Скрининг субтилизин-подобных пептидаз в геномах высших грибов

Научный руководитель – Дунаевский Яков Ефимович

Алкин Никита Александрович

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микологии и альгологии, Москва, Россия *E-mail: nikita9801@mail.ru*

Субтилизин-подобные пептидазы (СПП) играют важную роль в приспособлении грибов к различным трофическим нишам: в силу низкой специфичности большинства СПП они являются основными секретируемыми пептидазами многих сапротрофных грибов, а также выступают в качестве факторов вирулентности у немато- и энтомопатогенов и необходимы для взаимодействия эндофитов с растением-хозяином [1]. С точки зрения биотехнологии грибные СПП, в частности, представляют интерес ввиду наличия у некоторых из них активности в отношении богатых глутамином белков клейковины злаков, что может быть использовано при производстве безглютеновых продуктов питания.

В задачи исследования входил биоинформатический поиск гомологов СПП эндофитного аскомицета *Epichloë typhina* с описанной *in silico* системой из 15 СПП в геномах 42 видов высших грибов [1]. Поиск производили при помощи сервиса blastp, в качестве запроса использовали аминокислотные последовательности СПП из базы данных SWISS-PROT. Данные последовательности при помощи сервисов SignalP 5.0 и ТМНММ v. 2.0 анализировали на предмет наличия сигнального пептида и трансмембранного домена, соответственно. При помощи сервиса Clustal Omega производили выравнивание аминокислотных последовательностей найденных гомологов и типовых ферментов соответствующих семейств СПП. В сервисе Batch CD-search исследовали доменный состав выявленных гомолов СПП.

Гомологи СПП были обнаружены в геномах всех выбранных видов, при этом общее их число варьировало от 1 у Taphrina deformans до 31 у энтомопатогенного Metarhizium anisopliae. У всех видов, кроме Т. deformans, были обнаружены гомологи СПП из семейства кексина, их число в пределах одного генома варьировало от 1 до 2; у всех видов, кроме Hypocrella siamensis, были обнаружены гомологи СПП из группы протеиназы K, наиболее перспективные с точки зрения постлутаминовой пептидазной активности, их количество в пределах вида варьировало до 1 до 19 (M. anisopliae). У 22 видов обнаружены гомологи СПП группы пиролизина, у 3 видов - группы КР-43. Большинство обнаруженных последовательностей несёт N-концевой сигнальный пептид, гомологи кексина также содержат один трансмембранный домен в С-концевой трети последовательности; их предположительной локализацией является аппарат Гольджи. Гомологи пиролизина, КР-43 и протеиназы К, вероятнее всего, являются секретируемыми ферментами и выполняют трофическую функцию. Композиция активного центра и доменная структура выявленных гомологов совпадают с таковыми у охарактеризованных СПП, что свидетельствует в пользу их потенциальной активности. Спектр гомологов СПП у изученных видов коррелирует с экологией в большей степени, чем с таксономическим положением: фито- и энтомопатогенные грибы лидируют по числу СПП.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00852 А.

1) Bryant M.K., Schardl C.L., Hesse U., Scott B. Evolution of a subtilisin-like protease gene family in the grass endophytic fungus Epichloë typhina // BMC Evol Biol. 2009. No. 9. 168.