

ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АНАЛИЗ СЕМЕЙСТВА ГЕНОВ RUNX У ПОЗВОНОЧНЫХ

Е. М. Громова

Белорусский государственный университет, г. Минск;

el.m.gromova@gmail.com;

науч. рук. – Т. В. Романовская, канд. биол. наук, доц.

Гены RUNX у человека и других позвоночных выступают в качестве важных регуляторов в процессах клеточного развития и обладают парадоксальными эффектами при развитии рака: они могут функционировать и как гены-супрессоры опухолей, и как доминантные онкогены в зависимости от условий. Соответственно, понимание их роли в различных молекулярных процессах в будущем может иметь принципиальное значение при диагностике и лечении разного рода заболеваний. Целью данной работы являлось раскрытие эволюционных отношений между членами семейства RUNX, а также определение функционально важных позиций в Runt-домене, отличающих членов семейства друг от друга. Было показано, что раннее предположение о наибольшей консервативности RUNX3 среди всех членов семейства, по-видимому, является ошибочным. Также были найдены вероятно функционально важные позиции в Runt-домене у человека, которые могут влиять на связывание со специфическими белками-партнёрами для отдельных членов семейства RUNX.

Ключевые слова: семейство генов RUNX; онологи; позвоночные; филогенетика; биоинформатика.

ВВЕДЕНИЕ

Семейство генов RUNX у позвоночных включает 3 гена: RUNX1, RUNX2 и RUNX3. Они кодируют транскрипционные факторы, которые участвуют в регуляции развития различных систем органов. Нарушения в генах RUNX могут приводить к онкологическим заболеваниям [1].

Определяющим компонентом транскрипционных факторов RUNX является присутствие высококонсервативного домена Runt, который отвечает за взаимодействие с ДНК, другими белками, гетеродимеризацию и ядерную локализацию [1].

Известно, что общий предок позвоночных прошёл два раунда полногеномной дупликации. Паралогичные гены, образовавшиеся в результате этого события, называются онологами, к коим и относятся гены семейства RUNX. Идентификация онологов является непростой задачей из-за дальнейших специфических перестроек геномов. Что интересно, обнаруживается существенная связь между онологами и различными болезнями, в том числе раком [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для филогенетического анализа была создана выборка видов позвоночных, репрезентирующая разные классы этого подтипа: *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Gallus gallus*, *Chelonia midas*, *Xenopus tropicalis*, *Danio rerio*. В качестве внешней группы был выбран представитель класса Морские ежи *Strongylocentrotus purpuratus*. Выбирались самые длинные продукты сплайсинга в базе данных NCBI RefSeq.

Полученные последовательности выравнивались алгоритмом MUSCLE из пакета MEGAX и редактировались с помощью программы Gblocks с минимальной жесткостью селекции позиций. Эволюционные модели замен определялись соответствующим инструментом в MEGAX. Филогенетические деревья в MEGAX строились методом максимального правдоподобия. Деревья с заданной топологией выполнялись пакетом программ BEAST2.0.

Для анализа позиций в домене Runt, характерных для отдельных членов семейства RUNX, проводился поиск патогенных и вероятно патогенных однонуклеотидных миссенс-мутаций в базе данных ClinVar. Мутации в уникальных для членов семейства позициях, которые встречаются в популяции и не приводят к патологическим состояниям, обнаруживались с помощью базы данных dbSNP. Для визуализации полученных данных использовалась программа SnapGene Viewer.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Построенные в программе MEGAX филогенетические деревья для членов семейства RUNX подтвердили, что после дивергенции три гена семейства далее изменялись независимо друг от друга. Для определения скорости накопления изменений отдельными генами и белками семейства RUNX были построены деревья с заданной топологией (рис. 1). На данных деревьях длина ветвей показывает, сколько мутаций произошло за время эволюции между линиями, то есть чем длиннее ветвь, тем больше произошло и закрепилось изменений. Здесь обнаруживается интересный момент. Долгое время считалось, что RUNX3 из всех трех членов семейства отличается наибольшей консервативностью, что было выведено из относительного размера генов, экзон-интронной структуры и характера экспрессии [3]. Однако, из построенных деревьев видно, что такое предположение скорее является ошибочным, поскольку нуклеотидная и аминокислотная последовательности RUNX3 накопили либо большее, либо сравнимое количество изменений, что и остальные члены семейства.

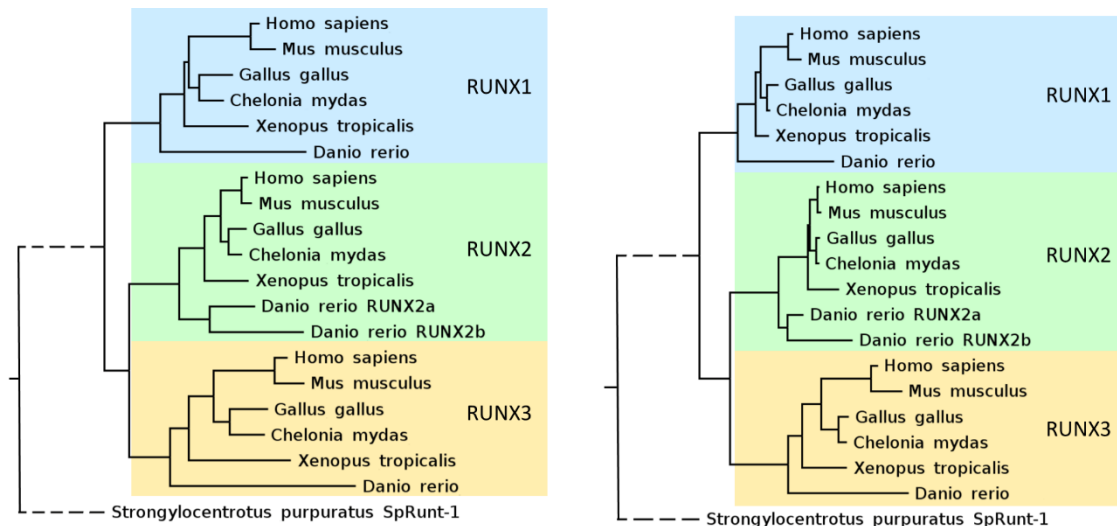


Рис. 1. Филогенетические деревья с заданной топологией для нуклеотидных (слева, эволюционная модель замен НКУ+G+I) и аминокислотных (справа, эволюционная модель замен JTT+G) последовательностей членов семейства RUNX (пунктиром обозначены ветви, не отражающие действительную длину)

Хотя домен Runt и является высококонсервативным среди всех членов семейства RUNX, в нём всё равно наблюдаются позиции, которые отличают один ген семейства от другого. Был проведен поиск потенциально функционально важных замен исходя из допущения, что если конкретная аминокислота в соответствующей позиции значима и определяет индивидуальные характеристики каждого члена семейства, то миссенс мутации по данной позиции будут приводить либо к летальному исходу на ранних стадиях развития, либо к патогенным состояниям.

На рисунке 2 представлены уникальные аминокислотные сайты в домене Runt для RUNX1 и RUNX2. Как видно, ни на одну из этих позиций не приходится мутаций, связанных с патогенными или вероятно патогенными состояниями. Что касается изменений, которые встречаются в популяции и не ассоциированы с патологиями, то такие найдены у RUNX1 для Thr104 и Thr148 и у RUNX2 для Ala111 и Glu147. Следовательно, остальные позиции (отмечены на рисунке черным) могут быть связаны со специфическими функциями отдельных членов семейства RUNX.

Для RUNX3 уникальные позиции наблюдаются для Ala77 и Thr175, причем замены, не ассоциированные с патогенными состояниями, обнаруживаются для Ala77, но не для Thr175. Интересно, что для белка RUNX3 вообще не описано патогенных и вероятно патогенных миссенс мутаций, что может свидетельствовать о том, что изменения в функционально значимых сайтах молекулы однозначно приводят к летальному исходу на эмбриональной стадии развития.

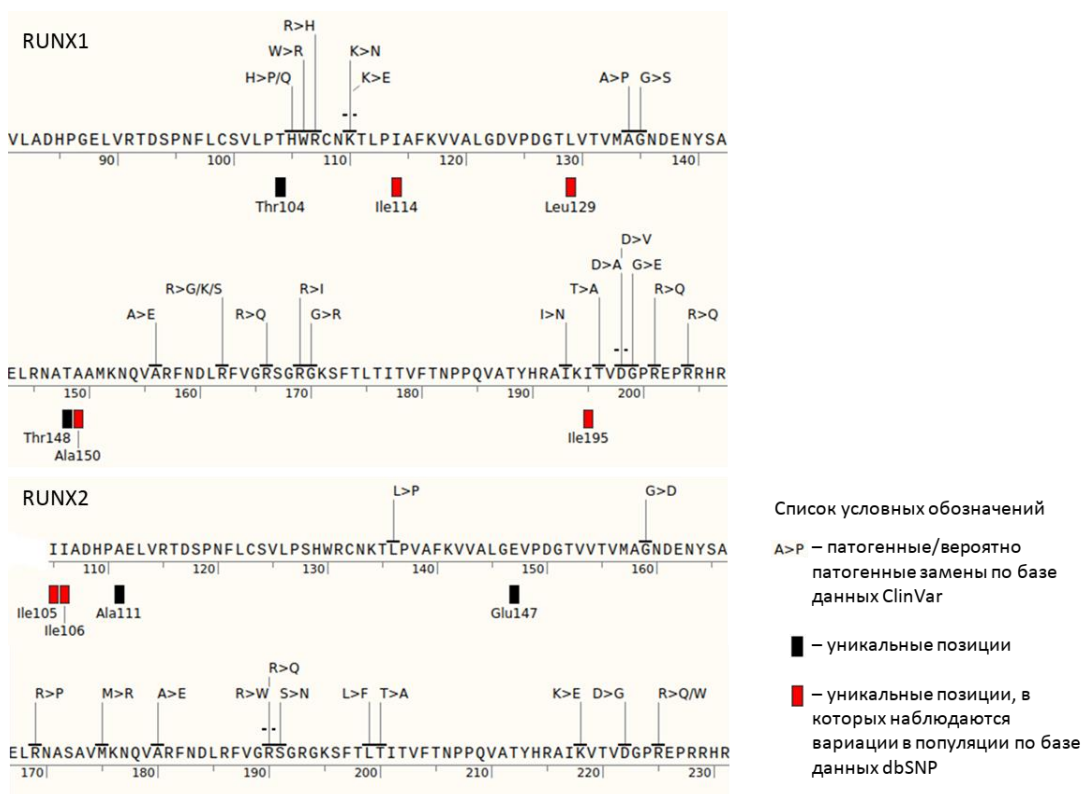


Рис. 2. Уникальные аминокислотные позиции в Runt-домене для RUNX1 и RUNX2

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После двух раундов полногеномной дупликации гены RUNX далее изменялись независимо друг от друга. RUNX3 не является самым консервативным членом семейства, как это предполагалось ранее.

Найдены вероятно функционально важные позиции в Runt-домене, отличающие белки семейства у человека друг от друга: для RUNX1 – Ile114, Leu129, Ala150 и Ile195; для RUNX2 – Ile105 и Ile106; для RUNX3 – Thr175. Данные сайты могут влиять на связывание со специфическими белками-партнёрами для отдельных членов семейства RUNX, что требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Библиографические ссылки

1. RUNX transcription factors: orchestrators of development / R. Mevel [et al.] // Development. – 2019. – Vol. 146, № 17. – 19 p.
2. Singh, P.P. OHNOLOGS v2: a comprehensive resource for the genes retained from whole genome duplication in vertebrates / P.P. Singh, H. Isambert // Nucleic Acids Research. – 2020. – Vol. 48, № D1, 08. – P. D724- D730.
3. Phylogenesis and regulated expression of the RUNT domain transcription factors RUNX1 and RUNX3 / D. Levanon [et al.] // Blood Cells, Molecules, and Diseases. – 2003. – Vol. 30, № 2. – P. 161-163.