

УДК 578.832.1; 51-76

ОЦЕНКА ЭВОЛЮЦИОННОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ВИРУСА ГРИППА ТИПА А. ПРЕДСКАЗАНИЕ ВАРИАБЕЛЬНЫХ УЧАСТКОВ В ДОМЕННОЙ СТРУКТУРЕ БЕЛКА M1

М.А. Кузнецова¹, Ю.А. Пеков¹, А.Л. Ксенофонов², Л.В. Кордюкова², В.Л. Друза²

¹факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ;

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ;

e-mail: mak1989@yandex.ru)

Вirus гриппа является серьезным патогеном человека, который регулярно вызывает эпидемии, а также пандемии с высоким уровнем смертности. Созданы программы для проведения статистического анализа замен нуклеотидов в кодирующих областях генов, которые были апробированы на большой выборке штаммов вируса гриппа типа А. Внутренние белки вириона оказались эволюционно стабильными, тогда как поверхностные антигены, а также неструктурный белок NS1 — высоковариабельными. Анализ выборки последовательностей матриксного белка M1 показал, что N-домен является крайне консервативным, а M- и C-домены — более изменчивыми. Предсказание внутренней неупорядоченности в пространственной структуре белка M1 по алгоритму DISOPRED выявило высокую структурную пластичность в C-доме.

Ключевые слова: вирус гриппа типа А, эволюционная стабильность, вариабельные участки, белок M1.

Благодаря быстрому развитию техники секвенирования ДНК в последнее время появились данные о целом ряде геномов различных организмов. Однако часть из них является неаннотированной, что не позволяет оценить эволюционную стабильность белков. Целью работы было создание алгоритма, позволяющего на основании данных о нуклеотидных последовательностях из баз данных судить о вариабельности закодированных в них белков. В качестве объекта для проверки созданного алгоритма использован достаточно хорошо изученный вирус гриппа, принадлежащий семейству оболочечных вирусов Orthomyxoviridae с сегментарным негативным РНК-геномом. В связи с высокой антигенной изменчивостью и способностью к реассортации генов вирус гриппа типа А имеет высокий эпидемический и пандемический потенциал.

Материалы и методы

Проанализировано около 10 тыс. штаммов вируса гриппа типа А разных антигенных подтипов, выделенных от разных хозяев (человека, птицы, свиньи) из базы данных вирусов гриппа Influenza Virus Database [1]. Для определения доли синонимичных и несинонимичных замен в каждой позиции множественных выравниваний кодирующих областей нуклеотидных последовательностей создана Программа 1 (Pr1), а для оценки отношения консервативных/неконсервативных аминокислотных замен — Программа 2 (Pr2), которая использует

в качестве стандарта наиболее часто встречающиеся в данной позиции а.о. и по матрице BLOSUM 82 оценивает их консервативность. Для анализа структурной вариабельности отдельных доменов белка использовали алгоритм DISOPRED [2], который предсказывает внутренне неупорядоченные области белка [3].

Результаты и обсуждение

С помощью Pr1 было показано, что наибольшее число несинонимичных замен наблюдается у белков HA и NA (рис. 1), что не удивительно, поскольку поверхностные антигены HA и NA максимально подвержены давлению положительного отбора. Напротив, в случае внутренних белков — нуклеопротеида (NP), образующего комплекс с геномными РНК, и в субъединицах вирусной РНК-полимеразы (PA, PB1, PB2), а также в матриксном белке M1, ионном канале M2 и минорном белке NS2 (NEP) преобладают синонимичные замены. Интересно, что в неструктурном белке NS1, который не входит в состав вириона, но экспрессируется в клетке при заражении ее вирусом, преобладают несинонимичные замены, что указывает на не-нейтральный характер эволюции этого белка. Вероятно, это связано с функцией белка NS1, являющегося антагонистом интерферона [4].

Мажорный белок вириона — матриксный белок M1, выстилающий изнутри оболочку вириона и выполняющий функцию “каркаса” и структурной связи между оболочкой и нуклеокапсидом, был

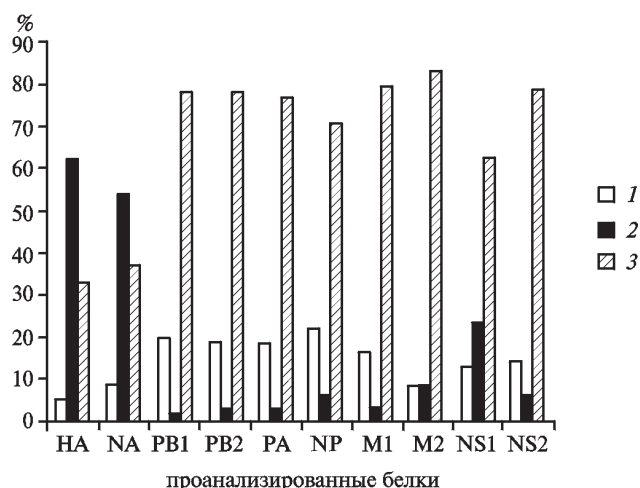


Рис. 1. Доля замен в выборке кодирующих нуклеотидных последовательностей вируса гриппа А. 1 — несинонимичные замены; 2 — синонимичные замены; 3 — триплеты без замен

изучен детально: с помощью различных программ были проанализированы структурные домены белка. В состав белка М1 входят 3 домена: N (а.о. 2—67), М (а.о. 91—158) и С (а.о. 165—252) [5]. Доля несинонимичных замен, рассчитанная с помощью Пр1, распределилась по доменам следующим образом: 11,7% приходится на N-домен, 37,5% на М-домен, 48,8% на С-домен; оставшаяся доля (3%) приходится на междоменные участки (главным образом, между М- и С-доменами). С помощью Пр2 мы показали, что в N-доме варьрует небольшое число остатков, причем присутствуют практически только консервативные замены (рис. 2, а). Напротив, в М- и С-доменах обнаружены и консервативные, и неконсервативные замены (рис. 2, а, б). В пограничной области между М- и С-доменами обращает на себя внимание повышение доли неконсервативных замен в позиции 168 (рис. 2, б). Таким образом,

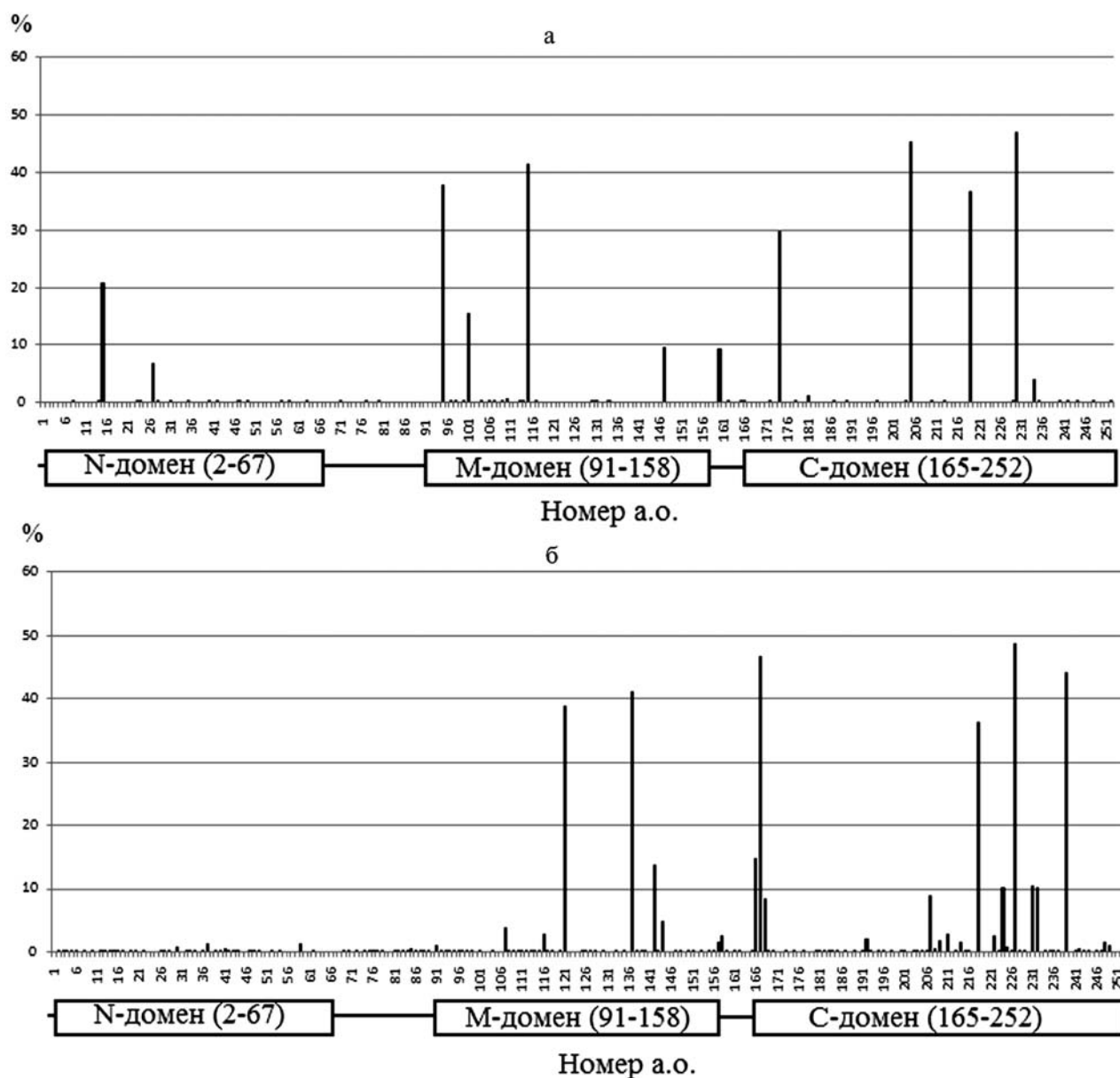


Рис. 2. Доли консервативных (а) и неконсервативных (б) замен в выборке аминокислотных последовательностей белка М1

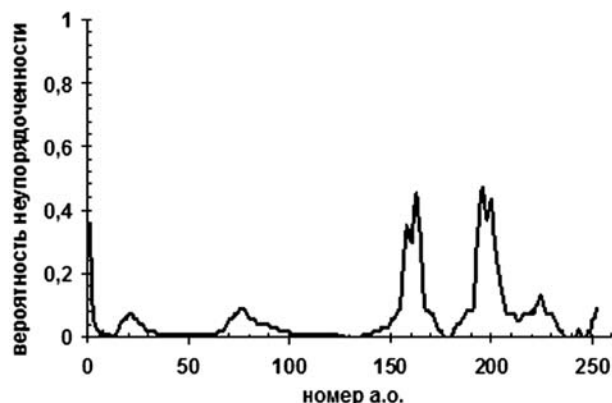


Рис. 3. Предсказание внутренне неупорядоченных областей белка M1 по алгоритму DISOPRED на примере штамма A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)

N-домен оказался наиболее эволюционно стабильным доменом белка M1, в то время как M- и C-домены — более вариабельны. Интересно, что внутренне неупорядоченные области в пространственной структуре белка M1 располагаются в основном в C-доме и на его границе с M-доме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Influenza Virus Database (URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/select.cgi> 03.04.2010).
2. The DISOPRED2 Prediction of Protein Disorder Server (URL: <http://bioinf4.cs.ucl.ac.uk:3000/disopred/04.03.2010>)
3. Ward J.J., Sodhi J.S., McGuffin L.J., Buxton B.F., Jones D.T. Prediction and functional analysis of native disorder

in proteins from the three kingdoms of life // J. Molec. Biol. 2004. Vol. 337. P. 635—645.

4. Obenauer J.C. *et al.* Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates // Science. 2006. Vol. 311. P. 1576—1580.

5. Sha B., Luo M. Structure of a bifunctional membrane-RNA binding protein, influenza virus matrix protein M1 // Nature Struct. Biol. 1997. Vol. 4. P. 239—244.

Поступила в редакцию
05.04.2010

ESTIMATION OF EVOLUTIONAL STABILITY OF INFLUENZA A VIRUS. PREDICTION OF VARIABLE REGIONS IN DOMAIN STRUCTURE OF M1 PROTEIN

M.A. Kuznetsova, U.A. Pekov, A.L. Ksenofontov, L.V. Kordyukova, V.L. Drutsa

Influenza virus is one of human pathogens, responsible for several pandemics with high death rate. For statistical analysis of coding regions of genes from extensive sample of Influenza A viruses two programs were written. While inner viral proteins appeared to be evolutionary stable, surface antigens and non structural protein NS1 are highly variable. Using written programs to predict evolutionary variable regions inside M1 protein sequence it was shown that N-domain is the most conservative one while M- and C-domains are more variable. In addition, C-domain was shown to be the most unfolded one according to DISOPRED algorithm prediction and, thus, possesses the most structural plasticity.

Key words: *influenza A virus, evolutionary stability, variable regions, M1 protein.*

Сведения об авторах

Кузнецова Мария Анатольевна — студентка факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ. Тел. +7-965-254-59-25; e-mail: mak1989@yandex.ru

Пеков Юрий Алексеевич — студент факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ. Тел. +7-916-641-73-60; e-mail: yurapekov@gmail.com

Ксенофонов Александр Леонидович — канд. хим. наук, ст. науч. сотр. НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел. 939-54-08; e-mail: ksenofon@belozersky.msu.ru

Кордюкова Лариса Валентиновна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел. 939-54-08; e-mail: kord@belozersky.msu.ru

Друца Валерий Львович — канд. хим. наук, вед. науч. сотр. НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел. 939-34-56; e-mail: drutsa@genebee.msu.ru