

В. Ю. Корсик

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ KLF4 И OCT4, РЕГУЛЯТОРОВ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТИ

*Научные руководитель канд. биол. наук, доц. Н. И. Мезен
Кафедра биологии,*

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В статье изложены результаты эволюционного анализа аминокислотных последовательностей белковых транскрипционных факторов *Klf4* и *Oct4*. Описана связь транскрипционных факторов с регуляцией плюрипотентности клеток млекопитающих.

Ключевые слова: молекулярная эволюция, плюрипотентность, транскрипционные факторы.

Resume. The article presents the results of evolutionary analysis of aminoacid sequences of transcription factors *Klf4* and *Oct4*. The article describes the relationships between transcription's regulation and pluripotency of cells.

Keywords: molecular evolution, pluripotency, transcription factors.

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.[1] 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 этап представляет собой множественное **выравнивание** анализируемых сиквенсов. Этап проводился в пакете программ MEGA 6 по алгоритму ClustalW. **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, представленной на рисунке 1, где $p = nd/n$ - p -дистанция, а $b = 1 - \sum_i g_i^2$, g_i - частота аминокислоты i :

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

Рисунок 1 – Расчёт эволюционных дистанций

Третьим заключительным вычислительных этапов 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, представленной на рисунке 2, где d – средняя эволюционная дистанция, а t – время дивергенции видов по данным С. Кумар и соавторов представлена в таблице 1:

$$r = \frac{d}{2t} (\text{По})$$

Рисунок 2 – Расчет средней скорости молекулярной эволюции

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 (Рисунок 3). Горизонтально исчерченный столбец которой есть ничто иное, как медианная 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 скоростей молекулярной эволюции для белков KLf4 и Oст, 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[2].

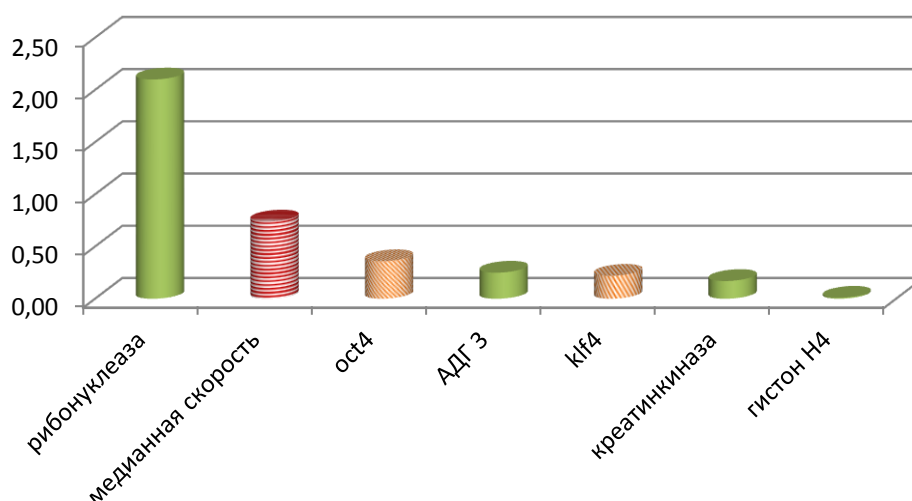


Рисунок 3 – Сравнение скоростей эволюции различных белков с медианной

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. Опираясь на результаты проделанного исследования, можно начинать новую, перспективную работу по изучению последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих Klf4 и Oct4. 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.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликована 2 статьи в сборниках материалов, 2 тезисов докладов, получен 1 акт внедрения в образовательный процесс (кафедра биологии БГМУ).

V. Y. Korsik

EVOLUTIONARY CHANGES OF TRANSCRIPTION FACTORS KLF4 AND OCT4 THE REGULATORS OF PLURIPOTENCY

Tutor associate professor N. I. Mezen

Department of Biology,

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Льюин, Б. Гены / Б. Льюин. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 674 с.
2. Бутвиловский, В. Э. Молекулярная эволюция: материалы к факультативному курсу / В. Э. Бутвиловский, А. В. Бутвиловский, Е. А. Черноус. – Мн.: БГМУ. – 2012. – 175 с.