

Совместная регуляция белков, гомологичных рубредоксину, у диатомовых водорослей и паразитов Piropiasmida

А.В. Селиверстов, В.А. Любецкий

Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН,
127994, Москва, Большой Каретный переулок, 19,
e-mail: slvstv@iitp.ru, lyubetsk@iitp.ru

Поступила в редколлегию 01.04.2009

Аннотация—Рассмотрен класс ортологичных белков, содержащих железосероцентр, гомологичных рубредоксину. Предсказана регуляция экспрессии соответствующих генов для двух далёких таксономических групп: диатомовых водорослей и паразитов Piropiasmida.

1. ВВЕДЕНИЕ

Рубредоксин содержит железосероцентр, в котором атом железа координируется четырьмя остатками цистеина, входящими в состав консервативного домена. Этот домен встречается в составе многих белков. В частности, в цианели у *Cyanophora paradoxa* есть рубреритрин, также включающий гомологичный домен. Многочисленные гомологи рубредоксина найдены у бактерий и у простейших. Иногда атом железа заменяется на кобальт, никель или цинк.

Мы рассматриваем гипотетическую регуляцию экспрессии генов, кодирующих ортологичные в строгом смысле белки, родственные рубредоксину. Этот класс ортологичных белков обнаружен в ядерных геномах из двух далёких таксономических групп: у диатомовых водорослей и паразитов Piropiasmida. Интерес к изучению Piropiasmida объясняется тем, что различные виды родов *Theileria* и *Babesia* переносятся иксодовыми клещами и вызывают заболевания крупного рогатого скота, [1]. В [2] отмечается близость геномов Piropiasmida.

2. МАТЕРИАЛЫ

Локусы, содержащие рассматриваемые гены, перечислены на рис. 1. Последовательности ДНК взяты из ГенБанка.

	Вид	Хромосома	Локус	Ген
Bacillariophyta	<i>Thalassiosira pseudonana</i> CCMP1335	1	AAFD02000002	нет аннотации
	<i>Thalassiosira pseudonana</i> CCMP1335	14	AAFD02000024	нет аннотации
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> CCAP 1055/1	30	ABQD01000093	нет аннотации
Piropiasmida	<i>Babesia bovis</i> T2Bo	1	NC 010575	VBOV I004860
	<i>Theileria parva</i>	3	AAGK01000005	TP03 0527
	<i>Theileria annulata</i>	3	NC 011100	нет аннотации

Рис. 1. Виды и локусы, содержащие попарно ортологичные гены, кодирующие белки из рассматриваемого подсемейства гомологов рубредоксина. Гены, не имеющие аннотации, были определены посредством выравнивания.

Некоторые локусы не имеют аннотации, соответствующие гены предсказаны нами на основании выравнивания аминокислотных последовательностей и формально транслированной

ДНК. Использована программа tblastn. Аннотация подтверждена с помощью базы Pfam. Также были рассмотрены геномы других простейших, доступные в ГенБанке. Ортологичные белки либо не найдены у представителей близких родов (у *Cryptosporidium parvum*, *Plasmodium* spp., *Toxoplasma gondii*), либо значительно отличаются (у *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba* spp., в нуклеоморфах у *Guillardia theta* и *Hemiselmis anderseni*).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Гомологи рубредоксина у *Phaeodactylum*, *Thalassiosira*, *Theileria* и *Babesia* включают консервативный домен с двумя парами остатков цистеина, предположительно формирующих железосероцентр (рис. 2). Ортологичные гены не обнаружены у других видов, содержащих далёкие гомологи рубредоксина.

Вид	Хромосома	Домен
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	1	AKECQKCGYVLFIAPIGRESKFFSPSFQCPQCGAPKRQF
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	14	AYSCKTCTGATIFIARHREWFVKGGNTECTNCGAPQPLA
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	30	VYECGECGYTLFVAQGRESKFFGTGFKCPECGAARKQF
<i>Babesia bovis</i>	1	RYQCTGCGFTIFP AKNREERFFSSFTCPNCGAANKKF
<i>Theileria parva</i>	3	RYQCTSCGYVIFPARNREEKFFSESFTCPNCGSPRSKF
<i>Theileria annulata</i>	3	RYQCTSCGYVIFPARNREEKFFSESFTCPNCGSPRSKF

Рис. 2. Домены, характерные для железосероцентра рубредоксина, у рассматриваемых белков. Увеличенным шрифтом выделены остатки цистеина, координирующие атом металла.

В 5'-лидерных областях перед этими генами, найден консервативный участок, называемый ниже сигналом (рис. 3). У *Piroplasmida* сигнал найден недалеко от предполагаемого иницирующего кодона. Соответствующие расстояния составляют всего 16 пар оснований для *B. bovis* и 33 пары оснований для *Theileria* spp. Рассматриваемый сигнал не обнаружен в 5'-лидерных областях генов, кодирующих гомологи рубредоксина у других видов.

Вид	Хромосома	Домен
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	1	TCAATCCTGCCATCCACATCATAAAGTCCTCCTCAGA
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	14	GCAATAATTCAAAACACAAATGCGACACGTACCCCA
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	30	TCACACTTGCCAATCAATCGSTTCAACSTCAAGGAGA
<i>Babesia bovis</i>	1	ACSTCGATGCCSTACAGAT=ATAGAATCTAGCGGCA
<i>Theileria parva</i>	3	TTGGTAAAGTTACACACCCGATAGAATCCCCAGGGCA
<i>Theileria annulata</i>	3	TCAGTAATGTTACACACCCAA TAGAATCCCCAGGACA

Рис. 3. Сигналы в 5'-лидерных областях генов, кодирующих гомологи рубредоксина.

Поиск по образцу показал, что в геноме *Th. parva* участки, гомологичные представленному сигналу, встречаются во многих местах генома. Однако они не лежат в 5'-лидерных областях ближе 1000 нуклеотидных пар от иницирующих кодонов каких-либо генов, отмеченных в аннотациях. Исключения составляют гипотетические гены *TP01 1105* (кодирующий киназу, фосфорилирующую белки) и *TP03 0819* у *Th. parva*. Перед геном *TP01 1105* сигнал отделён 45 парами оснований от 5'-края мРНК и находится вне транскрибируемой области, согласно аннотации.

Однако сигнал перед геном *TP03 0819* заметно отличается, а сам этот ген не имеет гомологов у диатомовых водорослей. Напротив, близкие сигналы перед гипотетическими киназами, фосфорилирующими белки по тирозину, прослеживается у всех рассмотренных диатомовых водорослей и у *Piroplasmida*. Однако сигнал перед генами киназ менее консервативен, а сами

киназы не являются ортологами друг для друга. Поэтому вопрос о присутствии сигнала перед генами, кодирующими киназы, остаётся открытым.

4. ОБСУЖДЕНИЕ

Перед геном *TP01 1105*, кодирующим фосфорилирующую белки киназу, сигнал находится вне транскрибируемой области вблизи сайта инициации транскрипции. Такое положение характерно для сайта связывания транскрипционного фактора с ДНК. В остальных случаях границы транскрибируемых областей не были определены. Для рубредоксинов у *Piropiasmida* сигнал найден недалеко от предполагаемого иницирующего кодона. Такое расположение не противоречит гипотезе, что сигнал связан с регуляцией транскрипции. Однако значительное различие в положении сигнала относительно генов, кодирующих рубредоксин и киназу, говорит о том, что характер возможной регуляции экспрессии киназ отличается от такового для рубредоксина.

Можно предположить, что рубредоксин у тех видов, где его экспрессия регулируется, служит для связывания не железа, а других металлов. На это указывает и значительное отличие многих абсолютно консервативных аминокислотных остатков из рассматриваемых доменов от соответствующих позиций у большинства гомологов рубредоксина.

Наше исследование позволяет лучше понять происхождение пластид у *Piropiasmida*. Известно, [3, 4], что пластиды у всех Apicomplexa, включая *Piropiasmida*, и у диатомовых водорослей близки к пластидам багрянковых водорослей, от которых, вероятно, они произошли в результате вторичного эндосимбиоза. Нами же обнаружены ближайшие ортологи с общей регуляцией в ядрах у этих видов. Вероятно, рассматриваемые гены, хотя и кодируются в ядре, функционально связаны с пластидами. Более того, они имеют общее происхождение с пластидами.

Регуляция генов, кодирующих гомологи рубредоксина, найдена у тех видов, у которых в пластидах либо отсутствует сам ген *ycf24*, либо отсутствует регуляция гена *ycf24*, характерная для близких видов, [5]. Напомним, что ген *ycf24* кодирует фермент SufB, важный для формирования железосероцентров у других белков, [6, 7]. Таким образом, предсказанная регуляция экспрессии гена, кодирующего белок с железосероцентром, заменяет у диатомовых водорослей и *Piropiasmida* регуляцию экспрессии гена, участвующего в формировании железосероцентров.

Работа поддержана грантом Международного научно-технического центра (3807).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ю.С. Балашов. *Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций*. СПб.: Наука, 1998.
2. K.A. Brayton, A.O.T.Lau, D.R.Herndon, L.Hannick, L.S.Kappmeyer, et al. Genome sequence of *Babesia bovis* and comparative analysis of Apicomplexan hemoprotozoa. *PLoS Pathogens*. 2007, 3, e148.
3. C. Lemieux, C. Otis, M. Turmel. A clade uniting the green algae *Mesostigma viride* and *Chlorokybus atmophyticus* represents the deepest branch of the Streptophyta in chloroplast genome-based phylogenies. *BMC Biology*, 2007, 5(2), 1–17.
4. S. Li, T. Nosenko, J.D. Hackett, D. Bhattacharya. Phylogenomic Analysis Identifies Red Algal Genes of Endosymbiotic Origin in the Chromalveolates *Mol. Biol. Evol.*, 2006, 23(3), 663–674.
5. Т.А. Садовская, А.В. Селиверстов. Анализ 5'-лидерных областей в пластидах у простейших типа Apicomplexa и у красных водорослей. *Молекулярная биология*, 2009, 43, в печати.
6. K. Rangachari, C.T. Davis, J.F. Eccleston, E.M.A. Hirst, J.W. Saldanha, M. Strath, R.J.M. Wilson. SufC hydrolyzes ATP and interacts with SufB from *Thermotoga maritima*. *FEBS Letters*, 2002, 514, 225–228.

7. J.F. Eccleston, A. Petrovic, C.T. Davis, K. Rangachari, R. J. M. Wilson (Iain). The kinetic mechanism of the SufC ATPase. *J. Biol. Chem*, 2006, 281, 8371–8378.