

# **Эволюция РНК-полимераз и их промоторов в пластидах**

**А.В. Селиверстов, В.А. Любецкий**

**Лаб 6**

**<http://lab6.iitp.ru/>**

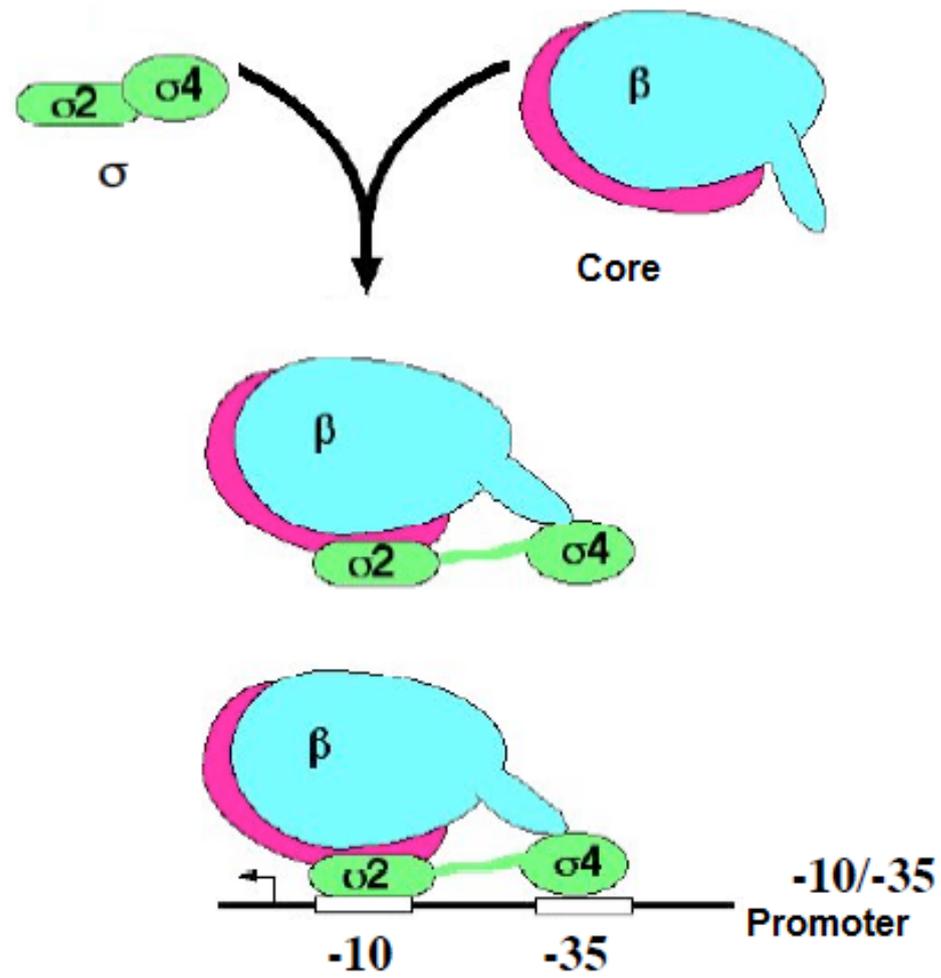
## Основные результаты:

**1) Предсказано воздействие антибиотиков на возбудителей протозойных инфекций, возбудители – паразиты млекопитающих и птиц из таксономических групп Coccidia и Piroplasmida**

Прежде, чем сформулировать еще два основных результата, напомним понятия:

промотор,  $\sigma$ -субъединица,

РНК-полимераза бактериального типа



Кроме **РНК-полимеразы бактериального типа**, с промотором связывается

и другая молекулярная машина, называемая:

**РНК-полимераза фагового типа**, которая отличается тем, что не имеют  $\sigma$ -субъединицы.

$\sigma$ -Субъединица и РНК-полимераза фагового типа кодируются каждая **своим отдельным геном**.

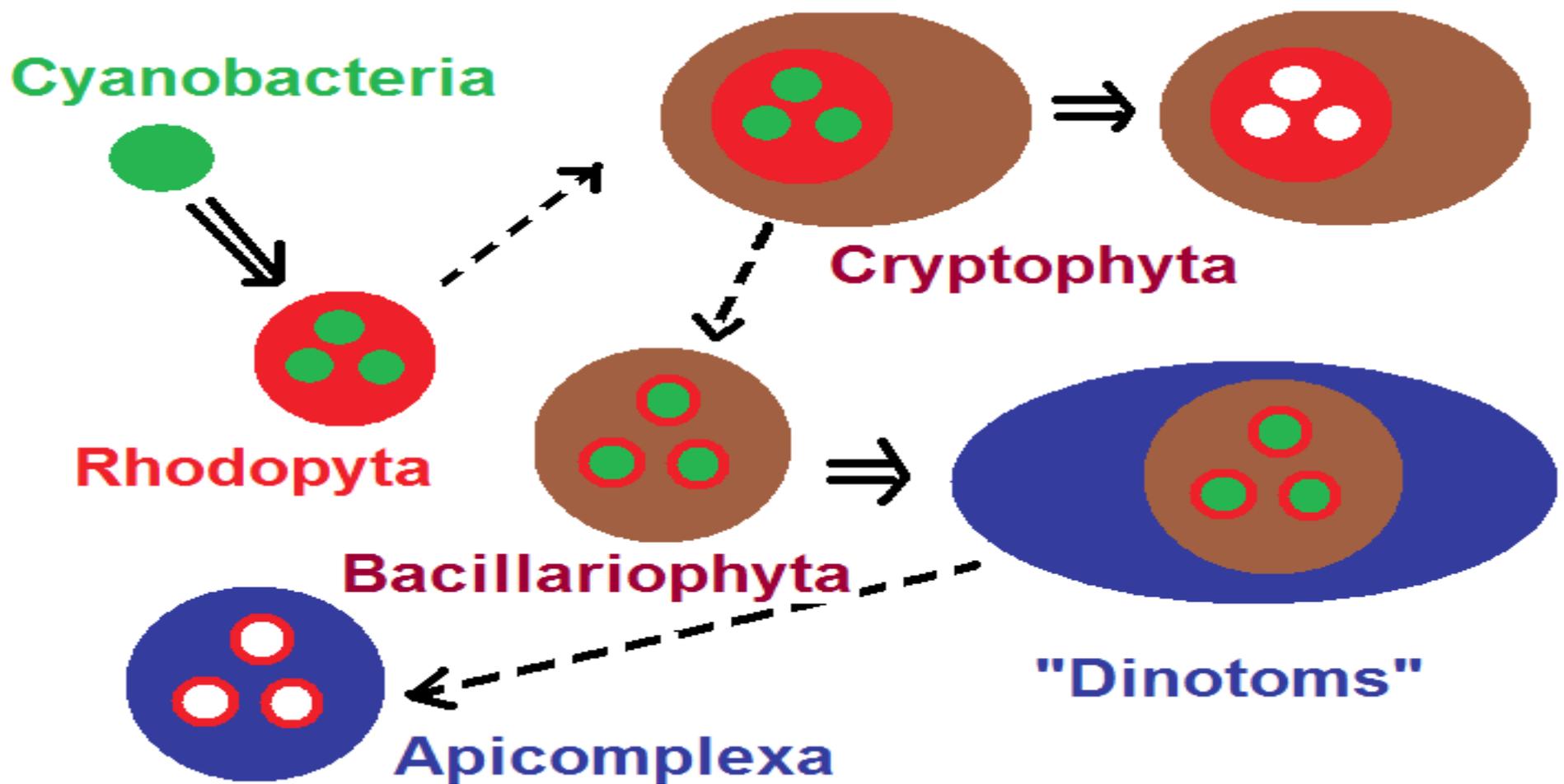
**Паралоги** – повторы генов, частности,  $\sigma$ -субъединицы или РНК-полимеразы фагового типа.

Повторов (паралогов) может быть несколько

## Итак, основные результаты:

- 1) Предсказано **воздействие антибиотиков** на возбудителей протозойных инфекций, возбудители – паразиты млекопитающих и птиц из таксономических групп Coccidia и Piroplasmida
- 2) Показана **корреляция между эволюцией промотора** и эволюцией  **$\sigma$ -субъединицы РНК-полимеразы** бактериального типа
- 3) Исследовано **возникновении паралогов  $\sigma$ -субъединиц** и РНК-полимераз фагового типа

Пластиды – симбионты, произошедшие от цианобактерий.  
В ходе эволюции происходила смена хозяев у пластид:



Пластиды имеют редуцированные геномы. У некоторых видов они полностью утратили гены фотосистем (белый кружок) и служат местом синтеза изопреноидов и липоевой кислоты, метаболизма жирных кислот

У большинства видов в пластидах работают  
**оба типа РНК-полимераз:**

**бактериального типа** – гомологичны РНК-полимеразам  
цианобактерий и состоят из нескольких субъединиц:

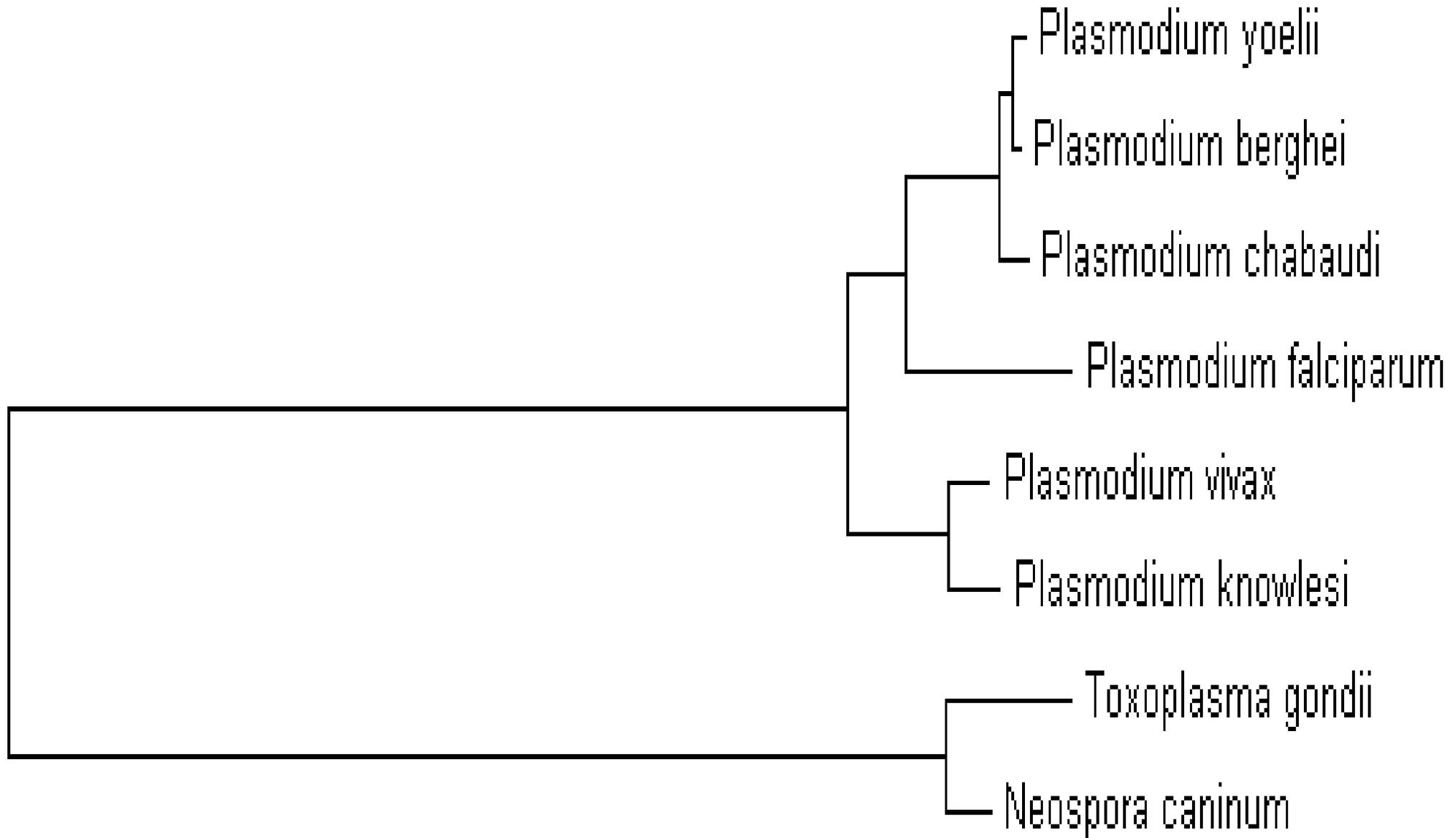
**$\sigma\alpha 2\beta\beta'\beta''\omega$** , **которые**

- **$\sigma$**  кодируется всегда в ядре, имеет много паралофов, важна для инициации транскрипции;
- **$\alpha$**  у споровиков – в ядре, а у водорослей – в пластидах;
- **$\beta\beta'\beta''$**  – кодируются всегда в пластидах;
- **$\omega$**  у багрянок – в пластидах, у других часто отсутствует.

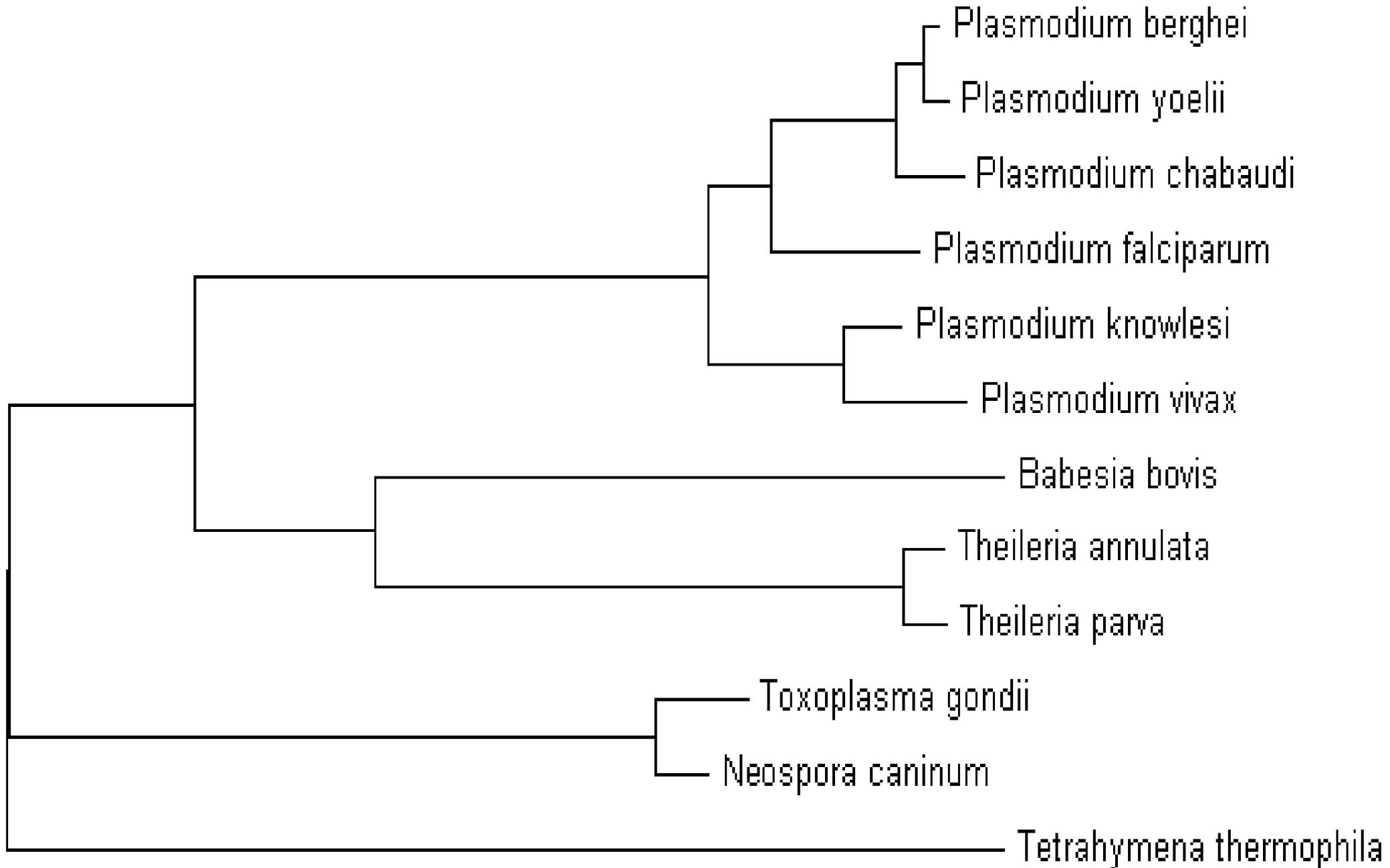
У некоторых видов простейших РНК-полимеразы бактериального типа **полностью отсутствуют**. Вместо них **работают РНК-полимеразы фагового типа**, гомологичные РНК-полимеразам бактериофагов Т3 и Т7

**Далее излагаются  
перечисленные выше  
результаты 1-3:**

У споровиков обнаружено **не более одной  $\sigma$ -субъединицы** РНК-полимераз бактериального типа.  
**Близость  $\sigma$ -субъединиц коррелирует с близостью видов:**



**Близость РНК-полимераз фагового типа коррелирует с близостью видов у Alveolata :**



**РНК-полимеразы фагового типа** у видов рода *Plasmodium* **похожи** (хорошо выравниваются) между собой, образуя кладу на дереве белков.

Они формируют отдельные клады у *Piroplasmida* и *Coccidia*, т.е. **похожи** в этих кладах.

$\sigma$ -субъединицы РНК-полимераз **бактериального типа** у *Coccidia* существенно **отличаются** от таковых у других споровиков.

РНК-полимеразы **фагового типа** у *Coccidia* **близки** к таковым у простейшей тетрахимены, хотя последняя не имеет пластид

У Piroplasmida (*Theileria parva*, *Th. annulata*, *Babesia bovis*) в ядре отсутствуют некоторые субъединицы РНК-полимераз бактериального типа и имеется значительная фрагментация и точечные мутации пластомных субъединиц. Это позволяет у Piroplasmida **предположить транскрипцию всего пластома исключительно РНК-полимеразами фагового типа.**

Поэтому можно думать о **полной неэффективности** в борьбе с Piroplasmida антибиотиками, ингибирующими РНК-полимеразы бактериального типа. Напротив, такие антибиотики **могут быть эффективны** против *Plasmodium* spp, *T. gondii* и *Neospora caninum*

# Поиск промоторов в пластидах

Поиск промоторов бактериального типа проводился нами на основе данных о мутациях промотора *psbA-77* в пластидах горчицы (*Sinapis alba*):

```

. . . . . -35 . . . . . TATA . . . . . Ex . . -10 . . . . . +1
TTGGTTGACATGGCTATATAAGTCATGTTATACTGTTCA .
. . . . C . | . . . . . . . | . . | . . . . . . | . | . . . . C . . . . .
. . 60% . | . . . . . . . | . . G . . . . . . T . . . . . 60% . . . . .
. . . . . A . . . . . . . A . 20% . 20% . A . . . . . . . . . . .
. . . . . <1% . . . . . . . 10% . . . . . . . . . . 5% . . . . . . . . . .
```

# Выводы о промоторах бактериального типа

1) Наличие единственной  $\sigma$ -субъединицы РНК-полимеразы у *Toxoplasma gondii* позволяет думать, что у нее **все промоторы бактериального типа близки к консенсусу**.

2) У *Coccidia* консервативность четвертого региона  $\sigma$ -субъединиц РНК-полимераз подтверждает **существенную роль** -35 бокса промотора, а высокая консервативность третьего региона подтверждает **важность** TG-расширения -10 бокса промотора.

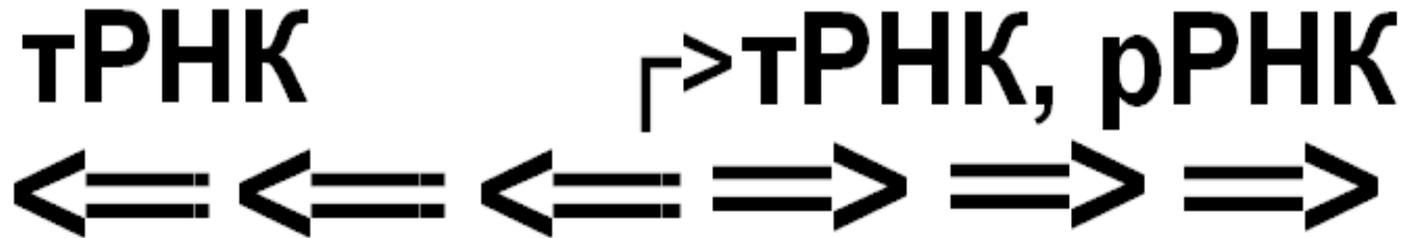
3) У *Coccidia* найдено большое число промоторов перед интенсивно транскрибируемыми генами, похожих на оптимальный промотор перед геном *psbA* у горчицы. Их консенсус близок к последнему промотору

Наши результаты позволяют предполагать качественные различия между *Eimeria tenella* и *Toxoplasma gondii* в наборе РНК-полимераз и в составе соответствующих промоторов у пластид.

В отличие от *T. gondii*, у *E. tenella* не найдено хороших промоторов бактериального типа, обеспечивающих интенсивную транскрипцию 26S рРНК и некоторых тРНК

**Различное положение потенциальных промоторов перед генами 26S рРНК у (a) *T. gondii* и (b) *E. tenella*.**

Двойными стрелками обозначены гены, тонкими угловыми стрелками - промоторы. Направление стрелки соответствует направлению транскрипции:



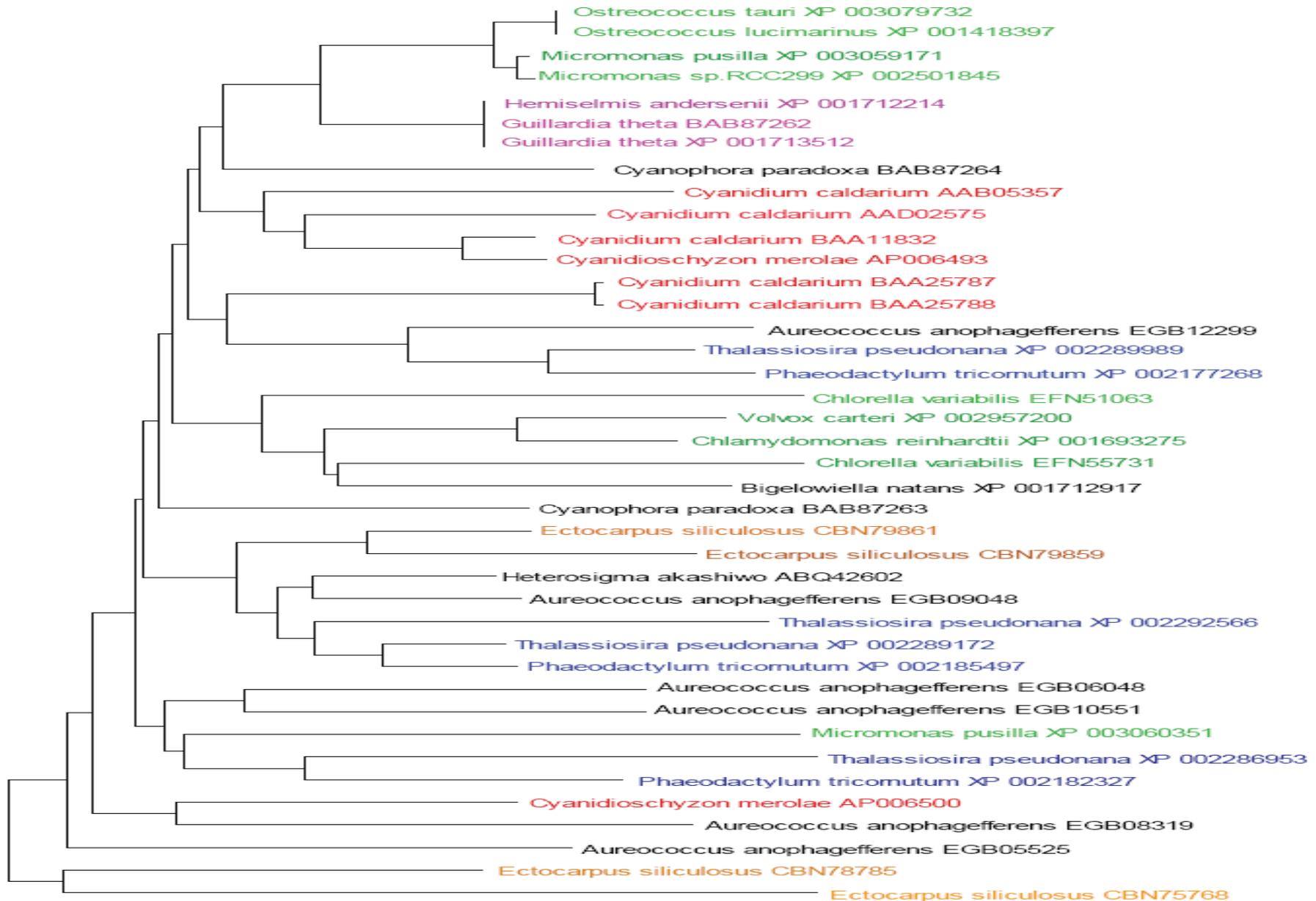
**a) *T. gondii***



**b) *E. tenella***

Дерево  $\sigma$ -субъединиц: Chlorophyta - **зеленый**, Rhodophyta - **красный**, Cryptophyta - **фиолетовый**, Bacillariophyta - **синий**, Phaeophyceae – **оранжевый**, другие порядки Rhizaria, Raphidophyceae, отдел Glaucophyta, класс Pelagophyceae – черные.

В одном виде содержатся далекие  $\sigma$ -субъединицы!



## Зелёные водоросли

$\sigma$ -субъединицы SigA и SigB из *Cyanophora paradoxa* значительно различаются между собой, особенно на N-конце. Два далеких паралога!

У *Bigelowiella natans* и у большинства зелёных водорослей группы Chlorophyta найдено лишь по одной  $\sigma$ -субъединице; исключениями являются *Micromonas pusilla* и *Chlorella variabilis*, имеющие по две  $\sigma$ -субъединицы, которые в каждом из этих видов близки друг другу.

Это позволяет предположить *M. pusilla* и *C. variabilis* независимое и недавнее возникновение  $\sigma$ -субъединиц в результате дупликаций

## Красные водоросли: много паралоогов или ни одного

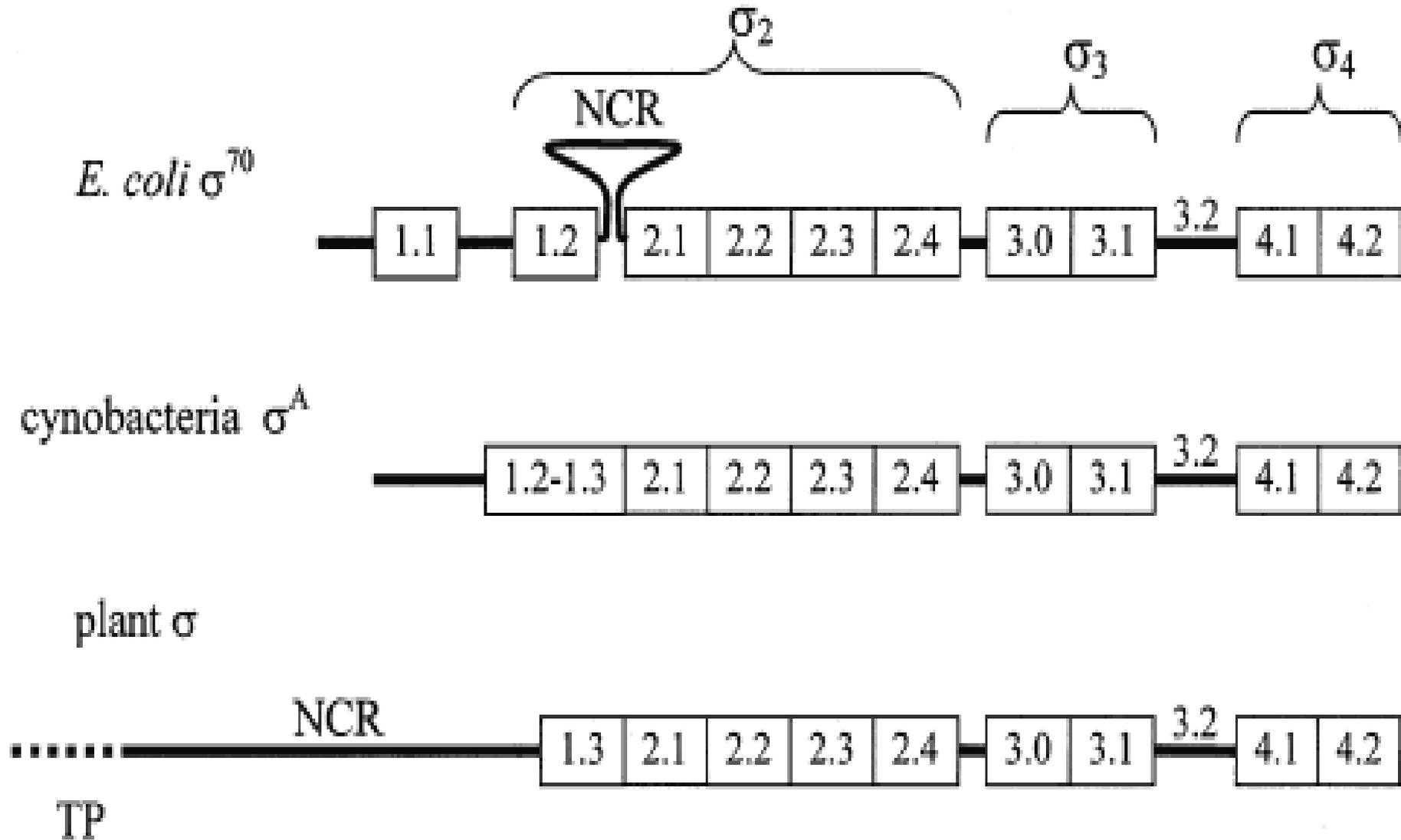
У диатомовых водорослей найдены четыре  $\sigma$ -субъединицы; среди них две - ближайшие паралоого (только у *Thalassiosira pseudonana*). У *Phaeodactylum tricornutum* - три  $\sigma$ -субъединицы. Близкие гомологи к первой из них найдены у бурой (*Ectocarpus siliculosus*) и золотисто-бурой (*Heterosigma akashiwo*) водорослей. Близкие гомологи второй найдены у криптофитовых водорослей *Hemiselmis andersenii* и *Guillardia theta*. Третья гомологична  $\sigma$ -субъединицам багрянок.

У багрянок имеется много близких паралоого  $\sigma$ -субъединиц; в частности, у *Cyanidium caldarium* их найдено пять, из них SigB и SigC отличаются заменами аминокислот только в одиннадцати позициях: 16, 44, 55, 94, 135, 136, 145, 164, 169, 300, 312.

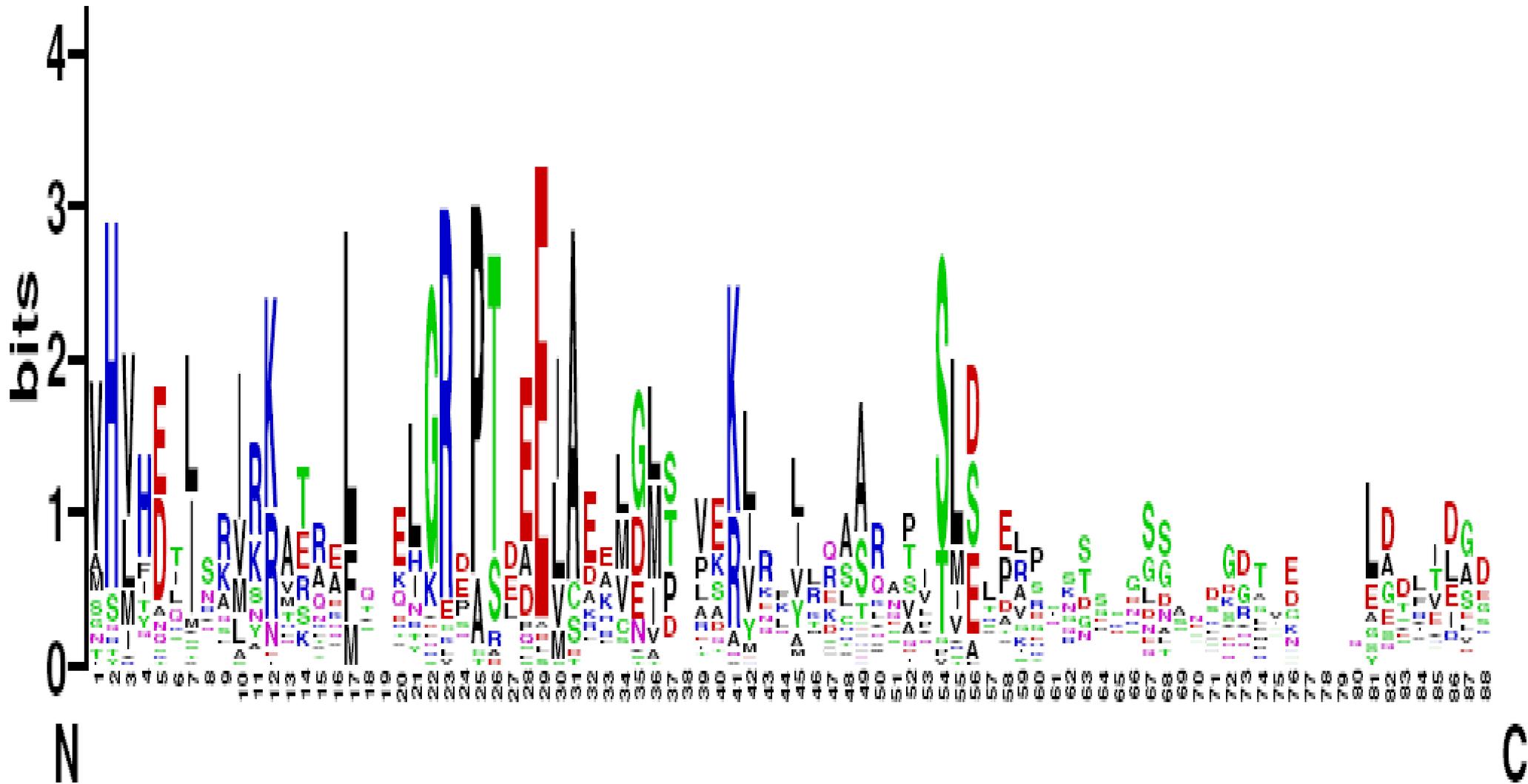
У *E. siliculosus*, кроме упомянутых, имеются еще две  $\sigma$ -субъединицы, далёкие от всех других  $\sigma$ -субъединиц.

У большинства споровиков найдено по одной  $\sigma$ -субъединице

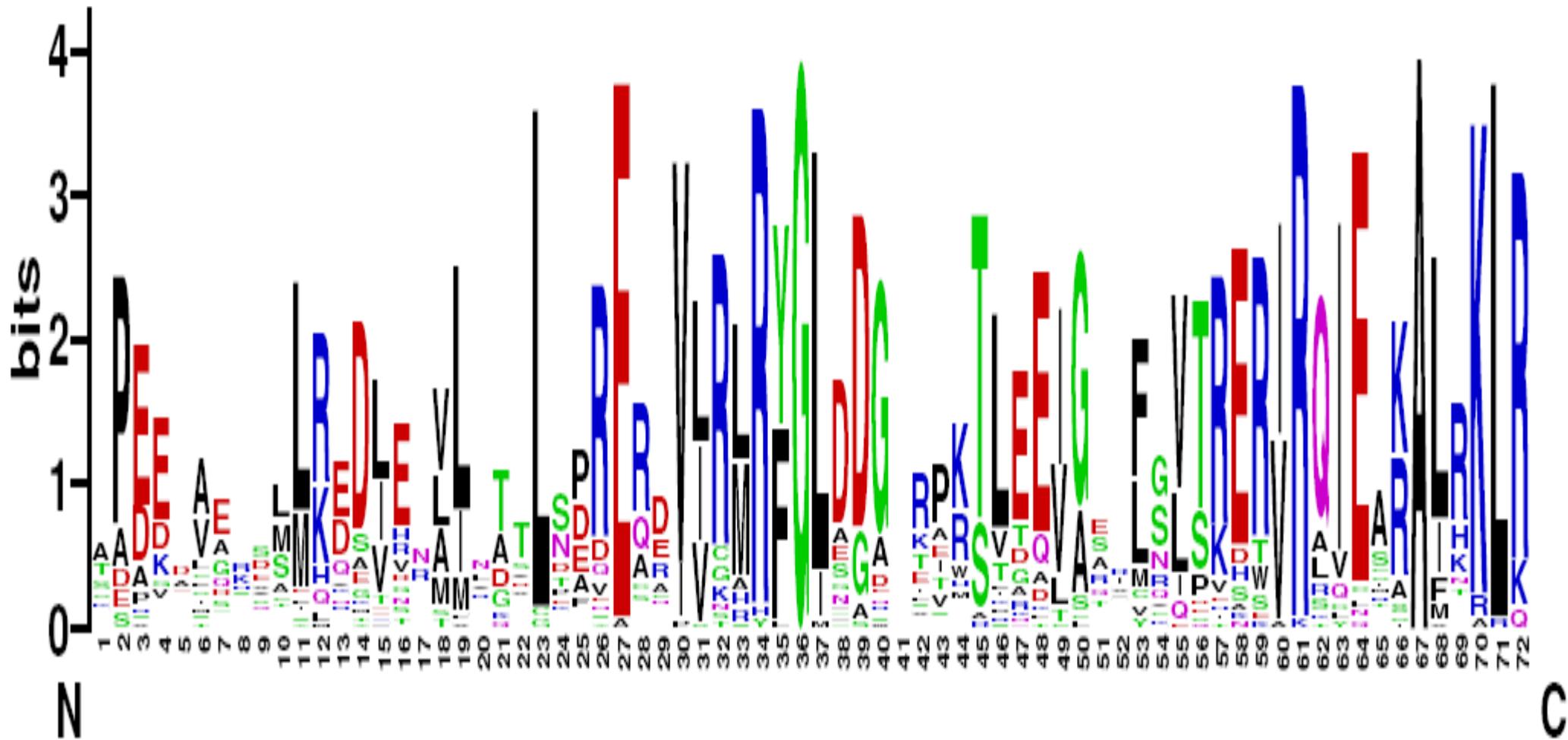
# Структура белка $\sigma$ -субъединицы



У пластид третий домен  $\sigma$ -субъединицы, соединяющий ее с кором и распознающий TG-расширение, весьма консервативен:



У пластид четвёртый домен  $\sigma$ -субъединицы, связанный с распознаванием -35 бокса промотора, весьма консервативен:



Распределение потенциальных промоторов бактериального типа в пластидах водорослей с интенсивностью инициации транскрипции не ниже 20% от оптимальной для Sig1 из горчицы:

Отдел	Вид	P	$\sigma$
Багрянки	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	79	2
	<i>Cyanidium caldarium</i>	74	5
Криптофитовые	<i>Guillardia theta</i>	51	1
Золотистые	<i>Aureococcus anophagefferens</i>	38	6
Бурые	<i>Ectocarpus siliculosus</i>	54	4
Золотисто-бурые	<i>Heterosigma akashiwo</i>	103	1
Диатомовые	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	56	3
	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	78	4

Таких промоторов у диатомовых, золотистых и бурых водорослей мало, что можно объяснить разнообразием  $\sigma$ -субъединиц и других промоторов. У *Heterosigma akashiwo* только одна  $\sigma$ -субъединица и для неё предсказано наибольшее число таких промоторов

# РНК-полимеразы бактериального типа у высших растений (Sig1 и другие)

У *Arabidopsis thaliana* известно 6 различных  $\sigma$ -субъединиц РНК-полимеразы бактериального типа.

Ортологичный Sig1 белок найден у *Arabidopsis thaliana* (Резуховидка Таля), *Arabidopsis lyrata* (Резушка лировидная), *Sinapis alba* (Горчица белая), *Populus trichocarpa* (Тополь волосистоплодный), *Ricinus communis* (Клещевина обыкновенная), *Vitis vinifera* (Виноград культурный), *Arachis hypogaea* (Арахис культурный, земляной орех), *Lotus japonicus* (Лядвенец японский), *Glycine max* (Соя культурная), *Oryza sativa* (Рис посевной), *Sorghum bicolor* (Сорго зерновое), *Zea mays* (Кукуруза сахарная), *Triticum aestivum* (Пшеница мягкая), *Solanum lycopersicum* (Томат), *Nicotiana tabacum* (Табак обыкновенный), *Artemisia annua* (Полынь однолетняя), *Physcomitrella patens* (мох-фискомитрелла), *Selaginella moellendorffii* (плаун)

## Sig1 у высших растений

Поиск подтвердил, что ортологи субъединицы Sig1 имеют наиболее широкое распространение у растений.

У тополя (*Populus trichocarpa*), винограда (*Vitis vinifera*) и табака (*Nicotiana tabacum*) имеются два паралога, соответствующих Sig1.

Чрезвычайная близость внутри пар паралогов Sig1, принадлежащих к разным ветвям цветковых растений, позволяет предположить их независимое происхождение в результате дупликаций, произошедших эволюционно недавно

## Sig2 у высших растений

У следующих злаков имеется по два паралога субъединицы Sig2 (Sig2A и Sig2B): *Oryza sativa* (Рис посевной), *Sorghum bicolor* (Сорго зерновое), *Zea mays* (Кукуруза сахарная).

У *S. bicolor* данные получены из трёх кДНК, вероятно, кодирующих различные экзоны.

У злаков (*Oryza sativa*, *Sorghum bicolor*, *Zea mays*) пары паралогов Sig2A и Sig2B, вероятно, имеют общее происхождение в результате дупликации гена у их общего предка

# РНК-полимеразы фагового типа у высших растений

У модельного организма *Arabidopsis thaliana* известны три такие РНК-полимеразы: RpoTm, RpoTnp и RpoTp. Первые две достигают митохондрий, а вторая и третья - пластид.

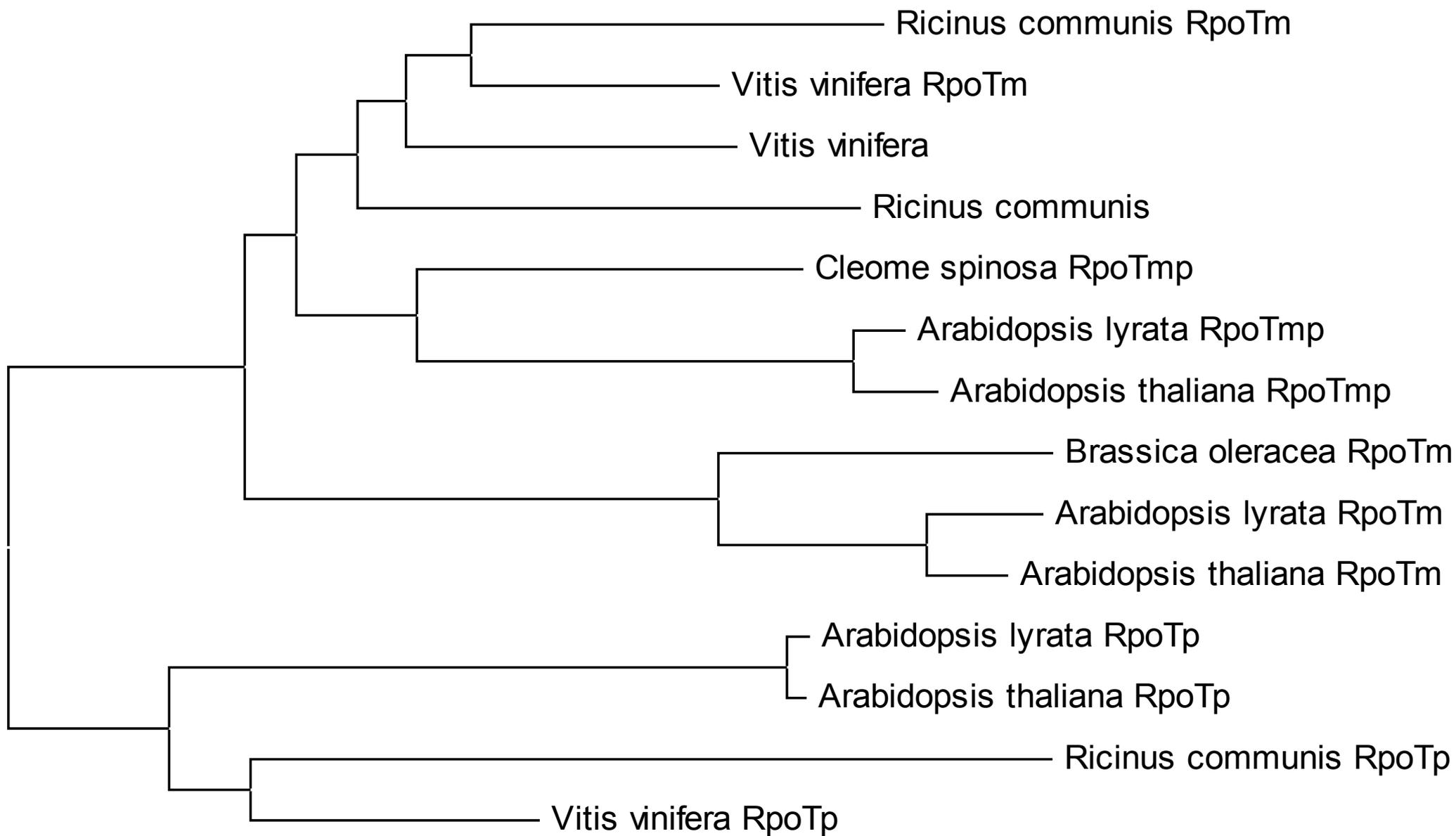
У двудольных цветковых растений *Arabidopsis thaliana*, *A.lyrata*, *Ricinus communis*, *Vitis vinifera*, *Nicotiana sylvestris*, *Nicotiana tabacum*, и рано отделившейся ветви цветковых растений *Nuphar advena* наборы РНК-полимераз совпадают.

У тополя *Populus trichocarpa* обнаружено семь паралофов.

У видов из порядка Poales (*Zea mays*, *Sorghum bicolor*, *Oryza sativa*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) присутствуют только по два паралога RpoTm и RpoTp.

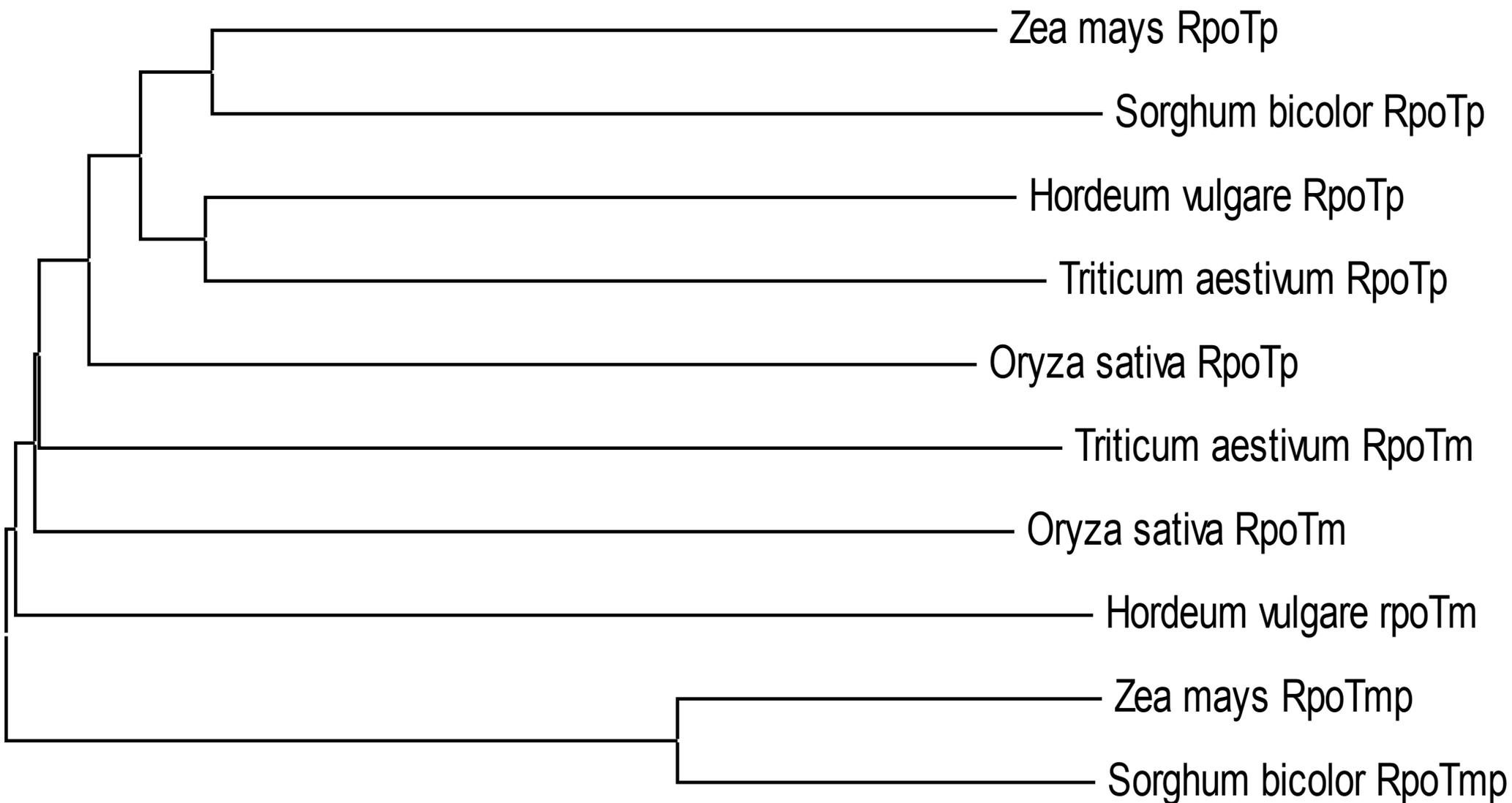
У мха *Physcomitrella patens* известно два паралога, а у плауна *Selaginella moellendorffii* только одна РНК-полимераза фагового типа

# РНК-полимеразы фагового типа у rosids



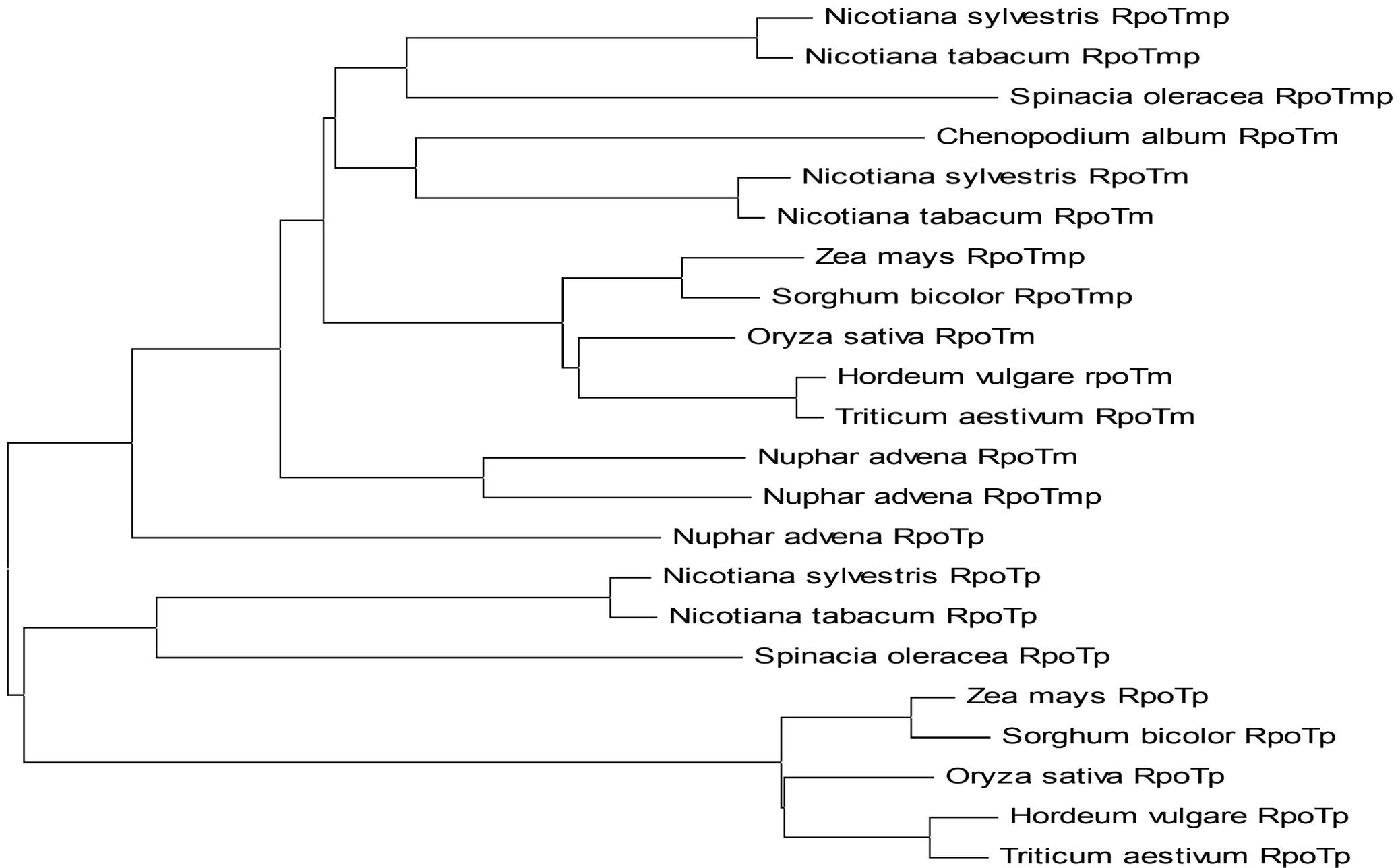
0.05

# РНК-полимеразы фагового типа у злаков



0.2

# РНК-полимеразы фагового типа у злаков и других цветковых



0.05

## Содержание

- Происхождение пластид
- РНК-полимеразы пластид (обзор)
- РНК-полимеразы бактериального типа у споровиков
- РНК-полимеразы фагового типа у споровиков
- Промоторы бактериального типа в пластидах кокцидий
- РНК-полимеразы бактериального типа у водорослей
- Промоторы бактериального типа в пластидах у водорослей
- РНК-полимеразы у высших растений