

Ewolucja rodzin proteaz serynowych u grzybów o zróżnicowanym trybie życia

Serine protease evolution in fungi with variable lifestyles

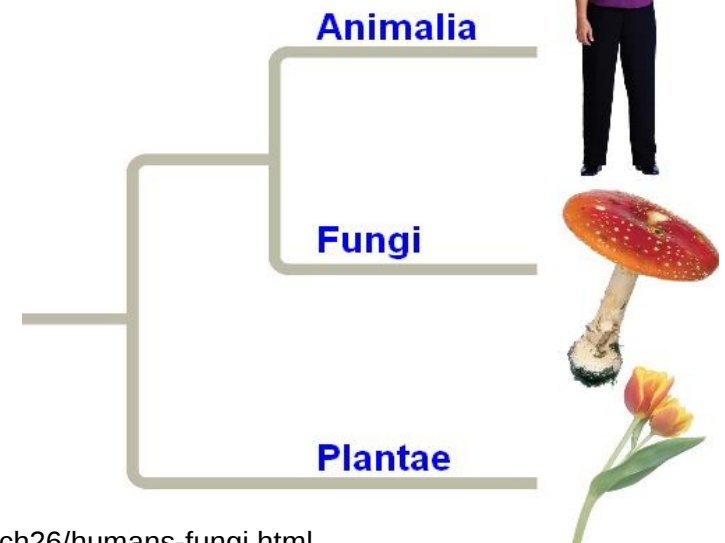
Agata Dziedzic

Promotorki:
dr Anna Muszewska
dr Marta Wrzosek

Zdefiniowanie przedmiotu badań

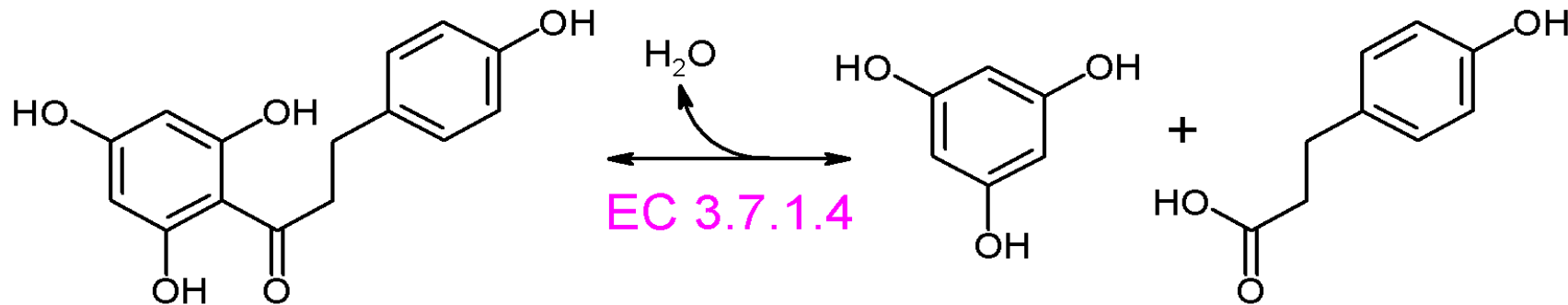
Grzyby

- Grzyby są osmotrofami
- Sekretowane enzymy są ściśle związane z trybem życia
- ~100 000 opisanych gatunków (z 1,5 mln?)
- Liczba znanych genomów - ~600 (z czego 99% Dikarya)
- Są siostrzaną grupą dla zwierząt



Proteazy

- **Hydrolazy** (EC 3)– enzymy tnące wiązania w procesie hydrolizy



Źródło: <http://commons.wikimedia.org/wiki>

- Proteazy (EC 3.4):
serynowe, cysteinowe, aspartylowe, treoninowe, metaloproteazy
- Miejsce katalityczne proteaz serynowych:
seryna, histydyna, kwas asparaginowy

Znaczenie proteaz serynowych

- Przeważające u grzybów są metaloproteazy i proteazy serynowe
- Obecne są wielokrotne duplikacje rodzin proteaz serynowych u grzybów
- Udokumentowany związek z trybem życia (np. patogenność)
- Brakuje wielkoskalowych analiz – brak danych dla starych linii ewolucyjnych grzybów

Cele pracy

Cele pracy

1. Identyfikacja proteaz serynowych w genomach grzybów (w tym określenie, które rodziny proteaz serynowych występują u grzybów oraz poszukiwanie nowych, wcześniej nieopisanych wystąpień).
2. Porównanie repertuaru proteaz serynowych między zwierzętami a grzybami.
3. Analiza rodzin proteaz serynowych obecnych u grzybów (w tym duplikacje, delecje, charakterystyka sekwencyjna).
4. Weryfikacja hipotezy o zależności między sekretem a trybem życia.

Metody

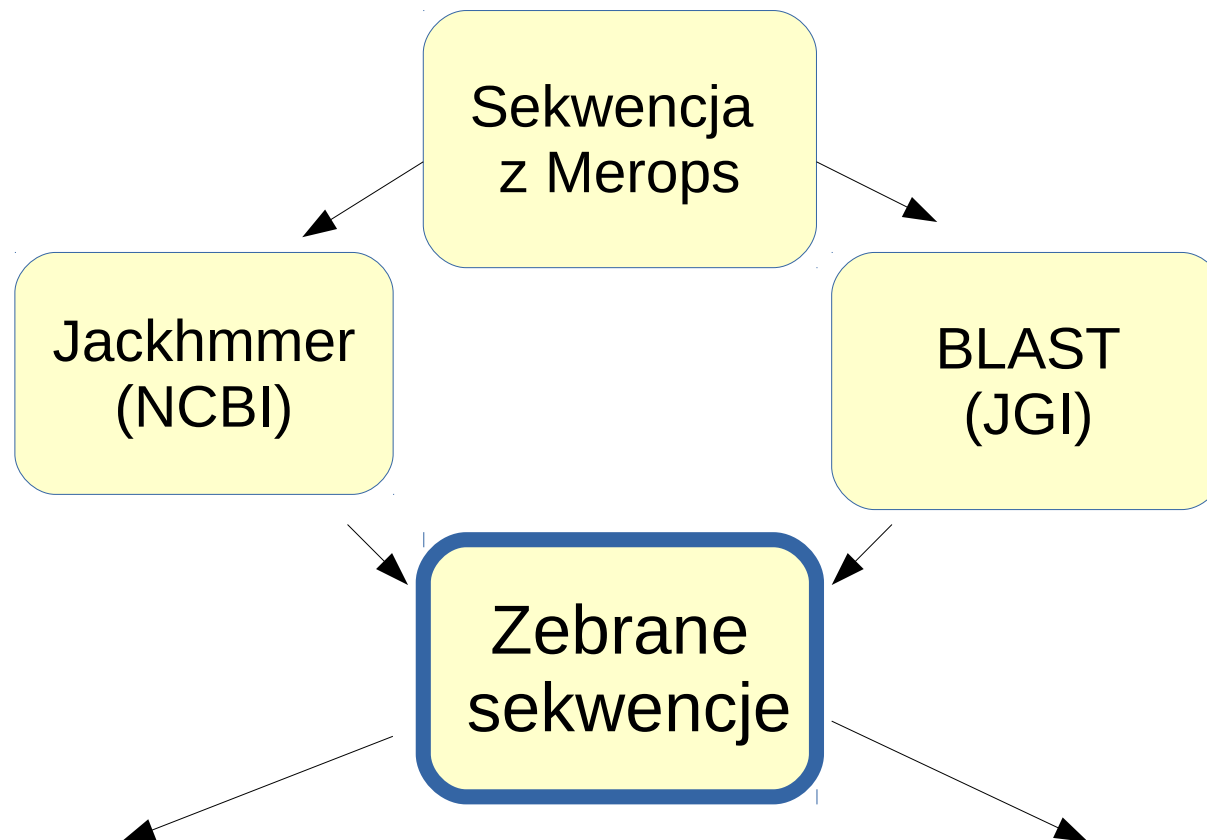
Bazy danych

Merops – baza peptydaz (podział na klany i rodziny):

- opisane są 53 rodziny proteaz serynowych

Pfam – baza białek (podział na rodziny) z wyróżnieniem domen białkowych.

Bazy z sekwencjami białkowymi: NR (NCBI) i JGI (centrum sekwencjonowania)



Analiza ewolucyjna:

- dystrybucja w grzybach
- clans
- drzewa filogenetyczne – ewolucja genów

Opis cech białek:

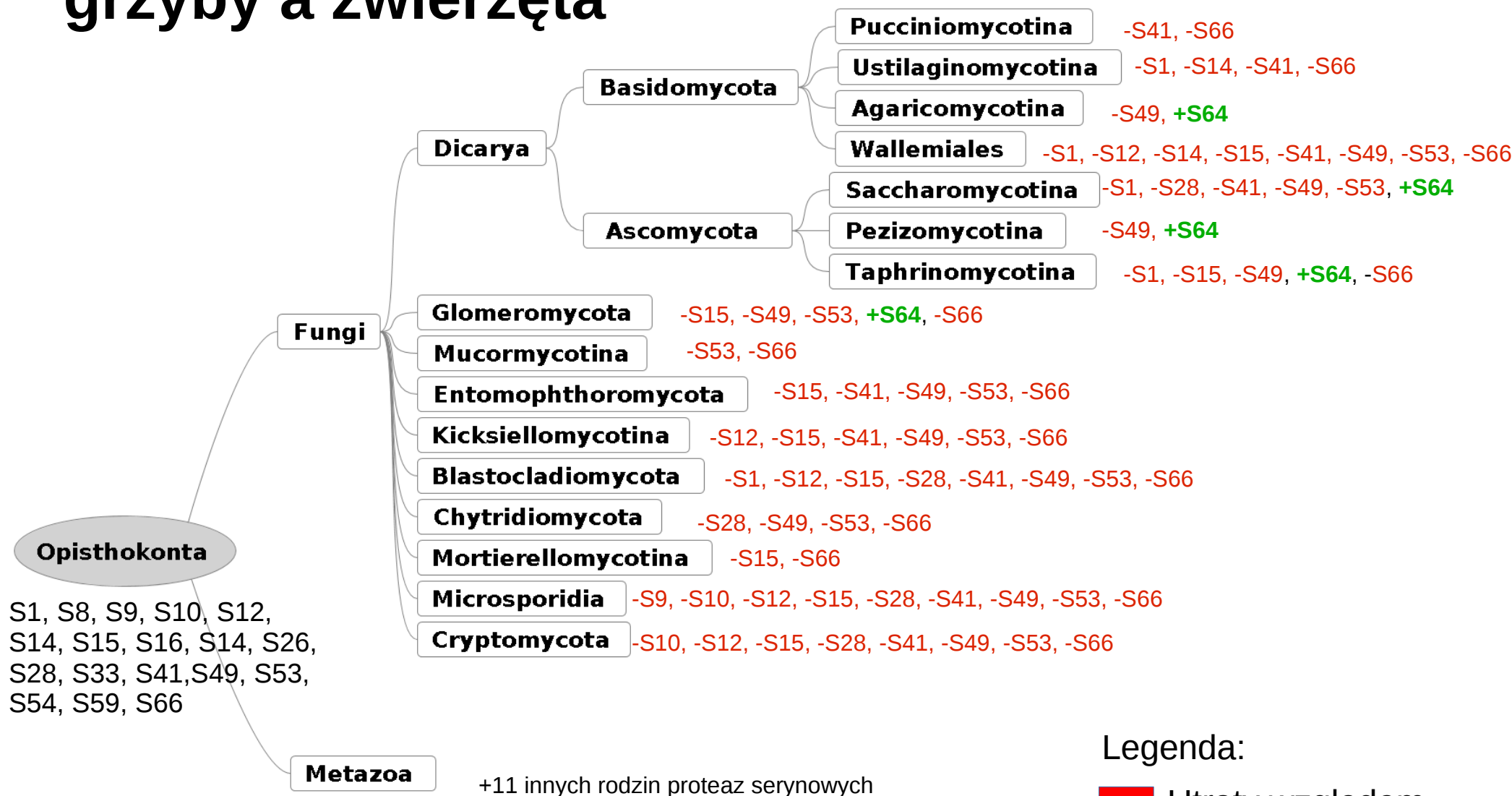
- architektura domenowa
- obszary transblonowe
- sekwencje sygnałowe
- lokalizacja komórkowa
- przewidywana funkcja

Wyniki

Dystrybucja wybranych rodzin proteaz serynowych

Grupa systematyczna (wg Merops)	S8	S10	S14	S28	S41	S49	S64	S66
Viridae	+	-	+	-	-	+	-	-
Archaea	+	-	+	-	+	+	-	+
Bacteria	+	+	+	+	+	+	-	+
Viridiplantae	+	+	+	+	+	+	-	+
Oomycota	+	+	+	+	-	-	-	+
Amoebozoa	+	+	-	+	-	+	-	+
Animalia	+	+	+	+	+	+	-	+
Chytridiomycota	+	+	+	-	- (+!)	-	-	-
Microsporidia	+	-	- (+!)	-	-	-	-	-
Mucorales	+	+	+	+	- (+!)	- (+!)	-	-
Ascomycota	+	+	+	+	- (+!)	-	+	+
Basidiomycota	+	+	+	+	- (+!)	+	- (+!)	+

grzyby a zwierzęta



Legenda:

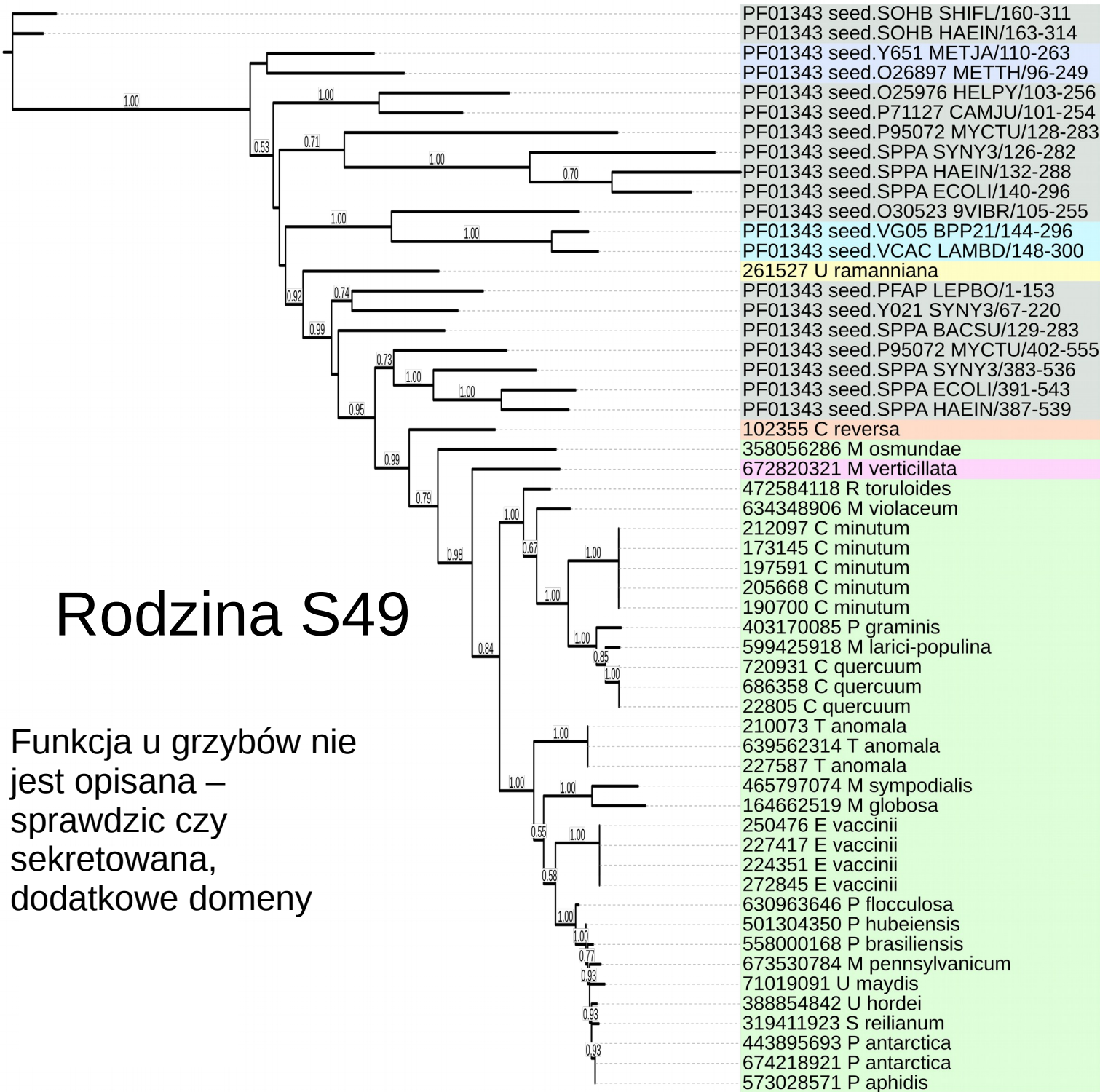
- Utraty względem zwierząt
- Nowości względem zwierząt

Grzyby a zwierzęta -podsumowanie

- Z wyjątkiem jednej (S64) wszystkie grzybowe rodziny proteaz serynowych są wspólne dla grzybów i zwierząt – czy miał je wspólny przodek?
- Hipotezę tę wspiera obecność wielu rodzin proteaz serynowych u starych linii ewolucyjnych grzybów

Rodzina S49

Funkcja u grzybów nie jest opisana – sprawdzić czy sekretowana, dodatkowe domeny



bakterie



Obecność u trzech (tylko!) gatunków ze starych ewolucyjnie linii grzybów



Obecność u nielicznych podstawczaków

Jedyna nieobecna u workowców a występująca w innych grzybach

Wnioski

Wnioski

1. Identyfikacja proteaz serynowych w genomach grzybów (w tym określenie, które rodziny proteaz serynowych występują u grzybów oraz poszukiwanie nowych, wcześniej nieopisanych wystąpień).

- 18 rodzin proteaz serynowych (wg klasyfikacji Merops) jest obecna u grzybów.
- Rodzina S41 - nowa dla grzybów.
- Po raz pierwszy opisano repertuar proteaz serynowych dla nielicznych reprezentantów: Glomeromycota, Blastocladiomycota, Cryptomycota, Entomophoromycotina i Kickxiellomycotina.
- Wyniki sugerują, że wraz z przybywającą liczbą dostępnych genomów przybywać będzie danych o obecności proteaz serynowych w kolejnych liniach ewolucyjnych grzybów.

2. Porównanie repertuaru proteaz serynowych między zwierzętami a grzybami.

Wspólne występowanie 17 z 18 rodzin proteaz serynowych u zwierząt i grzybów sugeruje, że proteazy serynowe występujące u grzybów **odziedziczone są po wspólnym przodku zwierząt i grzybów**. W poszczególnych liniach grzybów nastąpiły **delecje całych rodzin**.

Wnioski

3. Analiza rodzin proteaz serynowych obecnych u grzybów (w tym duplikacje, delecje, charakterystyka sekwencyjna).

- Liczność poszczególnych rodzin proteaz została sprawdzona dla 580 proteomów grzybów.
- Najszerzej rozpowszechnione wśród wszystkich gatunków grzybów są białka z rodzin: S8, S9 i S10

4. Weryfikacja hipotezy o zależności między sekretomem a trybem życia.

Interpretacja wyników w toku. Dotychczasowe wyniki:

- Microsporidia, Cryptomycota i jedyny reprezentant Blastocladiomycota (*Catenaria anguillulae*) to obligatoryjne pasożyty – to może wyjaśniać stratę relatywnie wielu rodzin proteaz serynowych w tych liniach ewolucyjnych
- Najliczniej białka z rodziny S1 występują u grzybów z rzędu Hypocreales, będących patogenami owadów.

Dalsze plany

Analiza białek pod kątem lokalizacji komórkowej, funkcji i architektury domenowej.

Sprawdzenie w publicznie dostępnych danych (RNAseq) czy geny kodujące białka podejrzane o funkcje związane z patogennością ulegają zwiększonej ekspresji.

Bibliografia

[2] Fabien Burki. The eukaryotic tree of life from a global phylogenomic perspective. Cold Spring Harbor perspectives in biology , 6(5):a016147, May 2014.

[3] Anna Muszewska, John W. Taylor, Pawel Szczesny, and Marcin Grynberg. Independent subtilases expansions in fungi associated with animals. Molecular biology and evolution , 28(12):33953404, Dec 2011.

[4] Nicolas Lenfant, Thierry Hotelier, Eric Velluet, Yves Bourne, Pascale Marchot, and Arnaud Chatonnet. Esther, the database of the α / β -hydrolase fold superfamily of proteins: tools to explore diversity of functions. Nucleic acids research , 41(Database issue):D423D429, Jan 2013.

[5] Sung-Eun Nam, Apollos C. Kim, and Mark Paetzel. Crystal structure of bacillus subtilis signal peptide peptidase a. Journal of molecular biology , 419(5):347358, Jun 2012.

[6] Carolyn M. Wetzel, Laura D. Harmacek, Lee H. Yuan, Judith L. M. Wopereis, Rhiannon Chubb, and Paula Turini. Loss of chloroplast protease sppa function alters high light acclimation processes in arabidopsis thaliana l. (heynh.). Journal of experimental botany , 60(6):17151727, Apr 2009.

[7] Peng Wang, Eunjung Shim, Benjamin Cravatt, Richard Jacobsen, Joe Schoeniger, Apollos C. Kim, Mark Paetzel, and Ross E. Dalbey. Escherichia coli signal peptide peptidase a is a serine-lysine protease with a lysine recruited to the nonconserved amino-terminal domain in the s49 protease family. Biochemistry , 47(24):63616369, Jun 2008.