

## Структура РНК перед геном 2-изопропилмалат синтазы у некоторых протеобактерий<sup>1</sup>

А.В. Селиверстов, В.А. Любецкий

Институт проблем передачи информации имени А.А. Харкевича РАН,  
127994, Москва, ГСП-4, Большой Каретный переулок, 19,  
e-mail: slvstv@iitp.ru, lyubetsk@iitp.ru

Поступила в редколлегию 16.02.2007

**Аннотация**—У некоторых протеобактерий перед геном, кодирующим 2-изопропилмалат синтазу, найден консервативный псевдоузел со значительной длиной плеч спиралей и ген лидерного пептида, содержащий последовательность лейциновых кодонов.

### 1. ВВЕДЕНИЕ

У многих протеобактерии и актинобактерий опероны *ilv*, кодирующий гены общего пути синтеза разветвлённых аминокислот, находится под классической аттенуаторной регуляцией. У многих  $\gamma$ -протеобактерий оперон *leuABCD*, кодирующий гены пути синтеза лейцина, также находится под классической аттенуаторной регуляцией. Однако, у  $\alpha$ - и  $\beta$ -протеобактерий и у актинобактерий перед геном *leuA*, кодирующим 2-изопропилмалат синтазу, найден ген лидерного пептида, содержащий последовательность лейциновых кодонов. Но отсутствует вторичная структура РНК, характерная для классической аттенуации. Для актинобактерий авторами предсказана регуляция с участием LEU-элемента, [1]. Структура РНК в соответствующих областях  $\alpha$ - и  $\beta$ -протеобактерий исследована в этой статье.

### 2. РЕЗУЛЬТАТЫ

У  $\alpha$ -протеобактерий из Rhizobiales (роды *Agrobacterium*, *Aurantimonas*, *Brucella*, *Fulvimarina*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*), Rhodospirillales (только один род *Magnetospirillum*), Rhodobacterales (*Dinoroseobacter shibae*, *Jannaschia* CCS1, *Loktanella vestfoldensis*, *Oceanicola* spp., *Rhodobacterales bacterium* HTCC 2654, *Rhodobacter* spp., *Roseobacter denitrificans*, *Roseovarius* spp., *Sulfitobacter* spp., *Alpha proteobacterium* HTCC 2255) и  $\beta$ -протеобактерий рода *Bordetella* перед геном *leuA* найден консервативный псевдоузел со значительной длиной плеч спиралей и ген лидерного пептида, содержащий последовательность лейциновых кодонов. Кроме того, у Rhizobiales структура содержит дополнительную неконсервативную спираль внутри консервативного псевдоузла.

Были рассмотрены все полностью секвенированные  $\alpha$ -протеобактерии, доступные через базу ГенБанк на начало 2007 и  $\beta$ -протеобактерии таксонов Burkholderiales и Nitrosomonadales, и в них лидерные области перед геном *leuA*. Во всех случаях, когда имеется несколько паралогов этого гена, структура найдена не более чем перед одним из паралогов.

– Для Rhizobiales – это ортологи гена *leuA* из *Agrobacterium tumefaciens* (AGR\_C\_4114, NP\_355220.1).

<sup>1</sup> Работа поддержана грантом Международного научно-технического центра ISTC 2766.

- Для Rhodospirillales и Rhodobacterales – это ортологи *leuA* из *Roseobacter denitrificans* (RD1\_1211, YP\_681546.1).
- Для *Bordetella* – это ортологи *leuA* из *B. pertussis* Tohama I (BP0131, NP\_879030.1).

Соответствующие структуры у *Bordetella* близки к структуре из Rhizobiales и сравнительно далеки от Rhodobacterales как по нуклеотидному составу спиралей, так и по расположению псевдоузла относительно стоп кодона лидерного пептида). Лидерный пептид имеет длинный и совершенно не консервативный N-концевой участок (не показан). В то же время структура с псевдоузлом отсутствует у  $\alpha$ -протеобактерий *Acidiphilium cryptum*, *Bartonella* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Caulobacter* spp., *Erythrobacter* spp., *Gluconobacter oxydans*, *Granulibacter bethesdensis*, *Hyphomonas neptunium*, *Maricaulis maris*, *Nitrobacter* spp., *Novosphingobium aromaticivorans*, *Paracoccus denitrificans*, *Parvularcula bermudensis*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodospirillum rubrum*, *Silicibacter* spp., *Sphingomonas* spp., *Sphingopyxis alaskensis*, *Stappia aggregata*, *Xanthobacter autotrophicus*, *Zymomonas mobilis* и у  $\beta$ -протеобактерий *Burkholderia* spp., *Acidovorax* spp. и *Ralstonia* spp. У бактерий родов *Bradyrhizobium*, *Erythrobacter*, *Nitrobacter*, *Novosphingobium*, *Rhodopseudomonas*, *Stappia*, *Acidovorax*, *Burkholderia* и *Ralstonia* найден протяжённый участок лейциновых кодонов и около стоп кодона лидерного пептида есть длинные шпильки, образованные вложенными спиральями РНК, но без псевдоузла. У *Bartonella* spp. и Rickettsiales ген *leuA* отсутствует.

Предсказан случай классической аттенуаторной регуляции гена *leuA* у  $\beta$ -протеобактерии *Acidovorax* sp. JS42, (но не у *Acidovorax avenae*, где нет ни классической, ни нового типа). Этот случай (*Acidovorax* sp. JS42) уникален и в том, что два паралога *leuA* примыкают один к другому, образуя один оперон с общей регуляцией. У бактерий рода *Magnetospirillum* один из паралогов гена *leuA* может регулироваться классической аттенуацией совместно с генами *ilv*.

### 3. ДИСКУССИЯ

Не смотря на топологическое сходство рассматриваемой структуры и LEU-элемента актинобактерий [1], нуклеотидный состав не имеет общих мотивов. Но число лейциновых кодонов, длины плеч спиралей в псевдоузле и положение стоп-кодона внутри псевдоузла аналогичны. У Rhodospirillales и у большинства Rhodobacterales псевдоузел расположен на небольшом расстоянии от начала гена *leuA* и сайт связывания рибосомы перед геном *leuA* не комплементарен области лейциновых кодонов (в отличие от актинобактерий). Напротив, в остальных случаях расстояние от лидерного пептида до гена *leuA* велико и включает длинный неконсервативный участок. При этом участок лейциновых кодонов перекрывает 5'-плечо спирали с длиной плеча 5-8н (обычно шесть) и петлём от 140н (у *Brucella*) до 217н (у *Bordetella*). 3'-плечо этой спирали перекрывает сайт связывания рибосомы перед геном *leuA*. Однако большая длина петли, включающей длинный неконсервативный фрагмент ниже псевдоузла, делает её нестабильной. Поэтому нет оснований предполагать регуляцию *трансляции* гена *leuA* у этих протеобактерий. С другой стороны, в рассмотренных случаях отсутствует и терминатор транскрипции на всём участке между лидерным пептидом и геном *leuA*.

**Гипотеза** заключается в том, что 3'-плечи консервативных спиралей псевдоузла служат сайтом связывания некоторого белка (например, Rho), которые приводят к терминации транскрипции или разрушают мРНК *leuA*. Если лейцина мало, рибосома не разрушает псевдоузел (или редко) и белок не может связать РНК. Если лейцина много, то рибосомы, транслирующие лидерный пептид постоянно разворачивают псевдоузел и именно в этой области связывается белок.

Рибосома закрывает 10-12 нуклеотидов перед собой. Это соответствует характерным расстояниям между кодонами и шпильками в классической аттенуаторной регуляции. Поэтому в

случае псевдоузла, остановившись на первых лейциновых кодонах, рибосома прижата к псевдоузлу, но (почти) не нарушает его. Дойдя до стоп кодона лидерного пептида, рибосома не перекрывает 3'-плечи спиралей псевдоузла и не счищает налипшие белки.

Ген *leuA* у  $\gamma$ -протеобактерий Enterobacteriales, Pasteurellaceae, *Shewanella* spp., Vibrionaceae, Xanthomonadaceae регулируется классической аттенуацией, есть хороший терминатор транскрипции, [2]. В этих случаях ген *leuA* единственный и входит в длинный оперон (*leuABCD* или *ilvCGM-tdcB-leuA* для Xanthomonadaceae). У Pseudomonadaceae ген *leuA* также единственный, но не входит в состав длинного оперона. Лидерного пептида перед ним нет.

У некоторых  $\alpha$ - и  $\beta$ -протеобактерий есть по несколько гомологов *leuA*. Они либо не входят в длинные опероны, либо находятся на большом расстоянии ниже *ilvIHC* (похоже на Xanthomonadaceae). Каждый гомолог *leuA*, перед которым найден псевдоузел с геном лидерного пептида, никогда не лежит вблизи других генов *leu* или *ilv*. И он значительно дальше от гомолога *leuA* в кишечной палочке, чем другой гомолог *leuA*, позиционно связанный у *Magnetospirillum* spp. с генами *ilv*. (При этом оперон *ilv* регулируется классической аттенуацией у большинства  $\alpha$ - и  $\gamma$ -протеобактерий.)

Таким образом, новая регуляция с псевдоузлом связана с геном семейства изопропилмалат/гомоцитрат/цитрамалат синтаз, который близок, но отличим от общего представителя *leuA* в большинстве протеобактерий. С другой стороны, у Rhizobiaceae есть только один гомолог гена *leuA*, что указывает на его функциональную значимость. Все гомологи *leuA* у протеобактерий, предваряемые одновременно псевдоузлом и геном лидерного пептида, являются ближайшими гомологами друг друга.

Авторы благодарны А.Г. Витрешаку, М.С. Гельфанду и К.Ю. Горбунову за обсуждение и замечания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Seliverstov A.V., Putzer H., Gelfand M.S., Lyubetsky V.A. Comparative analysis of RNA regulatory elements of amino acid metabolism genes in Actinobacteria. *BMC Microbiology*, 2005, Vol. 5, N 54.
2. Vitreschak A.G., Lyubetskaya E.V., Shirshin M.A., Gelfand M.S., Lyubetsky V.A. Attenuation regulation of amino acid biosynthetic operons in proteobacteria: comparative genomics analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 2004. vol. 234, pp. 357–370.