

ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕЙСТВА КАТИОННЫХ TRPA1-КАНАЛОВ *TRICHOPLAX SP. H2 (PLACOZOA)*

Фадеева М.В.¹, Сергеева Е.В.¹, Рыбакова К.А.¹, Кузнецов А.В.^{1,2}

¹ Севастопольский государственный университет,

ул. Университетская 33, г. Севастополь, 299053, РФ

² Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН

просп. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ; e-mail: kuznet61@gmail.com

Поступила в редакцию 21.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0550

Аннотация. Механорецепторы способны преобразовывать силовые воздействия в электрохимические сигналы, которые инициируют волну деполяризации, распространяющуюся по поверхности клетки. В *Drosophila melanogaster* известен канал механотрансдукции TRPN1/NompC в составе которого находятся анкириновые повторы, выполняющие роль стробирующей спирали [1]. В этой работе мы впервые представляем семейство катионных TRPA1-каналов у *Trichoplax sp. H2* (Placozoa), состоящее из 42 гомологов длиной от 468 до 3240 аа. Внутри семейства выделено три обособленных кластера с разной длиной полипептидной цепи и различным содержанием анкириновых повторов. Реконструирована пространственная структура TRPA1-канала RDD36842.1, проведён докинг аспирина – возможного блокатора TRP-каналов. Анализируется структура членов семейства, рассматривается механическая модель работы канала, а также обсуждается вероятная функция и физиология этих белковых молекул и их роль в поведении трихоплакса. Вариации числа анкириновых повторов на N-конце исследованных TRP-протеинов и обнаруженные различия на C-конце могут свидетельствовать о полифункциональности данных белков у Placozoa. Возможно, TRP-каналы возникли в ходе ранней эволюции до появления многоклеточности, но диверсифицировали в многоклеточных животных с усложнением структурной организации последних.

Ключевые слова: Placozoa, механотрансдукция, TRP-каналы, пространственная реконструкция, докинг.

ВВЕДЕНИЕ

Около 30 лет назад в лаборатории Чарльза Цукера (Charles Zuker) из университета Колумбии в Нью-Йорке (США) были обнаружены мутанты мушек *Drosophila melanogaster*, которые не реагировали на механическое раздражение [2]. Мутантные личинки pompC демонстрировали недостаточную реакцию на прикосновения, а у взрослых особей произошла утрата чувствительности механорецепторных щетинок в результате отсутствия механосенсорной сигнализации [3]. Позднее был идентифицирован и клонирован ген *NompC* [4], а также определена атомарная структура механорецептора TRPN1/NompC с применением криоэлектронной микроскопии [1], что открыло путь к изучению наномеханики тактильных сенсоров. Помимо результатов на плодовой мушке были получены подтверждения и на других лабораторных моделях, как например, нематода *C. elegans* и аквариумная рыбка *Danio rerio* [5].

Оказалось, что каналы переходного рецепторного потенциала (Transient Receptor Potential channels, TRP-channels) представляют собой группу ионных каналов, обычно расположенных на плазматической мембране многих типов клеток животных. Большинство из них сгруппированы в две большие группы: группа 1 включает TRPC, TRPV, TRPVL, TRPM, TRPS, TRPN и TRPA, а группа 2 состоит из TRPP и TRPML каналов, где последняя буква обозначает структурную или функциональную особенность канала [6,7]. Например, для ионного канала TRPA-типа, метка "A" обозначает анкирин [8]. Многие из этих каналов опосредуют у человека различные чувства, такие как боль, температура, давление и разные вкусовые ощущения [9-12]. TRPA-каналы экспрессируются у самых разных животных, как позвоночные, членистоногие и моллюски [13]. TRPA1-каналы также существуют у различных видов, но они менее изучены [14].

Возможно, механочувствительные рецепторы играют важную роль и в жизни модельного морского животного трихоплакса (тип Пластинчатые), который является базальным многоклеточным живым объектом [15], напоминает по форме и типу движения одноклеточную амёбу [16] и представляет собой наглядный пример взаимодействия группы клеток в едином организме [17,18]. Механика движения трихоплакса интенсивно изучалась с помощью цейтраферной видеосъёмки и активно моделировалась с помощью различных математических подходов [19,20]. Недавно в геномах трихоплаксов *Trichoplax adhaerens* и *Trichoplax sp. H2* идентифицированы по одному гену, кодирующему пьезопротеины, построены пространственные модели соответствующих белков XP_002112008.1 и RDD46920.1, соответственно, и установлена связь с другими белками в сети протеин-протеиновых взаимодействий, которые отвечают на силовые воздействия окружающей среды и соседних клеток. В частности, были найдены функциональные связи с TRP-каналами переходного рецепторного потенциала, которые являются гомологами pompC канала *D. melanogaster* [21]. Таким образом, подробное изучение TRP-каналов у *Trichoplax sp. H2* и их роли в механотрансдукции является актуальным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Аминокислотные последовательности TRPA1-каналов *Trichoplax* sp. H2 найдены в базе данных NCBI – National Center for Biotechnology Information с помощью программы BLASTP [22].

Идентификацию анкириновых повторов в исследуемых белках осуществляли на основе функциональной классификации протеиновых доменов с привлечением базы аннотированных консервативных доменов CDD [23-26].

Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей выполняли с помощью процедуры COBALT (Constraint-based Multiple Alignment Tool) [27]. Визуализацию осуществляли с помощью NCBI Multiple Sequence Alignment Viewer, Version 1.22.0.

3D-модели белков строили на Phyre2-сервере методом сравнения гомологичных аминокислотных последовательностей с известными пространственными структурами протеинов [28]. Докинг осуществляли на SwissDock-сервере [29].

Визуализацию молекулярных структур выполняли с использованием программы RasMol [30].

Статистический анализ проводили с применением языка R. Использовали элементарные статистические оценки, корреляционный и регрессионный анализ, а также кластеризацию полученных данных [31].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск гомологов TRP-каналов в геноме *Trichoplax* sp. H2 [32] осуществляли по аминокислотной последовательности NompC-механорецептора *D. melanogaster* [1]. Было идентифицировано 42 катионных TRP-канала с очень низкой вероятностью ошибочного предсказания E от $4e^{-50}$ до $2e^{-24}$ (табл. 1). Длина обнаруженных катионных TRP-каналов варьировала от 468 аа до 3240 аа со средним значением 1215,5 аа, а также значениями асимметрии и эксцесса распределения по длинам 3,2 и 11,6, соответственно (рис. 1).

Таблица 1. Семейство катионных каналов переходного рецепторного потенциала подсемейства A1 (TRPA1) из *Trichoplax* sp. H2

№	Идентификатор	Макс. счёт	Тот. счёт	Покрытие запроса, %	Ожидание, значение E	Идентичность, %	Длина, аа	Анкириновые повторы
1	RDD36842.1	195	739	63	4e-50	26,49	1160	10
2	RDD41198.1	194	724	68	5e-50	25,63	1138	16
3	RDD38699.1	186	1118	62	1e-47	27,08	1062	14
4	RDD39975.1	186	471	58	3e-47	28,05	1212	18
5	RDD42063.1	183	635	62	1e-46	28,45	1010	17
6	RDD37563.1	179	442	77	4e-45	24,42	1244	15
7	RDD37564.1	177	578	58	1e-44	29,31	1079	13
8	RDD42068.1	177	938	58	1e-44	29,12	1182	14
9	RDD38686.1	175	719	58	5e-44	24,79	1126	15
10	RDD43947.1	174	909	58	6e-44	27,60	1113	15
11	RDD43876.1	176	910	54	6e-44	28,69	2387	26
12	RDD41720.1	174	668	57	9e-44	27,76	1143	14
13	RDD38695.1	171	573	58	1e-42	25,47	1115	12
14	RDD41723.1	166	739	58	2e-41	27,09	1114	15
15	RDD38683.1	164	699	59	9e-41	28,11	1128	12
16	RDD41570.1	164	790	58	1e-40	26,30	1154	13
17	RDD39278.1	163	620	61	2e-40	27,12	1138	13
18	RDD38141.1	163	790	58	2e-40	30,77	1125	13
19	RDD43978.1	164	2200	62	3e-40	28,88	3240	48
20	RDD43879.1	163	380	57	4e-40	26,77	1299	13
21	RDD38700.1	160	753	58	1e-39	26,34	1107	15
22	RDD43877.1	159	701	58	4e-39	29,26	1101	14

Продолжение таблицы 1

23	RDD41930.1	156	544	59	3e-38	28,86	1137	14
24	RDD43955.1	156	420	50	4e-38	28,09	1088	15
25	RDD43953.1	154	1250	50	3e-37	27,43	2508	30
26	RDD41699.1	146	337	58	5e-35	26,59	1177	14
27	RDD39282.1	144	282	54	2e-34	26,09	1138	15
28	RDD42062.1	144	515	59	2e-34	29,16	1148	14
29	RDD39281.1	144	279	53	2e-34	27,76	1136	13
30	RDD41697.1	140	707	59	2e-33	25,82	1156	12
31	RDD41717.1	140	459	65	3e-33	26,96	1148	13
32	RDD41696.1	135	496	59	3e-33	27,76	468	9
33	RDD43956.1	138	671	58	9e-33	26,13	1100	14
34	RDD38687.1	137	638	58	2e-32	27,79	1036	12
35	RDD44631.1	137	354	59	2e-32	25,63	859	12
36	RDD38685.1	135	474	59	8e-32	28,54	1074	17
37	RDD41722.1	133	543	58	5e-31	24,06	1193	15
38	RDD41715.1	132	467	58	6e-31	24,96	1061	13
39	RDD41598.1	132	416	58	1e-30	25,66	1150	15
40	RDD41599.1	131	564	58	2e-30	24,86	1147	14
41	RDD41571.1	126	572	57	6e-29	24,57	1142	13
42	RDD38691.1	111	297	53	2e-24	27,51	808	10

Примечание: серым цветом выделены протеины с наилучшим счётом, а также наименьшей и наибольшей длиной полипептидной цепи

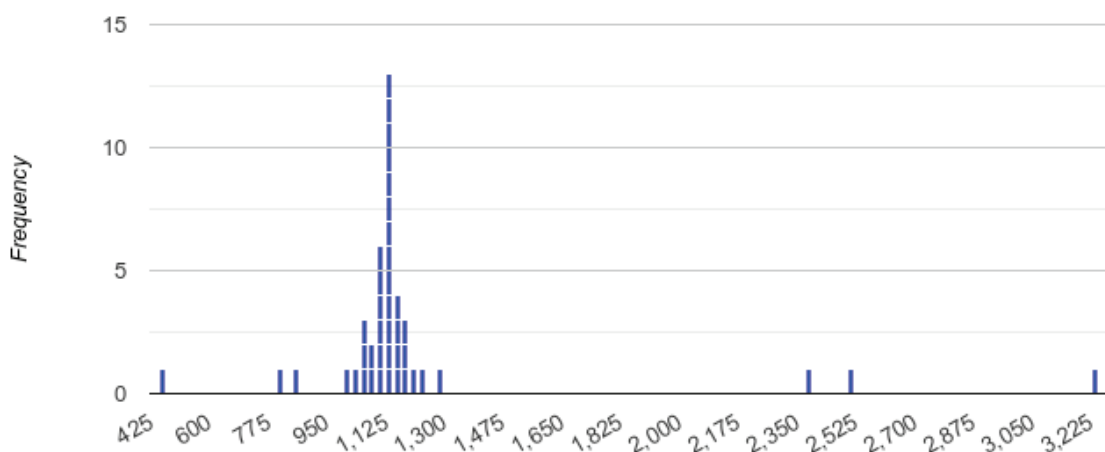


Рисунок 1. Распределение представителей семейства катионных TRPA1-каналов из *Trichoplax* sp. H2 по длине аминокислотной цепи, абсцисса – длина аминокислотной последовательности, aa, ордината – частота встречаемости белков в семействе

Ввиду значительного разброса длин полипептидных цепей TRPA1-каналов трихоплакса H2, имело смысл проанализировать доменную структуру представителей этого семейства. Так, например, на рис. 2 представлен результат выявления 10 анкириновых повторов в протеине RDD36842.1. Полный анализ семейства TRPA1-каналов из *Trichoplax* sp. H2 показал, что количество анкириновых повторов на белок составляет от 9 до 48 при среднем значении $15,2 \pm 3,1$ (табл. 1). Выявлена высокая корреляция $R=0,94$ ($p < 0,001$) между длиной аминокислотных последовательностей TRPA1-каналов и числом анкириновых повторов в них. Выведено

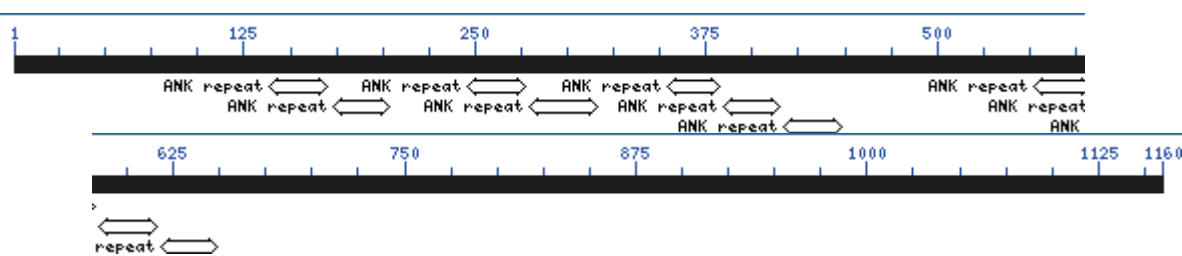
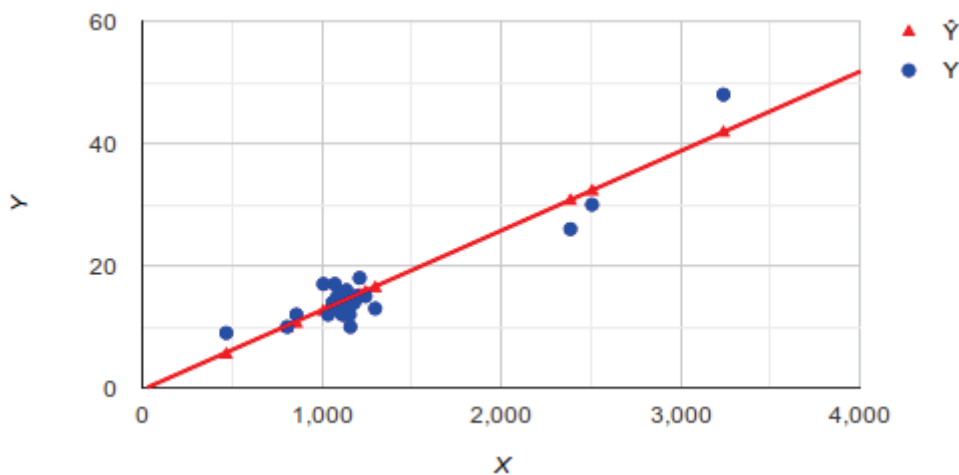


Рисунок 2. Доменная структура белка RDD36842.1 - катионного TRPA1-канала из *Trichoplax* sp. H2, расположенные в N-концевой части полипептидной цепи, анкириновые повторы отмечены двойными стрелками под размерной шкалой белка

а



б

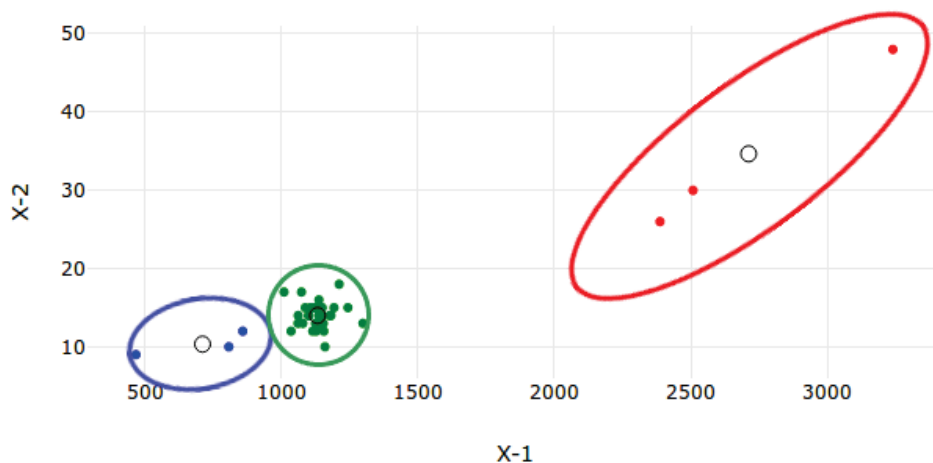


Рисунок 3. Статистический анализ семейства катионных TRPA1-каналов из *Trichoplax* sp. H2, линейная регрессия (а) и кластерный анализ (б) зависимости: число анкириновых повторов (Y) от числа аминокислотных остатков (X), объяснения в тексте

уравнение линейной регрессии $\hat{Y} = -0,7385 + 0,01312X$ (рис. 3а), где X – это число аминокислотных остатков в протеине, а \hat{Y} – это расчётное число анкириновых повторов (рис. 3). Вдоль линии регрессии обнаружено 3 кластера, обозначенных как «малые» (голубой), «средние» (зелёный) и «большие» (красный) катионные TRPA1-каналы с координатами центров кластеров (712, 10), (1147, 14) и (2711, 35), соответственно (рис. 3б).

Для уточнения полученных данных провели дальнейшую аннотацию катионного TRPA1-канала RDD36842.1 с наибольшим максимальным счётом 195 (табл. 1). Белок RDD36842.1 имеет длину 1160 аминокислотных остатка, что не позволяет получить целостную структурную модель на Phyre2-сервере [28] и поставить задачу на сервер SwissDock [29]. Поэтому из соответствующего pdb-файла были удалены координаты атомов первых 400 аминокислотных остатков, образующих начало длинной анкириновой спирали и в дальнейшем исследовании использовали усечённую реконструированную пространственную структуру белка RDD36842.1 (рис. 4а), что напоминает часть отдельной субъединицы (рис. 5) тетрамерного NompC-механорецептора *D. melanogaster* [1]. В структуре полученной усечённой 3D-модели присутствует трансмембранный C-концевой домен, образующий ионселективную пору канала при взаимодействии с другими

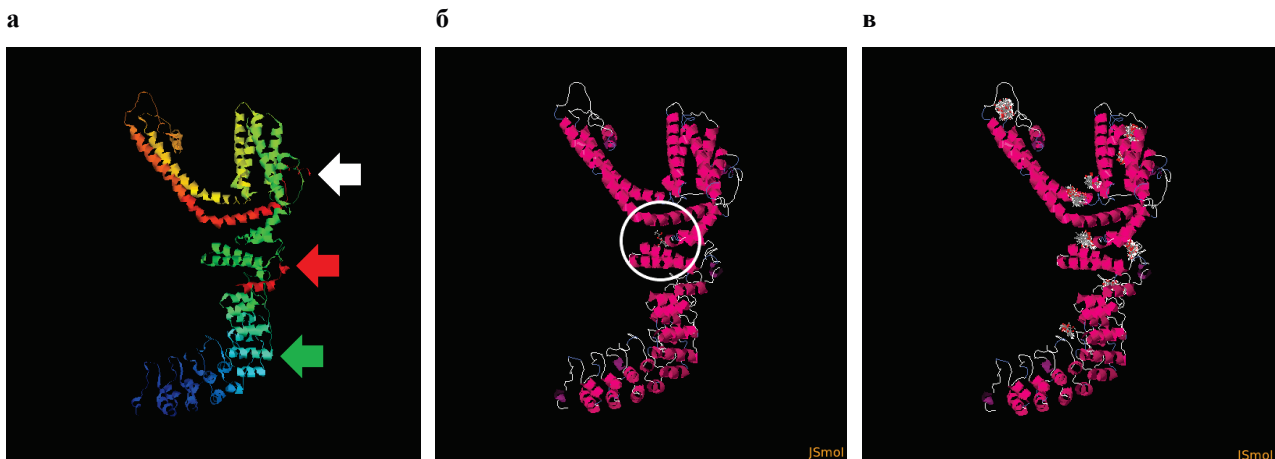


Рисунок 4. Усечённые 3D-модели RDD36842.1 протеина из *Trichoplax* sp. H2, где изображены спектрально окрашенная субъединица (а), докинг одной молекулы аспирина с наибольшим счётом (б), суперпозиция молекул аспирина в сайтах связывания на поверхности белка (в), белая стрелка – трансмембранный домен (ТМ), красная – область шейки, зелёная – анкириновая спираль (AR), белым кружком обведён сайт связывания молекулы аспирина

субъединицами, и хорошо различима укороченная N-концевая полианкириновая спираль, которая образует механочувствительную часть тактильного рецептора в составе тетрамерного комплекса (рис. 4а, 5). Наглядное представление о надмолекулярной структуре тетрамерного комплекса типичного TRP-канала даёт сравнение с известной структурой NompC-механорецептора (5vkq) *D. melanogaster* [1].

Дальнейший докинг с аспирином показал, что этот ингибитор TRP-каналов предпочтительно связывается в одном сайте внутренней части канала RDD36842.1 (рис. 4б), а также имеет 8 других сайтов-мишеней на поверхности макромолекулы белка RDD36842.1 (рис. 4в). Данная теоретическая находка открывает перспективу управления TRP-каналами трихоплакса с помощью низкомолекулярных лигандов.

Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей семейства катионных TRPA1-каналов из *Trichoplax* sp. H2 осуществляли, используя информацию о сходстве консервативных доменов [26]. Результат выравнивания (рис. 6) демонстрирует наличие анкириновых доменов в N-концевом участке всех изученных белков, однако их число значительно отличается у разных представителей TRP-семейства. Теоретически, это может быть обусловлено молекулярными механизмами рекомбинации, приводящими к удвоению и inserции новых анкириновых доменов в стробирующую спираль. Средняя часть всех белков TRP-семейства состоит из консервативного кора, который представляет собой единый для всех членов семейства ионселективный канал. С-концевая область TRP-протеинов, менее консервативна, а отдельные представители семейства демонстрируют некоторые отличия. В совокупности, различия в N- и С-областях катионных TRP-каналов обеспечивают их структурное и функциональное разнообразие у трихоплакса *Trichoplax* sp. H2.

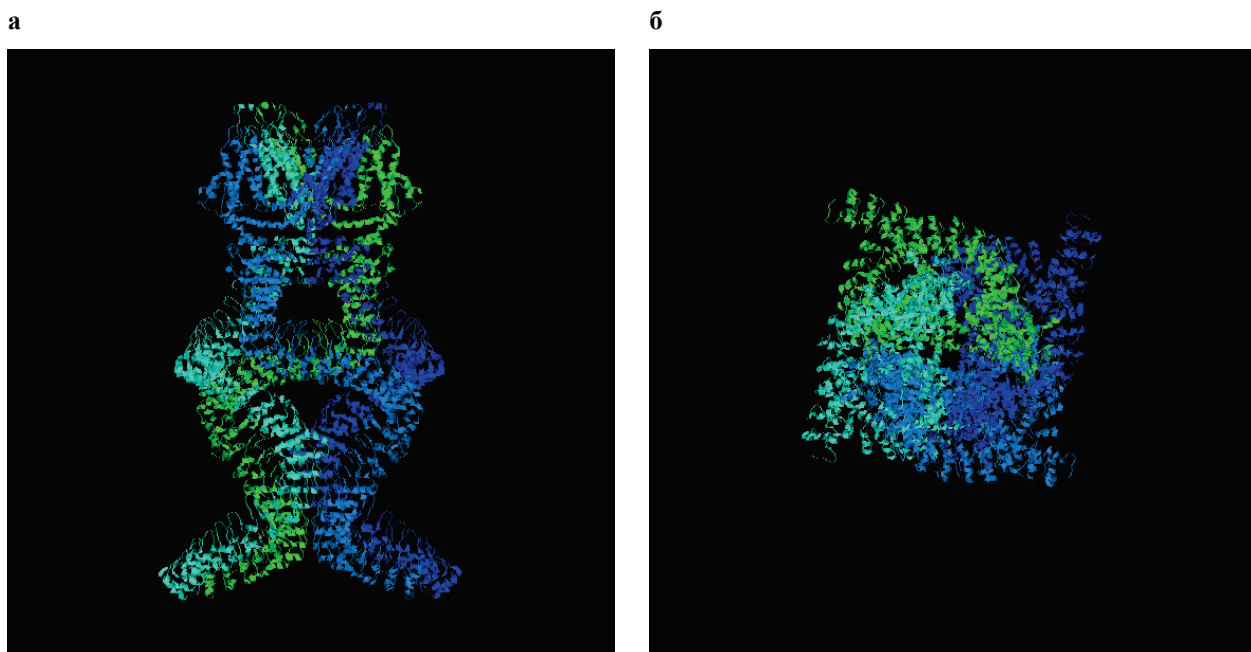


Рисунок 5. Структура NompC-механорецептора (5vkq) *D. melanogaster* [Jin et al., 2017], вид сбоку (а), вид сверху (б), каждая из четырёх субъединиц окрашена своим цветом от голубого до зелёного

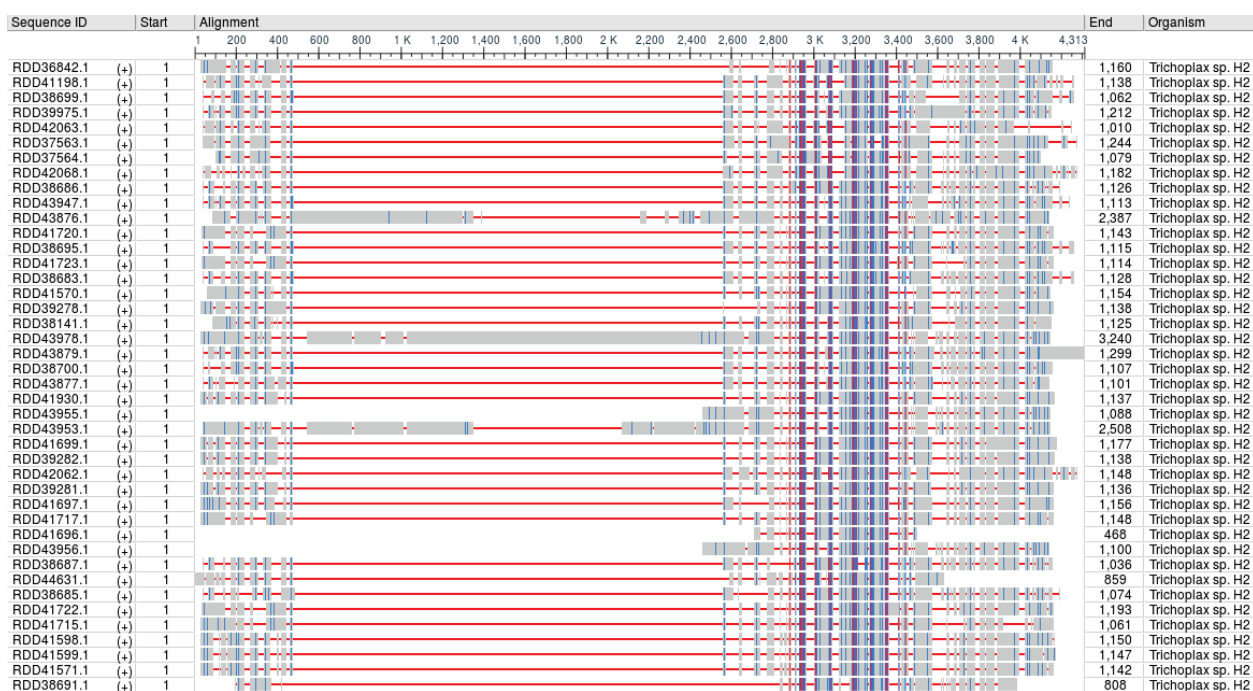


Рисунок 6. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей гомологов TRPA1-каналов из *Trichoplax sp. H2*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пионерское исследование катионного NompC-канала из *D. melanogaster* с атомарным разрешением [1] показало, что NompC образует гомотетраммерный белковый комплекс, который состоит из трех основных частей, а именно, трансмембранного домена (ТМ), области шейки и анкирин-повторяющихся доменов (АР), а также неструктурированных С- и N-концевых последовательностей (рис. 5). Механизм стробирования NompC до конца не изучен. Уникальной особенностью NompC является то, что он напрямую связывается с микротрубочками [33,34]. В своих рассуждениях мы придерживаемся "привязанной" модели (tethered model), в которой анкириновые спирали/пружины опираются на внутриклеточный цитоскелет и деформируются при нормальных нагрузках на клетку, что ведёт к изменению конформации белкового комплекса и к открыванию поры канала, т.е. при сжатии клетки, усилие от цитоскелета передаётся через анкириновую спираль на трансмембранную область канала, что приводит к его стробированию [35,36].

Ранее было показано, что NompC имеет значительное сходство с TRP-суперсемейством ионных каналов [3], что было использовано для поиска TRP-каналов у *Trichoplax sp. H2* в этой работе. Полученные данные указывают с высокой надёжностью предсказания на обнаружение в трихоплаксе *Trichoplax sp. H2* обширного семейства катионных TRP-каналов, отличающихся друг от друга числом анкириновых повторов (табл. 1, рис. 1) и, следовательно, длиной анкириновой спирали. Причём удалось выделить 3 обособленных кластера белков по этому признаку, а именно с короткими, средними и длинными анкириновыми стробирующими спиралями (рис. 3б), что, указывает на их разные функции в клетках организма. Можно предположить, что катионные TRP-каналы *Trichoplax sp. H2* с короткими анкириновыми пружинами выполняют функцию температурных сенсоров, а белки с длинными анкириновыми пружинами – функцию тактильных рецепторов, т.к. их резонансные частоты должны сильно отличаться друг от друга, несмотря на демпфирование [37-39]. Наиболее представительна часть TRP-каналов с числом анкириновых доменов в узком диапазоне от 12 до 16, которые слегка отличаются трансмембранной частью, за счёт присутствия дополнительных петель на С-конце полипептидной цепи. Возможно, эти петли модулируют активность TRP-каналов, которые способны участвовать в восприятии колебаний состояния среды [40], реализованных в виде «ощущений» от зрения и слуха до вкусовых сигналов [7,41,42], поступающих к телу трихоплакса. Видится, что эволюция сенсорных систем у животных является удивительной и многоплановой, в особенности, на её начальных этапах, а наши знания о ней, к сожалению, пока имеют достаточно иллюзорный характер [43].

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ тема № 0828-2018-0002 и в ходе проекта Сириус «Трихоплакс для бионики II».

Список литературы / References:

1. 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. Electron cryo-microscopy structure of the mechanotransduction channel NOMPC. *Nature*, 2017, vol. 547, no.

7661, pp. 118-122, doi: 10.1038/nature22981.

2. Kernan M., Cowan D., Zuker C. Genetic dissection of mechanosensory transduction: mechanoreception-defective mutations of *Drosophila*. *Neuron*, 1994, vol. 12, no. 6, pp. 1195-1206, doi: 10.1016/0896-6273(94)90437-5.

3. Walker R.G., Willingham A.T., Zuker C.S. A *Drosophila* mechanosensory transduction channel. *Science*, 2000, vol. 287, no. 5461, pp. 2229-2234, doi: 10.1126/science.287.5461.2229.

4. Cheng L.E., Song W., Looger L.L., Jan L.Y., Jan Y.N. The role of the TRP channel NompC in *Drosophila* larval and adult locomotion. *Neuron*, 2010, vol. 67, no. 3, pp. 373-380, doi: 10.1016/j.neuron.2010.07.004.

5. Kang L., Gao J., Schafer W.R., Xie Z., Xu X.Z.C. *elegans* TRP family protein TRP-4 is a pore-forming subunit of a native mechanotransduction channel. *Neuron*, 2010, vol. 67, no. 3, pp. 381-391, doi: 10.1016/j.neuron.2010.06.032.

6. Ramsey I.S., Delling M., Clapham D.E. An introduction to TRP channels. *Annu Rev Physiol.*, 2006, vol. 68, pp. 619-647, doi: 10.1146/annurev.physiol.68.040204.100431.

7. Venkatachalam K., Montell C. TRP channels. *Annu Rev Biochem.*, 2007, vol. 76, pp. 387-417, doi: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142819.

8. Himmel N.J., Cox D.N. Transient receptor potential channels: current perspectives on evolution, structure, function and nomenclature. *Proc Biol Sci.*, 2020, vol. 287, no. 1933, p. 20201309, doi: 10.1098/rspb.2020.1309.

9. Ishimaru Y., Matsunami H. Transient receptor potential (TRP) channels and taste sensation. *J Dent Res.*, 2009, vol. 88, no. 3, pp. 212-218, doi: 10.1177/0022034508330212.

10. Chung M.K., Jung S.J., Oh S.B. Role of TRP channels in pain sensation. *Adv Exp Med Biol.*, 2011, vol. 704, pp. 615-636, doi: 10.1007/978-94-007-0265-3_33.

11. Julius D. TRP channels and pain. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 2013, vol. 29, pp. 355-384, doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155833.

12. Sun S., Dong X. Trp channels and itch. *Semin Immunopathol.*, 2016, vol. 38, no. 3, pp. 293-307, doi: 10.1007/s00281-015-0530-4.

13. Kadowaki T. Evolutionary dynamics of metazoan TRP channels. *Pflugers Arch.*, 2015, vol. 467, no. 10, pp. 2043-2053, doi: 10.1007/s00424-015-1705-5.

14. Himmel N.J., Letcher J.M., Sakurai A., Gray T.R., Benson M.N., Cox D.N. *Drosophila* menthol sensitivity and the Precambrian origins of transient receptor potential-dependent chemosensation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 2019, vol. 374, no. 1785, p. 20190369, doi: 10.1098/rstb.2019.0369.

15. Schierwater B., DeSalle R. *Placozoa*. *Curr Biol.*, 2018, vol. 28, no. 3, pp. R97-R98, doi: 10.1016/j.cub.2017.11.042.

16. Neff E.P. What is a lab animal? *Lab Anim (NY)*, 2018, vol. 47, no. 9, pp. 223-227, doi: 10.1038/s41684-018-0135-3.

17. Kuznetsov A.V., Halaimova A.V., Ufimtseva M.A., Chelebieva E.S. Blocking a chemical communication between *Trichoplax* organisms leads to their disorderly movement. *International Journal of Parallel, Emergent and Distributed Systems*, 2020, vol. 35, no. 4, pp. 473-482, doi: 10.1080/17445760.2020.1753188.

18. Kuznetsov A.V., Vainer V.I., Volkova Y.M., Kartashov L.E. Motility disorders and disintegration into separate cells of *Trichoplax* sp. H2 in the presence of Zn²⁺ ions and L-cysteine molecules: A systems approach. *Biosystems*, 2021, vol. 206, p. 104444, doi: 10.1016/j.biosystems.2021.104444.

19. Armon S., Bull M.S., Aranda-Diaz A., Prakash M. Ultrafast epithelial contractions provide insights into contraction speed limits and tissue integrity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, vol. 115, no. 44, pp. E10333-E10341, doi: 10.1073/pnas.1802934115.

20. Smith C.L., Reese T.S., Govezensky T., Barrio R.A. Coherent directed movement toward food modeled in *Trichoplax*, a ciliated animal lacking a nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, vol. 116, no. 18, pp. 8901-8908, doi: 10.1073/pnas.1815655116.

21. Кузнецов А.В. Компьютерные модели пьезопротейнов и сетей белок-белковых взаимодействий у животных *Трихоплакс* (Placozoa). *IV Международная Черноморская научно-практическая конференция МГУ «Проблемы информатики, управления и искусственного интеллекта», 17-27 мая 2022 года, Севастополь, Россия.* [Kuznetsov A.V. Computer models of piezoproteins and networks of protein-protein interactions in *Trichoplax* (Placozoa) animals. *IV International Black Sea Scientific and Practical Conference of Moscow State University "Problems of Informatics, Control and Artificial Intelligence", May 17-27, 2022, Sevastopol, Russia.* (In Russ.)]

22. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403-410, doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

23. Marchler-Bauer A., Bryant S.H. CD-Search: protein domain annotations on the fly. *Nucleic Acids Res.*, 2004, vol. 32, pp. W327-331, doi: 10.1093/nar/gkh454.

24. Marchler-Bauer A., Lu S., Anderson J.B., Chitsaz F., Derbyshire M.K. et al. CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins. *Nucleic Acids Res.*, 2011, vol. 39, pp. D225-259, doi: 10.1093/nar/gkq1189.

25. Marchler-Bauer A., Derbyshire M.K., Gonzales N.R. et al. CDD: NCBI's conserved domain database. *Nucleic Acids Res.*, 2015, vol. 43, pp. D222-226, doi: 10.1093/nar/gku1221.

26. Marchler-Bauer A., Bo Y., Han L., He J., Lanczycki C.J. et al. CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures. *Nucleic Acids Res.*, 2017, vol. 45, no. D1, pp. D200-D203, doi: 10.1093/nar/gkw1129.

27. Papadopoulos J.S., Agarwala R. COBAL: constraint-based alignment tool for multiple protein sequences.

- Bioinformatics*, 2007, vol. 23, no. 9, pp. 1073-1079, doi: 10.1093/bioinformatics/btm076.
28. Kelley L.A., Mezulis S., Yates C.M., Wass M.N., Sternberg M.J. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc.*, 2015, vol. 10, no. 6, pp. 845-858, doi: 10.1038/nprot.2015.053.
29. Bitencourt-Ferreira G., de Azevedo W.F. Jr. Docking with SwissDock. *Methods Mol Biol.*, 2019, vol. 2053, pp. 189-202, doi: 10.1007/978-1-4939-9752-7_12.
30. Sayle R., Milner-White E.J. RasMol: Biomolecular graphics for all. *Trends Biochem Sci.*, 1995, vol. 20, no. 9, p. 374, doi: 10.1016/s0968-0004(00)89080-5.
31. Cotton R. *Learning R: A Step-by-Step Function Guide to Data Analysis*. O'Reilly Media; 1st edition, 2013, 400 p.
32. Kamm K., Osigus H.J., Stadler P.F., DeSalle R., Schierwater B. Trichoplax genomes reveal profound admixture and suggest stable wild populations without bisexual reproduction. *Sci Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1, p. 11168, doi: 10.1038/s41598-018-29400-y.
33. Liang X., Madrid J., Gartner R., Verbavatz J.M., Schiklenk C., Wilsch-Brauninger M., Bogdanova A., Stenger F., Voigt A., Howard J. A NOMPC-dependent membrane-microtubule connector is a candidate for the gating spring in fly mechanoreceptors. *Curr Biol.*, 2013, vol. 23, no. 9, pp. 755-763, doi: 10.1016/j.cub.2013.03.065.
34. Liang X., Madrid J., Howard J. The microtubule-based cytoskeleton is a component of a mechanical signaling pathway in fly campaniform receptors. *Biophys J.*, 2014, vol. 107, no. 12, pp. 2767-2774, doi: 10.1016/j.bpj.2014.10.052.
35. Zanini D., Gopfert M.C. Mechanosensation: tethered ion channels. *Curr Biol.*, 2013, vol. 23, no. 9, pp. R349-51, doi: 10.1016/j.cub.2013.03.045.
36. Gillespie P.G., Walker R.G. Molecular basis of mechanosensory transduction. *Nature*, 2001, vol. 413, no. 6852, pp. 194-202, doi: 10.1038/35093011.
37. Howard J., Bechstedt S. Hypothesis: a helix of ankyrin repeats of the NOMPC-TRP ion channel is the gating spring of mechanoreceptors. *Curr Biol.*, 2004, vol. 14, no. 6, pp. R224-226, doi: 10.1016/j.cub.2004.02.050.
38. Sotomayor M., Corey D.P., Schulten K. In search of the hair-cell gating spring elastic properties of ankyrin and cadherin repeats. *Structure*, 2005, vol. 13, no. 4, pp. 669-682, doi: 10.1016/j.str.2005.03.001.
39. Lee G., Abdi K., Jiang Y., Michaely P., Bennett V., Marszalek P.E. Nanospring behaviour of ankyrin repeats. *Nature*, 2006, vol. 440, no. 7081, pp. 246-249, doi: 10.1038/nature04437.
40. Zhang W., Yan Z., Jan L.Y., Jan Y.N. Sound response mediated by the TRP channels NOMPC, NANCHUNG, and INACTIVE in chordotonal organs of *Drosophila* larvae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, vol. 110, no. 33, pp. 13612-13617, doi: 10.1073/pnas.1312477110.
41. Montell C. *Drosophila* visual transduction. *Trends Neurosci.*, 2012, vol. 35, no. 6, pp. 356-363, doi: 10.1016/j.tins.2012.03.004.
42. Zhang K., Julius D., Cheng Y. Structural snapshots of TRPV1 reveal mechanism of polymodal functionality. *Cell*, 2021, vol. 184, no. 20, pp. 5138-5150.e12, doi: 10.1016/j.cell.2021.08.012.
43. Oteiza P., Baldwin M.W. Evolution of sensory systems. *Curr Opin Neurobiol.*, 2021, vol. 71, pp. 52-59, doi: 10.1016/j.conb.2021.08.005.

CHARACTERISTICS OF THE CATIONIC TRPA1-CHANNELS FAMILY IN *TRICHOPLAX* SP. H2 (PLACOZOA)

Fadeeva M.V.¹, Sergeeva E.V.¹, Rybakova K.A.¹, Kuznetsov A.V.^{1,2}

¹ Sevastopol State University

Universitetskaya str., 33, Sevastopol, 299053, Russia

² Institute of Biology of the South Seas named after A.O. Kovalevsky RAS
Nakhimov Avenue, 2, Sevastopol, 299011, Russia; e-mail: kuznet61@gmail.com

Received 21.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0550

Abstract. Mechanoreceptors can transform external mechanical forces into electrochemical signals that induce cell membrane depolarization and initiate waves propagating along the cell surface. The TRPN1/NompC mechanotransduction channel is known to contain ankyrin repeats that act as a gating helix in *Drosophila melanogaster* [Jin et al., 2017]. In this work, we present for the first time a family of cationic TRPA1-channels in *Trichoplax* sp. H2 (Placozoa), which consists of 42 homologs ranging from 468 to 3240 aa in length. Three isolated clusters with different polypeptide chain lengths and various contents of ankyrin repeats were identified within the family. The spatial structure of TRPA1-channel RDD36842.1 was reconstructed, and aspirin, a possible TRP-channel blocker, was docked. The structure of the family members is analyzed, the mechanical model of channel operation is considered, and the probable function and physiology of these protein molecules and their role in the behavior of trichoplax are discussed. Variations in the number of ankyrin repeats at the N-terminus of TRP-proteins studied, and the differences detected at the C-terminus can indicate the polyfunctionality of these proteins in Placozoa. Perhaps TRP channels arose in early evolutionary stages before the appearance of multicellularity, but diversified in multicellular animals as the structural organization of those became more complex.

Key words: *Placozoa, mechanotransduction, TRP-channels, protein 3D-reconstruction, docking.*