

УДК 575.112:[593.8:577.354]

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ TRPC-МЕХАНОРЕЦЕПТОРОВ ГРЕБНЕВИКА *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865¹

© 2023 г. А. В. Кузнецов^{a, b}, Д. Н. Втюрина^{c, *}^aФедеральный исследовательский центр Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского Российской академии наук, Севастополь, 299011 Россия^bСевастопольский государственный университет, Севастополь, 299053 Россия^cФедеральный исследовательский центр химической физики им. Н. Н. Семенова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: vtyurinad@gmail.com

Поступила в редакцию 03.09.2022 г.

После доработки 06.11.2022 г.

Принята к публикации 22.11.2022 г.

Гребневик (*Ctenophora*) *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 отвечает на слабое механическое раздражение интенсивной люминесценцией, однако механизм этого явления не известен. Нами проведен поиск возможных тактильных рецепторов, которые иницируют сигнальную трансдукцию, заканчивающуюся люминесценцией фотобелков. В геноме *M. leidyi* найдены три гена ортолога TRPC-белков мыши (5z96) и дрозофилы (5vkq) — ML234550a-PA (860 aa), ML03701a-PA (828 aa) и ML038011a-PA (1395 aa). Последний белок содержит длинную анкириновую спираль, состоящую из 16 ANK-доменов. Изучение аннотированных доменов и сети взаимодействий между белками интерактома позволяет предположить, что белки ML234550a-PA и ML03701a-PA осуществляют цитоплазматическую, а ML038011a-PA — внутриядерную трансдукцию механических сигналов. Пространственная реконструкция выявила различия в структуре этих белков, что может быть связано с их разными функциями в клетке. Обсуждается, какой из этих белков участвует в инициации люминесценции после механического раздражения.

Ключевые слова: *Ctenophora*, геном, механорецепторы, TRPC-каналы, интерактом**DOI:** 10.31857/S0026898423040122, **EDN:** QLQZZG

ВВЕДЕНИЕ

Представители суперсемейства ионных каналов с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP) — эволюционно древние сенсорные белки, которые регулируют проникновение катионов кальция в клетки [1]. Эти белки отвечают за восприятие тепла, физических контактов, болевых и вкусовых ощущений, а также иногда участвуют в зрительных процессах [2]. Большинство TRP-каналов объединены в две группы: первая группа включает катионные каналы TRPA (A — анки-

рин), TRPC (C — канонический), TRPN (N — нет механорецепторного потенциала C), TRPM (M — меластатин), TRPS (S — соромеластатин), TRPV (V — ванилоидный) и TRPVL (VL — ванилоидоподобный); вторая группа содержит TRPML (L — муколипин) и TRPP (P — поликистоз) [3]. Некоторые TRP-каналы активируются соединениями, содержащимися в чесноке (аллицин), перце (капсаицин), васabi (аллилизотиоцианат), другие чувствительны к камфоре, ментолу, мяте перечной или соединениям конопли [4]. Известны TRP-каналы, которые действуют как датчики вибрации, растяжения и осмотического давления [5]. Большинство ионных каналов регулируется окружающими их липидами клеточной мембраны [6].

Мы предположили, что биологические функции TRP-рецепторов могут модулироваться “соседними” белками и низкомолекулярными лигандами, а спектральная чувствительность этих сенсоров зависит от числа анкириновых повторов (AR), что позволяет им выполнять различные

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0026898423040122 для авторизованных пользователей.

Сокращения: aa — аминокислотные остатки (при цифре); TRP (англ. Transient Receptor Potential) — транзиторный рецепторный потенциал; TRPC — (C — канонический); TRPA (A — анкирин); TRPN (N — нет механорецепторного потенциала C); TRPM (M — меластатин); TRPS (S — соромеластатин); TRPV (V — ванилоидный), TRPVL (VL — ванилоидоподобный); TRPML (ML — муколипин); TRPP (P — поликистоз); ANK — анкириновый домен.

функции — от терморецепторов с короткими анкириновыми спиралями и высокой резонансной частотой до тактильных рецепторов с длинными анкириновыми спиралями и низкой резонансной частотой макромолекулы [7]. В представленном исследовании проведен анализ трех белков гребневика *Mnemiopsis leidyi*, возможных кандидатов на роль механорецепторов. *M. leidyi*, геном которого полностью секвенирован [8], входит в число базальных Metazoa [9–11], которые могут использоваться при изучении эволюции сенсорных систем [12, 13].

Цель нашей работы состояла в 3D-реконструкции TRP-рецепторов гребневика *M. leidyi*. С использованием данных [7] в геноме *M. leidyi* найдены гомологичные гены и определены аминокислотные последовательности белков, кодируемых этими генами, что позволило описать доменную структуру белков, выявить их ближайших соседей в сети белок-белковых взаимодействий и восстановить трехмерную структуру исследуемых полипептидов. Такой большой класс механорецепторов, как пьезобелки [14], мы не рассматривали, так как гены этих белков в геноме *M. leidyi* предположительно отсутствуют (данные не представлены).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аминокислотные последовательности механорецепторов гребневика *M. leidyi* найдены в базе данных NCBI [8].

Множественное выравнивание полипептидных цепей и построение филогенетического дерева выполнено с помощью программ Clustal Omega (1.2.4) [15] и TreeDyn 198.3 [16] соответственно.

Профили гидрофобности по Kyte-Doolittle определяли с помощью программы ProtScale [17].

Анализ доменной структуры белков осуществляли на сервере Pfam 35.0 [18], взаимодействие доменов исследовали и визуализировали с помощью сервера STRING (Protein–Protein Interaction Networks Functional Enrichment Analysis), согласно [19].

Построение пространственных моделей механорецепторов проводили на сервере Phyre2, используя метод сравнения гомологичных аминокислотных последовательностей с известными пространственными структурами белков. Оценивали достоверность и степень покрытия исследуемых последовательностей [20].

Визуализацию молекулярных структур выполняли с использованием программ RasMol [21] и UCSF Chimera [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В основу нашего исследования положены знания о классическом механорецепторе NompC (5vkq) *Drosophila melanogaster* [23]. NompC входит в семейство TRPN-белков, включающих трансмембранный домен, область шейки и четыре анкириновых спирали. Проницаемость канала для ионов Ca^{2+} изменяется под воздействием механической нагрузки (рис. 1).

Поиск последовательностей, гомологичных NompC, первоначально выявил лишь один аннотированный TRPC-белок, кодируемый геном *M. leidyi*, а именно, белок AFK83798.1 (ML234550a-PA) с полипептидной цепью из 860 aa (рис. S1, см. Дополнительные материалы на сайте http://www.molecbio.ru/downloads/2023/4/supp_Kuznetsov_rus.pdf) и трансмембранными участками, расположенными, начиная примерно с позиции 400 aa, в направлении к С-концу полипептидной цепи (рис. 2). Детальный анализ показал, что белок ML234550a-PA включает три анкириновых повтора в положениях 125–160, 210–239 и 245–274, каждый из которых состоит в среднем из 31 aa и участвует в белок-белковых взаимодействиях; далее следует область трансмембранных спиралей, которые начинаются в позиции 413 и заканчивается в позиции 435; ближе к концу полипептидной цепи в положении 485–723 расположен ионный канал, имеющий шесть трансмембранных α -спиралей, две последние из которых окружают петлю, определяющую ионную селективность (рис. 3a).

Дальнейший углубленный поиск с использованием аминокислотной последовательности AFK83798.1 в качестве запроса показал, что белок ML234550a-PA имеет неаннотированные гомологи ML03701a-PA (828 aa) и ML038011a-PA (1395 aa), кодируемые геном *M. leidyi* (рис. S2, см. Дополнительные материалы на сайте http://www.molecbio.ru/downloads/2023/4/supp_Kuznetsov_rus.pdf). Оказалось, что белок ML03701a-PA длиной 828 aa, содержит два ANK-домена в позициях 150–178, 182–211 и ионный канал в положении 409–691, фланкированный трансмембранными α -спиралями с координатами 357–379 и 713–732 (рис. 3б). Другой белок, а именно ML038011a-PA, длиной 1395 aa включает два трансмембранных участка в положениях 102–124 и 134–156, два близкорасположенных ANK-домена в позициях 201–230, 234–265 и ниже еще 14 ANK-доменов в положении с 363 по 834, а также ионный канал в положении 963–1232 (рис. 3в).

Множественное выравнивание TRP-белков выявило значительные различия в их N-концевой области, где находятся анкириновые повторы, не

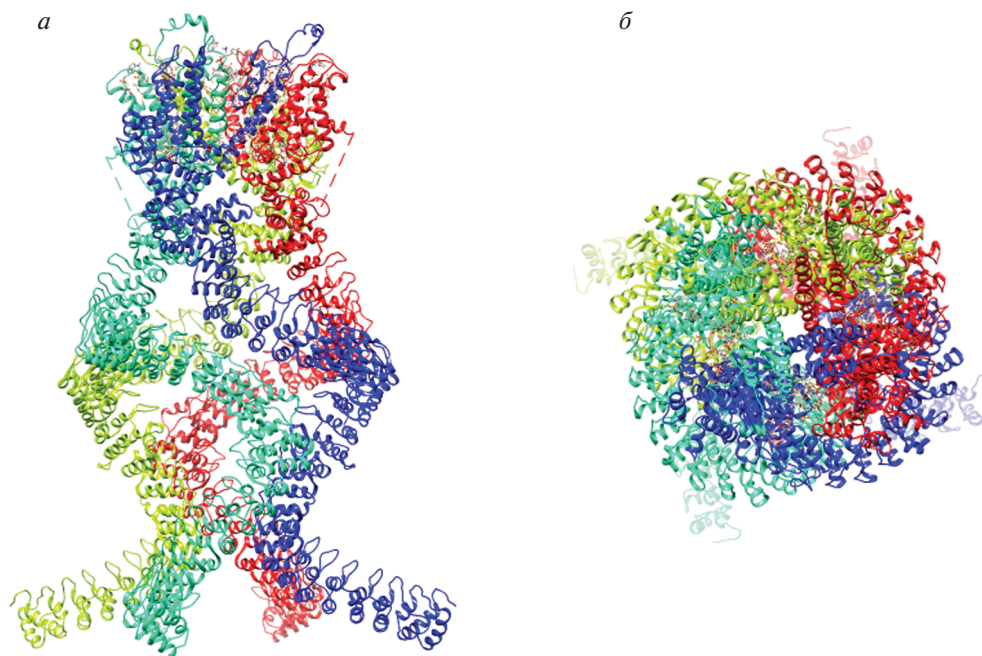


Рис. 1. Гомотетрамерная структура механотрансдуцирующего ионного канала NompC (5vkq) плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. *a* – Вид сбоку, *б* – вид сверху. Отдельные полипептидные цепи показаны различными цветами, видна полость канала; визуализация с помощью UCSF Chimera [22].

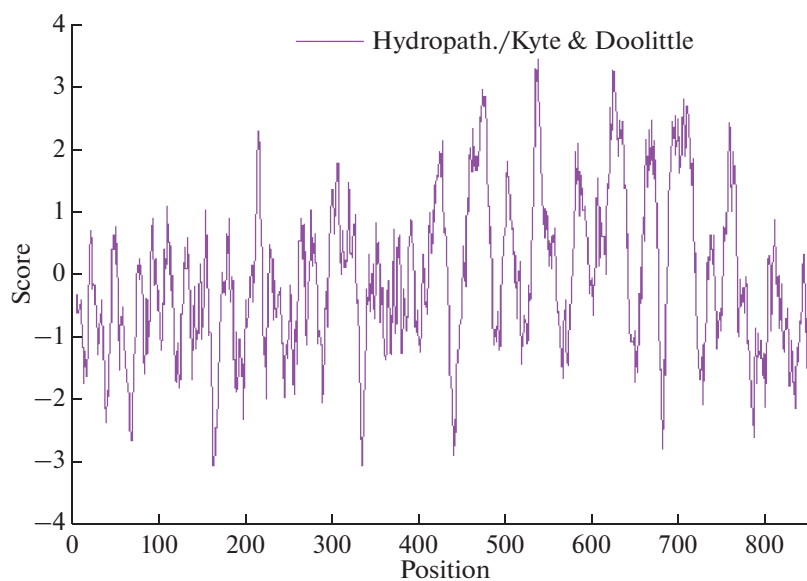


Рис. 2. График гидропатии белка AFK83798.1 (ML234550a-PA) гребневика *M. leidy* по Kyte-Doolittle [17], построенный с использованием модели линейного изменения веса, где размер окна равен 9, а области с положительным значением являются гидрофобными.

столь заметные различия в С-концевой части и достаточную консервативность средней части аминокислотной последовательности, где располагается ионпроводящий канал (данные не представлены). Проведенный далее филогенетический анализ выявил сходство между белком 5z96 мыши и белками ML234550a-PA и ML03701a-PA мнемииопсиса с малым числом анкириновых последовательностей, а

также между белком 5vkq дрозофилы и ML038011a-PA мнемииопсиса с длинными анкириновыми спиралями (рис. S3, см. Дополнительные материалы на сайте http://www.molecbio.ru/downloads/2023/4/supp_Kuznetsov_rus.pdf).

Изучение взаимодействий первого порядка белка ML234550a-PA (рис. 4a) установило его

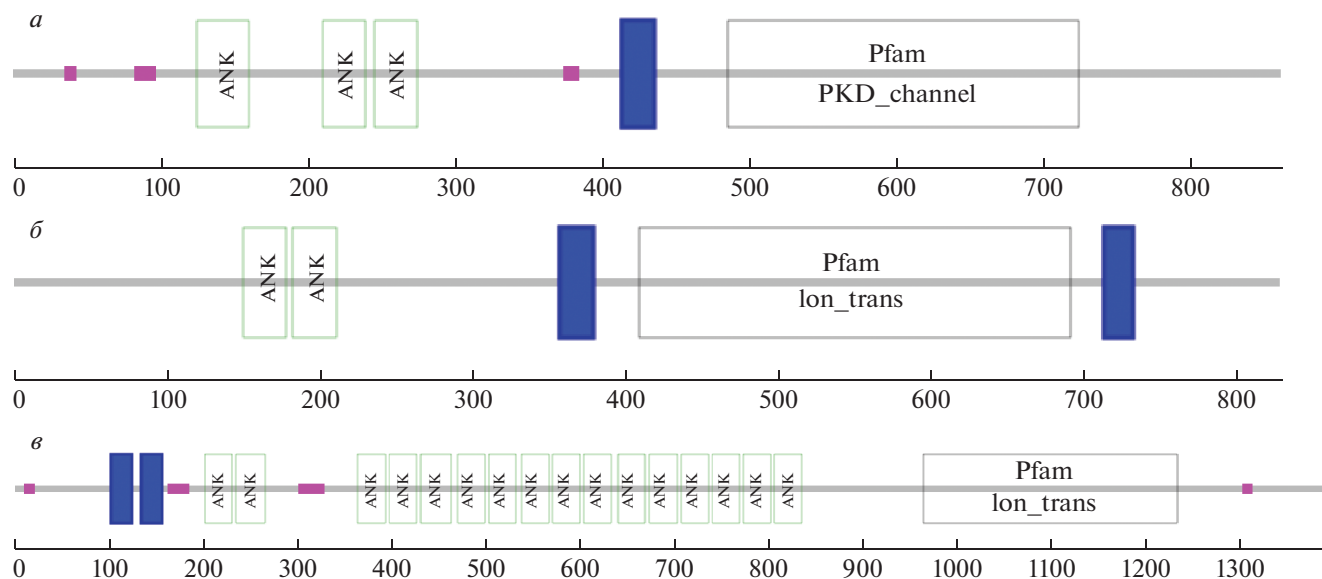


Рис. 3. Доменные структуры белков ML234550a-PA (а), ML03701a-PA (б) и ML038011a-PA (в) гребневика *M. leidy*. Шкалы внизу с шагом 100 соответствуют числу аминокислотных остатков, трансмембранные участки обозначены синим цветом, неструктурированные области – малиновым, анкириновые домены маркированы как ANK, катионный канал PKD_channel (Polycystic Kidney Disease Channel) и участок lon_trans (Ionic Transmembrane Domain) представлены большими прозрачными прямоугольниками [19].

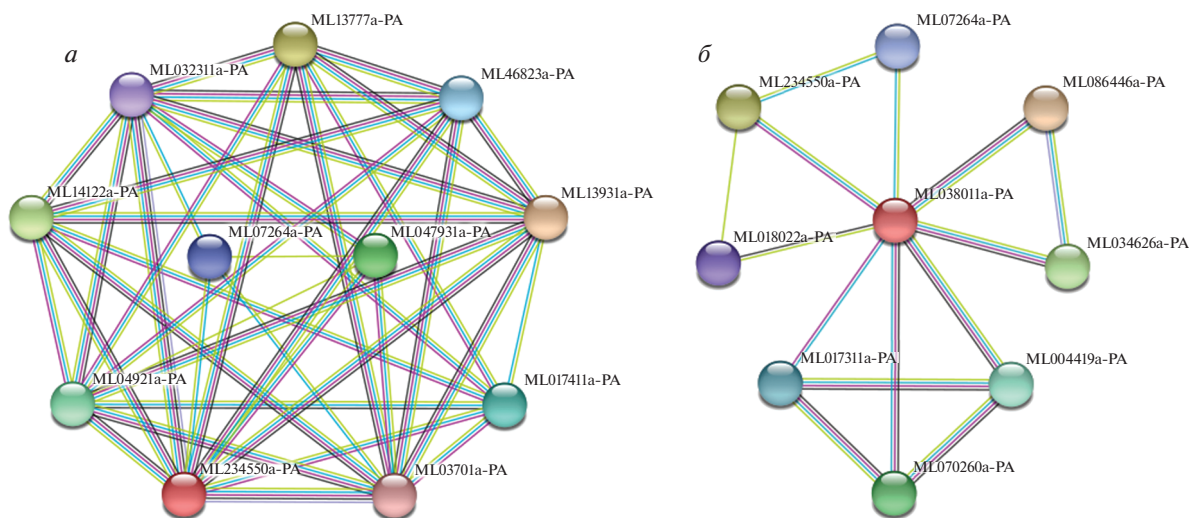


Рис. 4. Графы белок-белковых взаимодействий первого порядка для TRPC-белка AFK83798.1 (ML234550a-PA) (а) и гипотетического белка ML038011a-PA (б) из *M. leidy*, построенные с помощью сервера STRING согласно [19].

разнообразные отношения (совместное появление в разных геномах, коэкспрессия и др., общий балл 0.771) с гомологом ML03701a-PA (238.8 бит для 552 аминокислот), а также с еще девятью белками, в том числе с фосфолипазой C (ML04921a-PA). Два белка – ML047931a-PA, содержащий домены SAM (Sterile Alpha Motif) и SOAR (STIM1 Orail-Activating Region), а также ML07264a-PA с PKD-полицистиновым каналом, отличаются слабой связностью. Остальные белки имеют вы-

сокую связность, что означает высокую вероятность специфического взаимодействия по данным сервера STRING. Так, белок ML017411a-PA содержит домены FKBP_C (FKBP-type peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase, FK506-Binding Protein, FK506 – drug tacrolimus) и TPR_2 (Tetratricopeptide Repeat); ML04921a-PA включает домены EF-hand (helix-loop-helix Ca^{2+} binding motif; the index finger and thumb represent the E- and F-helices, re-

spectively), PLCXc, PLCYc (phospholipase C) и C2 (Ca²⁺-dependent membrane-targeting module); ML13777a-PA — пять доменов PDZ (binding to C-terminal peptide of other proteins); ML13931a-PA — два C1-домена и по одному домену C2 (domains of protein kinase C), S_Tkc и S_TK_X (Ser/Thr-type protein kinases); белок ML14122a-PA содержит три домена PDZ, а ML46823a-PA — один домен 7TM_GPCR_Srsx (7 transmembrane G-protein-coupled receptor class of proteins which are of the serpentine type).

Рассматривая коэкспрессию ортологов ML234550a-PA в других организмах, можно отметить, что TRP-белок переходного рецепторного потенциала *D. melanogaster* — это светочувствительный кальциевый канал для проникновения Ca²⁺ в сетчатку во время опосредованной фосфолипазой C (PLC) фототрансдукции. Этот белок необходим для способности видеть в темноте и при тусклом свете, он связывает кальмодулин, активируется инозитом, жирными кислотами и GTP-связывающими белками (показатель коэкспрессии 0.410).

Белок ML038011a-PA вступает во множественные взаимодействия с белками ML086446a-PA, ML034626a-PA, ML004419a-PA и ML070260a-PA, а также в менее тесные отношения с ML234550a-PA особенно с полипептидами ML017311a-PA, ML018022a-PA и ML07264a-PA (рис. 4б). Так, белок ML086446a-PA содержит рецепторный и дополнительный тирозинкиназный домены; белок ML034626a-PA включает три Hrl-домена (rho-binding domain) и каталитические домены серин/треониновой протеинкиназы; в белке ML004419a-PA имеются четыре PH-домена (Pleckstrin homology domain) и домен гистондеацетилазы [EC 3.5.1.98]; белок ML070260a-PA содержит ДНК-связывающий домен WAC_Acf1 (ATP-utilising chromatin assembly and remodelling factor), WSD-мотив (Williams-Beuren syndrome), PH-домен с мотивом цинкового пальца и бромодомен, взаимодействующий с гистонами, ацетилированными по остаткам лизина. Интересно также, что белок ML038011a-PA непосредственно взаимодействует со своим гомологом ML234550a-PA, известным как AFK83798.1. Белок ML017311a-PA, возможно, ассоциирован с хроматином, так как имеет три бромодомена и ВАН-гомолог (bromo-adjacent homology). Белок ML018022a-PA является пьезобелком с семью трансмембранными доменами и характерным пьезодоменом. Белок ML07264a-PA входит в число полицистиновых катионных PKD-каналов.

С целью понимания сенсорной роли TRPC-белка AFK83798.1 (ML234550a-PA) из *M. leidy* в

проведении сигналов о механической нагрузке была предпринята попытка определить его трехмерную структуру. Гомологическое сравнение аминокислотной последовательности AFK83798.1 с известными трехмерными структурами белков позволило выявить пространственное положение 631 аа за исключением N- и C-концов, что составляет 73% аминокислотной последовательности белка, на основе единственного шаблона C-цепи мембранного ионного канала TRPC4 (5z96) мыши [24]. Помимо этого, использовали дополнительные шаблоны, которые позволили охватить другие части исследуемого белка. В частности, в качестве одного из шаблонов использовали исходный механорецептор NompC (5vkq) *D. melanogaster* [23]. С помощью нескольких шаблонов смоделированы пространственные координаты 801 аа с достоверностью более 90%, что соответствует 93% всего белка AFK83798.1. На рис. 5 можно видеть, что пространственная модель единственной полипептидной цепи белка AFK83798.1 гребневика *M. leidy* напоминает отдельную субъединицу TRPC-канала мыши.

Моделирование с применением специальных алгоритмов позволило детально оценить достоверность модели. Так, с использованием ProQ2-алгоритма [25] достигнут средний уровень качества локального и глобального прогнозирования белковых моделей (рис. 6а). В силу того, что отдельные атомы в некоторых аминокислотных остатках могут располагаться в модели слишком близко друг к другу, большое количество пересечений может означать неудовлетворительное расположение смежных цепей или, возможно, неправильную укладку в этой области. Поэтому критерий пересечений является особенно строгим. Характер окрашивания аминокислотных остатков по количеству наблюдаемых пересечений говорит о хорошем качестве модели (рис. 6б). Ротамерный анализ также свидетельствует о том, что базовое выравнивание боковых цепей в модели осуществлено правильно (рис. 6в). Подавляющее число аминокислотных остатков в модели находится в благоприятных областях (синий), лишь несколько остатков локализируются в разрешенных (зеленый) областях (рис. 6г). Ничего не отмечено в запрещенных областях (красный) диаграммы Рамачандрана, что указывает на корректность расчетов phi-psi торсионных углов полипептидного остова. Достоверность парного выравнивания запрос-шаблон по данным Hhsearch, полученная из апостериорных вероятностей, которые рассчитывали в алгоритме Forward-Backward [26], в большинстве случаев была хорошей или удовлетворительной (рис. 6д). Так как неупорядоченные и динамически гибкие области играют

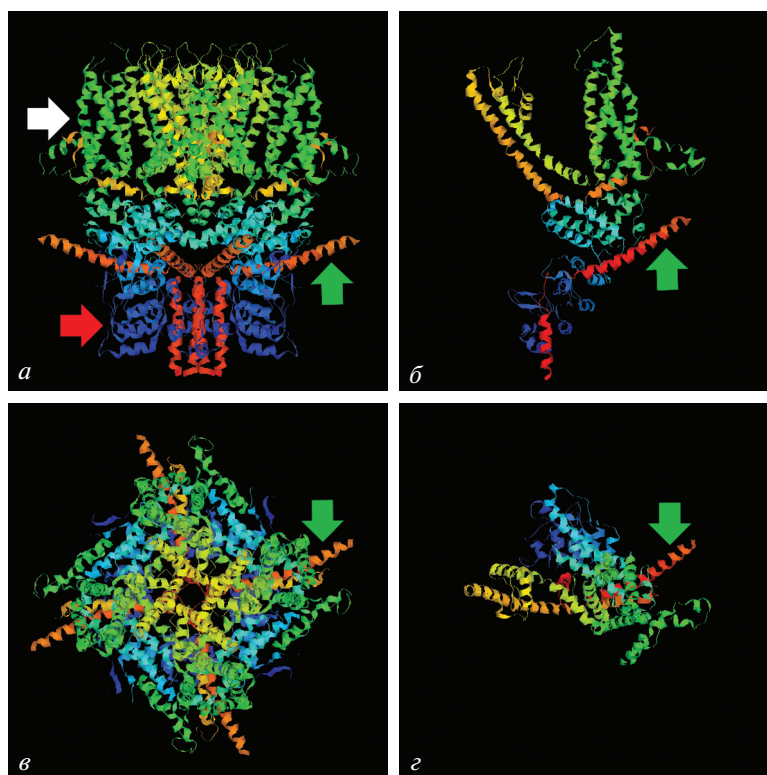


Рис. 5. Пространственная структура тетрамера мембранного TRPC-канала 5z96 домового мыши (*a, в*) и 3D-модели одной субъединицы TRPC-белка AFK83798.1 *M. leidy* (*б, г*). Вид сбоку (*a, б*), вид сверху (*в, г*), использована спектральная окраска от N- до C-концевой части белка; белая стрелка указывает на трансмембранный домен, красная — на анкириновые повторы, которые располагаются в цитоплазме и формируют “пружину”, зеленая — на α -спираль с изломом, визуализация в RasMol [21].

важную роль в функционировании многих белков, предсказание неструктурированных областей было дополнено с помощью метода Disopred [27, 28] с приемлемым результатом (рис. 6е).

Найденные аминокислотные последовательности и созданные пространственные структуры гипотетических механосенсоров ML03701a-PA и ML038011a-PA гребневики *M. leidy* приведены на рис. S3 (см. Дополнительные материалы на сайте http://www.molecbio.ru/downloads/2023/4/supp_Kuznetsov_rus.pdf). К сожалению, длина белка ML038011a-PA (1395 aa) (рис. S2) не позволила загрузить задачу на сервер Phyre2 и построить полную трехмерную модель. Поэтому было решено удалить часть анкириновой спирали из исходного файла с координатами атомов этого белка для построения урезанной 3D-модели (рис. S4б). Следует отметить, что помимо длинной анкириновой спирали, гипотетический белок ML038011a-PA отличается от ML03701a-PA и ML234550a-PA отсутствием цитоплазматической α -спирали с изломом, одна часть которой следует в направлении канала, а другая обращена под углом наружу тетрамерного комплекса (рис. 5, рис. S4а — отмечены зеленым цветом).

Кроме того, гипотетические белки ML03701a-PA и ML038011a-PA не взаимодействуют непосредственно друг с другом, но связываются с исходным белком ML234550a-PA (AFK83798.1) (рис. 4). Оба полипептида ML234550a-PA и ML03701a-PA имеют цитоплазматические α -спирали с изломом и короткие анкириновые спирали, как и мембранный канал TRPC4 (5z96) мыши, являющийся температурным сенсором [24], тогда как ML038011a-PA обладает структурным сходством с тактильным сенсором NompC (5vkq) дрозофилы [23], поскольку имеет длинные анкириновые спирали и не содержит надломленных α -спиралей (рис. 1, 5, рис. S4 Дополнительные материалов).

Помимо этого, белок ML038011a-PA взаимодействует с пьезобелком ML018022a-PA (рис. 4б), что может приводить к образованию надмолекулярного тактильного комплекса. Последний факт подтверждает нашу гипотезу, согласно которой биологическая функция TRP-рецепторов модулируется соседними белками. Влияние низкомолекулярных лигандов будет в дальнейшем проверено экспериментально. То, что спектральная чувствительность этих сенсоров может зависеть от длины анкиринового повтора, следует из меха-

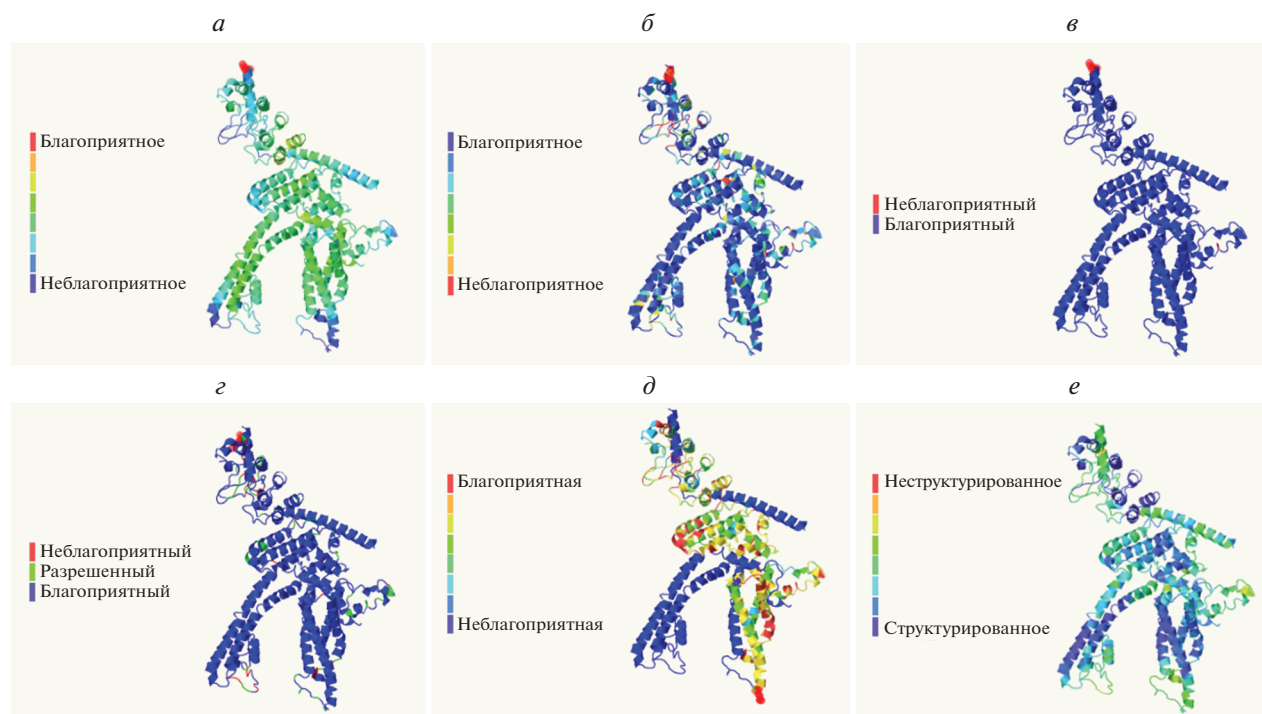


Рис. 6. Оценка качества пространственной модели TRPC-белка AFK83798.1 из *M. Leidy*. *a* — Локальное и глобальное прогнозирование; *б* — пересечения; *в* — ротамерный анализ; *г* — анализ Рамачандрана; *д* — достоверность выравнивания; *е* — предсказание неструктурированных областей. Локальное качество моделирования отмечено цветом на каждой части — от синего до красного, а изображения субъединицы белка перевернуты по сравнению с рис. 5б.

нических моделей [7]. Кроме того, анализ доменов показал, что ML038011a-PA способен опосредованно связываться с белками хроматина, в то время как ML234550a-PA взаимодействует преимущественно с цитоплазматическими белками, что, возможно, позволяет первому белку осуществлять передачу сигнала в ядро, а второму в цитоплазму клетки.

Следует отметить, что скорость передачи сигнала посредством белок-белковых взаимодействий намного ниже наблюдаемой реакции мнемнопсисов в виде люминесценции на механическое возмущение. Кроме того, фотобелки не имеют взаимодействующих доменов (данные не представлены). Следовательно, роль TRPC-каналов в передаче фотобелкам сигнала, вызванного механическим раздражением, связана со способностью каналов пропускать такие катионы, как Ca^{2+} [29], и инициировать деполяризацию потенциала покоя клеточной мембраны, которая приводит к быстрому распространению волны активации вдоль поверхности клетки и к передаче сигнала от клетки к клетке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление крупных инноваций и диверсификация в биологии происходят благодаря модуль-

ной эволюции [30], при этом сенсорные системы, лежащие в основе функционирования нервной системы, зародились еще на ранних этапах развития жизни [31]. TRP-каналы с транзитным рецепторным потенциалом образуют большое семейство мультимодальных молекулярных сенсоров, которые реагируют на широкий спектр стимулов, включая тепловые, механические и химические [32]. TRP-каналы обнаружены у большинства эукариот, подробно описаны у млекопитающих, но лучше всего изучены у нематоды и дрозофилы, служащих генетическими моделями [7]. При этом построение пространственных моделей мембранных белков, в том числе TRP-каналов, остается сложной задачей, несмотря на успехи в рентгеновской кристаллографии, ядерном магнитном резонансе и криогенной электронной микроскопии [33]. Создание полноразмерных гомологических структурных моделей затрудняется субъединичной природой и большим размером TRP-каналов, имеющих длинные анкириновые спирали. Кроме того, требуются дополнительные методы проверки надежности моделей [25–28].

Суперсемейство белков катионных TRP-каналов примечательно большим разнообразием механизмов активации и селективности, чем у любой другой группы белков ионных каналов. TRP-белки играют решающую роль в сенсорной

физиологии зрения, обоняния, вкуса, осязания, слуха, термо- и осмощушений, а также позволяют отдельным клеткам ощущать изменения в локальной среде. Многие TRP-каналы активируются множеством различных стимулов и функционируют как интеграторы сигналов [34] (биофизические и структурно-функциональные исследования термочувствительных TRP-каналов обобщены в обзоре [35]).

Нами впервые построены 3D-модели TRP-субъединиц механорецепторов гребневика *M. leidy* (Ctenophora). На основании пространственной реконструкции трудно предложить однозначную функцию белков ML234550a-PA (AFK83798.1) и ML03701a-PA с короткой анкириновой последовательностью. Однако гребневик *M. leidy* отвечает на механические раздражения интенсивной люминесценцией, поэтому можно предположить, что роль тактильного сенсора, при отсутствии активности других кандидатов [36], выполняет гомологичный гипотетический белок ML038011a-PA с длинными анкириновыми спиралями. Имеющиеся данные не раскрывают полностью связь между механическим раздражением и люминесценцией у *M. leidy*, но наглядно показывают сложность сигнальных комплексов и запутанность путей трансдукции, возникших в ходе эволюционного развития, что принципиально отличает их от технических систем, созданных человеком.

Можно отметить, что сенсорная активность механочувствительных рецепторов особенно важна для гидробионтов, так как вода практически не сжимаема по сравнению с воздухом и в ней лучше передаются волны давления, что мы видим на примере люминесценции гребневиков при турбулентности. Возможно, механорецепторы, как TRP-каналы, которые появились на ранних этапах эволюции [37], играют большую роль у морских животных по сравнению с сухопутными [38, 39]. При выходе жизни на сушу часть функций была утрачена, а часть модифицирована к новой среде обитания в результате диверсификации TRP-каналов [40].

Авторы благодарят М.В. Фадееву и Е.В. Сергееву за помощь в работе, О.В. Машукову, Б.Е. Аннинского, С.А. Царина, О.С. Завьялову за поддержку, К.А. Рыбакову, В.Д. Ратникова, Е.В. Моцарь и М.И. Силакова за обсуждение рукописи и рекомендации, а также анонимных рецензентов за полезные замечания, позволившие значительно улучшить манускрипт.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ФИЦ ИнБЮМ тема № 0828-2018-0002.

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Himmel N.J., Cox D.N. (2020) Transient receptor potential channels: current perspectives on evolution, structure, function and nomenclature. *Proc. Biol. Sci.* **287**(1933), 20201309. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1309>
2. Cao E. (2020) Structural mechanisms of transient receptor potential ion channels. *J. Gen. Physiol.* **152**(3), e201811998. <https://doi.org/10.1085/jgp.201811998>
3. Samanta A., Hughes T.E., Moiseenkova-Bell V.Y. (2018) Transient receptor potential (TRP) channels. *Subcell. Biochem.* **87**, 141–165. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9_6
4. Nilius B., Owsianik G. (2011) The transient receptor potential family of ion channels. *Genome Biol.* **12**(3), 218. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-3-218>
5. Lehnert B.P., Santiago C., Huey E.L., Emanuel A.J., Renauld S., Africawala N., Alkislar I., Zheng Y., Bai L., Koutsoumpa C., Hong J.T., Magee A.R., Harvey C.D., Ginty D.D. (2021) Mechanoreceptor synapses in the brainstem shape the central representation of touch. *Cell.* **184**(22), 5608–5621. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.09.023>
6. Robinson C.V., Rohacs T., Hansen S.B. (2019) Tools for understanding nanoscale lipid regulation of ion channels. *Trends Biochem. Sci.* **44**(9), 795–806. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.04.00>
7. Liang X., Sun L., Liu Z. (2017) *Mechanosensory transduction in Drosophila melanogaster*. Singapore: Springer, pp. 82. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6526-2>
8. Ryan J.F., Pang K., Schnitzler C.E., Nguyen A.D., Moreland R.T., Simmons D.K., Koch B.J., Francis W.R., Havlak P., NISC Comparative Sequencing Program, Smith S.A., Putnam N.H., Haddock S.H., Dunn C.W., Wolfsberg T.G., Mullikin J.C., Martindale M.Q., Baxevanis A.D. (2013) The genome of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and its implications for cell type evolution. *Science.* **342**(6164), 1242592. <https://doi.org/10.1126/science.1242592>
9. Moroz L.L. (2015) Convergent evolution of neural systems in ctenophores. *J. Exp. Biol.* **218**(4), 598–611. <https://doi.org/10.1242/jeb.110692>
10. Moroz L.L., Kohn A.B. (2016) Independent origins of neurons and synapses: insights from ctenophores. *Philos. Trans. R. Soc. B.* **371**(1685), 20150041. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0041>
11. Moroz L.L. (2021) Multiple origins of neurons from secretory cells. *Front. Cell Dev. Biol.* **9**, 669087. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.669087>
12. Aronova M.Z. (2009) Structural models of “simple” sense organs by the example of the first Metazoa. *J. Evol. Biochem. Phys.* **45**(2), 179–196. <https://doi.org/10.1134/S0022093009020017>

13. Jékely G., Godfrey-Smith P., Keijzer F. (2021) Reafference and the origin of the self in early nervous system evolution. *Philos. Trans. R. Soc. B.* **376**(1821), 20190764. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0764>
14. Bagriantsev S.N., Gracheva E.O., Gallagher P.G. (2014) Piezo proteins: regulators of mechanosensation and other cellular processes. *J. Biol. Chem.* **289**(46), 31673–31681. <https://doi.org/10.1074/jbc.R114.612697>
15. Madeira F., Park Y.M., Lee J., Buso N., Gur T., Madhusoodanan N., Basutkar P., Tivey A.R.N., Potter S.C., Finn R.D., Lopez R. (2019) The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019. *Nucl. Acids Res.* **2**(47), W636–W641. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz268>
16. Chevenet F., Brun C., Bañuls A.L., Jacq B., Christen R. (2006) TreeDyn: towards dynamic graphics and annotations for analyses of trees. *BMC Bioinformatics.* **10**(7), 439. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-7-439>
17. Kyte J., Doolittle R.F. (1982) A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* **157**(1), 105–132. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90515-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90515-0)
18. Mistry J., Chuguransky S., Williams L., Qureshi M., Salazar G.A., Sonnhammer E.L., Tosatto S.C.E., Paladin L., Raj S., Richardson L.J., Finn R.D., Bateman A. (2021) Pfam: The protein families database in 2021. *Nucl. Acids Res.* **49**(D1), D412–D419. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913>
19. Szklarczyk D., Gable A.L., Nastou K.C., Lyon D., Kirsch R., Pyysalo S., Doncheva N.T., Legeay M., Fang T., Bork P., Jensen L.J., von Mering C. (2021) The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucl. Acids Res.* **49**(D1), D605–D612. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>
20. Kelley L.A., Mezulis S., Yates C.M., Wass M.N., Sternberg M.J. (2015) The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat. Protoc.* **10**(6), 845–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>
21. Sayle R.A., Milner-White E.J. (1995) RASMOL: biomolecular graphics for all. *Trends Biochem. Sci.* **20**(9), 374–376. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(00\)89080-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)89080-5)
22. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. (2004) UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.* **25**(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
23. Jin P., Bulkley D., Guo Y., Zhang W., Guo Z., Huynh W., Wu S., Meltzer S., Cheng T., Jan L.Y., Jan Y.N., Cheng Y. (2017) Electron cryo-microscopy structure of the mechanotransduction channel NOMPC. *Nature.* **547**(7661), 118–122. <https://doi.org/10.1038/nature22981>
24. Duan J., Li J., Zeng B., Chen G.L., Peng X., Zhang Y., Wang J., Clapham D.E., Li Z., Zhang J. (2018) Structure of the mouse TRPC4 ion channel. *Nat. Commun.* **9**(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05247-9>
25. Ray A., Lindahl E., Wallner B. (2012) Improved model quality assessment using ProQ2. *BMC Bioinform.* **13**(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-224>
26. Russell S., Norvig P. (2010) *Intelligence Artificielle: Avec Plus de 500 Exercices*. Pearson Education, France.
27. Ward J.J., McGuffin L.J., Bryson K., Buxton B.F., Jones D.T. (2004) The DISOPRED server for the prediction of protein disorder. *Bioinformatics.* **20**(13), 2138–2139. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth195>
28. Jones D.T., Cozzetto D. (2015) DISOPRED3: precise disordered region predictions with annotated protein-binding activity. *Bioinformatics.* **31**(6), 857–863. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu744>
29. Perissinotti P.P., Martínez-Hernández E., Piedras-Rentería E.S. (2021) TRPC1/5-Cav3 complex mediates leptin-induced excitability in hypothalamic neurons. *Front. Neurosci.* **15**, 679078. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.679078>
30. Watson R.A. (2006) *Compositional Evolution: The Impact of Sex, Symbiosis, and Modularity on the Gradualist Framework of Evolution*. Vienna Series in Theoretical Biology: A Bradford Book. 344 p. ISBN-10: 9780262232432
31. Oteiza P., Baldwin M.W. (2021) Evolution of sensory systems. *Curr. Opin. Neurobiol.* **71**, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2021.08.005>
32. Li H. (2017) TRP channel classification. *Adv. Exp. Med. Biol.* **976**, 1–8. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1088-4_1
33. Hellmich U.A., Gaudet R. (2014) Structural biology of TRP channels. *Handb. Exp. Pharmacol.* **223**, 963–990. https://doi.org/10.1007/978-3-319-05161-1_10
34. Venkatachalam K., Montell C. (2007) TRP channels. *Annu. Rev. Biochem.* **76**, 387–417. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142819>
35. Voets T. (2012) Quantifying and modeling the temperature-dependent gating of TRP channels. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **162**, 91–119. https://doi.org/10.1007/112_2011_5
36. Coste B., Mathur J., Schmidt M., Earley T.J., Ranade S., Petrus M.J., Dubin A.E., Patapoutian A. (2010) Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science.* **330**(6000), 55–60. <https://doi.org/10.1126/science.1193270>
37. Peng G., Shi X., Kadowaki T. (2015) Evolution of TRP channels inferred by their classification in diverse animal species. *Mol. Phylogenet. Evol.* **84**, 145–157. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.016>
38. Voets T., Nilius B. (2003) TRPs make sense. *J. Membr. Biol.* **192**(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00232-002-1059-8>
39. Voets T., Talavera K., Owsianik G., Nilius B. (2005) Sensing with TRP channels. *Nat. Chem. Biol.* **1**(2), 85–92. <https://doi.org/10.1038/nchembio0705-85>
40. Kadowaki T. (2015) Evolutionary dynamics of metazoan TRP channels. *Pflugers Arch.* **467**(10), 2043–2053. <https://doi.org/10.1007/s00424-015-1705-5>

Spatial Reconstruction of TRPC-Mechanoreceptors of the Ctenophore *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865

A. V. Kuznetsov^{1, 2} and D. N. Vtyurina^{3, *}

¹Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, 299011 Russia

²Sevastopol State University, Sevastopol, 299053 Russia

³Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: vtyurinad@gmail.com

Ctenophore *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 responds to gentle mechanical stimulation with intense luminescence; however, the mechanism of this phenomenon is unknown. We searched for possible mechanosensitive receptors that initiate signal transduction resulting in photoprotein luminescence. The three ortholog genes of mouse (5z96) and *Drosophila* (5vkq) TRPC-proteins, such as ML234550a-PA (860 aa), ML03701a-PA (828 aa) and ML038011a-PA (1395 aa), were found in the *M. leidyi* genome. The latter protein contains a long ankyrin helix consisting of 16 ANK domains. Study of the annotated domains and the network of interactions between the interactome proteins suggests that the ML234550a-PA and ML03701a-PA proteins carry out cytoplasmic, but ML038011a-PA provides intranuclear transduction of mechanical signals. Spatial reconstruction of the studied proteins revealed differences in their structure, which may be related to various functions of these proteins in the cell. The question of which of these proteins is involved in the initiation of luminescence after mechanical stimulation is discussed.

Keywords: Ctenophora, genome, mechanoreceptors, TRPC channels, interactome