

ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ KLF4 И OCT4, РЕГУЛЯТОРОВ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТИ

Корсик В.Ю.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Кафедра медицинской биологии общей генетики, г. Минск*

Ключевые слова: молекулярная эволюция, плюрипотентность, транскрипционные факторы.

Резюме: В статье изложены результаты молекулярноэволюционного анализа аминокислотных последовательностей белковых транскрипционных факторов Klf4 и Oct4. В работе рассматривается связь транскрипционных факторов с регуляцией плюрипотентности клеток эукариот на примере класса млекопитающие.

Resume: This article presents the results of aminocid evolutionary analysis of Mammals transcription factors Klf4 and Oct4

Актуальность. Невозможно представить сегодняшнюю медицину без развития представлений о стволовых клетках. Доказательством тому можно считать Нобелевскую премию по физиологии и медицине 2012 года «За работы в области биологии развития и получения индуцированных стволовых клеток.»

В связи с этим становится очевидной исключительная роль транскрипционных факторов в поддержании плюрипотентности клеток нашего организма.[2] Ключевую

роль в реализации данного явления играют транскрипционные факторы Klf4 и Oct4. Зная первичную структуру этих белков и используя методы молекулярной эволюции, представляется возможным проследить закономерности эволюции этих белков на основании их первичной структуры.

Цель: Изучение эволюционных изменений белков Klf4 и Oct4 млекопитающих.

Материал и методы.

В работе использовались материалы Национального центра биотехнологической информации США, NCBI. Для последующего анализа были взяты полностью секвенированные аминокислотные последовательности 9 видов класса Млекопитающие. Выбор данного класса обусловлен полнотой расшифровки исследуемых последовательностей. Дальнейшая работа проводилась поэтапно.

Первый шаг представляет собой множественное *выравнивание* анализируемых сиквенсов. Этап проводился в пакете программ MEGA 6 по алгоритму ClustalW.

Species/Abbrv	Group Name	***** * *****
1. Homo sapiens		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
2. SuscrofaX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
3. Bos taurusX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
4. Orcinus orcaX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
5. Tursiops truncatusX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
6. Ceratotherium simumX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
7. Mustelaputorius furoX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
8. Pteropus alectoX1		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K L P A G A P V L R E E
9. Dasypus novemcinctusX2		M R P G G T I M A V T A L L F F F A G A G E K V P A G A P V L R E E

Рис. 1 - «Интерфейс множественного выравнивания в программе MEGA 6

Второй этап заключается в расчёте эволюционных дистанций. Для вычисления был использован метод дистанции, основанной на модели равных вставок (*EIM-дистанции*). Расчёт проводился в программе MEGA 6 по формуле (где $p = nd/n$ - p -дистанция, a $b = 1 - \sum_i g_i^2$, g_i - частота аминокислоты i):

$$d_{EIM} = -\log\left(1 - \frac{p}{b}\right).$$

Третьим заключительным вычислительным шагом стал этап расчета средней скорости молекулярной эволюции. Средняя скорость эволюции рассчитывалась по методике, предложенной Е.В. Барковским в 2005 году, как среднее арифметическое от скоростей эволюции попарно сравниваемых дивергировавших видов. Вычисления проводились по формуле (где d - средняя эволюционная дистанция, а t - время дивергенции видов (по данным С. Кумар и соавторов.)):

$$r = \frac{d}{2t} (\text{По}).$$

Таблица 1 - Общепринятые в молекулярной эволюции времена дивергенции различных таксономических групп.

Дивергировавшие организмы	Время дивергенции, млн. лет назад
человек/парнокопытные	92
человек/китообразные	93,5
человек/непарнокопытные	94
человек/хищные	94
человек/рукокрылые	100
человек/броненосцы	129

Результаты и обсуждение

Наглядной иллюстрацией полученных результатов можно считать представленную гистограмму. Горизонтально исчерченный столбец иллюстрирует медианную скорость эволюции рассчитанная для 60 различных белков (0,74 По). Серые столбцы – скорости молекулярной эволюции для белков разной степени консервативности. Диагонально исчерченные столбцы – полученные в ходе работы значения скорости молекулярной эволюции для белков Klf4 и Oct, равные 0,22 По и 0,36 По соответственно. Данные о медианной скорости и скоростях эволюции алкогольдегидрогеназы класса 3 (0,25 По), панкреатической рибонуклеазы (2,1 По), креатинкиназы (0,18 По) и гистона H4 (0,01 По) взяты из литературы [1].

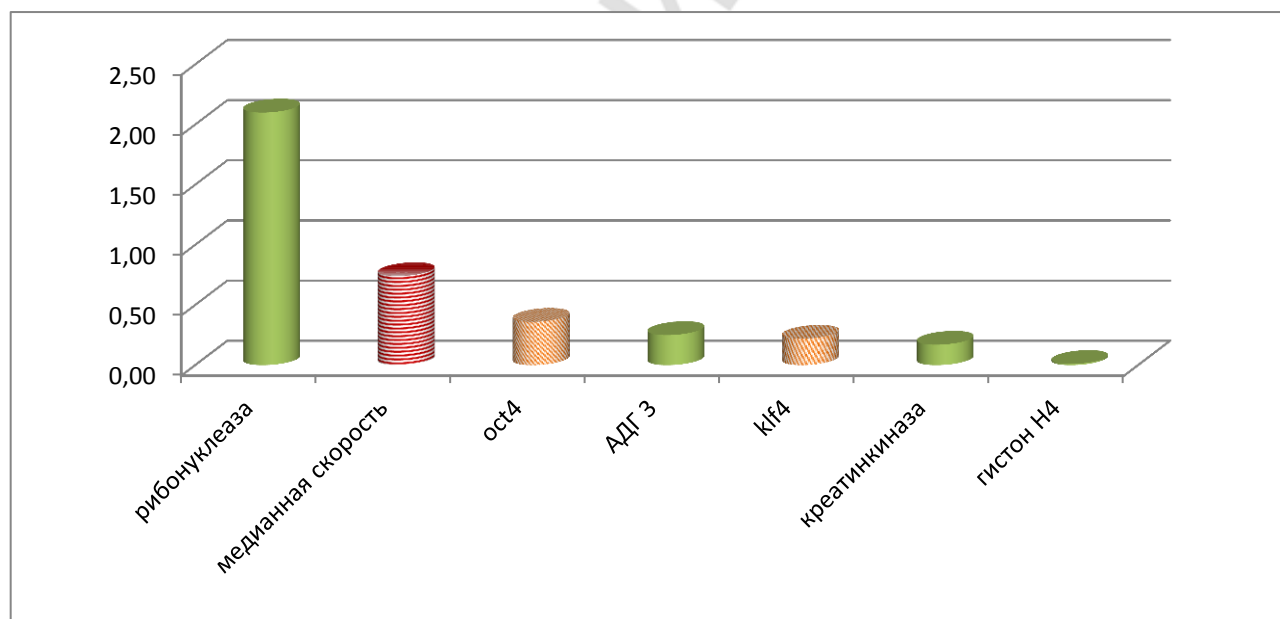


Рис. 2- Сравнение скоростей эволюции различных белков с медианной.

Выводы:

1. Скорость эволюции транскрипционного фактора Oct4 в 1,68 раз больше скорости для белка Klf4. 2. Скорость молекулярной эволюции исследуемых белков меньше медианной, что подтверждает их структурную и функциональную консервативность.

Заключение

Продланное исследование – первый шаг в большой работе по изучению параметров транскрипционных факторов. На основании полученных данных о белках Klf4 и Oct4, можно начинать исследования последовательностей нуклеиновых кислот, ко-

дирующих эти белки. Зная горячие точки мутирования и ГЦ-насыщенность генов KLF4 и Oct4 можно смоделировать искусственный ген транскрипционный факторов Klf4 и Oct4, который смог бы повысить эффективность перепрограммирования в связи с повышением стабильности мРНК-продукта.

Литература

1. Бутвиловский В. Э. Молекулярная эволюция: материалы к факультативному курсу / В. Э. Бутвиловский, А. В. Бутвиловский, Е. А. Черноус. – Мн.: БГМУ. - 2012. - С. 36–40, 75.
2. Льюин Б. Гены / Б. Льюин. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. - С. 650-674.