

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ ДОМЕН ФОСФОЛИПАЗЫ A2, У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Институт цитологии и генетики СО РАН

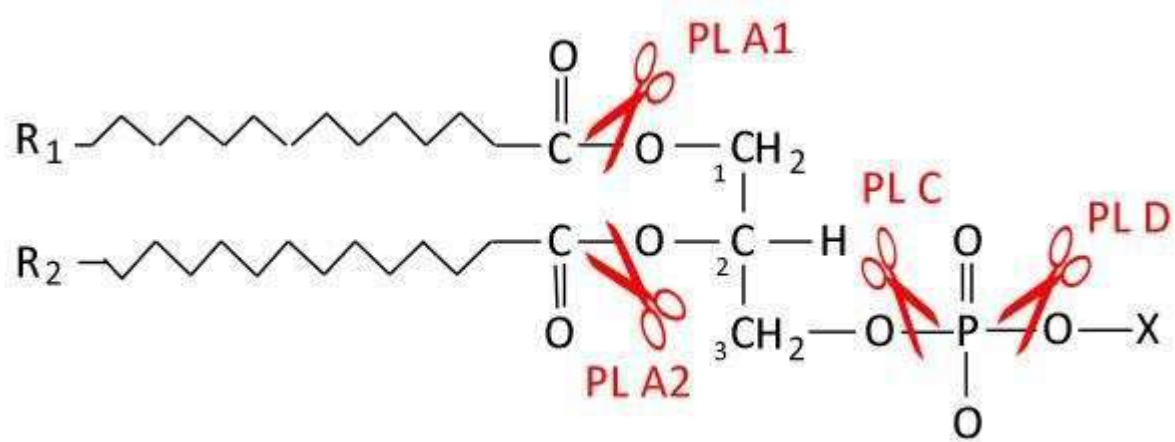


Студентка ФЕН НГУ
гр. 17410 - Бочарникова М.Е
Научный руководитель:
к.б.н., доц. Афонников Д.А.

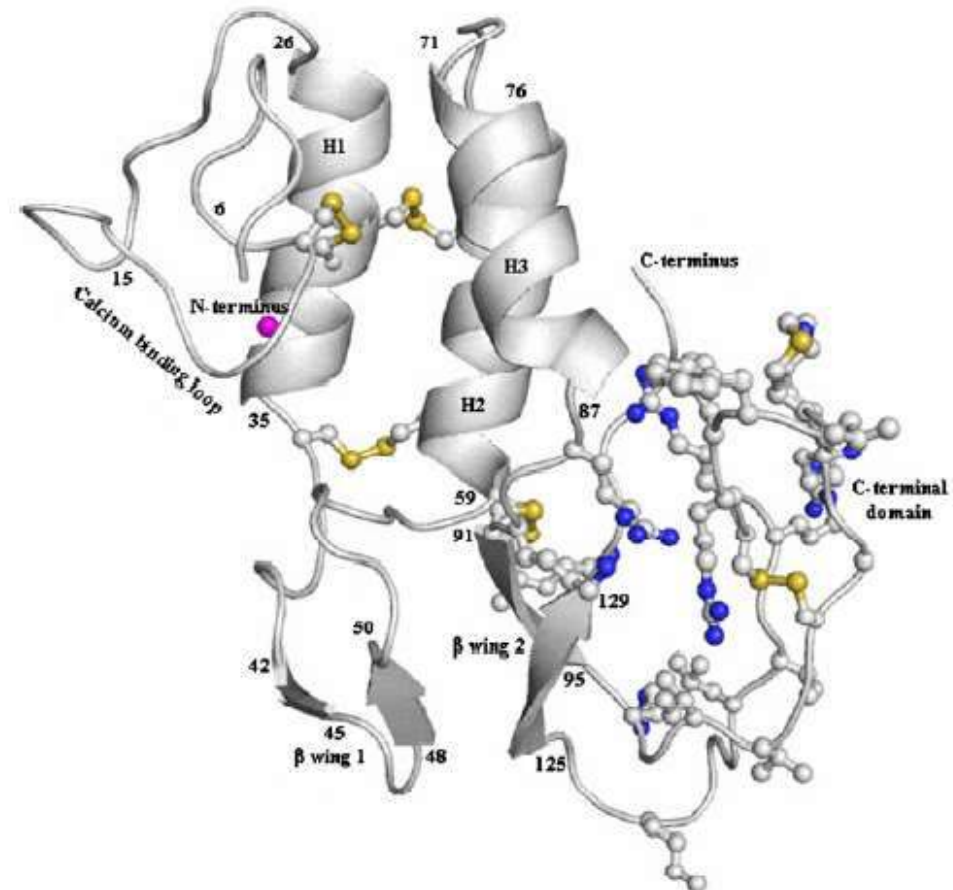
Фосфолипазы: ферменты расщепления фосфолипидных связей

- Фосфолипаза A2 (КФ 3.1.1.4) – это группа ферментов класса гидролаз, катализирующая гидролиз фосфолипида по SN-2 связи

Гидролиз фосфолипида под воздействием фосфолипаз: классификация ферментов в зависимости от положения разрыва связи



Структура человеческой ФА2 группы III [Hariprasad, 2013]



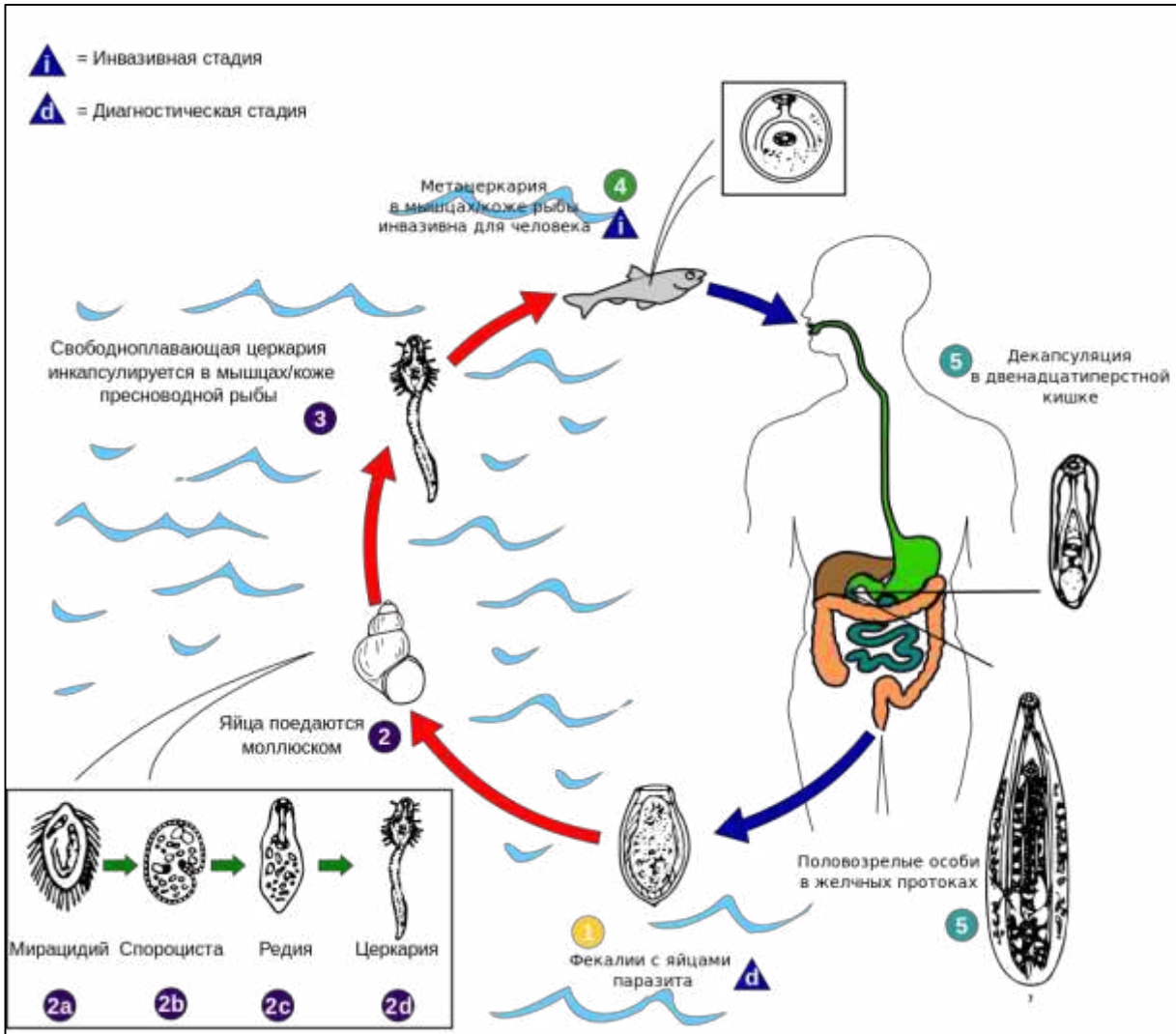
Фосфолипаза A2

Тип	Группа	Подгруппа	Молекулярная масса (кДа)	Активный сайт
сек. ФА2	I	A,B	13-15	His/Asp
	II	A,B,C,D,E, F	13-17	
	III		15-18	
	V		14	
	IX		14	
	X		14	
	XI	A,B	12-13	
	XII	A,B	19	
	XIII		<10	
	XIV		13-19	
цит. ФА2	IV	$\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$	60-114	Ser/Asp
к.-н. ФА2	VI	$\beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta, \eta$	84-90	Ser/Asp
т.-а.ф. ФА2	VII	A, B	40-45	Ser/His/Asp
	VIII	$\alpha_1, \alpha_2, \beta$	26-40	
лиз. ФА2	XV		45	Ser/His/Asp
ад. ФА2	XVI		18	His/Cys

- Существует 3 основных типа фосфолипаз A2 – секретлируемые ФА2, цитозольные ФА2 и кальций-независимые ФА2
- В эти типы входят 16 групп, в которых могут быть еще и подгруппы
- Почти все типы ФА2 млекопитающих связывают с опухолевым процессом
- Доказано, что ФА2 группы 3 управляют выработкой провоспалительных и активирующих развитие опухоли лизофосфолипидов, которые в конечном итоге могут быть связаны с обострением воспаления толстой кишки и рака

Таб. 1 | Суперсемейство ФА2 [Dennis, 2011]

Плоские черви



- Паразитические черви представляют угрозу для здоровья населения в Сибири (высокая заболеваемость клонорхозом и описторхозом 2 место по России)
- Их жизненный цикл очень сложен и включает минимум двух промежуточных хозяев (прудовик и рыба семейства карповых)
- Описторхи и клонорхи считаются канцерогенными факторами первой группы опасности. Однако механизм их канцерогенеза не известен
- В геномах описторхов и клонорхов обнаружены гены фосфолипаз, но их структура и функция пока не исследованы

Рис. 1 | Жизненный цикл трематод рода *Opisthorchis*
[CDC, 'https://www.cdc.gov/']

Цель и задачи

Изучить особенности структуры, функции и эволюции белков, содержащих фосфолипазный домен A2 у плоских червей.

- Идентификация последовательностей ФА2 у плоских червей и родственных организмов
- Реконструкция филогении на основе последовательностей доменов ФА2
- Анализ первичной структуры белков и предсказание их функции

Материалы и методы

Подготовка данных

- Формирование выборки протеомов (базы данных WormsParaSite & Ensembl Mollusks)
- Анализ литературных данных и формирование выборки классифицированных фосфолипаз позвоночных [Huang, 2015]

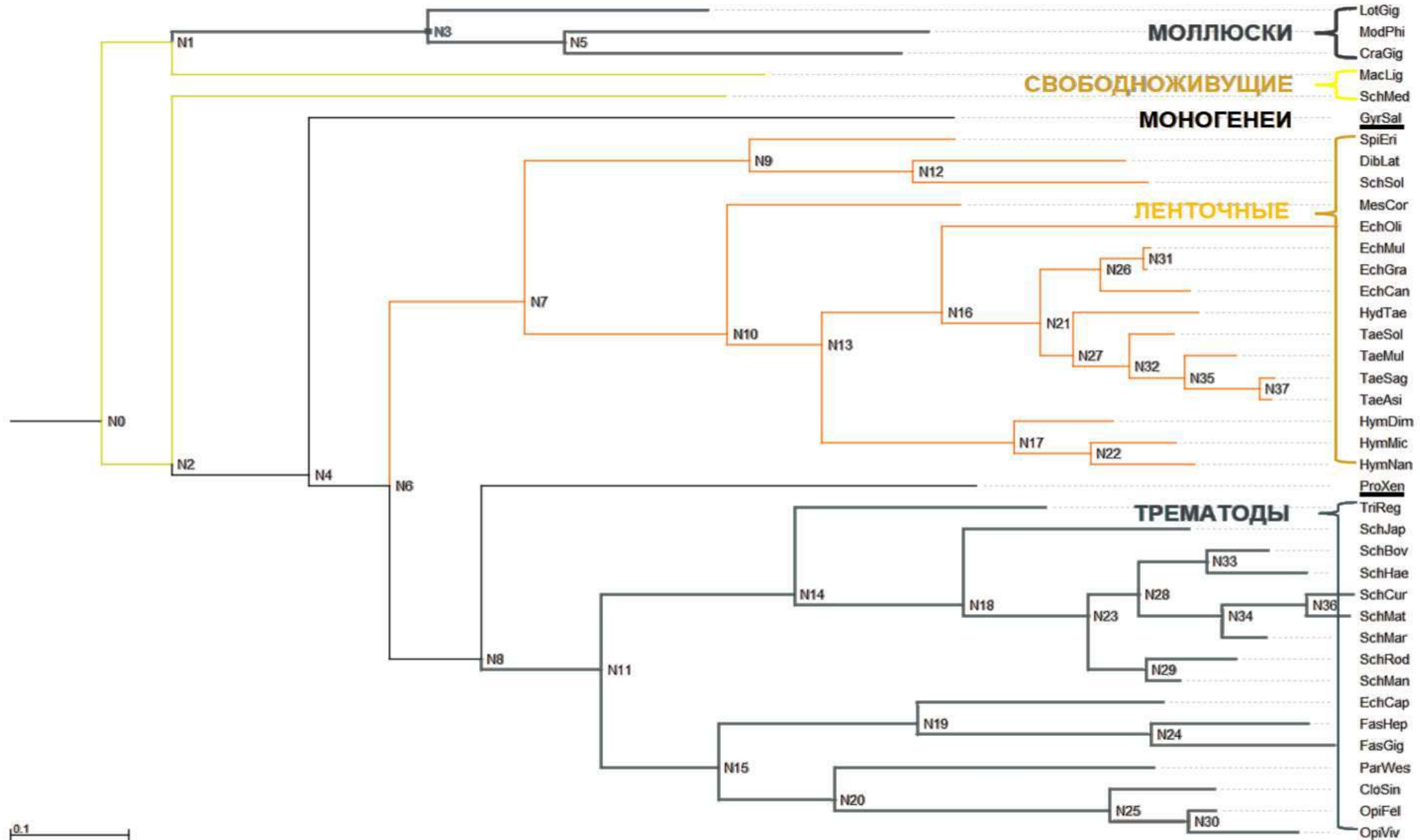
Поиск ортогрупп

- Определение ортологичных групп белков в геномах плоских червей и моллюсков с помощью программы Orthofinder [Emms &, Kelly, 2019]
- Поиск ортогрупп содержащих классифицированные фосфолипазы позвоночных животных

Анализ данных

- Анализ белковых последовательностей разных ортогрупп у плоских червей
- Анализ функций на основе литературных данных [Dennis, 2011]
- Филогенетический анализ (Mafft [Katoh et al., 2019], Pfam [Bateman A. et al, 2004], Iqtree [Nguyen L. T. et al., 2015])

Результат анализа протеомов плоских червей и моллюсков: филогенетическое дерево видов



Анализ групп ФА2, представленных у всех организмов

Таб.2 | Вариации числа фосфолипаз А2 в геномах у разных таксонов (мин.-макс.)

Группа	Тип	Орторуппа	Моллюски	Свободноживущие	Моногенетические сосальщики	Ленточные черви	Сосальщики (трематоды)
G4 (цит.)	Цитозольная	OG0000135	7-11	5-6	7-9	2-12	3-16
G6 (к-н.)	Кальций-независимая	OG0000006	56-60	35-43	28-30	6-64	7-42
G15 (лиз.)	Лизосомальная	OG0000283	1-4	12-16	2-5	0-5	3-17

Функции представителей указанных групп

Фосфолипазы G4:

- Участвуют в воспалительном процессе (высвобождаются воспалительными клетками человека, включая макрофаги, моноциты, Т-клетки, тучные клетки и нейтрофилы), апоптозе
- Регулируют структуры комплекса Гольджи

Фосфолипазы G6:

- Участвуют в мембранном гомеостазе и ремоделировании мембран, пролиферации клеток, секреции инсулина, ацетилировании кардиолипидов, рекрутировании моноцитов

Фосфолипазы G15:

- Деградируют лизосомальные фосфолипиды

Анализ групп ФА2, представленных у моллюсков и свободноживущих червей

Таб.3 | Вариации числа фосфолипаз в геномах у разных таксонов (мин.-макс.)

Группа	Тип	Ортогруппа	Моллюски	Свободноживущие	Моногенетические сосальщико	Ленточные черви	Сосальщико (трематоды)
G10,G2, G5,G1 (сек.)	Секретируемая	OG0005850	1-3	3-5	0-1	0	0
G12 (сек.)	Секретируемая	OG0009861	1	0-3	0	0	0
G16 (ад.)	Адипотическая	OG0007809	2-4	0-4	0	0	0
G7 (т.-а. ф.)	Тромбоцитарно-активирующий фактор	OG0007637	1	0-9	0	0	0

Функции представителей указанных групп

Сек.ФА2:

- Участвуют в переваривании пищевых и желчных фосфолипидов в просвете кишечника
- Деградируют бактериальные мембраны, особенно, грамположительных бактерий

Фосфолипазы G16:

- Участвуют в производстве эйкозаноидов в жировой ткани

Фосфолипазы G7:

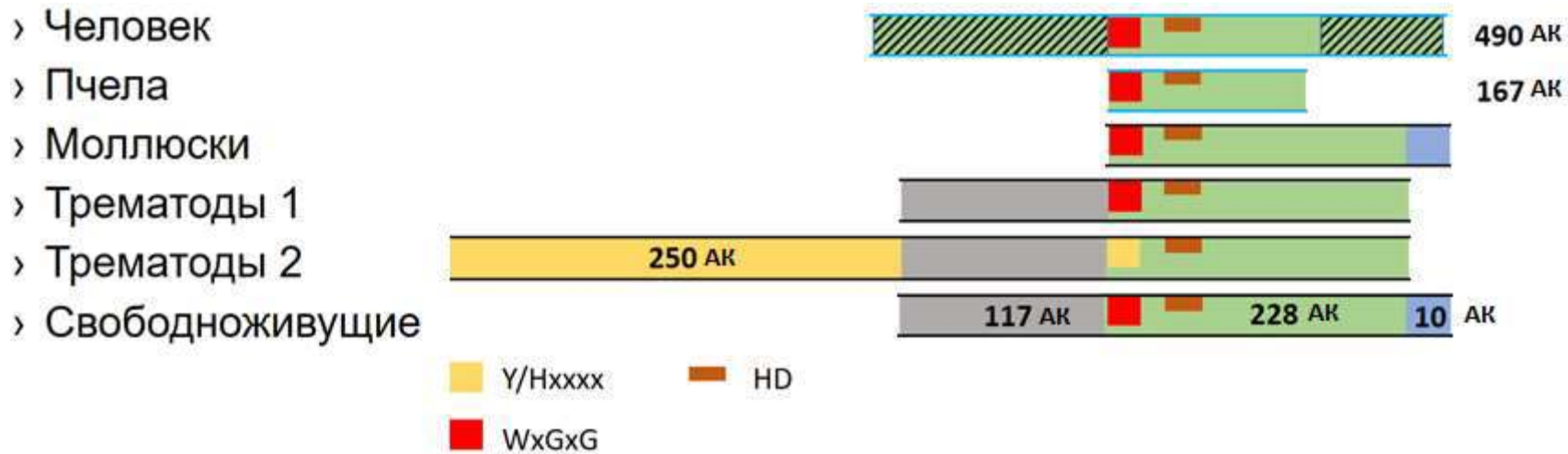
- Медиатор воспаления
- Облегчают гидролиз биоактивных окисленных фосфолипидов до лизофосфолипидов

Анализ групп ФА2, представленных у моллюсков, трематод и свободноживущих червей

Таб.4 | Вариации числа фосфолипаз в геномах у разных таксонов (мин.-макс.)

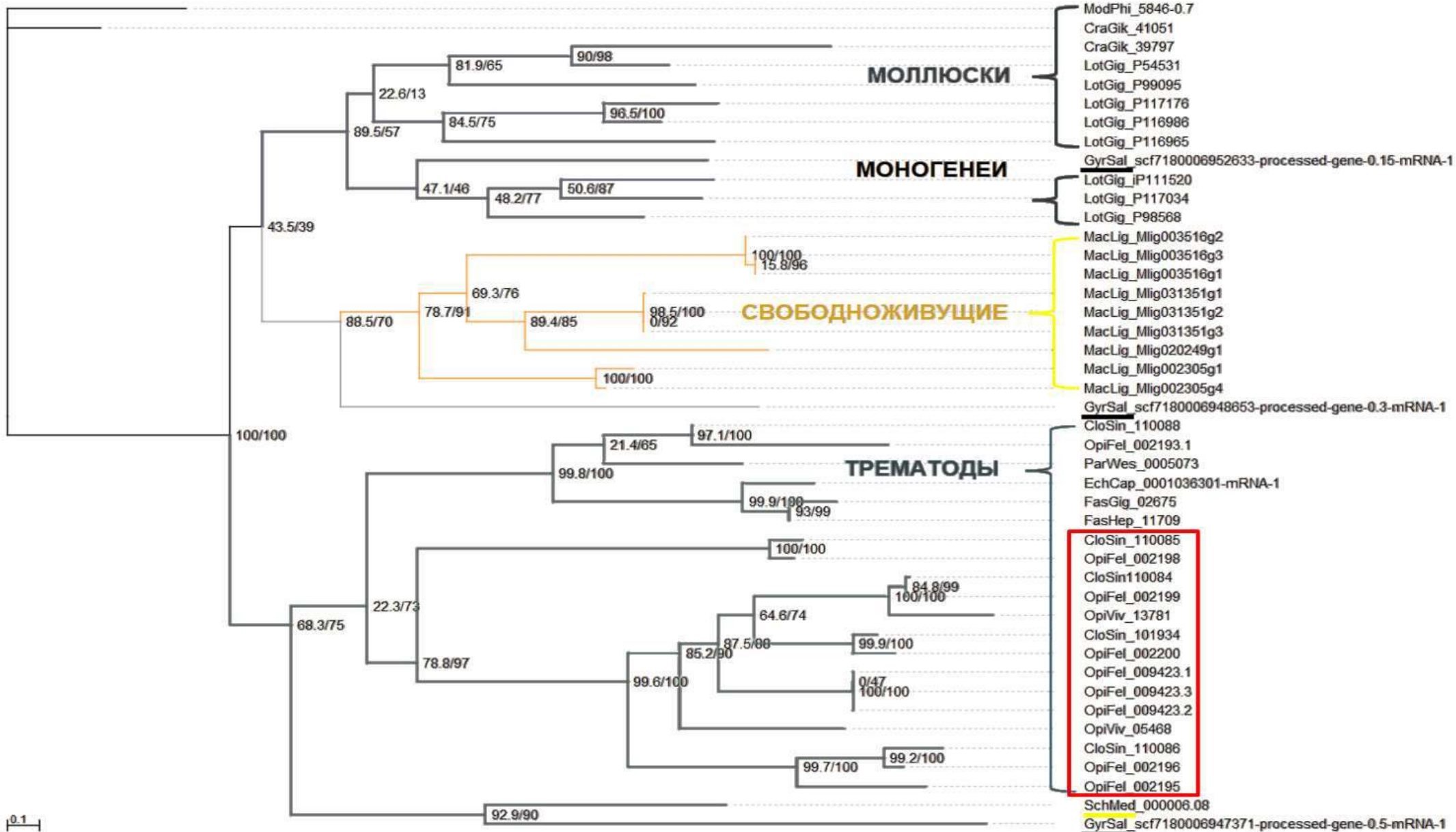
Группа	Тип	Ортогруппа	Моллюски	Свободноживущие	Моногенетические сосальщики	Ленточные черви	Сосальщики (трематоды)
G3	Секретируемая	OG0002975	2-8	1-10	0	0	1-11 (CloSin: 7, OpiViv: 3, OpiFel: 11)

Рис.2 | Структурная организация фосфолипаз группы G3



- Секретируемая фосфолипаза; делится на 2 подгруппы – человеческую и пчелиную
- Человеческая ФА2 группы 3 связана с опухолевым процессом
- У плоских червей, по результатам, отличается доменный состав и длина соответственно
- У трематод, в отличие от других ФА2 группы 3, есть дополнительный участок на N-конце

Филогенетическое дерево у ФА2 группы 3



Увеличение
копий ФА2
гр.3 у
клонохов
и
описторхов

Выводы

Предложен биоинформатический подход выявления белков семейства фосфолипаз A2 у плоских червей.

У плоских червей впервые выявлены классы фосфолипаз A2 11-ти семейств (G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G10, G12, G15, G16), которые имеют общих предков с генами моллюсков.

Показано, что фосфолипазы групп G4, G6, G15 представлены у свободноживущих плоских червей и паразитов, фосфолипазы групп G1, G2, G5, G7, G10, G12, G16 представлены в основном у свободноживущих организмов.

Фосфолипазы группы G3 среди паразитических плоских червей представлены только у трематод, включают N-терминальный домен с неизвестной функцией и разделяются на две группы по наличию мотива WxGxG в кальций-связывающей петле

Orthofinder

