комплексов при различных давлениях



Считается, что основной фактор дестабилизации белка при повышенном давлении – проникновение молекул воды в гидрофобное ядро белка через поры.

Влияние давления на физиологию микроорганизмов

Эффект повышенного давления на физиологию дрожжей, которые считаются пьезотолерантными (Daniel et al, 2006)

0.1 – 50 Мпа : Нарушение роста, метаболизма, поглощения аминокислот. Реакция стрессового ответа.

50 Мпа: Ингибирование ферментации этанола. Повышение кислотности внутри клетки. Реакция стрессового ответа.

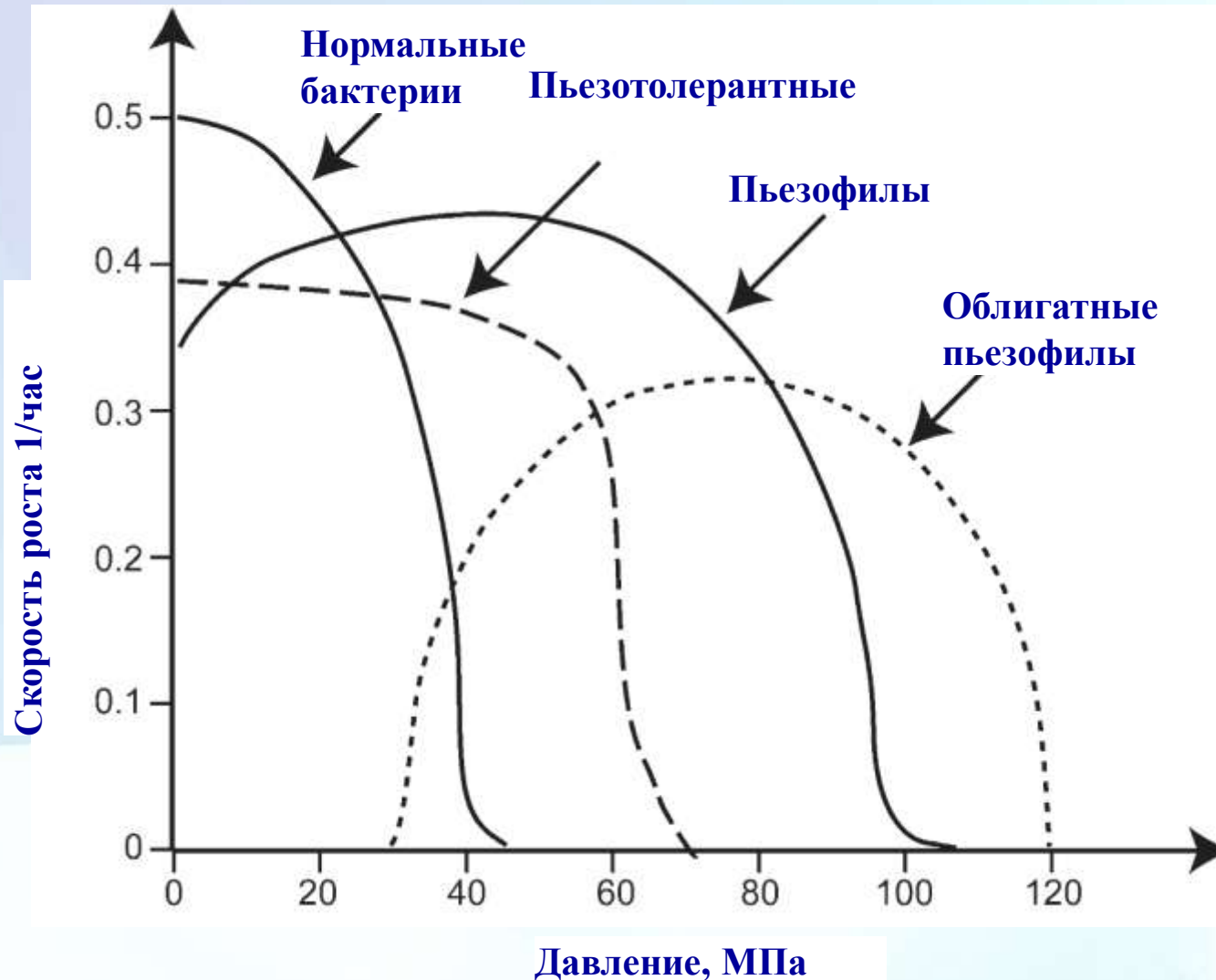
100 Мпа: Уменьшение жизнеспособности. Нарушение структуры мембран и клеточной стенки. Порог устойчивости к давлениям.

200 Мпа: Сокращение и нарушение целостности клеток. Нарушение упаковки ДНК. Реакция стрессового ответа.

Эффект повышенного давления на физиологию E. coli (Welch et al, 1993), ~ 500 МПа

Нарушение процессов деления, структуры нуклеоида, уменьшение синтеза белка. Синтез белков теплового и холодового шока (со значительной задержкой времени, по сравнению с температурным воздействием). Нарушение функции рибосом.

Классификация организмов по их способности выдерживать высокие давления



Изучение механизмов адаптации микроорганизмов к повышенным давлением методами биоинформатики

Геномный уровень

(1) Анализ потерь генов

(2) Поиск и анализ генов, подверженных движущему отбору

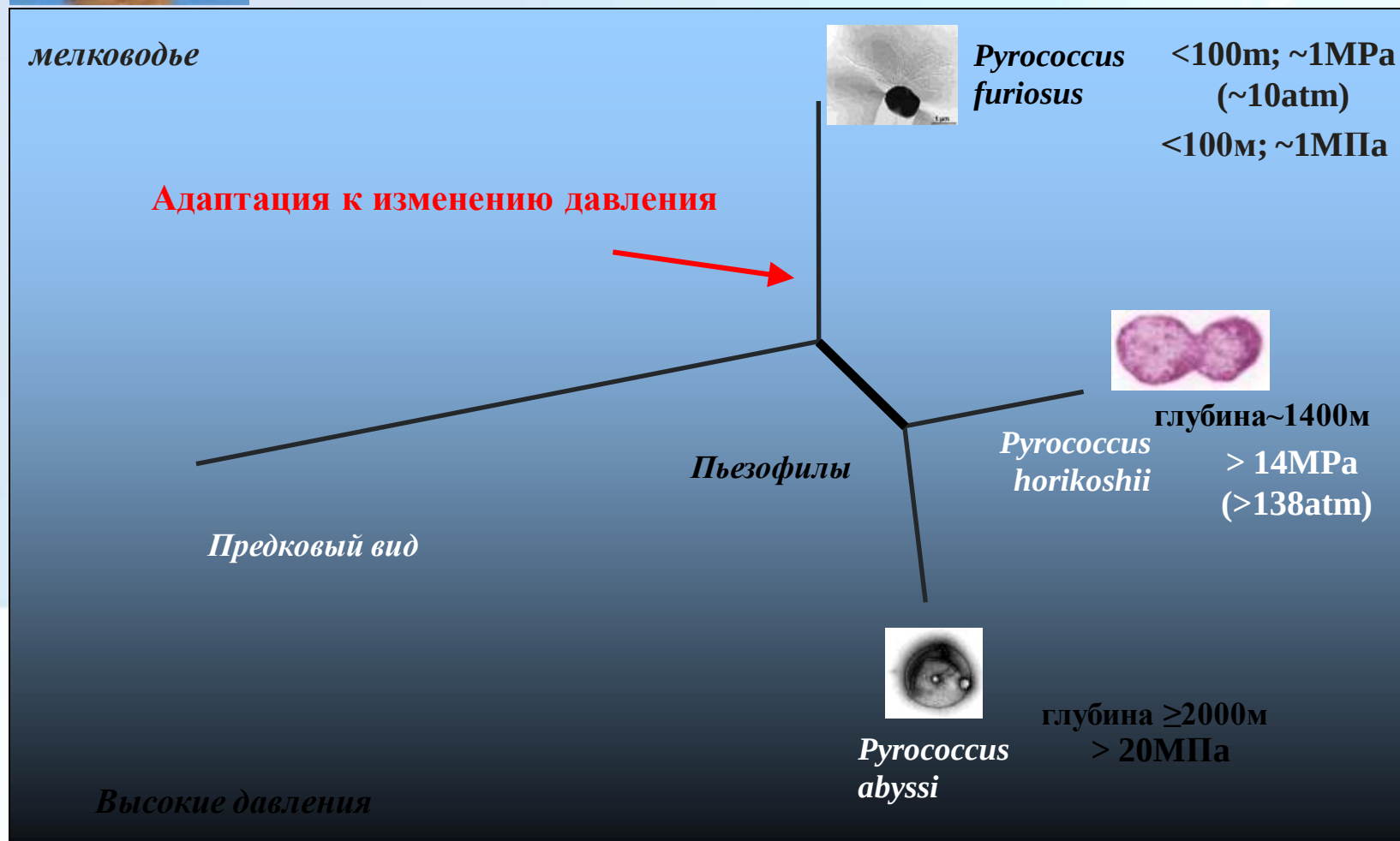
Уровень молекулярных структур

**Изучение влияния давления на структуру белка
методами молекулярной динамики**

Пирококки – археи-гипертермофилы, обитающие в океанских гидротермах



Геномы этих организмов полностью секвенированы



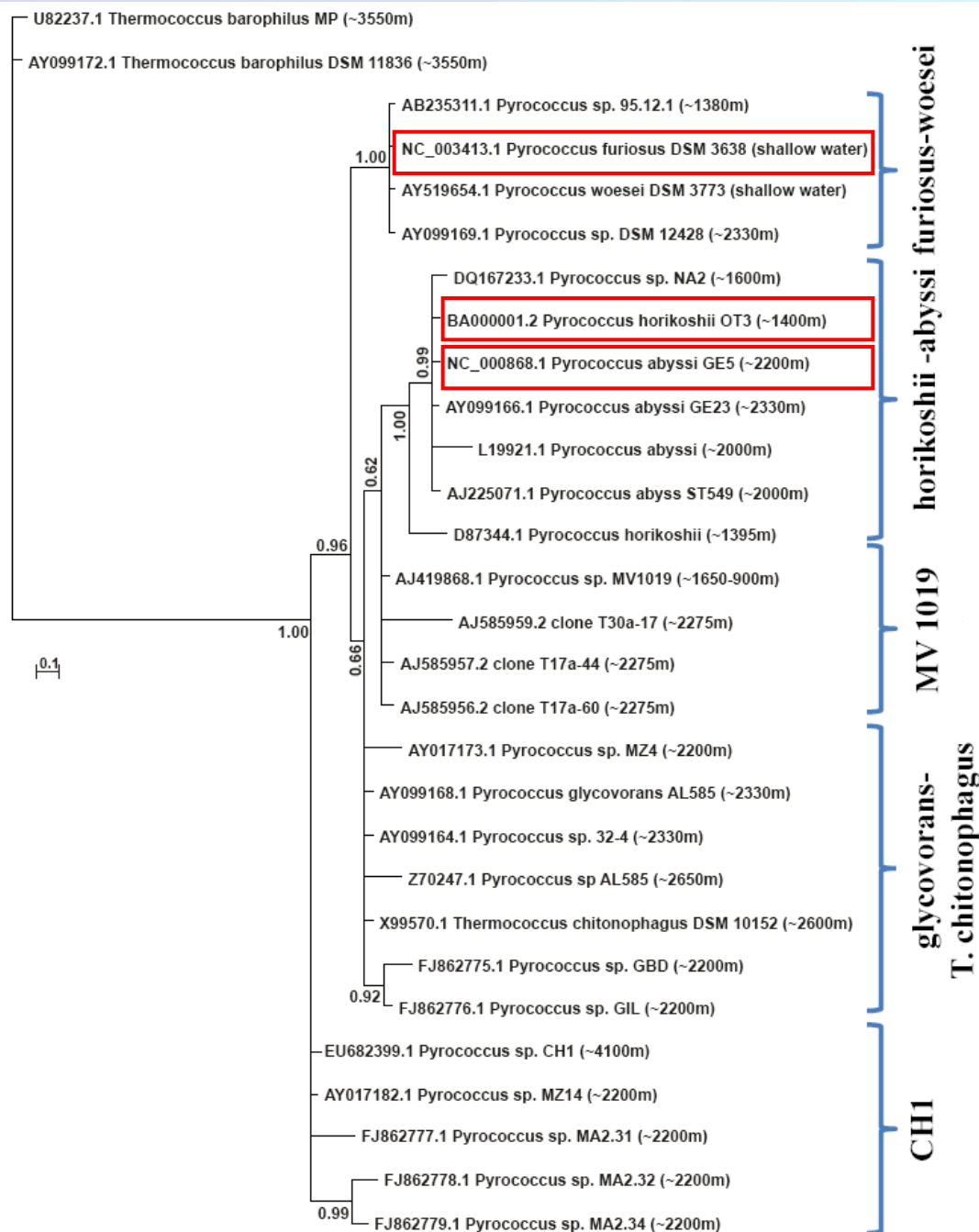
Физиологические особенности пироккокков и условий их среды обитания

	<i>P. furiosus</i>	<i>P. abyssi</i>	<i>P. horikoshii</i>
Глубина местообитания	0	2000	1395
Время удвоения числа клеток (мин)	37	33	32
Оптимум давления (МПа)	11	21	1
Интервал давлений (МПа)	<0,1-25	<0,1-40	<0,1-35
Температурный оптимум (°C)	100	96	98
Интервал температур (°C)	70-103	67-102	<80-102
Оптимальная соленость NaCl (%)	2	3	2,4
Интервал концентраций соли (%)	0,5-5	0,7-5	1-5
Оптимум pH	7	6,8	7
Интервал pH	5-9	4-8,5	5-8
Источники углерода и энергии			
Комплексные субстраты (пептоны, дрожжевые экстракты и т.д.), полная смесь аминокислот	рост	рост	рост
Мальтоза, пируват	рост	рост	гибель
Казаминовые кислоты	слабый рост	рост	гибель
β-глюкозиды (ламинарин, целлобиоза)	рост	гибель	гибель
Иные требования к среде			
S ⁰	требуется для роста	усиливает рост	усиливает рост
Триптофан	не нужен	не нужен	необходим
Особенности генома			
Длина хромосомы (нп)	1,908,256	1,765,118	1,738,505
G + C состав (%)	40,8	44,7	41,9
Опероны синтеза аминокислот Val-Leu-Phe, trp, синтеза ароматич. аминокислот, транспорта мальтозы и поглощения фосфатов [5; 14]	есть	есть	нет
Гены хемотаксиса [5; 14]	нет	есть	есть

Высокое давление влияет на структуру и функцию молекулярных комплексов

Метаболизм

Изменение давлений среды в ходе эволюции пироккокков



Сравнение последовательностей 16 рДНК (Genbank, rel. 171 Greengenes database, May 2009 (DeSantis et al, 2006))

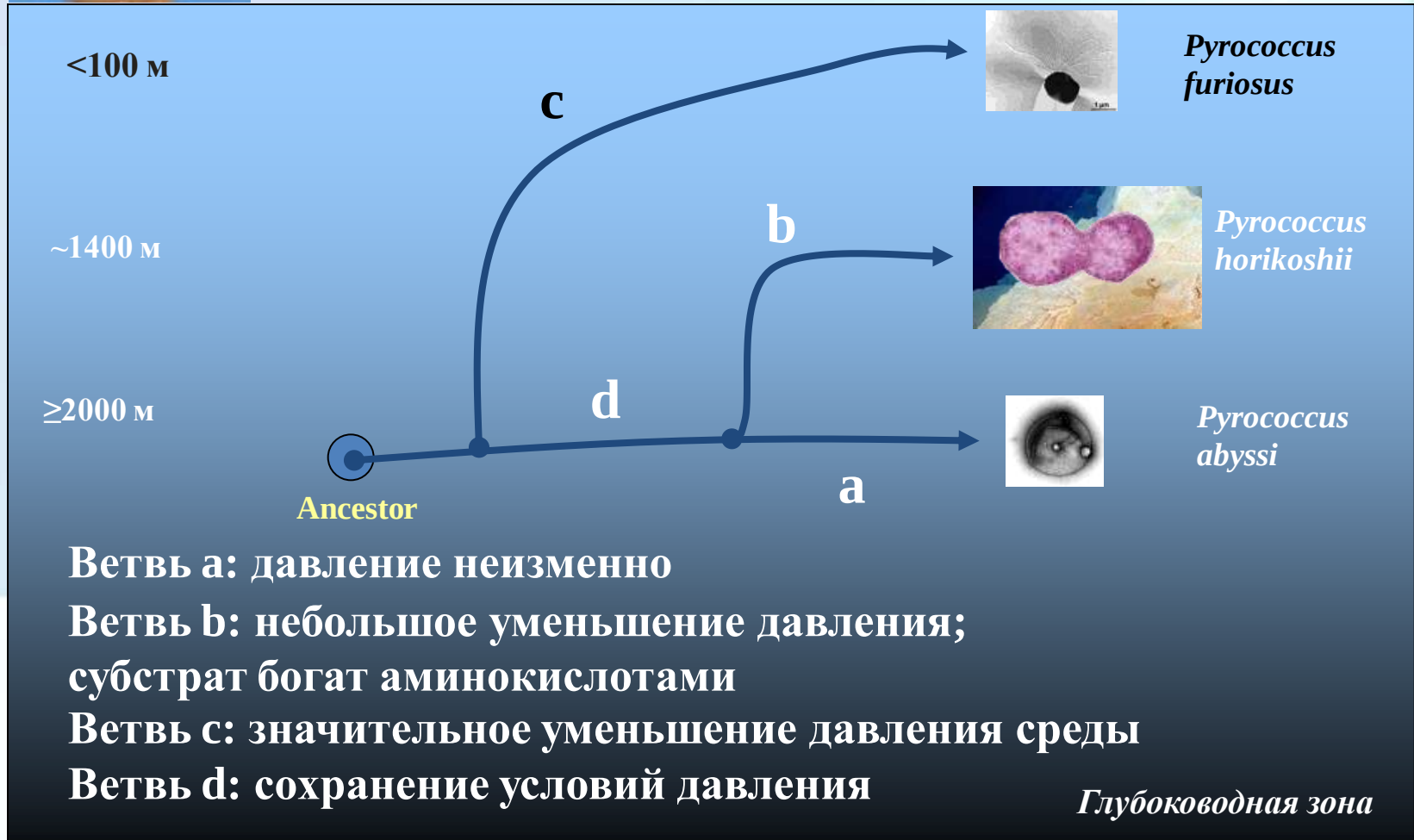
Выравнивание вручную

Реконструкция филогении: MrBayes 3.2.1 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003), модель НКУ с учетом гамма-распределения скоростей замен в позициях генов

Возможный механизм эволюции пироккокков исследованных видов



Мелководье



Анализ потерь генов

Отбор гомологичных последовательностей генов трех видов пироккокков при 50% сходстве, так что у одного организма один из гомологов отсутствует.

Отобрано 164 групп генов

**Функциональная аннотация: arCOG (Makarova et al, 2007)
+ KEGG, InterPro, Pfam**

Поиск функциональных классов генов, для которых распределение потерь генов в трех организмах отличается от отношения 1:1:1 ratio (χ^2 тест)

Анализ функциональных классов групп генов в которых идут потери

Function group	Number of genes lost			$p^* (\chi^2)$
	P. horikoshii	P. abyssi	P. furiosus	
INFORMATION STORAGE AND PROCESSING	9	2	10	0.066
Translation; ribosomal structure and biogenesis	1	1	3	0.449
Transcription	5	1	4	0.273
Replication; recombination and repair	3	0	3	0.223
CELLULAR PROCESSES AND SIGNALING	4	4	25	0.000002
Cell cycle control; cell division; chromosome partitioning	1	0	0	0.368
Defense mechanisms	1	1	5	0.102
Signal transduction mechanisms	1	1	11	0.0004
Cell wall/membrane/envelope biogenesis	1	0	4	0.074
Cell motility	0	0	3	0.05
Intracellular trafficking; secretion; vesicular transport	0	1	1	0.607
Posttranslational modification; protein turnover; chaperones	0	1	1	0.607
METABOLISM	34	9	21	0.0007
Energy production and conversion	11	1	5	0.011
Carbohydrate transport and metabolism	8	0	4	0.018
Amino acid transport and metabolism	3	1	0	0.174
Nucleotide transport and metabolism	5	2	4	0.529
Coenzyme transport and metabolism	3	4	2	0.717
Lipid transport and metabolism	3	0	0	0.05
Inorganic ion transport and metabolism	1	1	5	0.102
Secondary metabolites biosynthesis; transport and catabolism	0	0	1	0.368
FUNCTION UNKNOWN	23	13	10	0.049

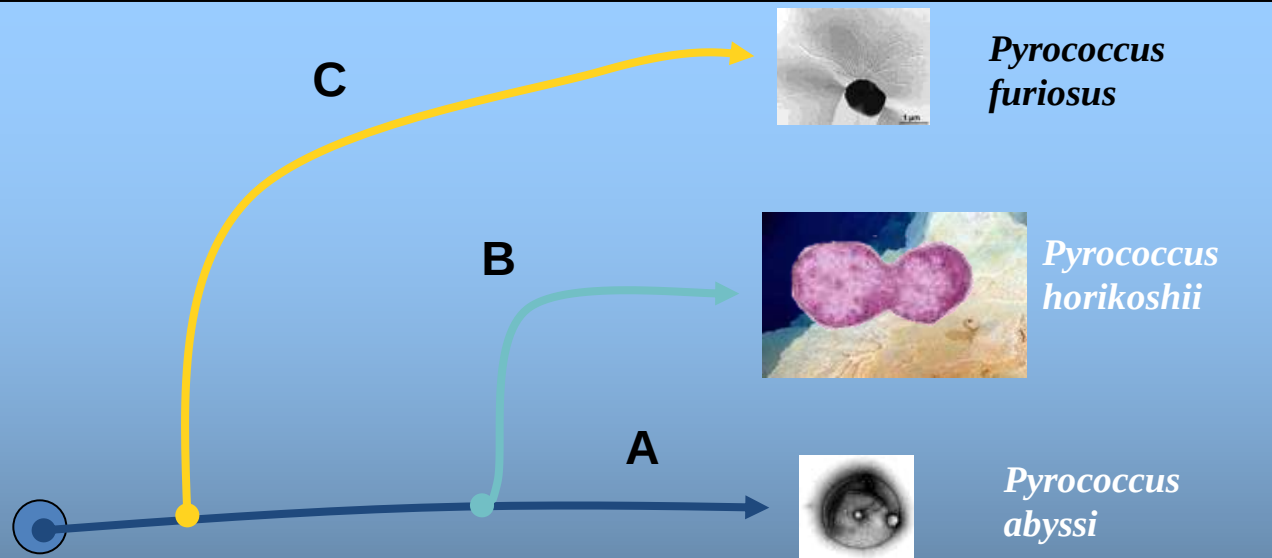
Потери генов у P.abyssii относительно редки (в сравнении с остальными).

P.furiosus лидирует по числу потерянных генов (Cellular processes and signaling + Metabolism)

P.horikoshii преимущественно теряет гены, функция которых связана с метаболизмом. Хорошо известно о потере целых оперонов, обеспечивающих синтез ряда аминокислот

Результаты согласуются с данными других работ. (Gonzalez et al, 1998; LeCompte et al, 2001), но мы взяли другой порог гомологии (50%)

Потери генов: резюме



C: - передача сигналов, подвижность [эффект давления]

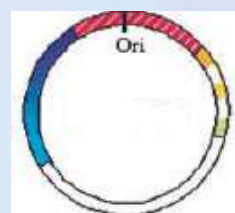
B: - Метаболизм, производство и преобразование энергии [изменение метаболизма]

A: - относительно небольшое число потерянных генов [близость к условиям обитания общего предка?]

Движущий отбор: подготовка данных

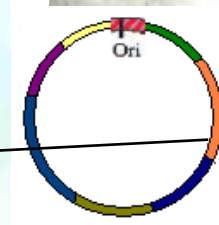


Pyrococcus furiosus
~2100 ORFs

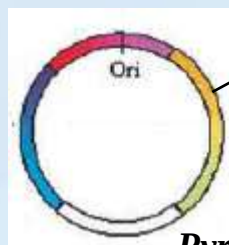


Порог сходства
последовательностей: 50%
Выравнивание MAFFT.

Thermococcus onnurineus
~2300 ORFs



```
>18976457|furi  
--MITLELHPSEIARIFFLEECSHYFSNLLLRKRGELQEFEPPIIRRKEIETIELAKWGDE  
FELSLLQEFKKGEALKKLGVKELPRFYGFLTENDTPVRKFFEKYFKDGIIVEEDFKLLE  
>13500041|tonn  
ELKNVELIRGVSSEEAVRPMKELNGLKVNVTNKFSFSKSPFLF-----T  
VKILFATPQTAFKLAQDY-DADLVVIDEASMLDLPFFLATSNAGQVLLVGDHRQMQPI  
>14590057|hori  
SFERPQVNDHDAALVEITKRTSLNVPRLVRIAQAVRDERN-GKVKRKYIPGTGYNLPYDD-  
-----GRLVKIETIYVQNSPVTDTLIGISALVKSK-NGEVSVELVDDVPLDPEI  
>14520327|abys  
MEFLTIELHPSEVARFFLEECPRFLILLERRKKGELREFMHIIRRKEEENKALTKWGNE  
FELEILQELSKK-----FDFPFYGFKKLEEDKTAKRFIQKYYPGNAIEFKDFEGAYE
```



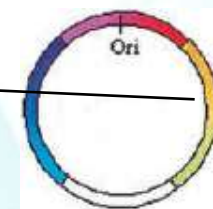
Pyrococcus horikoshii



~2050 ORFs

Отсутствие дублированных
генов

Pyrococcus abyssi
~1950 ORFs

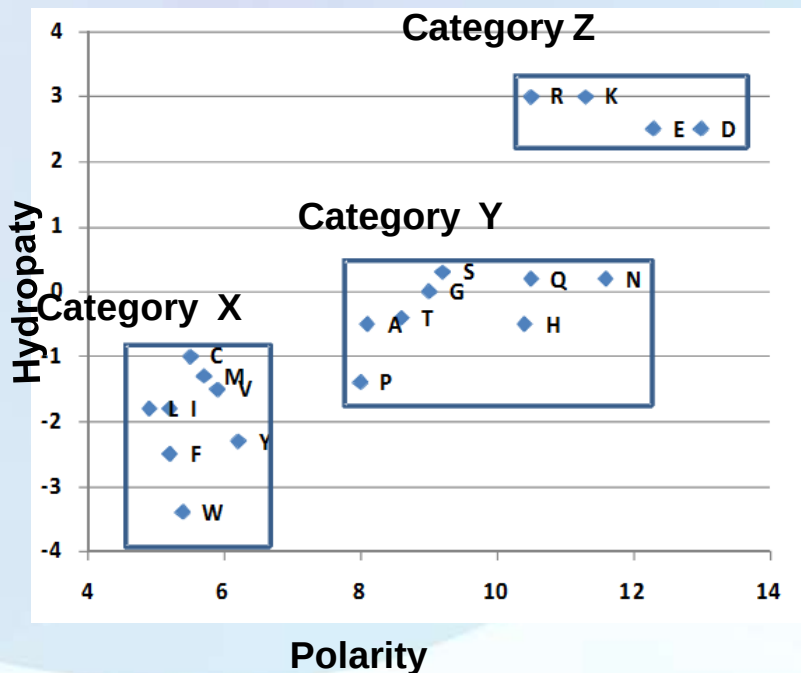


911 ортологичных кластеров. Каждый кластер содержит один ген от одного организма. Белки имеют сходные структуры и функции.

(с) Афонников Д.А.

Критерий радикальных/консервативных замен

Эти оценки более устойчивы для сильно дивергировавших организмов.



Консервативные : X→X, Y→Y, Z→Z;
радикальные: X→Y|Z, Y→X|Z, Z→X|Y.

7 классификаций: объем,
изоэлектрическая точка, гидропатия,
полярность+гидрофильность,
полярность+объем,
полярность+гидропатия,
гидрофильность+индекс адаптации к
давлениям

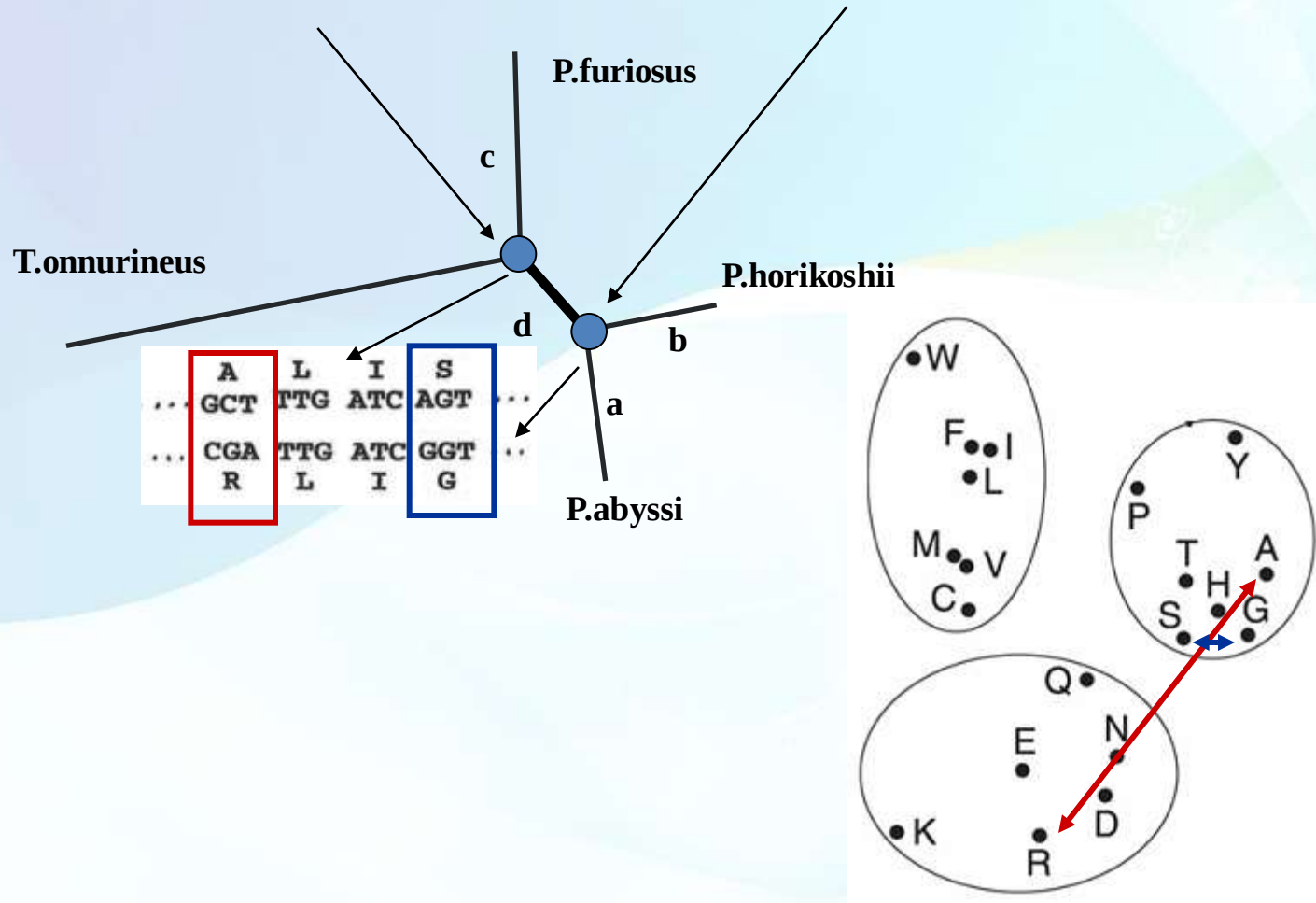
Для оценки скоростей замен использовался метод Жанга (Zhang, 2000). Движущий отбор идентифицирован если

$$\frac{d_r - Var(d_r)}{d_c + Var(d_c)} > 0.9$$

Или : $d_c = 0, d_r > 0$

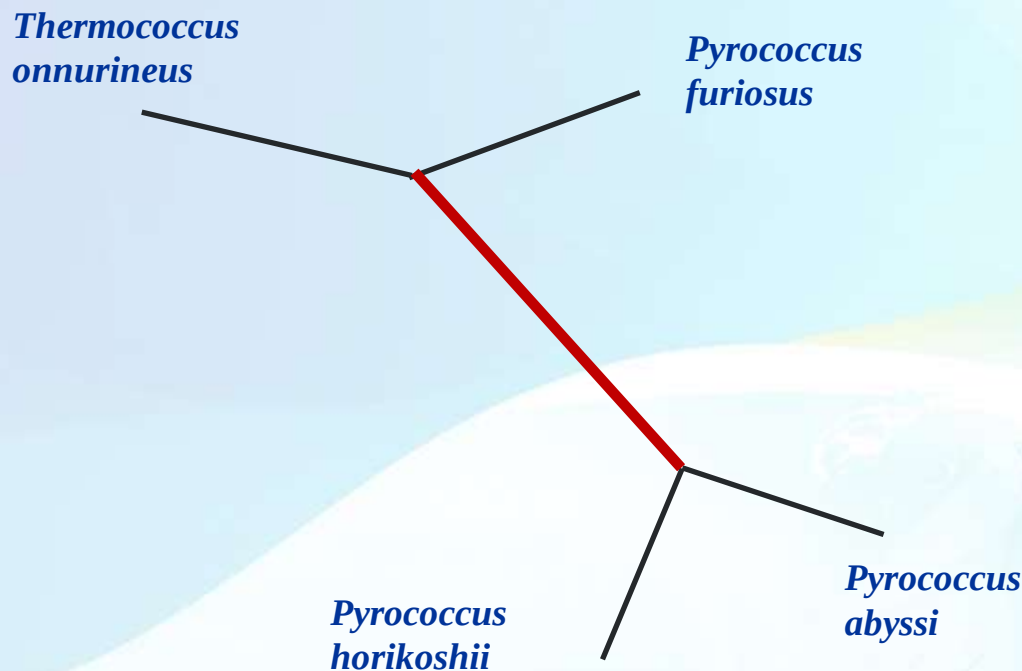
Филогения видов и реконструкция предковых последовательностей

Реконструкция предковых последовательностей программой *ANC-GENE* (Zhang, Nei, 1997) : для **855** последовательностей с >75% сходством по 1 и 2 позициям кодона.



Филогения видов и оценка скоростей эволюции

Для 56 кластеров 75% сходства по 1й и 2й позиции кодонов (это дает высокую ошибку оценки предковых последовательностей): оценка на уровне аминокислотных замен.



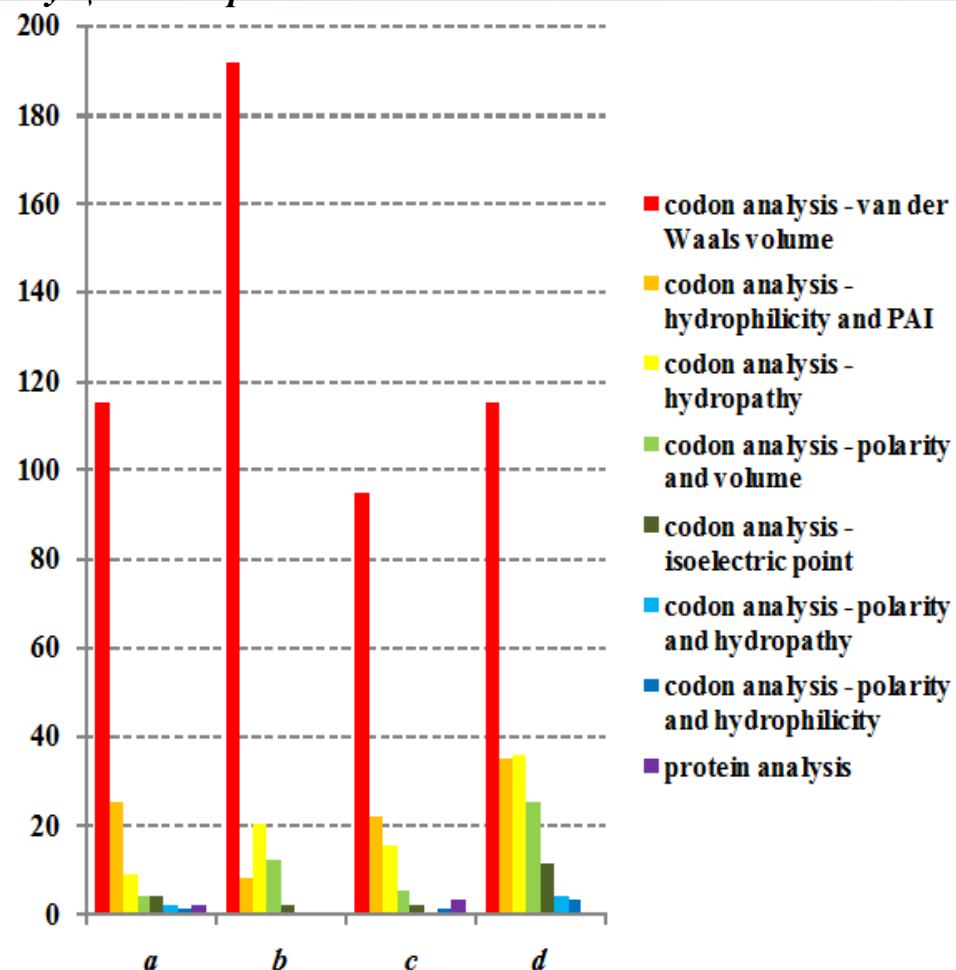
Сравнение длин ветвей (гамма-расстояние оцененное программой PAML4) для ветвей a,b,c,d : определение ветви с максимальным расстоянием, так что

$$\Gamma_i - Var(\Gamma_i) > \Gamma_{\max} + Var(\Gamma_{\max})$$

где $Var(\Gamma_i)$ дисперсия Γ_i расстояния для ветви i , $Var(\Gamma_{\max})$ дисперсия $\Gamma_{\max}$, наиболее длинной ветви i ($i = a, b, c, d$)

Радикальные замены и физико-химические свойства аминокислот

Число генов у которых идентифицирован движущий отбор



Наиболее часто движущий отбор выявлен при анализе генов с использованием разбиения по объему боковых групп. Вероятно, такие замены обеспечивают более плотную упаковку гидрофобного ядра, препятствуя попаданию внутрь молекул воды.

Анализ функциональных ассоциаций генов, подверженных движущему отбору

Аннотация функций : база данных arCOG (Makarova et al, 2007) + KEGG, InterPro, Pfam. Анализ функциональных категорий генов.

Значимость ассоциаций определяется тестом с перестановками:

- (1) Подсчитать число $N(\text{PS}+\text{Func})$ генов, подверженных движущему отбору (PS) относящихся к категории 'Func' для всех 911 кластеров;
- (2) Произвести 10^5 случайных перестановок по значению PS;
- (3) Подсчитать $N(\text{PS}+\text{Func})_{\text{rand}}$ для каждой *rand* выборки с перестановкой;
- (4) Вычислить долю p выборок с перестановками для которых $N(\text{PS}+\text{Func})_{\text{rand}} > N(\text{PS}+\text{Func})$.
- (5) Считается, что функциональные категории для которых $p < 0.05$ могут быть ассоциированы с эволюцией в режиме движущего отбора.

Эти категории функций микроорганизмов могут быть важными для адаптации к условиям изменившейся внешней среды (давления).

Результаты анализа функциональных ассоциаций генов, подверженных движущему отбору

Function group	Total clusters in group	All positively selected clusters on the Pyrococcus tree branches (as in Figure 2) †				Unique positively selected clusters on the Pyrococcus tree branches (as in Figure 2) †				Clusters not under positive selection †
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	
Translation; ribosomal structure and biogenesis	168	32	45	48 ****	37	13	16	26 ****	19	55 ****
Transcription	62	13	25 ***	13	15	3	10	5	5	20 **
Replication; recombination and repair	51	10	10	4 *	6	6	6	3	5	26
Cell cycle control; cell division; chromosome partitioning	13	4	1 *	1	1	2	0	0	1	8
Defense mechanisms	12	2	3	2	3	0	1	0	1	7
Signal transduction mechanisms	10	0	3	1	1	0	3	1	1	5
Cell wall/membrane/envelope biogenesis	19	2	1 **	1 *	2	2	1	1	2	13 *
Cell motility	11	3	2	3	2	1	2	1	1	4
Intracellular trafficking; secretion; vesicular transport	11	2	3	1	5 *	1	1	0	3	3 *
Posttranslational modification; protein turnover; chaperones	32	6	8	2 *	6	2	4	1	4	16
Energy production and conversion	78	13	14	10	12	5	9	8	5	40
Carbohydrate transport and metabolism	49	4 *	10	6	8	2	6	2	6	28
Amino acid transport and metabolism	61	13	18	2 ***	10	7	9	2 *	4	29
Nucleotide transport and metabolism	38	4	10	8	13 *	2	6	3	10 **	10 **
Coenzyme transport and metabolism	58	12	17	8	11	5	9	4	5	23
Lipid transport and metabolism	15	1	2	0	3	0	2	0	2	10
Inorganic ion transport and metabolism	46	9	4 **	4	4 *	8 *	3	4	4	26
Secondary metabolites biosynthesis; transport and catabolism	7	2	1	0	2	2	0	0	1	3
Function unknown	170	22 *	31 *	17 *	27	14	15	7 *	17	96 **
Total	911	154	208	131	168	75	103	68	96	422

† - Bold denotes cases with excess of clusters ($0.01 < p \leq 0.05$; $0.001 < p \leq 0.01$; $1 \times 10^{-4} < p \leq 0.001$; $p \leq 1 \times 10^{-4}$), italics denote cases with lack of clusters ($0.01 < p \leq 0.05$; $0.001 < p \leq 0.01$; $1 \times 10^{-4} < p \leq 0.001$; $p \leq 1 \times 10^{-4}$).

Механизм адаптации *P. furiosus*: основной фактор среды: изменение давления



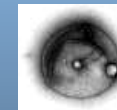
C (131 genes)



Pyrococcus furiosus



Pyrococcus horikoshii



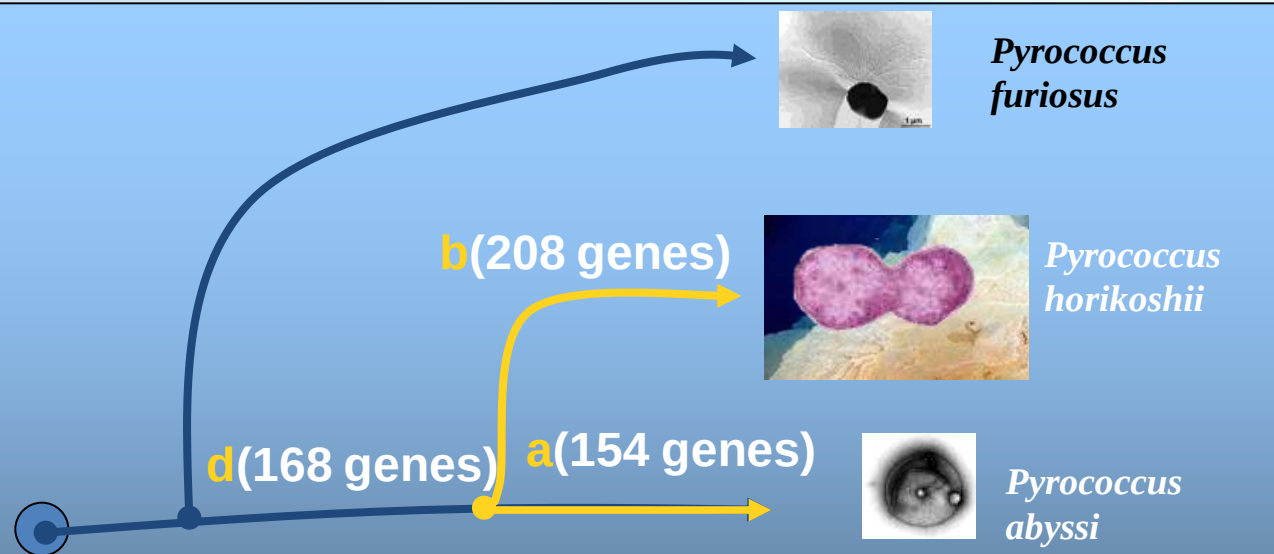
Pyrococcus abyssi

Движущий отбор: Трансляция, структура рибосом и биогенез

Возрастание давления действует на процессы трансляции и структуру рибосом (основной фактор гибели клеток при высоком давлении)

Не наблюдается движущего отбора в системах клеточных стенок/мембран (в отличие от результатов Campanaro et al, 2008 по анализу БАКТЕРИЙ видов *Shewanella*) : структура мембран гипертермофильных архей УЖЕ адаптирована к экстремальным условиям температур и давлений

Адаптация *P.horikoshii* и *P.abyssii*: смена роли в бактериальных сообществах



Ветвь В:

Движущий отбор действует на гены транскрипционной машины

Ветвь А: Движущий отбор действует на гены транспорта неорганических ионов и их метаболизма

Ветвь D: Движущий отбор действует на гены транспорта нуклеотидов и системы метаболизма, везикулярный транспорт; Движущий отбор редко наблюдается для генов транспорта и метаболизма неорганических ионов

Основные факторы среды, которые определяли эволюцию пироккокков

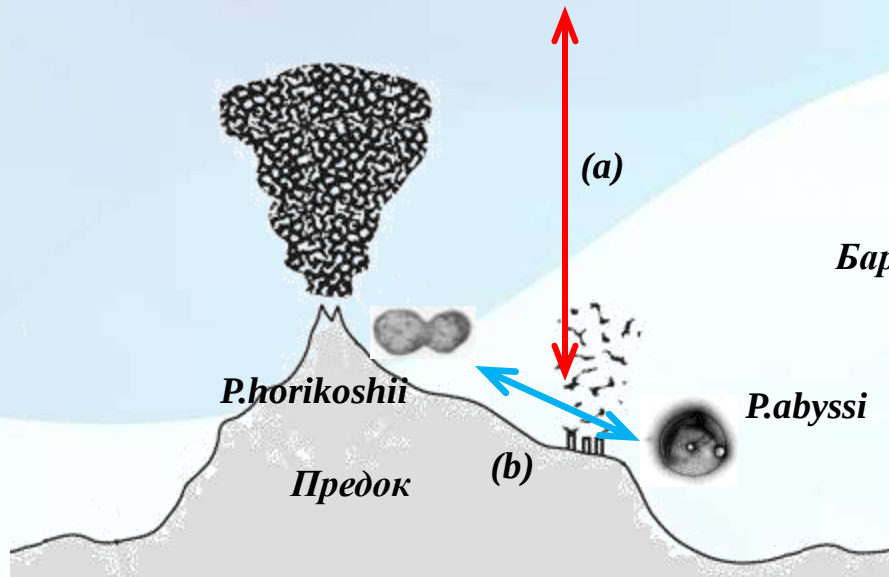


P. furiosus

(a) Изменение давления (“вертикальное движение”) характерна для эволюции *P. furiosus*.

(b) Смена экологической ниши (“движение по горизонтали”) характеристика эволюции *P. horikoshii* и *P. abyssi*.

Сменилась их роль в трофической цепи : *P. abyssi* стал (или остался) на более низком уровне цепи, *P. horikoshii* переместился вверх по цепи.



Анализ влияния высоких давлений на структуру и динамику белков *P.furiosus* and *P.abyssi*



Белок Nip7 *P. abyssi* участвует в биогенезе рибосом, включает 166 аминокислот. Его трехмерная структура известна (2P38). В предыдущей работе для этого белка был выявлен движущий отбор на этапе эволюции *P.furiosus*.

P. abyssi
P.furiosus

MSGELRVRRASSWE	LDLILKEAEKYGELL	HEFFCVVEGKYRD	VYAVNNEE	VWKIIEDINMR	PYSLGTFVGT	TIRVDENL	VEKFYPN	LEFFS
MNGEIIARRASSWE	IDLILKEAEKFG	TLVHNFFAIVEG	KYRDVYAVNNE	VWKIIEDLTVR	PFALGTFVGM	IKVDENL	VEKFYPA	IEFFT
LIKLEK	NYVILG	PKASFL	FTTGK	DAPKEA	VREIKW	QSKRVV	VLNDL	GDITIG
FVDIEK	NYAVLG	PKASFL	FTTGK	DVPKKA	VRKLVW	KGSKKI	VVMNEL	GDVLIG
IRKSDRRFIK								
NLKDVGEFLIR								
INPSEEFIK								
NITDVGAFIRK								

Nip7 из *P. furiosus* содержит 47 замен аминокислот по сравнению с белком из *P.abyssi* (~30%), не содержит делеций и вставок. Структура Nip7 *P.furiosus* можно реконструировать по гомологии с хорошей точностью.

Моделирование молекулярной динамики белков Nir7 из глубоководных и мелководных архей

Программа GROMACS для моделирования траектории на протяжении 300 пс при различных давлениях (0.1 (атмосферное), 10, 100, 150 и 200 МПа).

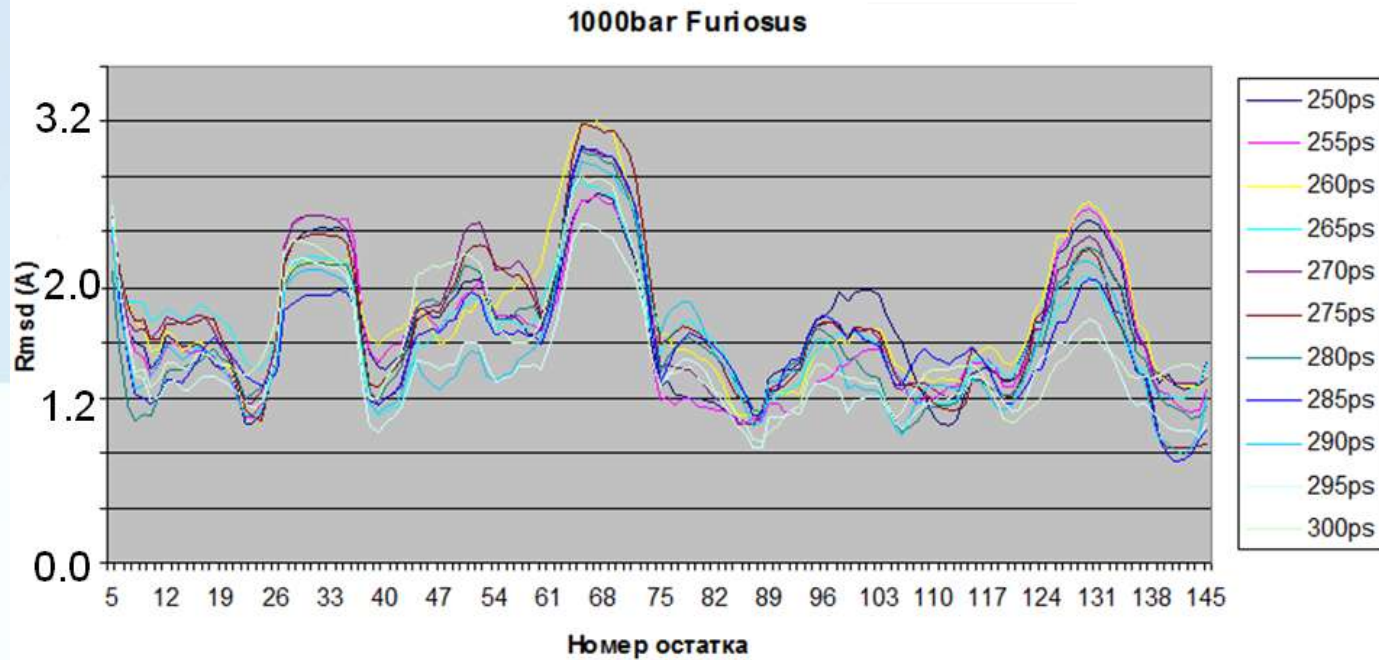
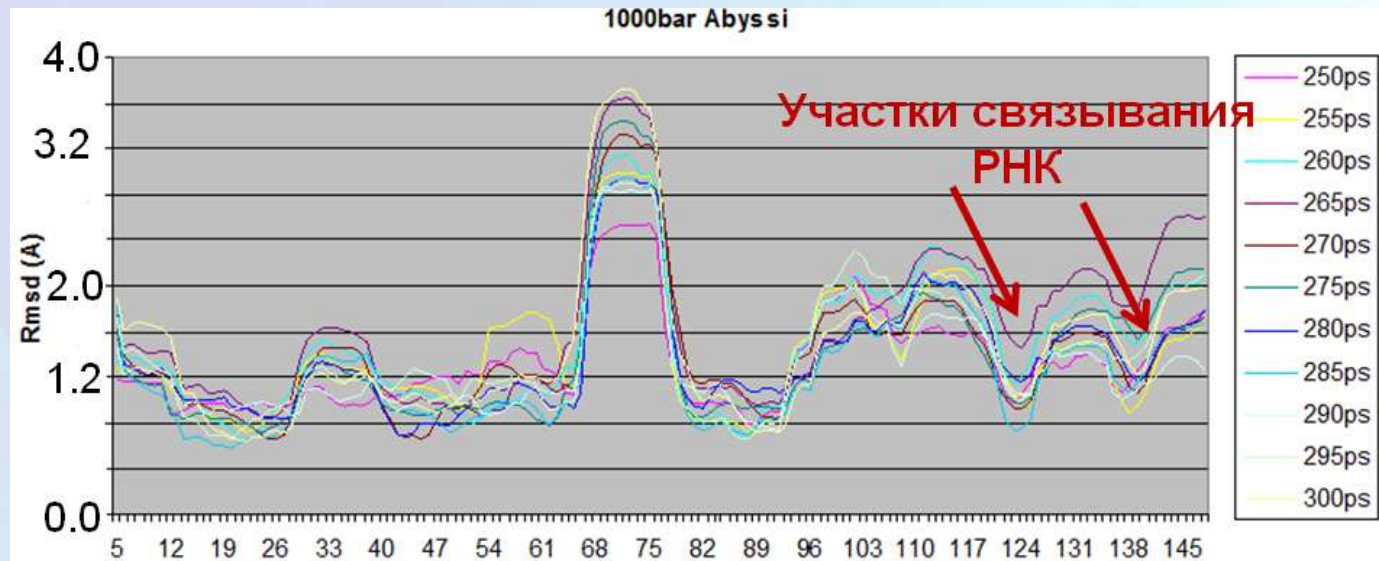
Анализировались две важных структурных характеристики белков:

Структурной сходство с исходной молекулой: глобальное (RMSD) и локальное (RMSD_q) , в скользящем окне размером $q=10$ ак. Эти параметры отражали структурную деформацию полипептидной цепи при воздействии давления.

Средняя доступность остатка растворителю при изменении давления.

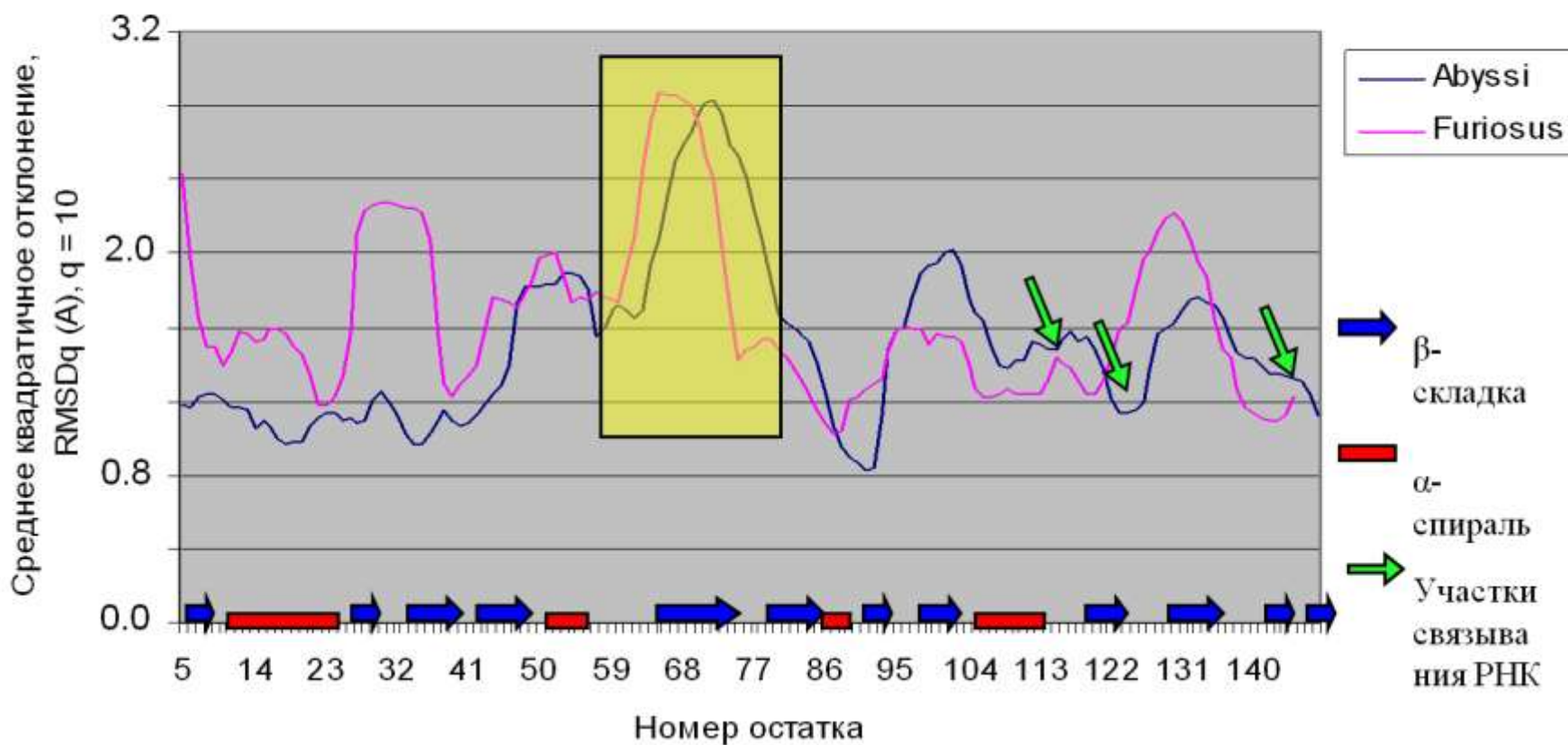
Медведев К.Е., Афонников Д.А., Воробьев Ю.Н. «Изучение влияния повышенных давлений на структуру белков Nir7 глубоководных и мелководных архей методами молекулярной динамики», Вестник ТГУ (в печати).

Анализ отклонения структуры белка от исходной



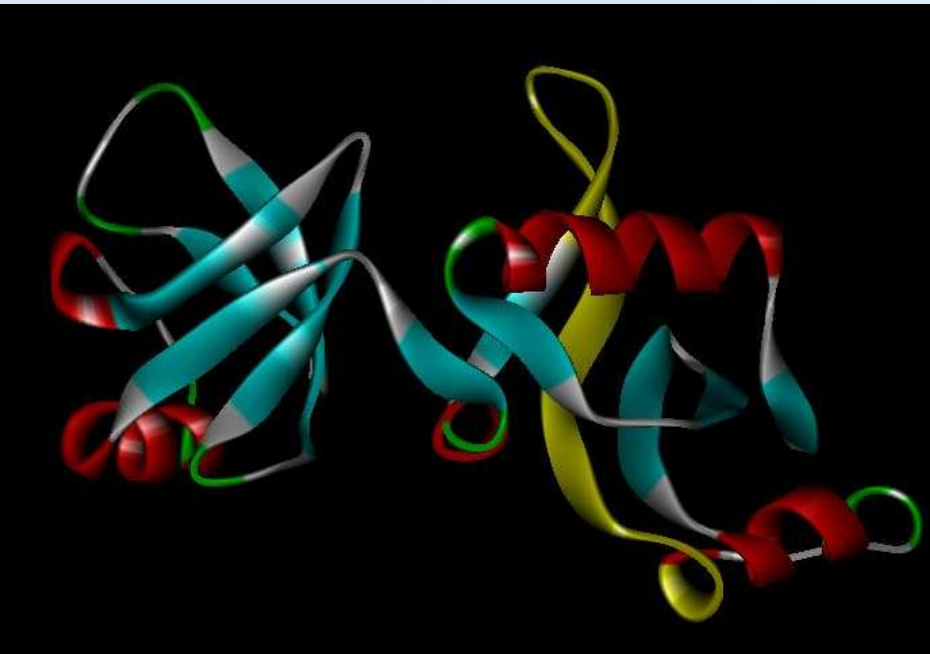
Локальные структурные деформации белков Nip7 *P. abyssi* и *P. furiosus*

Сравнение профилей локальных деформаций структуры Nip7 *P.abyssi* и *P.furiosus* при давлении 150 МПа.

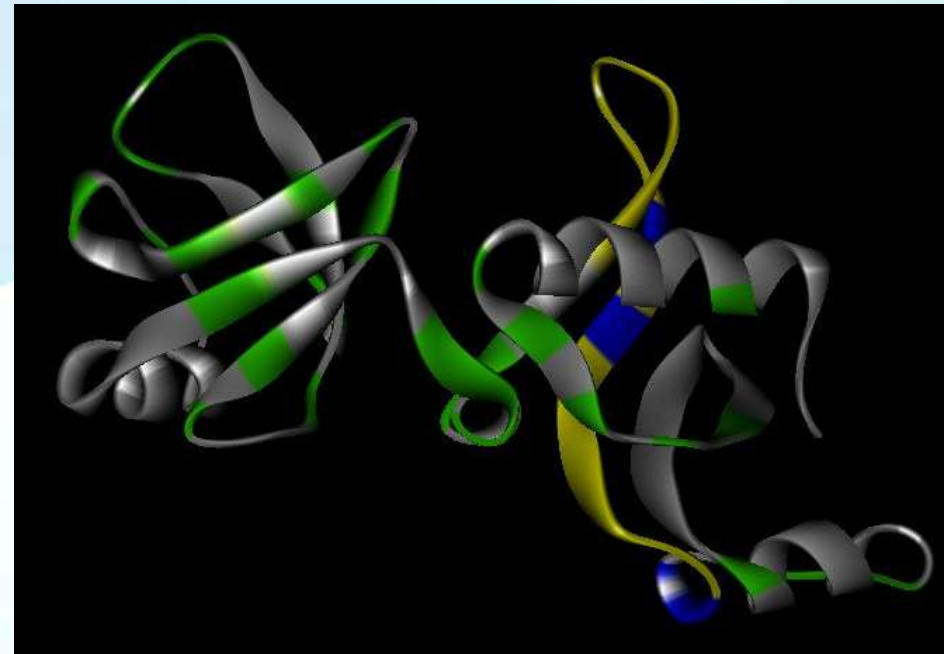


Локальные структурные деформации белков Nir7.

P.abysii. : Жёлтый цвет – участок с наибольшей величиной $Rmsd_q$

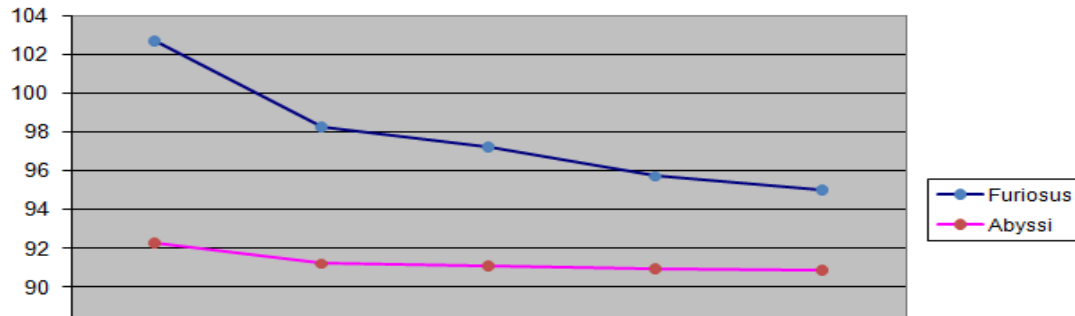


P.furiosus. Зелёный и синий цвета – замены относительно P.abysii.
Жёлтый цвет – участок с наибольшим $Rmsd_q$

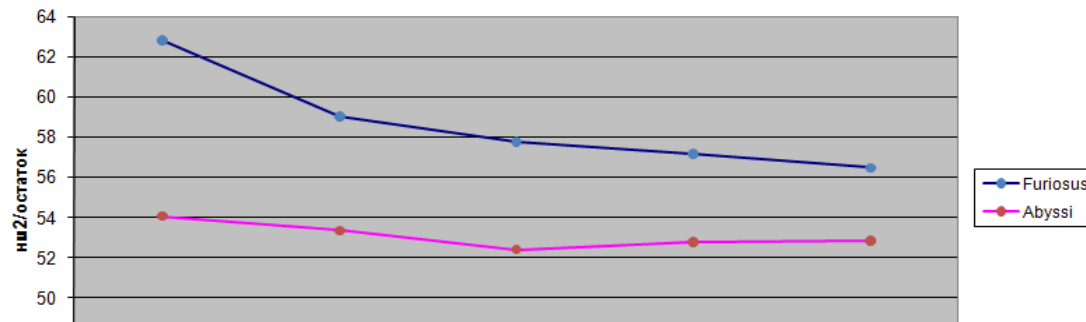


Анализ изменения площади белка, доступной растворителю

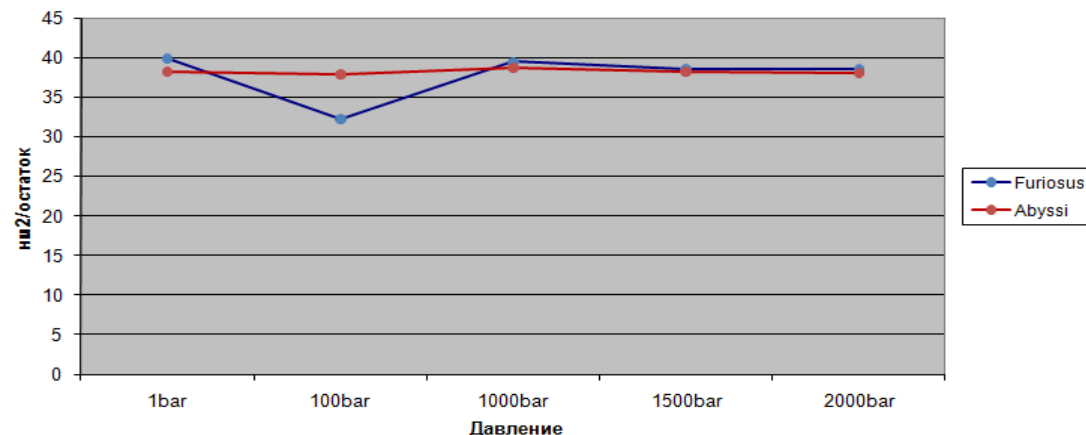
Изменение площади остатка доступной растворителю



Изменение площади гидрофобной поверхности



Изменение площади гидрофильной поверхности



При воздействии давления площадь поверхности белка уменьшается. У белка *P.furiosus* общая площадь поверхности выше, чем у *P.abysii*. Ее изменения более сильные. Наибольшее уменьшение площади характерно для давлений 0.1-100 МПа (глубины океана).

При таких давлениях площадь гидрофобной поверхности, доступной растворителю, у белка *P.furiosus* резко уменьшается.

Это говорит о важности взаимодействия белка с растворителем при высоких давлениях.