

Сравнительно-геномный анализ запрограммированного сдвига рамки считывания в гене *chlD* у прокариот

Антонов И.В.

ФИЦ «Фундаментальные Основы Биотехнологии» РАН, Институт Биоинженерии, г. Москва;
vanya.antonov@gmail.com

В случае мутаций типа вставка или делеция (длиной не кратной трем) в кодирующей области гена нарушается порядок чтения кодонов (т.е. происходит сдвиг рамки считывания или frameshift), что как правило приводит к преждевременной терминации трансляции. Мутации такого типа часто приводят к тому, что синтезируемый укороченный пептид уже не способен выполнять функцию целого белка. Из-за этого на соответствующий ген с мутацией перестает действовать отбор, и он постепенно превращается псевдоген. Однако, известны гены, у которых рядом с мутацией, сбивающей рамку считывания, находится встроенный сигнал, который корректирует ритм работы рибосомы таким образом, что мутация в гене корректируется, и происходит синтез полноценного белка. Данный механизм называется «запрограммированным сдвигом рамки считывания» (ПСРС). Наиболее распространенные сигналы ПСРС функционируют таким образом, что рибосома либо пропускает один нуклеотид (+1 ПСРС), либо читает один нуклеотид дважды (-1 ПСРС). Следует отметить, что подтвержденные функциональные сигналы ПСРС чаще всего встречается в вирусных генах или их производных (например, мобильных элементах) [1]. В настоящее время известно лишь несколько истинных прокариотических генов, использующих ПСРС для трансляции. К ним относятся такие известные гены как *prfB*, *dnaX* и *copA*. Важно отметить, что функционирование сигнала ПСРС происходит стохастически, т.е. только часть рибосом, читающих мРНК, изменяют свою рамку чтения в ответ на сигнал. Благодаря этому гены *dnaX* и *copA* (а также вирусный ген *gag-pol*) способны производить два функциональных белка с одной мРНК, т.к. и более длинный и более короткий продукты имеют свою собственную функцию. Это в свою очередь приводит к тому, что сигнал ПСРС закрепляется в эволюции в соответствующих генах и появляется возможность детектировать и исследовать его методами сравнительной геномики.

В 2013 году нами были предсказаны и экспериментально подтверждены ранее неизвестные консервативные сигналы ПСРС в четырех семействах прокариотических генов [2]. В частности ПСРС в гене *chlD*, кодирующем среднюю субъединицу магний-хелатазы (фермента, участвующего в синтезе хлорофилла и бактериохлорофилла), показал наибольшую эффективность (до 60%). Следует отметить, что магний-хелатаза состоит из трех субъединиц: I (~350 а.к.), D (~650 а.к.) and H (~1300 а.к.), которые, как правило, закодированы в генах *chlI*, *chlD* и *chlH*, соответственно. В данной работе был осуществлен детальный сравнительно-геномный анализ генов *chlD*, содержащих ПСРС сигналы. Было показано, что данный ген присутствует в более чем 1200 прокариотических геномах из базы данных RefSeq. Неожиданно оказалось, что существенная часть этих организмов не являются фотосинтетиками. При этом более 60% найденных прокариот были способны синтезировать кобаламин (витамин B12). При этом кобальт-хелатаза CobNST, которая является одним из примерно 25 ферментов, необходимых для аэробного биосинтеза кобаламина (витамина B12) у прокариот, имеет высокое сходство с магний-хелатазой. Большая, средняя и малая субъединицы кобальт-хелатазы кодируются генами *cobN*, *cobT* и *cobS* соответственно. В одной из предыдущих работ было отмечено, что ряд прокариотических геномов, синтезирующих кобаламин, содержат гены *chlD* и *chlI*, в том время как гены *cobT* и *cobS* отсутствуют. Исходя из этого авторы того исследования предположили, что продукты генов *chlD* и *chlI* могут заменить отсутствующие субъединицы фермента *cobNST* [3].

В настоящем исследовании мы заметили, что во многих геномах, содержащих ген *chlD* с ПСРС, *отсутствует* ген *chlI* (в то время как ген большой субъединицы кобальт-хелатазы *sovN* всегда присутствует). Учитывая высокое сходство между белком *ChII* и N-концевой частью белка *ChID*, мы предположили, что трансляционный сдвиг рамки может позволить мРНК *chlD* продуцировать две субъединицы кобальт-хелатазы. Действительно, проведенный филогенетический анализ выявил статистически значимую корреляцию между наличием сигнала ПСРС в гене *chlD* и отсутствием отдельного гена *chlI* в геноме. В частности, ген *chlI* отсутствует в геноме таких патогенных бактерий как *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia pseudomallei*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Nocardia brasiliensis*, синтезирующих кобаламин, в то время как соответствующие гены *chlD* содержат сигнал ПСРС (Рис.1). Таким образом, такие гены могут иметь потенциал для образования недостающей малой субъединицы хелатазы посредством преждевременного прекращения трансляции *chlD*.

В данной работе мы описали еще один случай, когда запрограммированный сдвиг рамки позволяет мРНК продуцировать два разных белка. Особенно интересно, что данный механизм был обнаружен в прокариотическом, а не вирусном гене, и является очень консервативным, т.к. может быть обнаружен как у архей, так и у бактерий. В связи с этим мы считаем, что дальнейшие исследования данного феномена могут пролить новый свет на раннюю эволюцию путей биосинтеза хлорофилла и / или кобаламина.

Мы хотели бы поблагодарить Павла Баранова и Марка Бородавского за важный вклад в первоначальное открытие ПСРС в гене *chlD*.

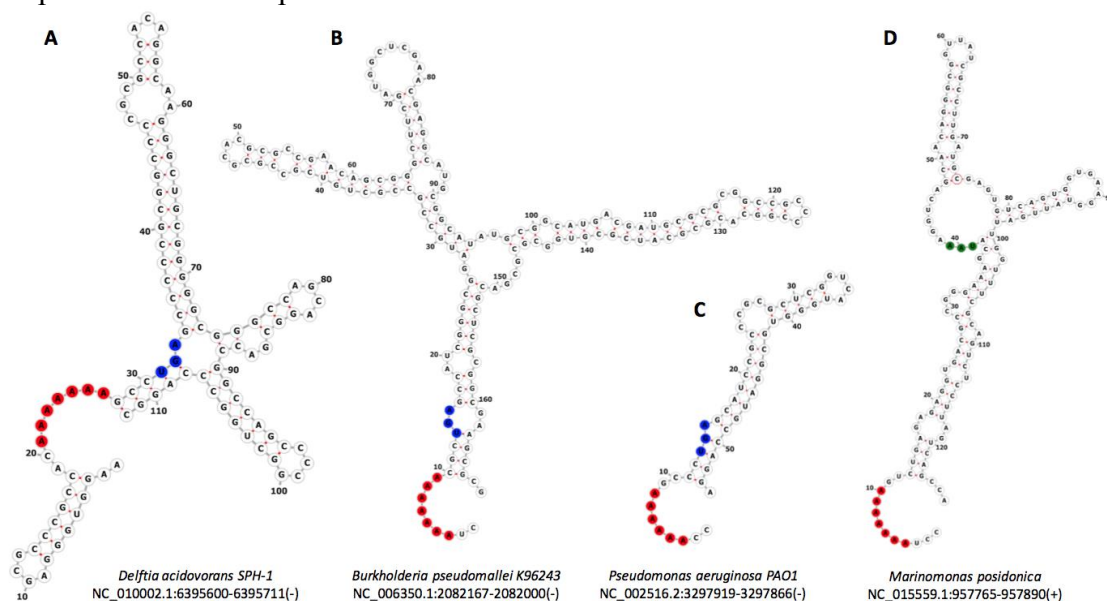


Рис. 1. Предсказанные -1 ПСРС сигналы в генах *chlD* из (A) *Delftia acidovorans*, (B) *Burkholderia pseudomallei*, (C) *Pseudomonas aeruginosa* и (D) *Marinomonas posidonica*. Первый нуклеотид в каждой последовательности соответствует положению первого кодона в исходной рамке считывания. Предполагаемые скользкие поли-А участки отмечены красным цветом. Важно отметить, что последовательности *D. acidovorans* и *P. aeruginosa* содержат мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания при обычной трансляции из-за наличия преждевременного стоп-кодона (отмечен синим цветом). Напротив, ген *M. posidonica* не имеет мутации на уровне ДНК, и его нормальная трансляция продуцирует среднюю субъединицу хелатазы, тогда как трансляция с ПСРС приводит к синтезу укороченного продукта (стоп-кодон в -1 альтернативной рамке отмечен зеленым цветом).

Литература

1. Atkins, John F., et al. "Ribosomal frameshifting and transcriptional slippage: from genetic steganography and cryptography to adventitious use." *Nucleic acids research* 44.15 (2016): 7007-7078.
2. Antonov, Ivan, et al. "Identification of the nature of reading frame transitions observed in prokaryotic genomes." *Nucleic acids research* 41.13 (2013): 6514-6530.
3. Rodionov DA, Vitreschak AG, Mironov AA, Gelfand MS. Comparative genomics of the vitamin B12 metabolism and regulation in prokaryotes. *J Biol Chem.* 2003 Oct 17;278(42):41148-59.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00589.