

УДК 577.053

АНАЛИЗ 5'-ЛИДЕРНЫХ ОБЛАСТЕЙ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ ПЛАСТИД У ПРОСТЕЙШИХ ТИПА APICOMPLEXA И У КРАСНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

© 2009 г. Т. А. Садовская¹, А. В. Селиверстов^{2*}

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии
им. К.И. Скрябина, 109472, Москва

²Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, 127994, Москва

Поступила в редакцию 19.05.2008 г.

Принята к печати 12.11.2008 г.

Простейшие паразиты типа Apicomplexa имеют так называемые апикопласты, похожие на хлоропласты красных водорослей. Посредством множественного выравнивания 5'-лидерных областей некоторых генов мы нашли несколько консервативных некодирующих участков как у паразитов, так и у красных водорослей. Мы предполагаем, что эти участки служат для взаимодействия РНК с регуляторными белками. Консервативные участки обнаружены перед геном *ycf24*, необходимым для формирования FeS-центров, а также перед некоторыми другими генами. В частности, мы полагаем, что у *Toxoplasma gondii* имеет место совместная регуляция трех генов – *ycf24*, *rps4* и *rpoB*. Наше предсказание согласуется с известными данными о том, что апикопласты, в целом, необходимы для *T. gondii* лишь в течение малого времени, но обеспечивают патогенность этого организма. У красных водорослей рода *Porphyra* и у паразитов *Eimeria tenella* и *Theileria parva* найден другой консервативный участок перед геном *rpoB*, кодирующим β -субъединицу РНК-полимеразы.

Ключевые слова: регуляция генов, *ycf24*, *rpoB*, пластыды, сравнительная геномика, простейшие Apicomplexa, простые водоросли.

ANALYSIS OF 5'-LEADER REGIONS IN PROTOZOA TYPE APICOMPLEXA AND RED ALGAE PLASTIDS, by T. A. Sadovskaya¹, A. V. Seliverstov^{2*} (¹Scriabin Moscow State Academy of Medicine and Biotechnology, Moscow, 109472 Russia; ²Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, 127994 Russia; *e-mail: slvstv@iitp.ru). Apicomplexan parasites contain the apicoplasts, a chloroplast-like organelle. By means of the multiple alignments of 5'-leader regions for the plastid-encoded genes, we found some conserved non-coding regions in the parasites as well as in red algae. We suppose these regions are the sites for interaction between the RNA and regulatory proteins. Conservative sites was found upstream gene *ycf24*, required for [Fe-S]-clusters development, and upstream some other genes. In particular, in *Toxoplasma gondii* a simultaneous regulation is predicted for three genes *ycf24*, *rps4* and *rpoB*. Our prediction corresponds to the known data that *T. gondii* apicoplasts in its entirety are required for a short time only, but ones procure pathogenesis. Another site is predicted upstream gene *rpoB*, that encodes β -subunit of the RNA polymerase, in red algae *Porphyra* spp. as well in *Eimeria tenella* and *Theileria parva*.

Key words: regulation, *ycf24*, *rpoB*, plastids, comparative genomics, Apicomplexa, algae.

Механизмы экспрессии генов пластыд и бактерий сходны. В частности, регуляция инициации трансляции связана с консервативными участками в составе 5'-нетранслируемых областей мРНК вблизи иницирующего кодона, где располагается сайт связывания рибосомы [1–3]. Однако, хотя аминокислотные последовательности белков, кодируемых в пластыдах, высоко консервативны [4], некодирующие нуклеотидные последовательности значительно отличаются даже у близких видов, что позволяет предпола-

гать важную роль консервативных участков этих областей для регуляции экспрессии генов [3].

В работе изучали 5'-лидерные области всех генов пластыд у простейших из группы Apicomplexa. Рассмотрены также сходные по нуклеотидной последовательности участки в 5'-лидерных областях генов пластыд у красных водорослей и у простейших, содержащих пластыды с родственными геномами [4], которые перечислены в таблице. Простейшие из группы Apicomplexa особенно интересны, поскольку они вызывают заболевания животных. В частности, представители родов

*Эл. почта: slvstv@iitp.ru

Рассмотренные виды и участки геномов пластид из баз данных NCBI и Sanger Institute

Отдел, класс	Вид	NCBI	Sanger Institute
Apicomplexa	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Нет пластид	
Coccidia	<i>Eimeria tenella</i>	NC_004823.1	
	<i>Toxoplasma gondii</i>	NC_001799.1	
Apicomplexa	<i>Plasmodium chabaudi</i>	CAAJ01003137.1	
Aconoidasida	<i>Pl. falciparum FCC-2/Hainan</i>	ABGW01002254.1	
	<i>Pl. falciparum Santa Lucia</i>	ABHA01004340.1	
	<i>Pl. yoelii yoelii I7XNL</i>	AABL01000014.1	
	<i>Pl. berghei</i>		Contig4648
	<i>Babesia bovis T2Bo</i>	NC_011395.1	
Bacillariophyta	<i>Theileria annulata</i>		Contig1014
	<i>Theileria parva</i>	NC_007758.1	
	<i>Heterosigma akashiwo</i>	NC_010772.1	
	<i>Odontella sinensis</i>	NC_001713.1	
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	NC_008588.1	
Cryptophyta	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	NC_008589.1	
	<i>Guillardia theta</i>	NC_000926.1	
	<i>Rhodomonas salina</i>	NC_009573.1	
Glaucocystophyceae	<i>Cyanophora paradoxa</i>	NC_001675.1	
Haptophyceae	<i>Emiliana huxleyi</i>	NC_007288.1	
Rhodophyta	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	NC_004799.1	
	<i>Cyanidium caldarium</i>	NC_001840.1	
	<i>Gracilaria tenuistipitata</i>	NC_006137.1	
	<i>Porphyra purpurea</i>	NC_000925.1	
	<i>Porphyra yezoensis</i>	NC_007932.1	
Xanthophyceae	<i>Vaucheria litorea</i>	NC_011600.1	

Theileria и *Babesia*, переносимые иксодовыми клещами, вызывают следующие заболевания крупного рогатого скота: *B. bigemina* и *B. bovis* – бабезиоз крупного рогатого скота; *Th. annulata* – тейлериоз крупного рогатого скота; *Th. parva* – лихорадку Восточного Берега [5]. *Eimeria tenella* вызывает эймериоз кур, *Toxoplasma gondii* – токсоплазмоз кошек и человека [6], различные виды рода *Plasmodium* – малярию у людей (*Pl. falciparum*) и у грызунов (*Pl. berghei*, *Pl. chabaudi*, *Pl. yoelii*). Геномы *B. bovis* и *Th. parva* чрезвычайно сходны между собой [7].

Рассматриваемые организмы, за исключением *Cryptosporidium parvum* [8], имеют пластиды (апикопласты) с сильно редуцированным геномом. Например, апикопласты *E. tenella* включают гены некоторых рибосомных белков. Среди них ген *rps4* белка S4 из малой субъединицы; ген *tufA* фактора элонгации; гены *rpoB*, *rpoC1* и *rpoC2*, кодирующие

β -, β' - и β'' -субъединицы РНК-полимеразы бактериального типа; ген *clpC*, важный для сворачивания внутри пластиды белков, кодируемых в ядре; ген *ucf24*, ортологичный бактериальному гену *sufB*. Другие открытые рамки считывания не консервативны, и многие из них имеют слабую гомологию с генами рибосомных белков или субъединиц РНК-полимеразы.

У водорослей ген *ucf24* позиционно сцеплен с геном *ucf16*, однако в апикопластах из Apicomplexa ген *ucf16* отсутствует. Каждый из этих генов кодируют белки SufB и SufC соответственно, участвующие в метаболизме железа и формировании FeS-центров [9, 10]. Известно, что апикопласты достижимы для многих FeS-белков, кодируемых в ядре. Таковы, например, ферредоксин (с центром Fe₂S₂-типа) у *Pl. falciparum* [11], ферменты GcpE и LypB, связанные с синтезом изопреноидов, и LipA, связанный с

G. tenuistipitata GAAUUAAAUAUCUGAUAUAUAUAAUUAU=====

P. purpurea AAUAUGAAAUA=UUUUAUA AAUAAUUAUUGUUGCACU==

P. yezoensis GAAUUAAGAAUA=UUAUAUA AAUAAUUAUUGUUUCAUU==

Pl. berghei ACUUGAAUAUUUAUAUAUAUAAAUAUU=====

Pl. chabaudi ACUUACAUAUUUAUAUAUAUAAAUAUU=====

Pl. falciparum AGCUUUUAUUAUUUUUAUAUAUAAUUAUU=====

Pl. yoelii AAUUUAAAUA=UAUUCUUUAAAUAUUUUAAAU=====

E. tenella AAUAAUAAAUA=UUAUAUA AAAAUUUUAAA=====

T. gondii AUUUUUUUAUU=UUAUAUAUUUAAUUUUUUUUUACUAAA

 AnnUUnAnAUA=UnwUAUAwAwAAUUUAUU=====

Th. annulata AGACUGAAACUAUAACUGAAGAAACUACUG=====

Рис. 1. Множественное выравнивание 5'-лидерных областей генов *ycf24* (вверху) и соответствующего псевдогена из *Th. annulata* (внизу). Последовательности расположены непосредственно перед инициирующим кодоном. Консервативные позиции выделены. Прописными буквами указаны нуклеотиды, встречающиеся в более чем 65% случаев, подчеркнуты абсолютно консервативные позиции (исключая *Th. annulata*). Рассматриваемые области совпадают у *Pl. falciparum* FCC-2/Hainan и *Pl. falciparum* Santa Lucia.

синтезом липоевой кислоты у *T. gondii* [12]. Через мембрану пластид белки транспортируются в развернутом состоянии, а их FeS-центры формируются внутри. У красных водорослей геном хлоропластов включает гены еще нескольких белков, имеющих FeS-центры. Это субъединица ChlL (с центром Fe4S4-типа) протохлорофиллидредуктазы, ферредоксин PetF (с центром Fe2S2-типа), апопротеин A1 первой фотосистемы Psac и ферредоксин-зависимая глутаматсинтаза GltB. Отметим, что цианобактерии имеют две различные глутаматсинтазы [13].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Рассмотрены полные геномы пластид и фрагменты геномов, содержащие гены, ортологичные гену *ycf24*. Эти фрагменты отобраны посредством программы BLAST по всем данным, доступным в базах NCBI и Sanger Institute. Геномы и их фрагменты перечислены в таблице.

В геномах (включая ядерные и пластидные ДНК) видов *Th. parva*, *B. bovis*, *C. parvum* ортологичный для *ycf24* ген не обнаружен. Геном *Th. annulata* включает псевдоген, возможная аминокислотная последовательность белка которого слабо гомологична N-концу белка SufB (совпадает 39 из 140, или 27% аминокислотных остатков) и содержит кодон UAG внутри рамки считывания. Кроме того, у *Th. annulata* не найден C-концевой домен (с номером PF01458 из базы Pfam), характерный для белка SufB.

При поиске консервативных участков использована программа для множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей, основанная на последовательных парных выравниваниях с учетом *a priori* известного дерева видов (Л.И. Рубанов, не опубликовано), с последующей обработкой вручную. Множественное выравнивание белков проводили посредством программы ClustalX [14].

Аннотация дополнительно подтверждена с помощью базы Pfam.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами найдены консервативные участки в 5'-лидерных областях генов *ycf24* у красных водорослей родов *Porphyra* и *Gracilaria* и у многих видов *Alga* комплекса, перечисленных на рис. 1. В рассмотренных 5'-лидерных областях встречаются нуклеотидные замены даже перед генами разных видов одного рода *Porphyra*. Продолжить указанные выравнивания для 5'-лидерных областей соответствующих генов не удалось ни для красных водорослей *C. merolae*, *C. caldarium*, ни для криптофитовых *Guillardia theta*, *Rhodomonas salina*, ни для диатомовых *Odontella sinensis*, *Phaeodactylum tricoratum*, *Thalassiosira pseudonana*, ни для *Vaucheria litorea*, ни для *Cyanophora paradoxa*, ни для *Emiliania huxleyi*.

В 5'-лидерных областях генов *ycf24* найден консервативный AU-богатый участок с консенсусом UUnAnAUA=UnwUAUAwAwAAUUAUU (рис. 1). В геномах *Pl. chabaudi*, *E. tenella* и *T. gondii* они занимают почти весь межгенный промежуток, в то время как у *Pl. yoelii* и у красных водорослей родов *Porphyra* и *Gracilaria* перед ним есть протяженная неконсервативная область, не перекрываемая другими генами. Геномный контекст и длины 5'-лидерных областей у красных водорослей и у *E. tenella* и *T. gondii* значительно отличаются. С другой стороны, у *E. tenella* и у *G. tenuistipitata* консервативный участок находится вблизи инициирующего кодона, в то время как у *T. gondii* и *Porphyra* он отделен 13 и 11 нуклеотидами. Поэтому консервативность участка нельзя объяснить сходством рассматриваемых локусов в целом.

ycf24 AUUUUUUUUAUUUUUAUAUAUUUAAUUUUUUUUU=ACUAAAU
rps4 AUUUUUUUUAUUUUUAUAUAUUUAAUUUUUUUUUUACUAAAU
rpoB AUUUUAUUAAUUUUUUUAUUUUAAUAAAAUUUUUUAAAAUU

Рис. 2. Выравнивание 5'-лидерных областей генов из апикопластов *T. gondii*. Последовательности расположены непосредственно перед инициирующим кодоном.

P. purpurea AAUAUUAAAACUUCUCAAUUUCAGAAUUGCUAUAAAGGAGAUCU=
P. yezoensis AGUAUUAAAACUUCGAAUUUCAAAUAUUGUUUAUAAAGGAGAUCU=
E. tenella AUAAUUAAAUAUUUAAAUAUUAAUAUUAAUUUUUUUAUA
Th. parva AAUUUUAAAUAUUUAAAGAGUUUUAAAUUUAAAUAUUUUUUUAA=
AnUAUUAAAyUnUUUnAAwnUnAnAAwUUknwAUwAAkkwKAUmU=

Рис. 3. Множественное выравнивание 5'-лидерных областей генов *rpoB*. Последовательности расположены непосредственно перед инициирующим кодоном. Консервативные позиции выделены. В консенсусах подчеркнуты абсолютно консервативные позиции.

В геноме *Th. annulata* перед псевдогеном *ycf24* предполагаемый сайт связывания белка значительно отличается от консенсуса.

Поиск по образцу, соответствующему консенсусу 5'-лидерных областей перед геном *ycf24*, позволил определить сходные участки перед другими генами. У *Porphyra* единственным новым кандидатом для предполагаемой регуляции является ген *gltB*, у которого 5'-лидерные области отличаются от консенсуса по *ycf24* в трех позициях. У всех генов *C. merolae* и *G. tenuistipitata* (кроме *ycf24* из *G. tenuistipitata*) 5'-лидерные области отличаются от консенсуса по крайней мере в четырех позициях, у *C. caldarium* – в трех (перед опероном *odpAB*, кодирующим пируватдегидрогеназу). Это указывает на то, что у красных водорослей предполагаемый механизм регуляции связан исключительно с геном *ycf24*.

Перед генами *rps4* и *ycf24* в апикопластах *T. gondii* и *E. tenella* расположены копии большой субъединицы рРНК и треониновой тРНК. Но только у *T. gondii* длинные 5'-лидерные области перед генами *rps4* и *ycf24* отличаются лишь по вставке одного нуклеотида вблизи кодирующей области. У *E. tenella* 5'-лидерные области перед генами *rps4* и *ycf24* отличаются как по длине, так и по составу. Сходная последовательность нуклеотидов, совпадающая в 25 из 40 позиций, показанных на рис. 2, найдена в апикопласте *T. gondii* еще перед геном *rpoB*. Однако позиции, консервативные в 5'-лидерных областях генов *ycf24* и *rpoB* из *T. gondii*, мало согласуются с консенсусом для *ycf24* из разных видов (рис. 2).

В 5'-лидерных областях генов *gltB* из хлоропластов красных водорослей *C. merolae*, *C. caldarium*, *P. purpurea* и *P. yezoensis* вблизи инициирующего кодона нами обнаружен мало консервативный участок с консенсусом UUAUUnAUnUAG=AwUAUwnAAAAnwAnU. Гомологичного участка перед ге-

ном *gltB* у *G. tenuistipitata* нет. Пластиды других видов не содержат ген *gltB*. Каких-либо протяженных консервативных участков в 5'-лидерных областях генов *petF* и *psaC*, кодирующих FeS-белки, в хлоропластах красных водорослей обнаружить не удалось.

Консервативный участок другого состава найден перед геном *rpoB*, 5'-лидерные области которого у *Porphyra* и у *E. tenella* имеют большое сходство между собой: совпадают 22 из 44 нуклеотидов перед инициирующим кодоном. Гомологичная область найдена перед *rpoB* также у *Th. parva* (рис. 3). Сходство соответствующих областей у других водорослей и у *T. gondii* заметно меньше. В 5'-лидерных областях других генов из апикопластов обнаружить консервативные участки не удалось.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Консервативный участок найден у всех исследованных видов Арисомплекса, имеющих ген *ycf24*. Наличие консервативных участков в 5'-лидерных областях пластидных генов *ycf24* и *rpoB* у Арисомплекса, а также у красных водорослей хорошо согласуется с высокой степенью гомологии многих их белков [4]. Это свидетельствует в пользу гипотезы о том, что Арисомплекса являются вторичными симбионтами, получившими пластиды от красных водорослей, родственных *Porphyra*.

Обнаруженные консервативные участки перед геном *ycf24*, вероятно, служат сайтами связывания неизвестных регуляторных белков. Действительно, близкое расположение рассматриваемых регуляторных областей к инициирующему коду позволяет предполагать, что они участвуют в регуляции на уровне инициации трансляции. Такая регуляция характерна для хлоропластов растений и водорослей [1–3]. Более того, поскольку у *Porphyra* стоп-кодон *ycf24* и инициирующий кодон *ycf16* перекрываются

ются по двум нуклеотидам, здесь можно предположить, что происходит реинициация трансляции. Таким образом, у водорослей *Porphyra* происходит, по-видимому, одновременная регуляция трансляции мРНК *ucf24* и *ucf16*, кодирующих белки SufB и SufC соответственно. Кроме того, отсутствие белка SufB приводит к снижению активности взаимодействующего с ним белка SufC [9]. Таким образом регуляция трансляции приводит одновременно и к экономии затрат на трансляцию, и к подавлению соответствующего метаболического пути.

Поскольку в пластидах Apicomplexa нет генов, кодирующих потенциальные регуляторные белки, предсказанную регуляцию выполняют белки, кодируемые в ядре. Отсутствие такой регуляции у других вторичных симбионтов – криптофитовых и диатомовых водорослей, *Cyanophora paradoxa* и *Emiliania huxleyi*, может отражать тот факт, что регуляция у некоторых красных водорослей отсутствует.

Возможно, именно наличие регуляции, изначально сформировавшейся у красных водорослей, привело к тому, что ген *ucf24* остался в геноме апикопластов некоторых видов Apicomplexa, в то время как у *Arabidopsis* его гомологи находятся в ядре [15].

Предполагаемая совместная регуляция экспрессии генов *ucf24* и *rps4* позволяет предположить, что в апикопластах из *T. gondii*, наряду с *ucf24*, подавляется трансляция всех мРНК, что вызвано сокращением количества рибосомного белка S4. Если же указанная совместная регуляция, пусть менее эффективно, распространяется на ген *rpoB*, то сокращается и транскрипция. Известно, что у *T. gondii* апикопласты совершенно необходимы для проникновения в новую клетку хозяина [16]. Это наблюдение подтверждают также опыты с непатогенным мутантом для *T. gondii*, который отличается от дикого типа тем, что в нем отсутствует фермент, кодируемый в ядре, который достигает апикопласта и участвует в синтезе жирных кислот [17]. То есть патогенность *T. gondii* связана с происходящим в апикопластах синтезом. С другой стороны, у *T. gondii* ранее был описан только один пируватдегидрогеназный комплекс, локализованный в апикопластах и (в отличие от растений) отсутствующий в митохондриях [18].

В геноме *Th. annulata* предполагаемый сайт связывания белка перед псевдогеном *ucf24* значительно отличается от консенсуса, но преимущественные замены – А на G и U на C. Это позволяет предполагать, что регуляция исчезла совсем недавно, и мутации не успели исказить сайт.

Для регуляции трансляции мРНК *rpoB* в кишечной палочке важен участок от –29 до +70 нуклеотидов, считая от иницирующего кодона для *rpoB* [19]. Консервативность 5'-лидерных областей *rpoB* в пластидах позволяет предположить, что аналогичная регуляция встречается и здесь. Как и в случае гена

rps4, наблюдается значительное отличие регуляторных областей у апикопластов *T. gondii* и *E. tenella*.

Итак, на основании наших данных можно предсказать, что имеется консервативная регуляция на уровне трансляции в пластидах у красных водорослей и Apicomplexa. Однако имеются и отличия в регуляции у *T. gondii* и *E. tenella*, которые, вероятно, свидетельствуют о том, что роли апикопластов у близких видов могут быть различны. Это различие может иметь значение при разработке лекарственных препаратов, воздействующих на апикопласты паразитов.

Работа получила финансовую поддержку Международного научно-технического центра (ISTC 3807).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zerges W. 2000. Translation in chloroplasts. *Biochimie*. **82**, 583–601.
2. Nickelsen J. 2003. Chloroplast RNA-binding proteins. *Curr. Genet.* **43**, 392–399.
3. Seliverstov A.V., Lyubetsky V.A. 2006. Translation regulation of intron containing genes in chloroplasts. *J. Bioinform. Comput. Biol.* **4**, 783–793.
4. Lemieux C., Otis C., Turmel M. 2007. A clade uniting the green algae *Mesostigma viride* and *Chlorokybus atrophyticus* represents the deepest branch of the Streptophyta in chloroplast genome-based phylogenies. *BMC Biology*. **5**, 1–17.
5. Балашов Ю.С. 1998. *Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций*. СПб.: Наука.
6. Бейер Т.В. 1992. Оппортунистические инфекции протозойной природы. *Цитология*. **34**, 26–27.
7. Brayton K.A., Lau A.O.T., Herndon D.R., et al. 2007. Genome sequence of *Babesia bovis* and comparative analysis of apicomplexan hemoprotozoa. *PLoS Pathogens*. **3**, e148.
8. Zhu G., Marchewka M.J., Keithly J.S. 2000. Cryptosporidium parvum appears to lack a plastid genome. *Microbiol.* **146**, 315–321.
9. Rangachari K., Davis C.T., Eccleston J.F., Hirst E.M.A., Saldanha J.W., Strath M., Wilson R.J.M. 2002. SufC hydrolyzes ATP and interacts with SufB from *Thermotoga maritima*. *FEBS Letters*. **514**, 225–228.
10. Eccleston J.F., Petrovic A., Davis C.T., Rangachari K., Wilson R.J.M. (Iain). 2006. The kinetic mechanism of the SufC ATPase. *J. Biol. Chem.* **281**, 8371–8378.
11. Vollmer M., Thomsen N., Wiek S., Seeber F. 2001. Apicomplexan parasites possess distinct nuclear-encoded, but Apicoplast-localized, plant-type ferredoxin-NADP+ reductase and ferredoxin. *J. Biol. Chem.* **276**, 5483–5490.
12. Thomsen-Zieger N., Schachtner J., Seeber F. 2003. Apicomplexan parasites contain a single lipoic acid synthase located in the plastid. *FEBS Letters*. **547**, 80–86.
13. Muro-Pastor M.I., Florencio F.J. 2003. Regulation of ammonium assimilation in cyanobacteria. *Plant Physiol. Biochem.* **41**, 595–603.

14. Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **25**, 4876–4882.
15. Xu X.M., Adams S., Chua N.-H., Moller S.G. 2005. AtNAP1 represents an atypical SufB protein in *Arabidopsis* plastids. *J. Biol. Chem.* **280**, 6648–6654.
16. Wilson R.J.M. (Iain), Rangachari K., Saldanha J.W., Rickman L., Buxton R.S., Eccleston J.F. 2003. Parasite plastids: maintenance and functions. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* **B. 358**, 155–164.
17. Mazumdar J., Wilson E.H., Masek K., Hunter C.A., Striepen B. 2006. Apicoplast fatty acid synthesis is essential for organelle biogenesis and parasite survival in *Toxoplasma gondii*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **103**, 13192–13197.
18. Fleige T., Fischer K., Ferguson D.J.P., Gross U., Bohne W. 2007. Carbohydrate metabolism in the *Toxoplasma gondii* Apicoplast: localization of three glycolytic isoenzymes, the single pyruvate dehydrogenase complex, and a plastid phosphate translocator. *Eucaryotic Cell.* **6**, 984–996.
19. Passador L., Linn T. 1992. An internal region of *rpoB* is required for autogenous translational regulation of the β subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Bacteriol.* **174**, 7174–7179.