

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПЕРВИЧНЫХ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РЕЦЕПТОРА ТИПА 1 К АНГИОТЕНЗИНУ II ЧЕЛОВЕКА И РАЗЛИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

А. А. Бригадирова^{1, 2}, А. С. Нагих¹, П. М. Васильев¹

¹Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии,

²Волгоградский медицинский научный центр, лаборатория экспериментальной фармакологии

В настоящей работе выполнено биоинформационное сравнение первичных аминокислотных последовательностей рецептора типа 1 к ангиотензину II (AGTR1) человека и различных животных. Показано, что наиболее сходной первичной последовательностью AGTR1 к человеческой обладает кролик.

Ключевые слова: ангиотензин II, ангиотензиновый рецептор типа 1, сравнительный биоинформационный анализ, первичные аминокислотные последовательности, Clustal, BLAST.

COMPARATIVE BIOINFORMATIC ANALYSIS OF PRIMARY AMINO ACID SEQUENCES OF ANGIOTENSIN II RECEPTOR TYPE 1 OF HUMANS AND VARIOUS ANIMALS

A. A. Brigadirova^{1, 2}, A. S. Nagikh¹, P. M. Vassiliev¹

¹Volgograd State Medical University, department of pharmacology

²Volgograd Medical Research Centre, laboratory of experimental pharmacology

In the current study the bioinformatic comparison of primary amino acid sequences of angiotensin II receptor type 1 (AGTR1) of humans and various animals was performed. We showed that the amino acid sequence of rabbit AGTR1 is most similar to that of humans.

Key words: angiotensin II, angiotensin II receptor type 1, comparative bioinformatic analysis, primary amino acid sequences, Clustal, BLAST.

Ангиотензин (АТ II) является мультифункциональным гормоном, который играет ключевую роль в регуляции артериального давления и сердечно-сосудистого гомеостаза [8, 9]. Его действие осуществляется при помощи, по меньшей мере, двух типов рецепторов — 1-го типа (AGTR1) и 2-го типа (AGTR2). Дополнительно были идентифицированы другие типы ангиотензиновых рецепторов, которые могут участвовать в распознавании других фрагментов ангиотензиновых пептидов, однако к настоящему времени только AGTR1 и AGTR2 были выделены у человека и животных. Большинство известных эффектов АТ II, такие как вазоконстрикция, облегчение симпатической передачи, стимуляция секреции альдостерона и активация клеточного роста, осуществляются с помощью AGTR1 [5, 6]. Ген, кодирующий 1 тип рецепторов, предположительно, является главным посредником в развитии большинства сердечно-сосудистых эффектов АТ II [2].

К настоящему времени выделены, клонированы и охарактеризованы AGTR1 человека и некоторых животных, в том числе мыши, крысы, быка и др. [5, 8]. Для одиннадцати видов млекопитающих: человек, крыса, мышь, собака, бык, кролик, овца, морская свинка, шимпанзе, свинья, лошадь полностью расшифрована первичная структура AGTR1 (база данных UniProt).

Современные базы данных (UniProt) и компьютерные программы (BLAST, Clustal) обеспечивают исследователей необходимыми функциональными возможностями для проведения сравнительного анализа первичных структур белков с целью обнаружения в них сходных аминокислотных последовательностей.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести анализ схожести данного рецептора у человека в сравнении с различными животными. Выявить наиболее похожий AGTR1 у различных животных с данным рецептором у человека. Определить самое подходящее лабораторное животное для тестов по фармакологическому поиску *in vitro* различных лигандов, обладающих сродством к AGTR1.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичные последовательности были взяты из базы данных UniProt [10]. Использованы первичные последовательности AGTR1 для 16 животных: крысы (код белка в UniProt P25095), кролика (P34976), овцы (O77590), морской свинки (Q9WV26), быка (P25104), курицы (P79785), индейки (P33396), собаки (P43240), монгольской полевки (O35210), мыши (P29754), африканской лягушки (P32303), лошади (F7D1N0), мухоловки-белошейки (U3KLD4), сибаса (E6ZIX3), бычьей лягушки (E0D5D2), утки (R0JNG8).

Для попарного сравнения этих первичных последовательностей с человеческой (P30556) использовали программу ClustalX2 [4] и систему BLAST [3].

ClustalX2 — программа, используемая для множественного выравнивания последовательностей. Множественное выравнивание последовательностей («multiple sequence alignment») представляет собой выравнивание двух и более аминокислотных последовательностей [7].

В качестве исходных данных в программе использовались первичные последовательности, которые,

предположительно, являлись гомологичными. Выравнивание помогло сделать явной гомологию входных последовательностей (рис. 1).



Рис. 1. Результат выравнивания первичных последовательностей человека и сибаса. Аминокислоты выделяются различными цветами. «*» — идентичные аминокислоты (полное совпадение), «:» — сильно похожие аминокислоты, «.» — слабо похожие аминокислоты, «-» — совсем непохожие аминокислоты («гэппы»)

В данной программе сохранение результатов попарного сравнения производилось в файле формата .dnd. В нем содержится оценка сходства последовательностей (рис. 2).

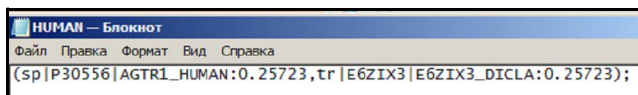


Рис. 2. Оценка сходства первичных последовательностей AGTR1 человека и сибаса

Далее с помощью системы BLAST (модуль BLASTP) были найдены показатели сходства между последовательностями. В программе попарно сравнивали первичные последовательности и вычисляли показатели сходства и статистическую значимость полученных выравниваний (рис. 3).

Показатели вычислений BLAST и Clustal подвергли ранговой оценке. Затем были вычислены средние

значения рангов параметров BLAST. Конечным результатом, по которому делается вывод о наиболее идентичном строении рецептора у животных по сравнению с рецептором у человека, является полусумма ранговых оценок, полученных в системах BLAST и Clustal.

Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
356	356	92%	3e-125	50%	Query_151717

Рис. 3. Параметры оценки сходства белков в системе BLAST (модуль BLAST P): Max score — битовая оценка сходства пары сегментов с максимальным сходством, Total score — общая битовая оценка сходства двух выровненных последовательностей; Query cover — процент покрытия целевой последовательности сравниваемой последовательностью; E — шанс различия двух последовательностей; Ident — процент аминокислот в целевой последовательности, идентичных аминокислотам в сравниваемой последовательности, Accession — номер записи целевого белка в базе данных BLAST

Статистически достоверно сходные или различные пары последовательностей выявляли путем построения 95%-го доверительного интервала для медианы [1] в ряду упорядоченных значений оценок сходства.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все показатели вычислений BLAST и Clustal были занесены в таблицу Microsoft Excel 2007.

Результаты вычислений показали, что наиболее сходной структурой AGTR1 с таковой у человека обладает кролик. Также статистически достоверно сходными с AGTR1 человека являются следующие виды животных (табл.):

Результаты сравнения первичных аминокислотных последовательностей рецептора типа 1 к ангиотензину II человека с различными животными

Организм	BLAST					Clustal	Ранги					Среднее	Ранг	Общее
	Max score	Gen score	Quality, %	E	Ident, %		Max score	Gen score	Quality	E	Ident			
Кролик	721	721	100	0	98	0,011142	1	1	1	1	1	1,0	1	1,0*
Свинья	711	711	100	0	96	0,020891	2	2	1	1	2	1,6	2	1,8*
Бык	707	707	100	0	95	0,023677	3	3	1	1	4	2,4	2	2,7*
Крыса	704	704	100	0	95	0,026462	4	4	1	1	4	2,6	4	3,4*
Собака	697	697	100	0	95	0,02646	8	8	1	1	4	2,8	4	4,2
Овца	700	700	100	0	94	0,027855	6	6	1	1	8	4,4	6	5,2
Мышь	702	702	100	0	94	0,027855	5	5	1	16	8	7,0	6	6,5
Монгольская полевка	699	699	100	0	93	0,03482	7	7	1	1	11	5,4	8	6,7
Лошадь	699	699	100	0	94	0,036313	9	9	1	1	8	5,6	9	7,3
Курица	552	552	100	0	96	0,121170	10	10	1	1	2	4,8	10	7,4
Индейка	552	552	100	0	76	0,121170	10	10	1	1	12	6,8	10	8,4
Утка	541	541	100	0	95	0,12535	13	13	1	1	4	6,4	12	9,2
Мухоловка-белошейка	546	546	100	0	75	0,13092	12	12	1	15	13	10,6	13	11,8**
Бычья лягушка	483	483	99	5,00E-175	63	0,1922	14	14	14	1	14	11,4	14	12,7**
Африканская лягушка	462	462	96	0	63	0,19916	15	15	15	1	15	12,0	15	13,5**
Сибас	356	356	92	3,00E-125	50	0,25723	16	16	16	14	16	15,6	16	15,8**

*Статистически самые похожие животные;

** статистически самые не похожие животные.

свинья, бык, крыса. По результатам вычислений можно сделать вывод о том, что лиганды, проявляющие высокий аффинитет к AGTR1 человека, будут также активно взаимодействовать с AGTR1 кролика, свиньи, быка и крысы. Статистически достоверно отличаются от человеческой структуры AGTR1 следующих животных: мухоловка-белошейка, бычья лягушка, африканская лягушка, сибас. Возможно, что лиганды проявляющие высокий аффинитет к AGTR1 человека? будут слабо взаимодействовать с AGTR1 вышеуказанных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Был проведен биоинформационный анализ парного сходства первичных последовательностей AGTR1 человека и различных животных. На основании полученных данных сделали вывод о том, что кролик, свинья, бык и крыса обладают наиболее схожим строением AGTR1 с данным рецептором у человека. Так, по результатам исследования, для проведения тестов по фармакологическому поиску *in vitro* различных лигандов, обладающих сродством к AGTR1, самым подходящим лабораторным животным является кролик.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глотов Н. В., Животовский Л. А., Хованов Н. В. и др. Биометрия: Учеб. пособие. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 264 с.

2. Adamski M. G., Golenia A., Turaj W., et al. // *Neurol. Neurochir. Pol.* — 2014. — Vol. 48(4). — P. 242—247.

3. BLAST@: Официальный сайт U.S. National Library of Medicine [Электронный ресурс]. — 2013. URL: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

4. ClustalW/ClustalX: Официальный сайт University College Dublin, Ireland [Электронный ресурс]. — 2013. URL: <http://www.clustal.org/clustal2/>.

5. De Gasparo M., Catt K. J., Inagami T., et al. // *Pharmacol. Rev.* — 2000. — Vol. 52(3). — P. 415—472.

6. Dihn D. T., Frauman A. G., Jonston C. I., Fabiani M. E. / *Clin. Sci.* — 2001. — Vol. 100 (5). — P. 481—492.

7. Edgar R. C., Batzoglou S. // *Current Opinion in Structural Biology.* — 2006. — Vol. 16 (3). — P. 368—373.

8. Mehta P. K., Griendling K. K. // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* — 2007. — Vol. 292 (1). — P. 82—97.

9. Spasov A. A., Yakovlev D. S., Bukatina T. M., Brigadirova A. A. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* — 2014. — Vol. 158 (1). — P. 115—117.

10. URL: <http://www.uniprot.org/> (дата обращения: 01.12.2015).

Контактная информация

Бригадирова Анастасия Андреевна — ассистент кафедры фармакологии, м. н. с. лаб. экспериментальной фармакологии ГБУ ВМНЦ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: a.brigadirova@gmail.com