

УДК 577.212:004

КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ СХОДСТВА АССОЦИИРОВАННЫХ С МИКРОТРУБОЧКАМИ И КЛЕТОЧНЫМ ЦИКЛОМ СЕРИН-ТРЕОНИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ ЧЕЛОВЕКА С ИХ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ГОМОЛОГАМИ

П.А. Карпов¹, Е.С. Надеждина², А.И. Емец¹, Я.Б. Блом¹¹ГУ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев;²Институт белка РАН, г. Москва; e-mail: karпов.p.a@gmail.com)

Обнаружен 191 растительный гомолог протеинкиназ человека, принимающих участие в фосфорилировании белков микротрубочек и регуляции клеточного цикла. Методом объединения соседей (NJ) проведен анализ сходства протеинкиназ.

Ключевые слова: протеинкиназы, *Viridiplantae*, цитоскелет, филогения.

Микротрубочки являются обязательным компонентом цитоскелета всех эукариот и участвуют во многих клеточных процессах, включая митоз [1]. Ряд белков цитоскелета (тубулины, белки, ассоциированные с микротрубочками типа I и др.) животных и высших растений демонстрируют значительное сходство [2–4], что дает основание рассчитывать на существование общих сайтов фосфорилирования и сходство связанных с ними протеинкиназ. Ранее нами были отобраны 68 серин-треониновых протеинкиназ человека, формирующих кинем микротрубочек и участвующих в регуляции клеточного цикла, а также показана возможность существования растительных гомологов для 30 из них [5]. На основании гомологии каталитических доменов [6] было показано существование растительных гомологов протеинкиназ Aurora [7, 8], Ste20 [9] и MAST2 [10].

В связи с этим целью данной работы являлась идентификация растительных протеинкиназ, ассоциированных с микротрубочками, на основании сходства последовательностей их киназных доменов и 30 протеинкиназ человека [5].

Объекты и методы

Последовательности протеинкиназ *Homo sapiens* были взяты из базы данных Swiss-Prot (www.expasy.org). BLASTp-сканирование базы данных UniProt осуществлялось против последовательностей каталитических доменов протеинкиназ человека [11]. Отбор гомологов осуществлялся на основании процента идентичности последовательностей, процента сходства и значения E-value [12]. Границы каталитических доменов определяли с применением сетевого инструмента SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>). Множественные выравнивания аминокислотных последовательностей выполняли с помощью программы Clustal X (2.0.5) (<http://www.clustal.org>)

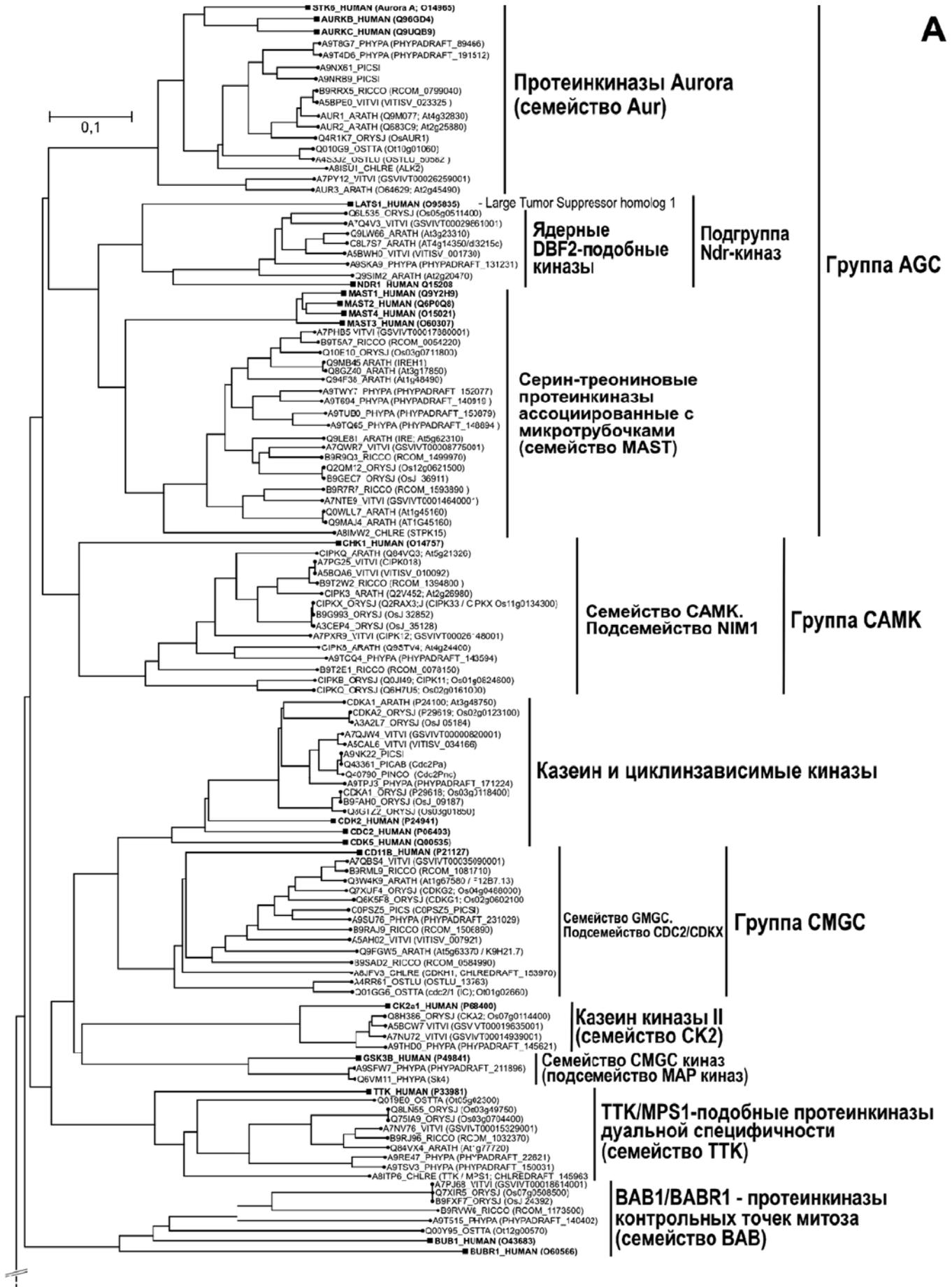
с применением матриц BLOSSUM. Кладиристический анализ выполняли методом объединения соседей (NJ) в программе MEGA4 [13].

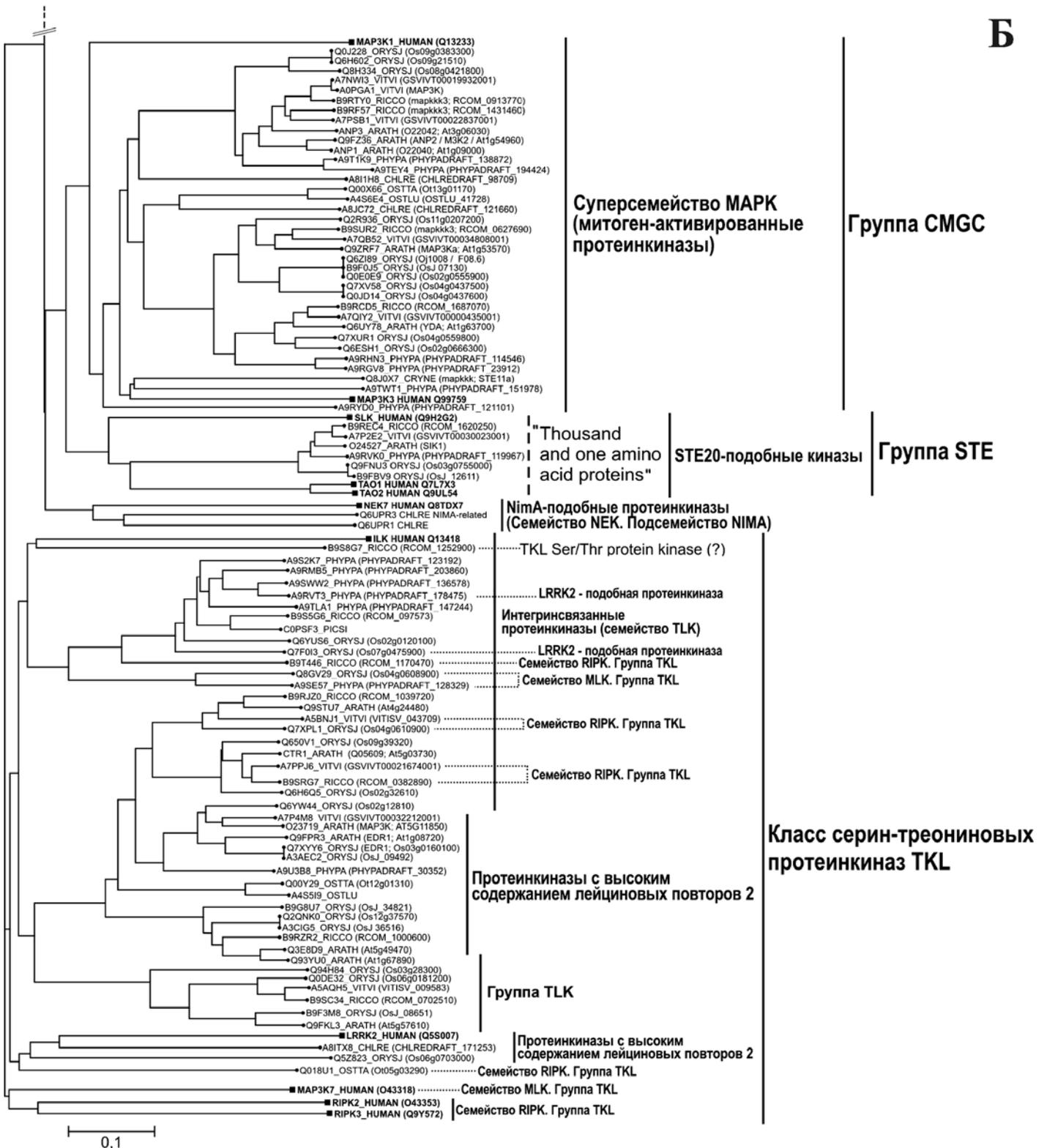
Результаты и обсуждение

Ранее на основании данных кинемного проекта человека (<http://kinase.com/human/kinome/>) и литературных источников нами было отобрано 68 серин-треониновых протеинкиназ, участвующих в фосфорилировании белков микротрубочек и регулирующих клеточный цикл [5]. BLASTp-сканирование базы данных UniProt против последовательностей каталитических доменов показало наличие растительных (*Viridiplantae*) гомологов для 30 из отобранных протеинкиназ, принадлежащих к группам AGC (Aurora, AGC, MAST), GMGC (CDC2/CDKX, MAP), CAMK (NIM1), STE (MAPKKK, STE20), а также к семействам BAV, казеинкиназ (CK2), CDC5 (Polo), TTK, TKL и NEK (NIMA).

Однако поиск последовательностей с применением алгоритмов BLAST и FASTA не всегда дает точное представление о функции протеинкиназ [12], что связано с высокой степенью гомологии каталитических доменов [14] как некоторых протеинкиназ человека, так и ряда найденных растительных гомологов. Более точно функция протеинкиназы может быть определена на основании результатов анализа консервативности мотивов активационной и каталитической петель [14], доменного состава, пространственной структуры и результатов молекулярно-генетического анализа [15, 14]. Применение кладиристического анализа значительно сокращает число возможных вариантов, предупреждает спорные моменты и позволяет идентифицировать гомологи на уровне групп, подгрупп и семейств протеинкиназ [14]. Результаты NJ-кластеризации последовательностей 30 протеинкиназ человека и 191 обнаруженного растительного гомолога (рисунок) выяви-

A





NJ-дерево группы протеинкиназ человека (■) и 198 растительных гомологов (●). Обозначения: ARATH — *Arabidopsis thaliana*, CHLRE — *Chlamydomonas reinhardtii*, CRYNE — *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, HUMAN — *Homo sapiens*, ORYSJ — *Oryza sativa* sp. *japonica*, OSTLU — *Ostreococcus lucimarinus*, OSTTA — *Ostreococcus tauri*, PHYPA — *Phycomitrella patens* sp. *patens*, PICAB — *Picea abies*, PICSI — *Picea sitchensis*, PINCO — *Pinus contorta*, RICCO — *Ricinus communis*, VITVI — *Vitis vinifera*

ли клады, соответствующие группе AGC (семейства Aurora, MAST, подгруппа NDR — семейства NDR и LATS), группам САМК (подсемейство NIM1), казеин/циклинзависимых киназ, группе CMGC (семейства CDK, суперсемейства MAPK, подсемейства MAP киназ), казеинкиназам II (семейство СК2), ТТК/MPS1-подобным киназам (семейство ТТК), протеинкиназам контрольных точек митоза BUB1/BUBR1 (семейство BUB), группе STE (STE20-подобные киназы), семейству НЕК (подсемейство NIMA) и группе TKL (семейства MLK, TKL, RIPK и LRRK2-подобных киназ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Amos L.A. Tubulin and microtubules // Nature Encyclopedia of Life Sciences. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2005. P. 1–7. (URL: <http://www.els.net/> 09.04.2010)
2. Nyporko A.Y., Demchuk O.N., Blume Ya.B. Cold adaptation of plant microtubules: structural interpretation of primary sequence changes in a highly conserved region of α -tubulin. Cell Biol. Int. 2003. Vol. 27. P. 241–243.
3. Karpov P.A., Blume Y.B. Bioinformatic search for plant homologues of animal structural MAPs in the *Arabidopsis thaliana* genome // The plant cytoskeleton: a key tool for agrobiotechnology / Ed. Ya.B. Blume, W.V. Baird, A.I. Yemets, D. Breviario. Dordrecht: Springer, 2008. P. 373–397.
4. Yemets A., Lloyd C., Blume Ya.B. Plant tubulin phosphorylation and its role in cell cycle progression // The plant cytoskeleton: a key tool for agrobiotechnology / Eds. Ya.B. Blume, W.V. Baird, A.I. Yemets, D. Breviario. Dordrecht: Springer, 2008. P. 145–159.
5. Karpov P.A., Nadezhdina E.S., Yemets A.I., Matusev V.G., Nyporko A.Yu., Shashina N.Yu., Blume Ya.B. Bioinformatic search of plant microtubule- and cell cycle related serine-threonine protein kinases // Proc. of the Int. Moscow conference on computational molecular biology (MCCMB'09). July 20–23. Moscow, 2009. P. 145–147.
6. Scheeff E.D., Bourne P.E. Structural evolution of the protein kinase-like superfamily // PLoS Comput. Biol. 2005. Vol. 1. N 5. P. 49.
7. Карпов П.А., Надеждина Е.С., Емец А.И., Матусов В.Г., Ныпорко А.Ю., Шашина Н.Ю., Блюм Я.Б. Биоинформационный поиск растительных протеинкиназ, участвующих в фосфорилировании белков микротрубочек и регуляции деления клеток // Цитол. и генет. 2009. Т. 43. № 3. С. 63–79.

Выводы

Кластеризация методом дистанционно-матричного связывания ближайших соседей подтвердила существование у высших растений гомологов животных протеинкиназ групп AGC, САМК, CMGC, SLK, TKL, казеинкиназ II, казеин/циклин-зависимых, BUB, ТТК/MPS1-подобных и НЕК киназ, принимающих участие в фосфорилировании белков микротрубочек и регуляции клеточного цикла.

8. Karpov P.A., Nadezhdina E.S., Yemets A.I., Matusev V.G., Nyporko A.Yu., Shashina N.Yu., Blume Ya.B. Bioinformatic search of plant microtubule- and cell cycle related serine-threonine protein kinases // BMC Genomics. 2010. Vol. 11. Suppl 1. P. 14.
9. Карпов П.А., Емец А.И., Матусов В.Г., Ныпорко А.Ю., Надеждина Е.С., Блюм Я.Б. Биоинформационный поиск растительных гомологов Ste20-подобных серин/треониновых протеинкиназ // Цитол. и генет. 2009. Т. 43. № 6. С. 68–77.
10. Карпов П.А., Емец А.И., Матусов В.Г., Ныпорко А.Ю., Надеждина Е.С., Шашина Н.Ю., Блюм Я.Б. Биоинформационный поиск растительных гомологов ассоциированной с микротрубочками протеинкиназы MAST2 // Тр. Никитского бот. сада. 2009. Т. 131. С. 181–187.
11. Korf I., Yandell M., Bedell J. BLAST. Sebastopol: O'Reilly & Associates, 2003. 368p.
12. Claverie J.-M., Notredame C. Bioinformatics for dummies. New York: Wiley Publ., 2007. 436 p.
13. Kumar S., Dudley J., Nei M., Tamura K. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences // Brief. in Bioinform. 2008. Vol. 9. P. 299–306.
14. Champion A., Kreis M., Mockaitis K., Picaud A., Henry Y. *Arabidopsis* kinome: after the casting // Funct. Integr. Genomics. 2004. Vol. 4. P. 163–187.
15. Hanks S.K., Quinn A.M. Protein kinase catalytic domain sequence database: identification of conserved features of primary structure and classification of family members // Methods Enzymol. 1991. Vol. 200. P. 38–62.

Поступила в редакцию
15.04.10

THE RESULTS OF CLUSTERISATION OF HUMAN MICROTUBULE- AND CELL CYCLE RELATED SERINE-THREONINE PROTEIN KINASES AND THEIR PLANT HOMOLOGUES

P.A. Karpov, E.S. Nadezhdina, A.I. Yemets, Ya.B. Blume

191 plant homologues of human protein kinases phosphorylating microtubular proteins and regulating cell cycle have been identified. Similarity of plant protein kinases was analysed by neighbor joining clustering.

Key words: protein kinases, Viridiplantae, cytoskeleton, microtubules, phylogeny.

Сведения об авторах

Карпов Павел Андреевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр., зав. лабораторией биоинформатики и структурной биологии ГУ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина. Тел./факс +38(044)5261467; e-mail: karpov.p.a@gmail.com

Надеждина Елена Сергеевна — докт. биол. наук, главный научный сотрудник, зав. группой клеточной биологии Института белка РАН, г. Пушкино, Московская обл. Тел. +7 499 1359786, тел./факс +7 499 1352147; e-mail: elena.nadezhdina@gmail.com

Емец Алла Ивановна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр., зав. лабораторией клеточной биологии и нанобиотехнологии ГУ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина. Тел./факс +38(044)5261467; e-mail: alyemets@univ.kiev.ua

Блюм Ярослав Борисович — акад. НАН Украины, директор института ГУ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев, Украина. Тел.(044)434-3777, факс.: (044)434-4577; e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net