

Поиск и функциональная аннотация многодоменных белков семейства фосфолипаз A2 у плоских червей

Бочарникова М.^{1,2*}, Турнаев И.¹, Афонников Д.^{1,2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Курчатowskiй геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

* lachynova@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: плоские черви; паразиты человека; фосфолипаза A2; филогения

Мотивация и цель: Семейство ферментов гидролаз – фосфолипазы типа A2 широко известны наличием множества важных биологических функций. Они участвуют в базовых биохимических реакциях человека и большинства других организмов [1]. Впервые ФА2 были обнаружены как цитотоксины яда змей и ферменты панкреатического сока свиней. На данный момент стали широко известны антипаразитические свойства этих ферментов [2]. Также объектом нашего исследования являлись плоские черви. Паразитические плоские черви – один из наиболее распространенных типов гельминтов человека и животных на территории России. А продолжительная болезнь (например, описторхоз) ведет к канцерогенезу [3]. На данный момент есть только разрозненные знания о ФА2 плоских червей. Неизвестно, какие именно функции выполняет ФА2 паразитических плоских червей. Однако есть исследования, где показано, что ФА2 может выступать в качестве маскировки паразита в организме хозяина [4]. Целью работы является поиск генов и аннотация функций белков фосфолипаз A2 у плоских червей.

Методы и алгоритмы: Для поиска генов белков ФА2 у плоских червей мы разработали вычислительный конвейер OrthoDom, который включает два основных этапа: фильтрация специфических доменов и кластеризация ортологов исследуемых организмов. Мы исследовали белковые последовательности плоских червей 44 видов – 2 свободноживущих и 42 паразитических. Для идентификации белков фосфолипаз A2 у плоских червей на разные типы мы использовали референсные последовательности фосфолипаз позвоночных, которые были классифицированы по 11 основным типам. Мы определяли принадлежность белковых последовательностей червей к фосфолипазам определенного типа, если они попали в одну ортогруппу с референсными белками фосфолипаз позвоночных.

Особенностью алгоритма Orthofinder является поиск ортологов на основе быстрого парного сравнения последовательностей, которое в случае многодоменных белков (к которым относятся фосфолипазы) может давать ошибки. Чтобы учесть разнообразие доменного состава фосфолипаз, мы проводим дополнительную верификацию последовательностей, принадлежащих к ортогруппам, включающим фосфолипазы позвоночных: если набор доменов, характерных для данного типа фосфолипаз, у белков червей отличается, мы исключали такие белки из списка. Также был проведен анализ экспрессии ФА2 у паразитических и свободноживущих плоских червей.

Результаты: Главным результатом нашего исследования является корреляция наличия ФА2 различных типов с образом жизни плоских червей (свободноживущие и паразиты). У паразитических плоских червей наблюдается редукция большинства типов ФА2. Однако у присутствующих типов ФА2 высокая дупликация этих генов в геномах. У свободноживущих червей, наоборот, представлено большинство типов ФА2, но в основном единократно.

Выводы: Эти результаты позволяют лучше понять связь между разнообразием ФА2 и специфическим образом жизни плоских червей, что может иметь важные иммунологические и эволюционные последствия.

Финансирование: Исследование поддержано Курчатовским геномным центром ИЦиГ СО РАН (проект № 075-15-2019-1662): разработка метода идентификации ортологов OrthoDom.

Search and functional annotation of multi-domain proteins from the phospholipase A2 family in flatworms

Bocharnikova M.^{1, 2*}, Turnaev I.¹, Afonnikov D.^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

* lachynova@bionet.nsc.ru

Key words: flatworms; human parasites; phospholipase A2; phylogeny

Motivation and Aim: The family of hydrolase enzymes, phospholipases type A2, is widely known for having many important biological functions. They are involved in the basic biochemical reactions of humans and most other organisms [1]. For the first time, FA2 was made public as cytotoxins of snake venom and enzymes of pig pancreatic juice. At the moment, the antiparasitic properties of these enzymes have become widely known [2]. Flatworms were also the object of our research. Parasitic flatworms are one of the most common types of helminths of humans and animals in Russia. And prolonged illness (for example, opisthorchiasis) leads to carcinogenesis [3]. At the moment, there is only scattered knowledge about FA2 flatworms. It is unknown exactly what functions the FA2 of parasitic flatworms performs. However, there are studies that have shown that FA2 can act as a parasite disguise in the host body [4]. The aim of the work is to search for genes and abstract the functions of phospholipase A2 proteins in flatworms.

Methods and Algorithms: To search for FA2 protein genes in flatworms, we have developed the OrthoDom computational pipeline, which includes the following two main stages – filtering of specific domains and clustering of orthologs of the studied organisms. We studied the protein sequences of flatworms of 44 species, 2 free-living and 42 parasitic. To identify phospholipase A2 proteins in flatworms into different types, we used reference sequences of vertebrate phospholipases, which were classified into 11 main types. We determined the belonging of worm protein sequences to phospholipases of a certain type if they fell into the same orthogroup with reference proteins of vertebrate phospholipases.

A feature of the Orthofinder algorithm is the search for orthologs based on fast paired sequence comparison, which in the case of multi-domain proteins (which include phospholipases) can give errors. To take into account the diversity of the domain composition of phospholipases, we perform additional verification of sequences

belonging to orthogroups including vertebrate phospholipases: if the set of domains characteristic of this type of phospholipase in worm proteins differs, we excluded such proteins from the list. FA2 expression was also analyzed in parasitic and free-living flatworms.

Results: These results provide a better understanding of the relationship between FA2 diversity and the specific lifestyle of flatworms, which may have important immunological and evolutionary implications.

Funding: The study was supported by the Kurchatov Genomic Center of the ICG SB RAS (project No. 075-15-2019-1662): development of the OrthoDom method for orthologs identification.

Список литературы/References

1. Dennis E.A., Cao J., Hsu Y.H., Magrioti V., Kokotos G. Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. *Chem Rev.* 2011;111(10):6130-6185. doi 10.1021/cr200085w
2. Handbook of natural toxins. V. 3. Marine toxins and venoms. New York and Basel, 1988
3. Scholte L.L.S., Pascoal-Xavier M.A., Nahum L.A. Helminths and cancers from the evolutionary perspective. *Front Med.* 2018;5:90
4. Teixeira S.C., da Silva M.S., Gomes A.A.S., Moretti N.S., Lopes D.S., Ferro E.A.V., Rodrigues V.M. Panacea within a Pandora's box: the antiparasitic effects of phospholipases A₂ (PLA₂s) from snake venoms. *Trends Parasitol.* 2022;(1):80-94. doi 10.1016/j.pt.2021.07.004