

П.А. КАРПОВ¹, А.И. ЕМЕЦ¹, В.Г. МАТУСОВ¹,
А.Ю. НЫПОРКО¹, Е.С. НАДЕЖДИНА^{2,3}, Я.Б. БЛЮМ¹

¹ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Киев

² Институт белка РАН, Москва

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
E-mail: karpov.p.a@gmail.com

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ ПОИСК РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОМОЛОГОВ Ste20-ПОДОБНЫХ СЕРИН/ТРЕОНИНОВЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ



Обнаружено 11 растительных гомологов Ste20-подобных протеинкиназ животных и дрожжей. Показано, что ближайшими растительными гомологами Ste20-подобных протеинкиназ являются белки с ранее неизвестной функцией A9RVK0 из мха *Physcomitrella patens* ssp. *patens* и A7P2E2 из винограда *Vitis vinifera*. Ближайшее положение к группе растительных гомологов занимает Ste20-подобная протеинкиназа *dst1* из слизевика *Dictyostelium discoideum*. Предсказана пространственная структура каталитического домена A9RVK0 из *P. patens*.

© П.А. КАРПОВ, А.И. ЕМЕЦ, В.Г. МАТУСОВ, А.Ю. НЫПОРКО,
Е.С. НАДЕЖДИНА, Я.Б. БЛЮМ, 2009

Введение. Ste20-подобные серин/треониновые протеинкиназы дрожжей [1], миксомицетов [2, 3] и их животные гомологи протеинкиназы SLK (Ste20-подобные серин/треониновые протеинкиназы) отвечают за регуляцию полярности клеток на различных стадиях клеточного цикла [4–6]. Показано, что в клетках дрожжей протеинкиназа Ste20 активирует MAPKKK каскады [7], принимает участие в фосфорилировании белков [8], регуляции выхода из митоза [9], прямой регуляции апоптоза [10], регулирует рост и обратную связь в условиях дефицита глюкозы [11], участвует в осмосенсорных Sho1-сигнальных путях [12], феромон-зависимой передаче сигналов [13], регуляции роста псевдогифов [14], передаче сигналов во время роста мицелия [15], детерминации сайтов почкования клетки [16].

В клетках млекопитающих протеинкиназа SLK (LOSK) ассоциирована с микротрубочками и центросомами, а ее ингибирование приводит к дезориентации микротрубочек [17]. Таким образом, эта протеинкиназа обеспечивает радиальное расположение микротрубочек и является необходимой для правильной локализации аппарата Гольджи в различных типах клеток [17].

На основании аналогии с *Xenopus laevis* [18] предполагается, что протеинкиназа SLK (гомолог xPlkk1 *X. laevis*) может регулировать активность Polo-подобной протеинкиназы Plk1 (гомолога Plx1 *X. laevis*) [17, 19]. Считается, что протеинкиназа SLK фосфорилируется протеинкиназами ATM (ataxia-telangiectasia mutated) или ATR (ataxia-telangiectasia and Rad3-related), которые принимают участие в опосредовании клеточного ответа на повреждение ДНК [20, 21]. Предполагаемая связь протеинкиназы SLK с процессом репарации ДНК подтверждается ее способностью индуцировать апоптоз путем непосредственного фосфорилирования и активации протеинкиназы-1. Эта протеинкиназа регулирует апоптотические сигналы (ASK-1) с последующей активацией p38 митоген-активированной протеинкиназы, участвующей в МКК4/МКК7-JNK и МКК3/МКК6-p38 каскадах, которые контролируют цитокинез и ответ на стресс [22]. Вероятно, этим свойством объясняется роль протеинкиназы SLK в регуляции клеточного деления, в частности, в контроле организации микротрубочек в интерфазе [17].

Ste20-подобные протеинкиназы были выделены в отдельное семейство на основании высокой степени гомологии последовательностей их каталитических доменов STE20 из *Saccharomyces cerevisiae* [23, 24]. Другие же домены молекул протеинкиназ упомянутого семейства могут сильно различаться по последовательностям аминокислот и, соответственно, вторичной структуре молекул [24]. Для протеинкиназ SLK животных характерно наличие каталитического домена (порядка 250–260 аминокислотных остатков) в N-концевой области молекулы [25]. В свою очередь каталитический домен (порядка 248–252 аминокислотных остатков) протеинкиназы STE20 дрожжей расположен в C-концевой области молекулы [26]. Несмотря на различную локализацию, киназные домены Ste20-подобных протеинкиназ животных и дрожжей имеют высокую степень сходства аминокислотных последовательностей. В свое время это явилось основой для биоинформационного предсказания Ste20-подобных протеинкиназ у животных (SLK) и слизевика *Dictyostelium discoideum* на основании их гомологии протеинкиназе STE20 из *S. cerevisiae* [3, 27].

Несмотря на важную роль Ste20-подобных протеинкиназ в регуляции многих фундаментальных процессов, протекающих в клетке, информация о существовании их растительных гомологов практически отсутствует, а единственным известным потенциальным растительным гомологом является протеинкиназа SIK1 (serine/threonine kinase 1) из *Arabidopsis thaliana* [28, GenBank: GI2352083]. Кроме того, недавно, нами была показана гомология белка с неизвестной функцией – A7P2E2_VITVI из винограда протеинкиназе SLK человека (Q9H2G2) [29].

Таким образом, высокая консервативность первичных последовательностей каталитических доменов Ste20-подобных протеинкиназ представителей грибов, слизевиков и млекопитающих [3, 27] позволила нам сделать вывод в пользу результативности биоинформационного поиска гомологов Ste20-подобных протеинкиназ у высших растений. В связи с этим целью настоящего исследования являлся поиск гомологов Ste20-подобных протеинкиназ высших растений путем сканирования баз

данных (Swiss-Prot и TrEMBL) с применением в качестве поисковых векторов последовательностей каталитических доменов протеинкиназ SLK животных и STE20 дрожжей, взятых из базы данных Swiss-Prot. Нас интересовало также выяснение положения этих гомологов относительно групп представителей суперсемейства протеинкиназ STE20 миксомицетов, грибов и животных.

Материалы и методы. Эталонные последовательности Ste20-подобных протеинкиназ животных, дрожжей и миксомицетов были взяты из базы данных Swiss-Prot (www.expasy.org) [30]. Поиск растительных гомологов производили путем BLASTp-сканирования базы данных UniProt (Swiss-Prot и TrEMBL) [30] против последовательностей каталитических доменов протеинкиназ SLK_HUMAN (Q9H2G2) человека и STE20_YEAST (Q03497) из *S. cerevisiae*. BLASTp-сканирование (SIB BLAST Network Service) выполняли при следующих параметрах: весовая матрица – BLOSUM62, порог E (число ожидаемых совпадений в случайной выборке) = 10 с подключением фильтров: «Filter the sequence for low-complexity regions» и «Gapped alignment» (www.expasy.org) [31]. Отбор растительных гомологов осуществляли на основании таких показателей, как процент идентичности последовательностей, процент их сходства, а также случайным ожиданием этих результатов (E-value) [32].

Доменную архитектуру белков анализировали с применением сетевого инструмента SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) [33], а также на основании информации, представленной на ресурсе ExPASy Proteomics Server (<http://www.expasy.org/>). Множественные выравнивания аминокислотных последовательностей выполняли с помощью программы Clustal X (2.0.5) (<http://www.clustal.org>) [34]. Выравнивания аминокислотных последовательностей осуществляли с применением серии матриц BLOSSUM, а нуклеотидных последовательностей – с применением серии матриц Gonnet [34].

Филогенетический анализ выполняли на основании результатов множественных выравниваний последовательностей протеинкиназных доменов [35, 36] с применением метода UPGMA [37] и метода связывания ближай-

Растительные гомологи STE20-подобных серин-треониновых протеинкиназ, выделенные на основании результатов SIB-BLAST сканирования базы данных UniProt, против каталитических доменов SLK из *Homo sapiens* и STE20 из *Saccharomyces cerevisiae*

UniProt	Вид	Вес выравнивания		E-value		Идентичность, %		Сходство, %		Гены, %	
		SLK_HUMAN	STE20_YEAST	SLK_HUMAN	STE20_YEAST	SLK_HUMAN	STE20_YEAST	SLK_HUMAN	STE20_YEAST	SLK_HUMAN	STE20_YEAST
B9REC4	<i>Ricinus communis</i>	245	191	3e-63	4e-48	46	40	66	58	2	1
A9RVK0	<i>Physcomitrella patens</i> ssp. <i>patens</i>	243	187	1e-62	6e-47	46	39	65	58	2	1
A7P2E2	<i>Vitis vinifera</i>	243	189	1e-62	2e-47	46	40	65	58	2	1
B9HXI5	<i>Populus balsamifera</i> ssp. <i>trichocarpa</i>	239	184	2e-61	8e-46	46	39	65	58	2	1
Q9LQA1 (F4N2.17)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	242	190	2e-62	7e-48	46	40	66	58	2	1
O24527(SIK1)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	242	190	2e-62	7e-48	46	40	66	58	2	1
Q10CN6(Q9FNU3)	<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>japonica</i>	241	188	4e-62	4e-47	45	39	65	58	2	1
B8AK85	<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>indica</i>	241	188	4e-62	4e-47	45	39	65	58	2	1
Q8LKU7(170F8.3)	<i>Sorghum bicolor</i>	241	187	5e-62	8e-47	45	38	65	58	2	1
Q9ARL7	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>distichum</i>	239	184	1e-61	7e-46	45	38	65	58	2	1
B3GK00	<i>Solanum chacoense</i>	238	187	3e-61	8e-47	45	40	66	58	2	1

Примечание. SLK_HUMAN – STE20-подобная протеинкиназа из *Homo sapiens*; STE20_YEAST – протеинкиназа STE20 из *Saccharomyces cerevisiae*.

ших соседей (Neighbor-Joining или N-J) [37, 38]. Визуализацию и анализ дендрограмм осуществляли с помощью программ TreeView X Ver.5 [39] и MEGA4 [40].

Доменную организацию и границы протеинкиназного домена определяли на основании моделей SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>). Консервативность остатков и мотивов в функционально важных положениях растительных гомологов оценивали на основании сравнительного анализа относительно исходных последовательностей SLK протеинкиназы человека (www.expasy.org).

Для реконструкции пространственной структуры A9RVK0 (названной нами STSLK, Serine/Theonine Ste20-Like Kinase) из мха *Physcomitrella patens* ssp. *patens* применяли метод гомологичного (профильного) моделирования [41]. В качестве матрицы свертки использовали пространственную структуру комплекса протеинкиназы Mst1 (Q13043, STK4_HUMAN, Serine/threonine-protein kinase 4) человека [<http://www.pdb.org/pdb/cgi/explore.cgi?pdbId=3COM>], депонированную в Protein Data Bank (PDB) (код доступа 3COM) [42]. Недостающий в матрице участок из четырех аминокислотных остатков, принадлежащих АТФ-связывающей петле, реконструировали с использованием информации о структуре комплекса Ste20-подобной протеинкиназы человека с 5-амино-3-((4-аминосульфенил)фенил)амино-N-(2,6-дифторфенил)-1H-1,2,4-триазол-1-карботиоамидом (код доступа 2J51). Оптимизацию геометрии построенной модели осуществляли путем минимизации энергии согласно методу L-BFGS [43]. Визуализацию полученных данных производили с помощью программы DS Visualizer 2.0 (Accelrys Software Inc.). Структурные различия между A9RVK0 и Mst1 оценивали на основании расчета RMSD (корня среднеквадратичного отклонения их координат) с использованием возможностей программного пакета Swiss-Pdb Viewer 4.0 [44].

Результаты исследований и их обсуждение. В результате BLASTp-сканирования UniProt (Swiss-Prot / TrEMBL) против последовательности каталитического домена SLK_HUMAN были обнаружены растительные гомологи Ste20-подобной протеинкиназы человека

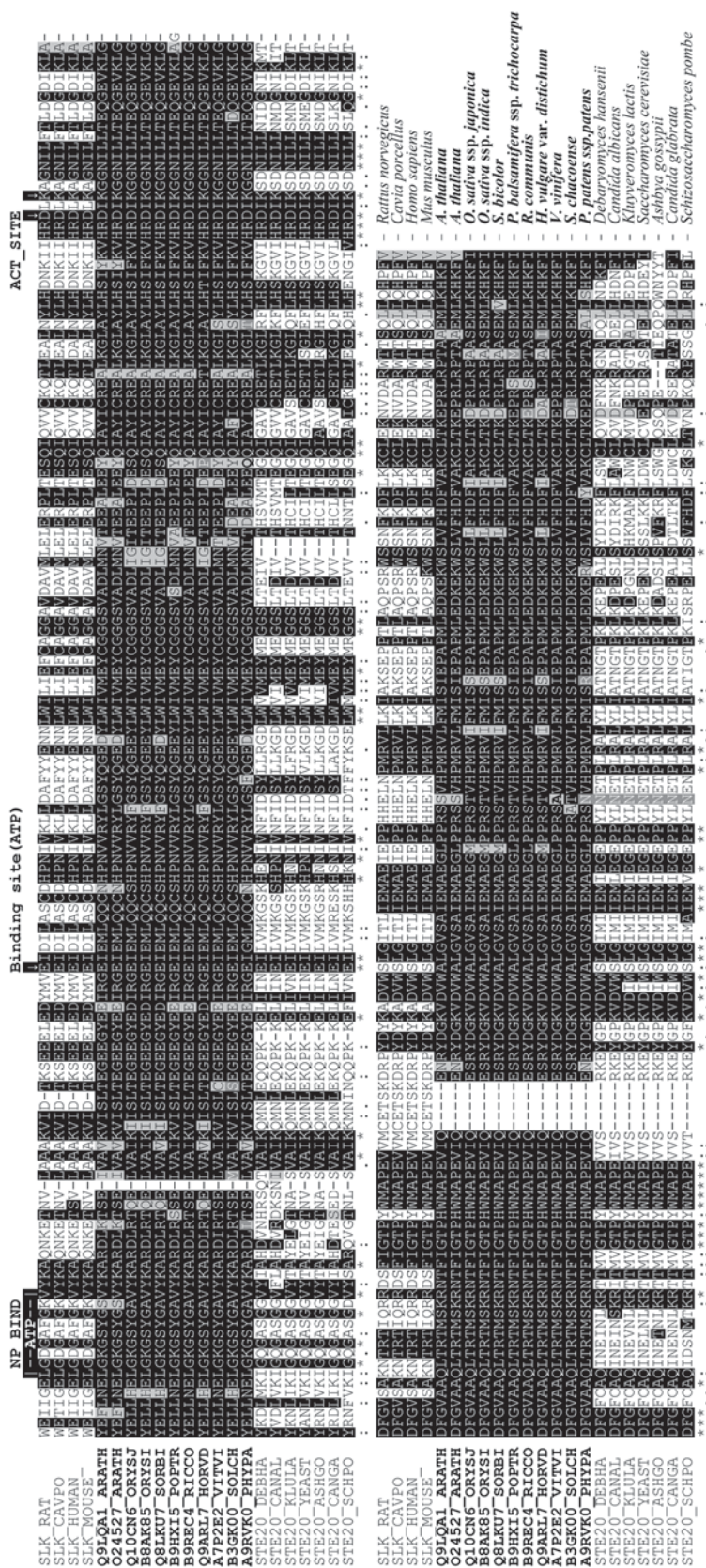


Рис. 1. Выравнивание последовательностей каталитических доменов протеникиназ STE20 дрожжей, SLK животных и их потенциальных растительных гомологов: *Arabidopsis thaliana* (O91LQA1; O24527), *Oryza sativa ssp. japonica* (Q10CN6), *O. sativa ssp. indica* (B8AK85), *Sorghum bicolor* (O8LKU7), *Populus balsamifera ssp. trichocarpa* (B9HX15), *Ricinus communis* (B9REC4), *Hordeum vulgare var. distichum* (A7P2E2), *Vitis vinifera* (Q9ARL7), *Solanum chacoense* (B3GK00) и *Physcomitrella patens ssp. patens* (A9RVK0). NP_BIND (ATP) — область связывания нуклеотидфосфата; Binding site (ATP) — сайт связывания с АТФ; ACT_SITE — акцептор протонов

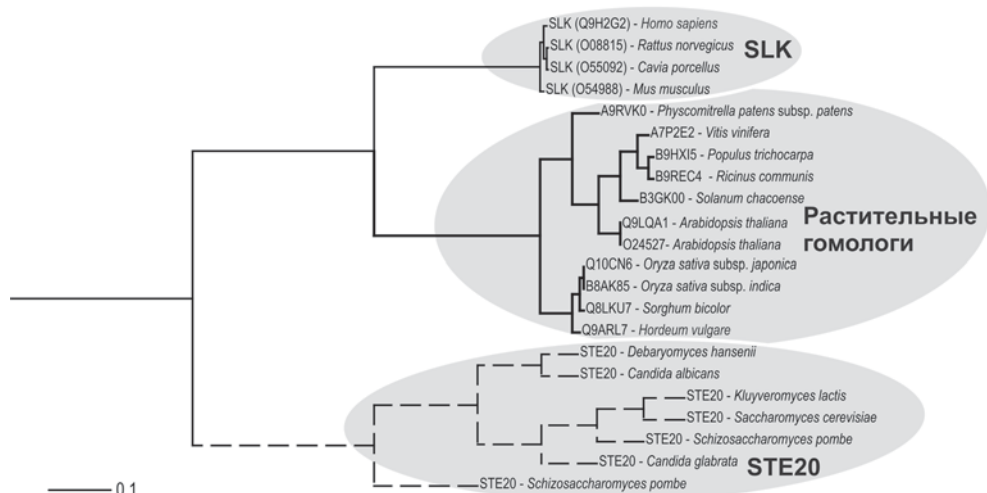


Рис. 2. Результаты филогенетического анализа близости животных SLK, дрожжевых и растительных Ste20-подобных протеинкиназ на основании сходства аминокислотных последовательностей их каталитических доменов. Кладистический анализ выполнен с применением алгоритма UPGMA

(SLK). Согласно данным BLAST-сканирования базы данных UniProt, идентичность консенсусных областей достигала 45–46 % при 65–66%-ном сходстве (таблица), и, как показали результаты анализа в SMART, обнаруженные последовательности во всех случаях соответствовали каталитическим доменам серин / треониновых протеинкиназ. Все обнаруженные растительные гомологи Ste20-подобных протеинкиназ депонированы в базе данных TrEMBL и обозначены как белки с неизвестной функцией. Исключение составляет только белок O24527 (TAIR: Atlg69220) из *A. thaliana*, представленный как потенциальный гомолог STE20–SLK1 (серин/треониновая протеинкиназа 1). Аналогичное сканирование базы данных UniProt с использованием в качестве поискового вектора последовательности каталитического домена протеинкиназы STE20 из *S. cerevisiae* (STE20_YEAST), являвшейся в свое время исходной для поиска животных гомологов [45], также подтвердило принадлежность найденных растительных белков к группе Ste20-подобных протеинкиназ. При этом идентичность консенсусных областей последовательности протеинкиназы STE20_YEAST составляет 38–40 % при 58%-ном сходстве (таблица).

После исключения дублирующих статей путем сопоставления координат соответствующих генов было выделено 11 гомологов Ste20-

подобных протеинкиназ из следующих растений: *A. thaliana* (Q9LQA1, O24527), *Hordeum vulgare* var. *distichum* (Q9ARL7), *O. sativa* ssp. *japonica* (Q10CN6), *O. sativa* ssp. *indica* (B8AK85), *Physcomitrella patens* ssp. *patens* (A9RVK0), *Populus balsamifera* ssp. *trichocarpa* (B9HXI5), *Ricinus communis* (B9REC4), *Solanum chacoense* (B3GK00), *Sorghum bicolor* (Q8LKU7) и *Vitis vinifera* (A7P2E2) (таблица).

Для определения положения найденных растительных протеинкиназ относительно групп Ste20-подобных протеинкиназ животных и STE20-протеинкиназ дрожжей было выполнено множественное выравнивание последовательностей их каталитических доменов и последовательностей каталитических доменов экспериментально проверенных животных (SLK) и дрожжевых (STE20) протеинкиназ, депонированных в Swiss-Prot (рис. 1), а также построено филогенетическое UPGMA древо (рис. 2). Полученные результаты подтверждают высокую степень консервативности найденных растительных протеинкиназ на уровне аминокислотных последовательностей каталитических доменов (идентичность – 87–100 %; сходство – 95–100 %). При этом выявленная группа растительных Ste20-подобных протеинкиназ оказалась близкой как животным протеинкиназам SLK (идентичность – 44–46 %; сходство – 64–65 %), так и STE20-про-

мологии *in silico* (рис. 4, см. вклейку в конце номера). Поскольку пока пространственная структура SLK (Ste20-like kinase) человека еще не реконструирована, на основании результатов сканирования базы данных PDB в качестве матрицы для моделирования пространственной структуры по гомологии была выбрана протеинкиназа человека Mst1 (STK4_HUMAN; PDB: 3COM — <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/3com>) [46]. Степень идентичности первичных структур каталитических доменов STSLK и матричного белка Mst1 составляет 48,5 % при 68,5%-ном сходстве. Кроме того, идентичные и подобные аминокислотные остатки достаточно равномерно распределены вдоль всей пептидной цепи, что гарантирует высокую достоверность [47] реконструированной нами пространственной структуры каталитической области белка STSLK (рис. 4).

Отличия в пространственной ориентации аминокислотных остатков, формирующих сайт связывания с АТФ у белка STSLK (Лей-145, Гли-146, Лиз-147, Гли-148, Сер-149, Тир-150, Гли-151, Ала-151, Вал-153, Лиз-168), и соответствующих им остатков у протеинкиназы Mst1 (Лей-36, Гли-37, Глу-38, Гли-39, Сер-40, Тир-41, Гли-42, Сер-43, Вал-44, Лиз-59) при пространственном выравнивании каталитических доменов в среднем составляют величину 1,51 Å. В свою очередь отличия в пространственной ориентации остатков аспарагина, формирующих активный центр (акцептор протонов Асп-261 (STSLK) и Асп-149 (Mst1)), составляют величину 0,73 Å. Аналогичная величина для целых каталитических доменов составляет 1,34 Å. Результаты дополнительного фитинга (наложения и выравнивания) трехмерных структур АТФ-связывающих центров белков STSLK и Mst1 свидетельствуют о значительно большем структурном сходстве последних — 0,77 Å. Интересно то, что остатки треонина протеинкиназы STSLK, расположенные в положениях Тре-287 и Тре-295 (рис. 4), соответствуют остаткам протеинкиназы Mst1, вовлекаемым в процесс фосфорилирования, и отличаются по ориентации от своих аналогов на величины, меньшие, чем в среднем по домену — 0,71 и 0,97 Å соответственно. Это свидетельствует об относительно более высокой «консервативности» пространственной структуры данных участ-

ков по сравнению с пространственной структурой всей молекулы и, наряду с достаточной консервативностью аминокислотного состава, может служить дополнительным доказательством каталитических свойств исследуемого белка. Максимальные отличия пространственной структуры протеинкиназ STSLK и Mst1 наблюдаются для остатков в диапазонах положений от 173 до 180 (отклонение свыше 6 Å) и для остатка треонина в позиции 399 аминокислотной последовательности STSLK.

Таким образом, выраженная гомология аминокислотных и нуклеотидных последовательностей, данные кладистического анализа и результаты анализа пространственной структуры белка STSLK (A9RVK0) из *Physcomitrella patens* ssp. *patens* с высокой степенью вероятности подтверждают его принадлежность к группе Ste20-подобных серин/треониновых протеинкиназ и позволяют выделить ее в качестве наиболее вероятного растительного гомолога протеинкиназы SLK человека.

Высокий уровень сходства последовательностей каталитических доменов обнаруженных растительных гомологов и результаты предсказания пространственной структуры белка STSLK позволяют идентифицировать данную группу как растительные Ste20-подобные протеинкиназы. В настоящее время Ste20-подобные протеинкиназы обнаружены у представителей *Mammalia*, *Fungi* и *Mycetozoa* [48, 49, www.expasy.org]. Для уточнения положения обнаруженных растительных гомологов относительно Ste20-подобных протеинкиназ было выполнено множественное выравнивание последовательностей их каталитических доменов и каталитических доменов инструментально проверенных Ste20-подобных протеинкиназ, депонированных в базе данных Swiss-Prot. При этом границы каталитических доменов были определены на основании результатов анализа полных аминокислотных последовательностей в SMART.

Одновременно анализ в SMART подтвердил значительные различия в доменном составе, доменной архитектуре и топологии каталитических S_TKc доменов известных Ste20-подобных протеинкиназ из *Mammalia*, *Fungi*, *Mycetozoa* и их гомологов из *Viridiplantae* (рис. 5, см. вклейку в конце номера) [24]. Так, в ря-

де случаев в составе ранее известных Ste20-подобных протеинкиназ помимо каталитического S_TKc домена присутствуют: PH — домен плекстриновой гомологии (*Mycetozoa* — *Dictyostelium discoideum*: PAKC) [50], PRT — просперо (RPT_1) домен (*Viridiplantae* — *Hordeum vulgare*: Q9ARL7), трансмембранная область (домен) (*Mammalia* — *Homo sapiens*: ТАОК2; *Mycetozoa* — *D. discoideum*: PAKH), calpanin_III — кальпонин-III домен (*Mycetozoa* — *D. discoideum*: STK4L), PBD (CRIB) — домен интерактивного связывания Cdc42/Rac (Fungi: STE20 (*S. cerevisiae*), STE20 (*Schizosaccharomyces pombe*), STE20 (*Candida glabrata*), STE20 (*Kluyveromyces lactis*), STE20 (*Schizosaccharomyces pombe*), STE20 (*Candida albicans*), STE20 (*Debaryomyces hansenii*); *Mycetozoa* (*D. discoideum*): ПАКА; ПАКС; ПАКВ), C1 — домен богатый цистеином (*Mycetozoa* — *D. discoideum*: PAKD) (рис. 5).

Филогенетическое N-J дерево, построенное на основании множественного выравнивания (рис. 5), показало, что группа растительных гомологов имеет наибольшее сходство каталитических доменов с депонированной в Swiss-Prot Ste20-подобной протеинкиназой DST1 (http://dictybase.org/db/cgi-bin/gene_page.pl?dictybaseid=DDB0216377) из *D. discoideum* [51]. При этом идентичность аминокислотных последовательностей каталитических доменов растительных гомологов и Ste20-подобной протеинкиназы DST1 составляла 61–62 % при 78%-ном сходстве. Кроме того, при сканировании базы данных UniProt с помощью инструмента BLASTr против каталитического домена DST1 максимальное сходство аминокислотных последовательностей имели именно растительные протеинкиназы, обнаруженные нами при сканировании Swiss-Prot / TrEMBL, против последовательности каталитического домена протеинкиназы SLK (SLK_HUMAN) из *Homo sapiens*.

Это не только еще раз подтверждает принадлежность обнаруженных растительных гомологов к группе Ste20-подобных протеинкиназ, но также позволяет определить аминокислотную последовательность каталитического домена протеинкиназы DST1 из *Dictyostelium discoideum* как лучший вектор для биоинформационного поиска новых Ste20-подобных протеинкиназ у высших растений.

Настоящая работа была выполнена в рамках проекта 08–04–90454: «Сравнительный анализ киномов микротрубочек животных и высших растений» при финансовой поддержке проектов совместного конкурса НАН Украины — РФФИ на 2008–2009 гг.

*P.A. Karpov, A.I. Yemets, V.G. Matusov,
A.Yu. Nyorko, E.S. Nadezhkina, Ya.B. Blume*

BIOINFORMATIC SEARCH FOR PLANT HOMOLOGS OF Ste20-LIKE SERINE/THREONINE PROTEIN KINASES

Eleven plant homologs of animal and yeast Ste20-like protein kinases were identified. It was shown that the nearest plant homologs of the Ste20-like protein kinases are the unknown proteins A9RVK0 from *Physcomitrella patens* ssp. *patens* and A7P2E2 from *Vitis vinifera*. Cladistic analysis showed a protein kinase dst1 from *Dictyostelium discoideum* as the closest protein to the newly found plant homologs. A predicted spatial structure of the A9RVK0 from *P. patens* ssp. *patens* catalytic domain is presented.

*П.А. Карпов, А.И. Емец, В.Г. Матусов,
О.Ю. Нюорко, Е.С. Надеждина, Я.Б. Блюм*

БІОІНФОРМАЦІЙНИЙ ПОШУК РОСЛИННИХ ГОМОЛОГІВ Ste20-ПОДІБНИХ СЕРІН/ТРЕОНІН ПРОТЕЇНКИНАЗ

Знайдено 11 рослинних гомологів Ste20-подібних протеїнкіназ тварин та дріжджів. Показано, що найближчими рослинними гомологами Ste20-подібних протеїнкіназ являються білки з раніше невідомою функцією A9RVK0 із *Physcomitrella patens* ssp. *patens* та A7P2E2 із *Vitis vinifera*. Найближче положення до групи рослинних гомологів займає Ste20-подібна протеїнкіназа dst1 із *Dictyostelium discoideum*. Реконструйована просторова структура каталітичного домену A9RVK0 із *P. patens* ssp. *patens*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Eby J.J., Holly S.P., van Drogen F., Grishin A.V., Peter M., Drubin D.G., Blumer K.J. Actin cytoskeleton organization regulated by the PAK family of protein kinases // *Curr. Biol.* — 1998. — 8, № 17. — P. 967–970.
2. Rohlf M., Arasada R., Batsios P., Janzen J., Schleicher M. The Ste20-like kinase SvkA of *Dictyostelium discoideum* is essential for late stages of cytokinesis // *J. Cell Sci.* — 2007. — 120 (Pt 24). — P. 4345–4354.
3. Arasada R., Son H., Ramalingam N., Eichinger L., Schleicher M., Rohlf M. Characterization of the Ste20-like kinase Krs1 of *Dictyostelium discoideum* // *Eur. J. Cell Biol.* — 2006 — 85, № 9/10. — P. 1059–1068.
4. Nichols C.B., Fraser J.A., Heitman J. PAK kinases

- Ste20 and Pak1 govern cell polarity at different stages of mating in *Cryptococcus neoformans* // Mol. Biol. Cell. — 2004. — **15**. — P. 4476–4489.
5. Yamada E., Tsujikawa K., Itoh S., Kameda Y., Kohama Y., Yamamoto H. Molecular cloning and characterization of a novel human Ste20-like kinase, hSLK // Biochem. Biophys. Acta. — 2000. — **1495**, № 3. — P. 250–262.
 6. Pytowski B., Hicklin D.J., Kornhaber G., Dellaratta D.V., Witte L. Identification and initial characterization of mSLK, a murine member of the STE20 family of kinases // Arch. Biochem. Biophys. — 1998. — **359**, № 2. — P. 310–319.
 7. Wu C., Whiteway M., Thomas D.Y., Leberer E. Molecular characterization of Ste20p, a potential mitogen-activated protein or extracellular signal-regulated kinase kinase (MEK) kinase kinase from *Saccharomyces cerevisiae* // J. Biol. Chem. — 1995. — **270**, № 27. — P. 15984–15992.
 8. Nespoli A., Vercillo R., di Nola L., Diani L., Giannattasio M., Plevani P., Muzi-Falconi M. Alk1 and Alk2 are two new cell cycle-regulated haspin-like proteins in budding yeast // Cell Cycle. — 2006. — **5**, № 13. — P. 1464–1471.
 9. Sullivan M., Uhlmann F. A non-proteolytic function of separase links the onset of anaphase to mitotic exit // Nat. Cell Biol. — 2003. — **5**, № 3. — P. 249–254.
 10. Ahn S.H., Cheung W.L., Hsu J.Y., Diaz R.L., Smith M.M., Allis C.D. Sterile 20 kinase phosphorylates histone H2B at serine 10 during hydrogen peroxide-induced apoptosis in *S. cerevisiae* // Cell. — 2005. — **120**, № 1. — P. 25–36.
 11. Froquet R., Cherix N., Birke R., Benghezal M., Camerani E., Letourneur F., Möscher H.U., De Virgilio C., Cosson P. Control of cellular physiology by TM9 proteins in yeast and *Dictyostelium* // J. Biol. Chem. — 2008. — **283**, № 11. — P. 6764–6772.
 12. Tatebayashi K., Tanaka K., Yang H.Y., Yamamoto K., Matsushita Y., Tomida T., Imai M., Saito H. Transmembrane mucins Hkr1 and Msb2 are putative osmosensors in the SHO1 branch of yeast HOG pathway // EMBO J. — 2007. — **26**, № 15. — P. 3521–3533.
 13. Moskow J.J., Gladfelter A.S., Lamson R.E., Pryciak P.M., Lew D.J. Role of Cdc42p in pheromone-stimulated signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae* // Mol. Cell Biol. — 2000. — **20**, № 20. — P. 7559–7571.
 14. Pan X., Heitman J. Sok2 regulates yeast pseudohyphal differentiation via a transcription factor cascade that regulates cell-cell adhesion // Mol. Cell Biol. — 2000. — **20**, № 22. — P. 8364–8372.
 15. Cullen P.J., Sabbagh W.Jr., Graham E., Irick M.M., van Olden E.K., Neal C., Delrow J., Bardwell L., Sprague G.F.Jr. A signaling mucin at the head of the Cdc42- and MAPK-dependent filamentous growth pathway in yeast // Genes Dev. — 2004. — **18**, № 14. — P. 1695–1708.
 16. Ni L., Snyder M. A genomic study of the bipolar bud site selection pattern in *Saccharomyces cerevisiae* // Mol. Biol. Cell. — 2001. — **12**, № 7. — P. 2147–2170.
 17. Burakov A.V., Zhapparova O.N., Kovalenko O.V., Zinovkina L.A., Potekhina E.S., Shanina N.A., Weiss D.G., Kuznetsov S.A., Nadezhkina E.S. Ste20-related protein kinase LOSK (SLK) controls microtubule radial array in interphase // Mol. Biol. Cell. — 2008. — **19**, № 5. — P. 1952–1961.
 18. Qian Y.W., Erikson E., Maller J.L. Purification and cloning of a protein kinase that phosphorylates and activates the polo-like kinase Plx1 // Science. — 1998. — **282**. — P. 1701–1704.
 19. Ellinger-Ziegelbauer H., Karasuyama H., Yamada E., Tsujikawa K., Todokoro K., Nishida E. Ste20-like kinase (SLK), a regulatory kinase for polo-like kinase (Plk) during the G2/M transition in somatic cells // Genes Cells. — 2000. — **5**, № 6. — P. 491–498.
 20. Demonacos C., Krstic-Demonacos M., Smith L., Xu D., O'Connor D.P., Jansson M., La Thangue N.B. A new effector pathway links ATM kinase with the DNA damage response // Nat. Cell Biol. — 2004. — **6**, № 10. — P. 968–976.
 21. Matsuoka S., Ballif B.A., Smogorzewska A., McDonald E.R. 3rd, Hurov K.E., Luo J., Bakalarski C.E., Zhao Z., Solimini N., Lerenthal Y., Shiloh Y., Gygi S.P., Elledge S.J. ATM and ATR substrate analysis reveals extensive protein networks responsive to DNA damage // Science. — 2007. — **316**, № 5828. — P. 1160–1166.
 22. Hao W., Takano T., Guillemette J., Papillon J., Ren G., Cybulsky A.V. Induction of apoptosis by the Ste20-like kinase SLK, a germinal center kinase that activates apoptosis signal-regulating kinase and p38 // J. Biol. Chem. — 2006. — **281**, № 6. — P. 3075–3084.
 23. Leeuw T., Wu C., Schrag J.D., Whiteway M., Thomas D.Y., Leberer E. Interaction of a G-protein beta-subunit with a conserved sequence in Ste20/PAK family protein kinases. // Nature. — 1998. — **391**, № 6663. — P. 191–195.
 24. Потехина Е.С., Надеждина Е.С. Митоген активируемые протеинкиназные каскады и участие в них Ste20-подобных протеинкиназ // Усп. биол. химии. — 2002. — **42**. — С. 235–256.
 25. Sabourin L.A., Rudnicki M.A. Induction of apoptosis by SLK, a Ste20-related kinase // Oncogene. — 1999. — **18**, № 52. — P. 7566–7575.
 26. Cvrcková F., De Virgilio C., Manser E., Pringle J.R., Nasmyth K. Ste20-like protein kinases are required for normal localization of cell growth and for cytokinesis in budding yeast // Genes Dev. — 1995. — **9**. — P. 1817–1830.
 27. Lee K.-K., Yonehara S. Phosphorylation and dimerization regulate nucleocytoplasmic shuttling of mammalian STE20-like kinase (MST) // J. Biol. Chem. — 2002. — **277**, № 14. — P. 12351–12358.
 28. Winge P., Brembu T., Bones A.M. Cloning of a

- Arabidopsis thaliana* serine/threonine kinase with homology to yeast STE20 and mammalian stress activated kinases // Submitted (APR-1997) to the EMBL/GenBank/DDBJ databases: GI:2352083. — <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2352083>.
29. Карнов П.А., Надеждина Е.С., Емец А.И., Мамусов В.Г., Ныторко А.Ю., Шашина Н.Ю., Блюм Я.Б. Биоинформационный поиск растительных протеинкиназ, участвующих в фосфорилировании белков микротрубочек и регуляции деления клеток // Цитология и генетика. — 2009. — **43**, № 3. — С. 63–79.
 30. The UniProt Consortium. The Universal Protein Resource (UniProt) // Nucl. Acids Res. — 2008. — **36**. — D190–195.
 31. Korf I., Yandell M., Bedell J. BLAST. O'Reilly & Associates, Sebastopol, 2003. — 368 p.
 32. Claverie J.-M., Notredame C. Bioinformatics for dummies. — New York: Wiley Publ., 2007. — 436 p.
 33. Letunic I., Copley R.R., Pils B., Pinkert S., Schultz J., Bork P. SMART 5: domains in the context of genomes and networks // Nucl. Acids Res. — 2006. — **34**. — D257–260.
 34. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace J.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. Clustal W and Clustal X version 2.0 // Bioinformatics. — 2007. — **23**. — P. 2947–2948.
 35. Zhang C., Brankle S., Mallery E., Szymanski D. Composition and function of the Arabidopsis WAVE complex during epidermal morphogenesis // 16th International Conference on Arabidopsis Research. — Madison, 2005. — P. 131.
 36. Hanks S.K., Quinn A.M. Protein kinase catalytic domain sequence database: identification of conserved features of primary structure and classification of family members // Methods Enzymol. — 1991. — **200**. — P. 38–62.
 37. Nei M., Kumar S. Molecular Evolution and Phylogenetics. — New York: Oxford Univ. Press, 2000. — 333 p.
 38. Atteson K. The performance of neighbor-joining algorithms of phylogeny reconstruction // Lecture Notes in Computer Science / Eds T. Jiang, D. Lee. — Berlin: Springer-Verlag, 1997. — **1276**. — P. 101–110.
 39. Page R.D.M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers // Comp. Appl. in the Biosci. — 1996. — **12**. — P. 357–358.
 40. Kumar S., Dudley J., Nei M., Tamura K. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences // Brief. Bioinform. — 2008. — **9**. — P. 299–306.
 41. Krieger E., Nabuurs S.B., Vriend G. Homology modeling // Structural Bioinformatics / Eds P.E. Bourne, H. Weissig. — Hoboken: John Wiley & Sons, 2003. — P. 509–524.
 42. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank // Nucl. Acids Res. — 2000. — **28**. — P. 235–242.
 43. Das B., Meirovitch H., Navon I.M. Performance of hybrid methods for large-scale unconstrained optimization as applied to models of proteins // J. Comput. Chem. — 2003. — **24**. — P. 1222–12231.
 44. Guex N., Peitsch M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling // Electrophoresis. — 1997. — **18**. — P. 2714–2723.
 45. Dan I., Watanabe N.M., Kusumi A. The Ste20 group kinases as regulators of MAP kinase cascades // Trends Cell Biol. — 2001. — **11**, № 5. — P. 220–230.
 46. Creasy C.L., Ambrose D.M., Chernoff J. The Ste20-like protein kinase, Mst1, dimerizes and contains an inhibitory domain. // J. Biol. Chem. — 1996. — **271**, № 35. — P. 21049–21053.
 47. Krieger E., Nabuurs S.B., Vriend G. Homology Modeling. Chapter 25 // Structural Bioinformatics. Vol. 44 / Eds P.E. Bourne, H. Weissig. — New York: John Wiley & Sons, Inc., 2003. — P. 509–523.
 48. Strange K., Denton J. Ste20-type kinases: evolutionarily conserved regulators of ion transport and cell volume // Physiology. — 2006. — **21**, № 1. — P. 61–68.
 49. Rohlf M., Arasada R., Batsios P., Janzen J., Schleicher M. The Ste20-like kinase Svka of *Dictyostelium discoideum* is essential for late stages of cytokinesis // J. Cell Sci. — 2007. — **120**. — P. 4345–4354.
 50. Xu X., Jiao X., Jin T. Spectral confocal FRET imaging reveals the spatial-temporal activation of the heterotrimeric G-proteins in single chemotactic cells. // International *Dictyostelium* Conference: Abstracts Erskine House, Lorne, Victoria, Australia, 2003. — P. 6.
 51. Goldberg J.M., Manning G., Liu A., Fey P., Pilcher K.E., Xu Y., Smith J.L. The *dictyostelium* kinome-analysis of the protein kinases from a simple model organism // PLoS Genet. — 2006. — **2**, № 3. — e38.

Поступила 18.06.09