

Регуляция трансляции в хлоропластах

А.В. Селиверстов, В.А. Любецкий

Институт проблем передачи информации РАН, 127994, Россия, Москва, Большой Каретный переулок, 19, e-mail: slustv@iitp.ru, lyubetsk@iitp.ru

Поступила в редколлегию 31.10.2005

Аннотация—Найдены консервативные структуры мРНК в 5'-нетранслируемых областях генов фотосистем у хлоропластов многих водорослей и растений. Они являются потенциальными сайтами связывания белков.

1. ВВЕДЕНИЕ

Экспрессия многих генов хлоропластов водорослей и растений регулируется белками, кодируемыми ядерной ДНК, которые связывают мРНК хлоропластов, [1]. Эти белки влияют на редактирование (editing) и инициацию трансляции мРНК. Детальные экспериментальные исследования по поиску соответствующих сайтов известны для одной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* и небольшого числа растений, [1], [2], [3]. В нашей предыдущей статье [4] предсказаны потенциальные сайты связывания белков перед геном *atpF*, кодирующим одну из субъединиц АТФ синтазы, и геном *petB* (cytochrome b6) из хлоропластов у Embryophyta. Продолжая эти исследования, мы нашли консервативные структуры РНК в 5'-нетранслируемых областях генов фотосистем у хлоропластов многих водорослей и растений и перед геном *clpP* из хлоропластов у Streptophyta.

2. МАТЕРИАЛЫ

Геномы хлоропластов получены из базы данных GenBank (NCBI). В качестве набора последовательностей нами были взяты 5'-нетранслируемые области перед генами хлоропластов у *Cyanidioschyzon merolae*, *Gracilaria tenuistipitata*, *Guillardia theta*, *Nephroselmis olivacea*, *Odontella sinensis*, *Porphyra purpurea*, *Chlamydomonas reinhardtii* и хлоропластов у Streptophyta *Chaetosphaeridium globosum*, *Mesostigma viride*, *Anthoceros formosae*, *Adiantum capillus-veneris*, *Huperzia lucidula*, *Marchantia polymorpha*, *Psilotum nudum*, *Pinus koraiensis*, *Pinus thunbergii*, *Amborella trichopoda*, *Arabidopsis thaliana*, *Atropa belladonna*, *Calycanthus floridus*, *Cucumis sativus*, *Epifagus virginiana*, *Lotus corniculatus*, *Nicotiana tabacum*, *Nymphaea alba*, *Panax ginseng*, *Spinacia oleracea*, *Oryza nivara*, *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, *Zea mays*.

Заметим, что *Epifagus virginiana* не является фотосинтезирующим. Гены фотосистем в его хлоропластах отсутствуют.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

АТФ-зависимая протеаза. В 5'-нетранслируемой области гена *clpP* (ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit) из хлоропластов у Streptophyta найден консервативный участок, близкий к UUACGYUUYCAYAU YARAGNRNARU, где N означает произвольный нуклеотид, Y - это C или U, и R - это A или G. Множественное выравнивание показано в таблице 1. Здесь же расположена консервативная спираль.

<i>Chaetosphaeridium globosum</i>	uuauaUUCUuacauuuuAGAAcua*uaauauacu*****
<i>Adiantum capillus-veneris</i>	acUUACGccccacaauucagagGUAAcucc*aagacguuuugauaauuucua*****
<i>Anthoceros formosae</i>	ucuuacgUUUUCauaucaGAGGaaauuu*ccaguuugauaacaagaaga*****
<i>Hyperzia lucidula</i>	aguuaCGUUUCguaauaGAGGGCaauu*aaauuuuagccucagggaagaaga*****
<i>Marchantia polymorpha</i>	UUUUACguuuuuuuuuuUAGAAGaguau*uuuguuuuggaagaaaaa*****
<i>Psilotum nudum</i>	auuuauGCUUUcgcaucaGAGGUuuauuc*ucuuuuuuuuuucua*****
<i>Pinus koraiensis</i>	CUUUACguucccauauUAGAGUauagugc*uucaucuucuuuccauuaaa*****
<i>Pinus thunbergii</i>	CUUUACguuucccauauUAGAGUauagugc*uucaucuucuuuccauuaaa*****
<i>Amborella trichopoda</i>	ucuuacCGUUUccgcaucaAAGUGaaauuauagugcuuaacucuuuuucuu*****
<i>Arabidopsis thaliana</i>	uuuuacCGUUUcccaucaAAGUGaaauag*agaacucuaucucuuuuuuuuu*****
<i>Atropa belladonna</i>	uguuaCGUUUccaccucaAAGUGaaauu*aguauuuaguucuuucuuu*****
<i>Calycanthus floridus</i>	uauuaCGUUUcccaucaAAGUGaaguag*aguacuuuacucuuuuuu*****
<i>Cucumis sativus</i>	uguuACGcuucccauuuaCGUuagcuau*acuacuuacuucguuuugcuuu*****
<i>Epifagus virginiana</i>	uguuaCGUUUcccaucaAAGUGaaauuu*aguauuuaguucuuuuuuuu*****
<i>Lotus corniculatus</i>	uaUUACgUUUcacaccAAAGUAAgauu*augacuuaauuuuuuu*****
<i>Nicotiana tabacum</i>	uguuaCGUUUccaccucaAAGUGaaauu*aguauuuaguucuuucuu*****
<i>Nymphaea alba</i>	uguuaCGUUUcccaucaAAGUGaaguau*aguacuuuacccgguuuuu*****
<i>Panax ginseng</i>	uguuaCGUUUcccaucaAAGUGaaauu*aguacuuuuuuuuuu*****
<i>Spinacia oleracea</i>	uauuaCGUUUcccaucaAAGUGaaauag*aguacuuuuuuuuuu*****
<i>Oryza nivara</i>	ucUUACGUUUcccauuuaAAGUGUAGuuuuuuuuuuuuuuuuuu*****
<i>Oryza sativa</i>	ucUUACGUUUcccauuuaAAGUGUAGuuuuuuuuuuuuuuuuuu*****
<i>Triticum aestivum</i>	ucUUACGUUUcccauuuaAAGUGUGuuuuuuuuuuuuuuuuuu*****
<i>Zea mays</i>	ucUUACGUUUcccauuuaAAGUGUAGuuuuuuuuuuuuuuuuuu*****

Таблица 1. Множественное выравнивание 5'-нетранслируемых областей гена *clpP*. Плечи консервативной спирали выделены прописными буквами.

Фотосистема I. В 5'-нетранслируемых областях гена *psaA* (photosystem I P700 apoprotein A1) у многих хлоропластов найдены длинные консервативные пуриновые участки, примыкающие к иницирующему кодону AUG гена. Множественное выравнивание показано в таблице 2. Прописными буквами выделена консервативная спираль около сайта связывания рибосомы.

Фотосистема II. В 5'-нетранслируемых областях генов *psbA* (белок D1) и *psbB* (P680 хлорофилл А) у многих хлоропластов найдены консервативные участки, примыкающие к иницирующему кодону AUG гена. Исключение составляет ген *psbB* из *Adiantum capillus-veneris*, иницирующий кодон которого ACG подвергается редактированию. Множественные выравнивания показаны в таблицах 3 и 4. Здесь же расположены консервативные шпильки, которые выделены в таблице 3 прописными буквами. В *Mesostigma viride* 5'-нетранслируемые области обоих генов *psbA* и *psbB* не содержат рассматриваемого сигнала.

У гена *psbA* из *Amborella trichopoda* в аннотации GenBank, возможно, пропущен короткий N-концевой фрагмент.

В аннотации к хлоропласту из *Psilotum nudum* ортолог гена *psbB* назван *psbT*.

4. ДИСКУССИЯ

Вероятно, найденные перед генами *clpP*, *psbA* и *psbB* консервативные участки мРНК связаны с регуляцией трансляции. Роль консервативного участка перед геном *psaA* менее понятна. Возможно, AG-богатая 5'-область связана со стабилизацией мРНК.

Консервативные участки у 5'-нетранслируемых областей генов *clpP* и *psbA* найдены перед всеми ортологами этих генов, содержащих интроны, и перед некоторыми ортологами этих генов, не содержащих интроны. Подобная регуляция трансляции гена *psbA* белка D1 фотосистемы II экспериментально показана, например, у *Chlamydomonas reinhardtii*, где транскрипция происходит непрерывно, а трансляция активируется на свету некоторым белком с массой

<i>Guillardia theta</i>	auaaaguaagaguuuuagauu****gcugUCUCaaaagagGAGAaccuca
<i>Odontella sinensis</i>	cuuagagaguuucau*aaau****UUCgucUCCaaaaGAGAAaguca
<i>Porphyra purpurea</i>	uagaaauagcguuu**gauu****cuugUCUCAagagagGAGAaucuca
<i>Nephroselmis olivacea</i>	agccaggaagacuauu**cauu****CCUCgugugaagaGAGGagaucucg
<i>Chaetosphaeridium globosum</i>	uguuguaaguuuuuucuaagc****CUCgUCUGaaaAGAGGAGaaauucg
<i>Mesostigma viride</i>	uagaggugaguuuuuu*ugug****cUCaUCUaaaaAGAGGAGaaucuc
<i>Adiantum capillus-veneris</i>	uguugguagguugugc*uauc****CCUCgUCgaaGAGAGgaguc cca
<i>Anthoceros formosae</i>	uuugugcgguuuuc*caug****CCUCgucugaaagGAGGauaaucg
<i>Huperzia lucidula</i>	ucuuugcgguuuuuuc*uaug****CCUCgucuggaaGAGGagaaccucg
<i>Marchantia polymorpha</i>	uguugguagguuuuuc*uaug****CCUCgucugaagaGAGGagaaccucg
<i>Psilotum nudum</i>	ugcuggcagguugugc*uaau****CCUCgucucgagaGAGGagaucuca
<i>Pinus koraiensis</i>	uaauugcaggguuucuuuuuuuagucccaUCCgaaaaggGGAGaa*uuua
<i>Pinus thunbergii</i>	uaauugcaggguuucuuuuuuuagucccgUCCgaaaagaGGAGaa*uuca
<i>Amborella trichopoda</i>	ucuuugcgguucucuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Arabidopsis thaliana</i>	uguuggcggguuuuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Atropa belladonna</i>	uguuggcggguucuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Calycanthus floridus</i>	uguuggcggguuuuuuuaug****uguugUCCggaauaGAGgga*cuca
<i>Cucumis sativus</i>	uaauugcagguucuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Lotus corniculatus</i>	uaauugcagguucuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Nicotiana tabacum</i>	uguuggcggguucuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Nymphaea alba</i>	uguuggcggguucuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Panax ginseng</i>	uguuggcggguucuuuuaug****uguugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Spinacia oleracea</i>	uguuggcagguucuuuuaug****cuugUCCggaagaGAGgga*cuca
<i>Oryza nivara</i>	aguuggcggguucuuuuaug****cuugUCCggaagaGAGgga*cuua
<i>Oryza sativa</i>	aguuggcggguucuuuuaug****cuugUCCggaagaGAGgga*cuua
<i>Triticum aestivum</i>	aguuggcggguucuuuuaug****cuugUCCggaagaGAGgga*cuua
<i>Zea mays</i>	aguuggcggguucuuuuaug****cuugUCCggaagaGAGgga*cuua

Таблица 2. Множественное выравнивание 5'-нетранслируемых областей гена *psaA*. Плечи консервативной спирали выделены прописными буквами.

47 кДа, который связывает мРНК в комплексе с другими белками, напрямую не связывающими мРНК, [3]. Этот комплекс инактивируется в темноте. Консервативность рассматриваемой структуры у растений и водорослей позволяет предположить, что зависимая от света регуляция трансляции гена *psbA* сформировалась задолго до появления интронов в генах белков.

Отметим, что обычно консервативная область РНК содержит спираль с консервативными плечами, действующая совместно с белком-медиатором, что характерно для большого числа регуляторных элементов, включая самые новые из них, [5].

Во всех случаях у *Adiantum capillus-veneris* соответствующая 5'-нетранслируемая область значительно дивергировала. И именно для этого хлоропласта характерно частое редактирование РНК.

Хотя ген *ycf3*, кодирующий связанный с первой фотосистемой белок Ycf3, имеет интроны и протяжённую 5'-нетранслируемую область, которая не перекрывается другими генами в хлоропластах растений, наш алгоритм не нашёл здесь длинного консервативного участка.

Небольшой консервативный участок с консенсусом ARGGAGGGACYT непосредственно перед геном *rbcL* у растений из Tracheophyta включает сайт связывания рибосомы и нет основания предполагать здесь сайт связывания регуляторного белка. Этот ген *rbcL* (субъединица ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) имеет интроны в хлоропластах *Euglena gracilis* и *Chlamydomonas reinhardtii*, где его трансляция регулируется белками, взаимодействующими с мРНК, [3]. Однако, в последнем случае состав 5'-нетранслируемой области этого гена совершенно другой, чем у Tracheophyta, что может быть связано с отсутствием интронов в гене *rbcL* у рассматриваемых растений.

Не удалось обнаружить общих консервативных участков в нетранслируемых областях РНК у рассматриваемых хлоропластов и у хлоропластов из *Euglena gracilis*.

Работа частично поддержана грантом ISTC (2766).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nickelsen J. Chloroplast RNA binding proteins. *Current Genet*, 2003, 43, p. 392–399.
2. Zerges W. Translation in chloroplasts. *Biochimie*, 2000, 82, p. 583–601.
3. Hauser C.R., Gillham N.W., Boynton J.E. Translation regulation of chloroplast genes. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271, p. 1486–1497.
4. Любецкий В.А., Селиверстов А.В., Поиск консервативных участков в лидерных областях генов в случае известного дерева видов, *Информационные процессы*, 2005, 5, 4, стр. 265–270.
5. 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, 5, 54.