

Исследование транскрипционной регуляции биосинтеза метионина в различных таксономических группах методами сравнительной геномики

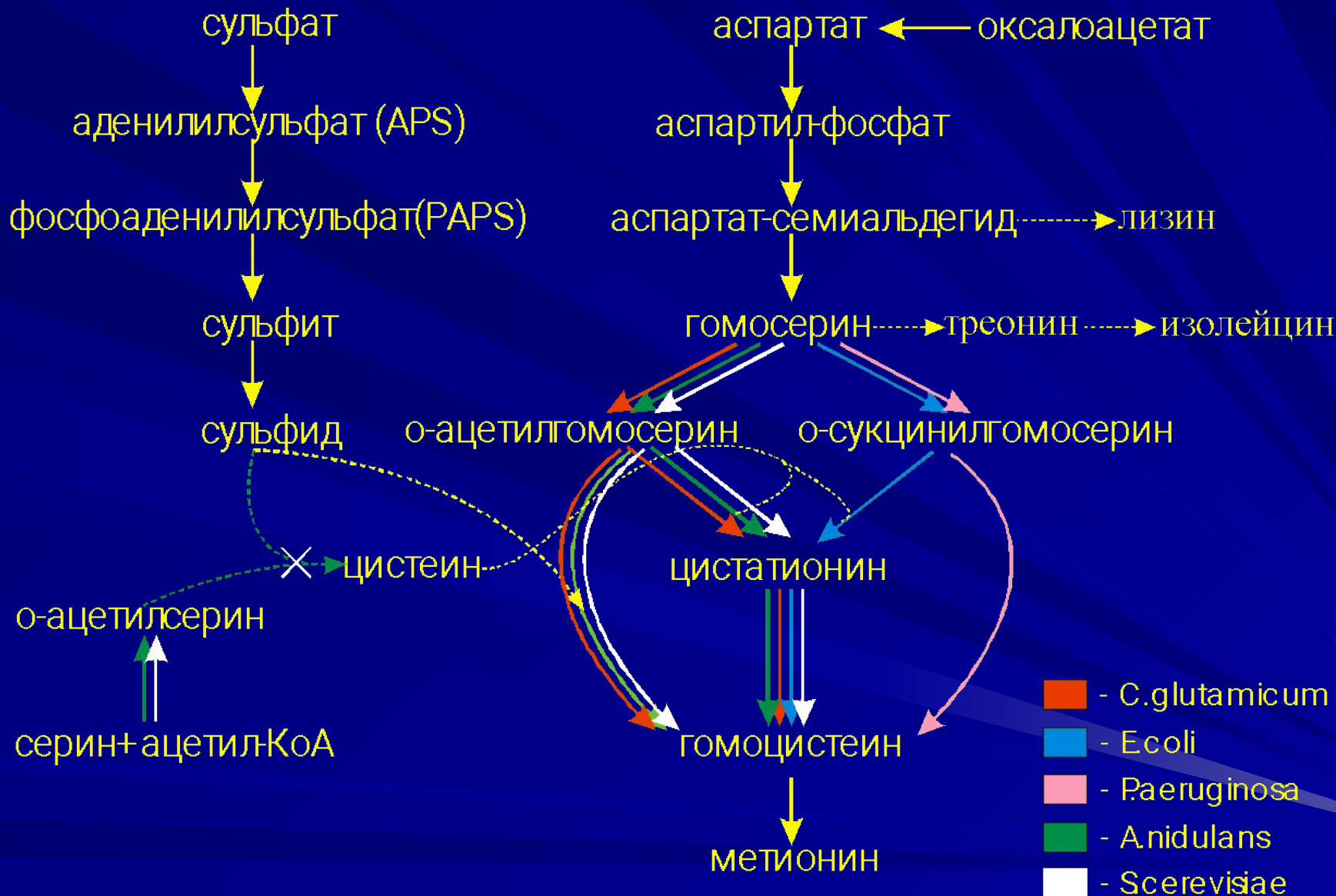
Ковалева Галина

Московский Государственный Университет им.М.В.Ломоносова
Институт Проблем Передачи Информации РАН

Часть I. Биосинтез метионина в бактериальных
геномах (порядок *Actinomycetales*)

Часть II. Биосинтез метионина в дрожжевых
геномах (род *Saccharomyces*)

Часть III. Биосинтез метионина в геномах
аскомицетов (*Neurospora crassa, Aspergillus nidulans*)

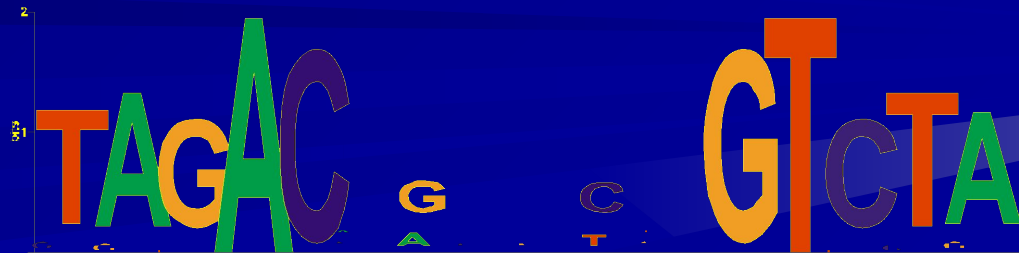
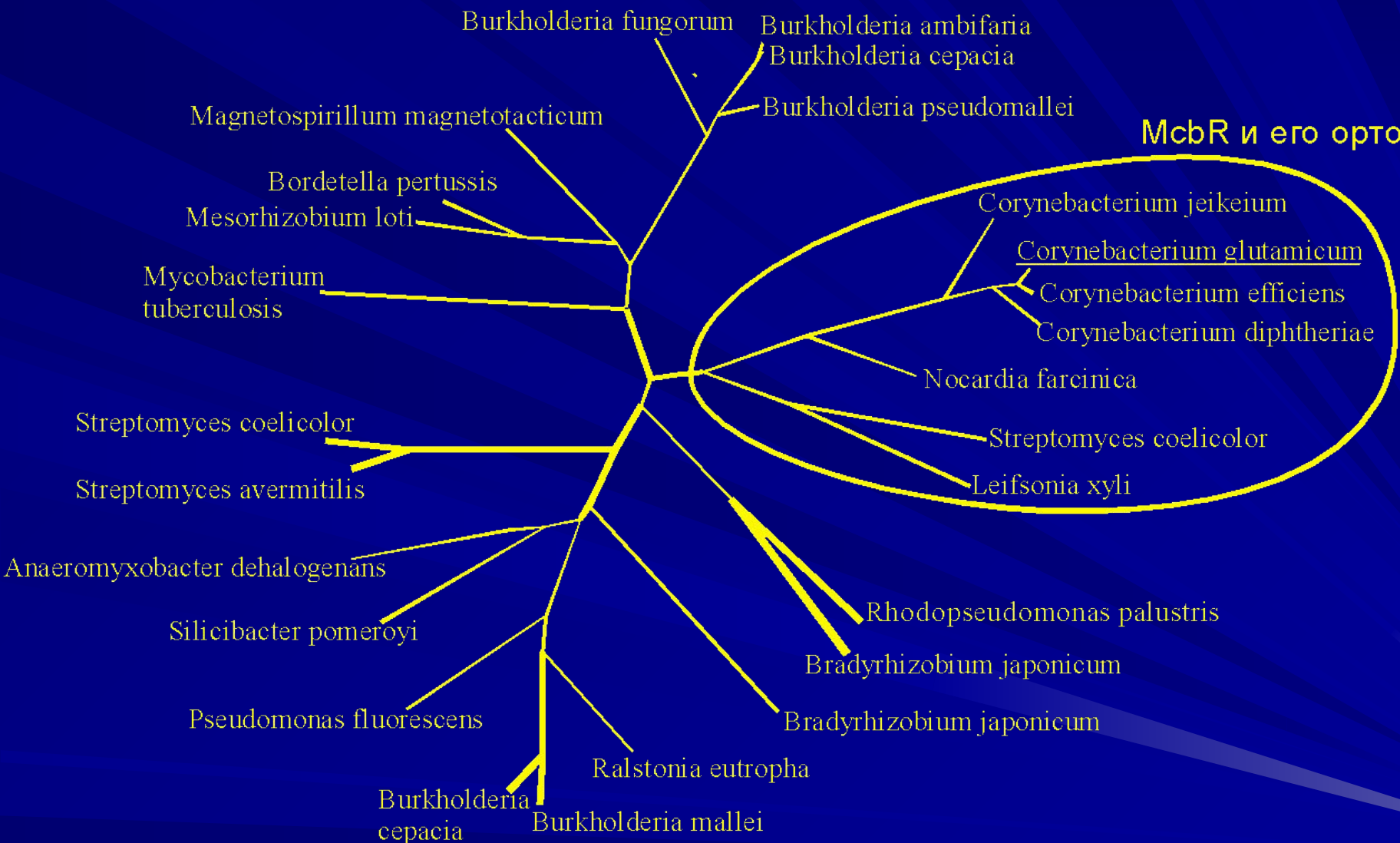


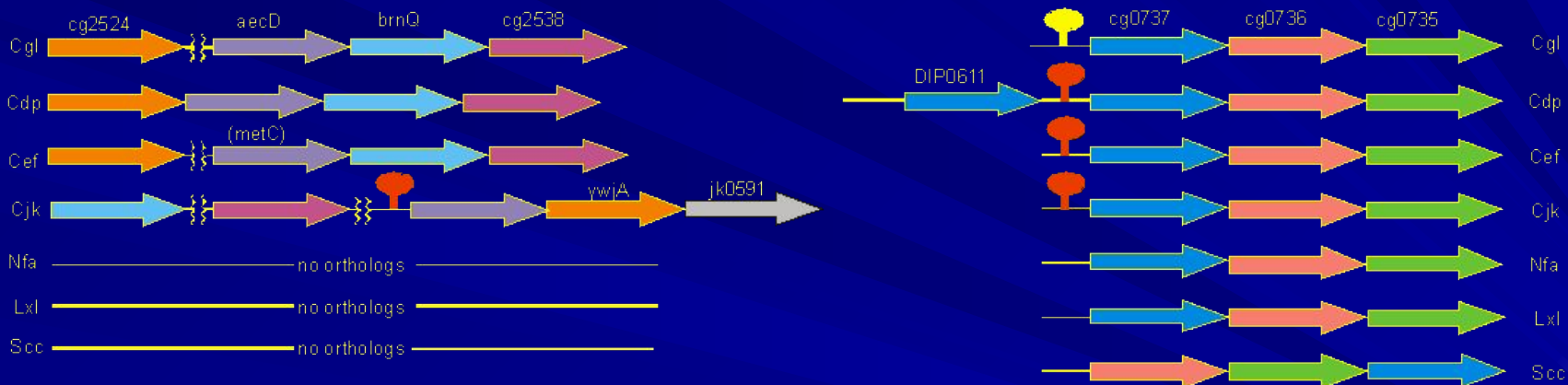
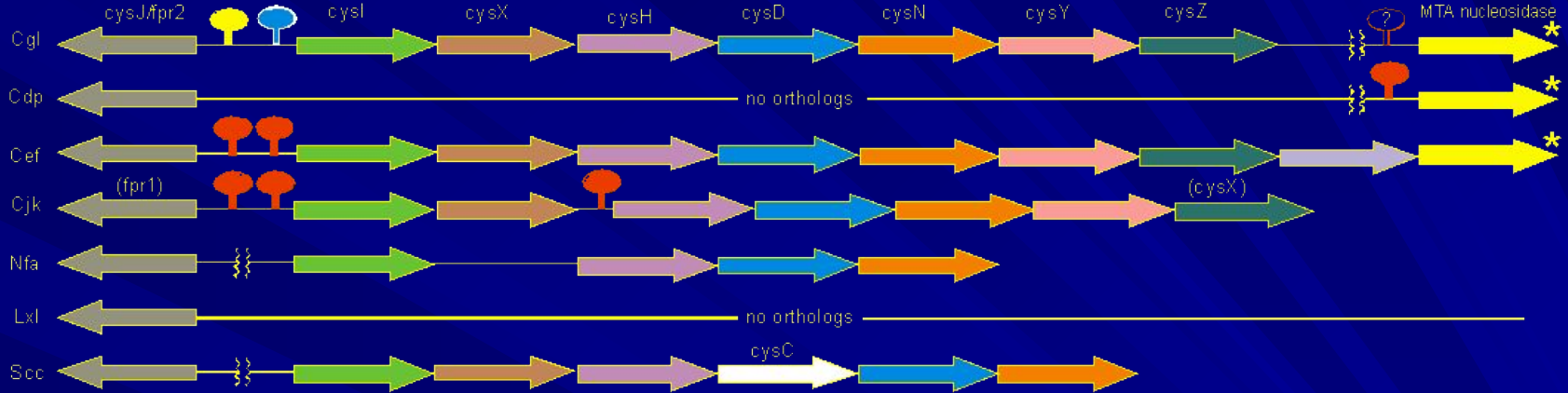
Бактериальные геномы.
Corynebacterium glutamicum



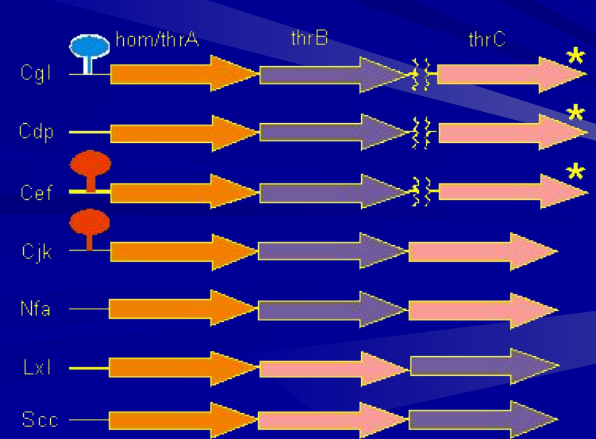
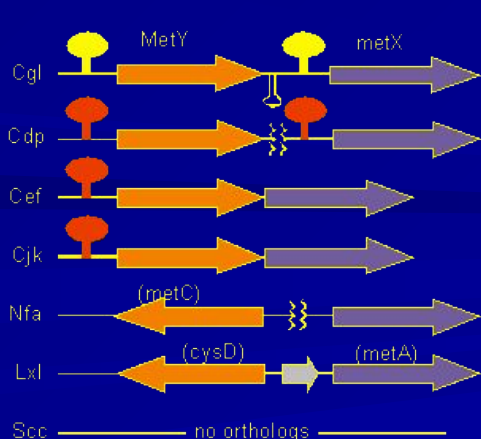
- известен транскрипционный регулятор McbR
- предсказана оперонная организация регулона McbR
(18 оперонов, объединяющие 36 генов)
- на основании выравнивания регуляторных областей предсказан сайт связывания регулятора, для пяти потенциальных сайтов предсказание проверено экспериментально

МсbR и его ортологи

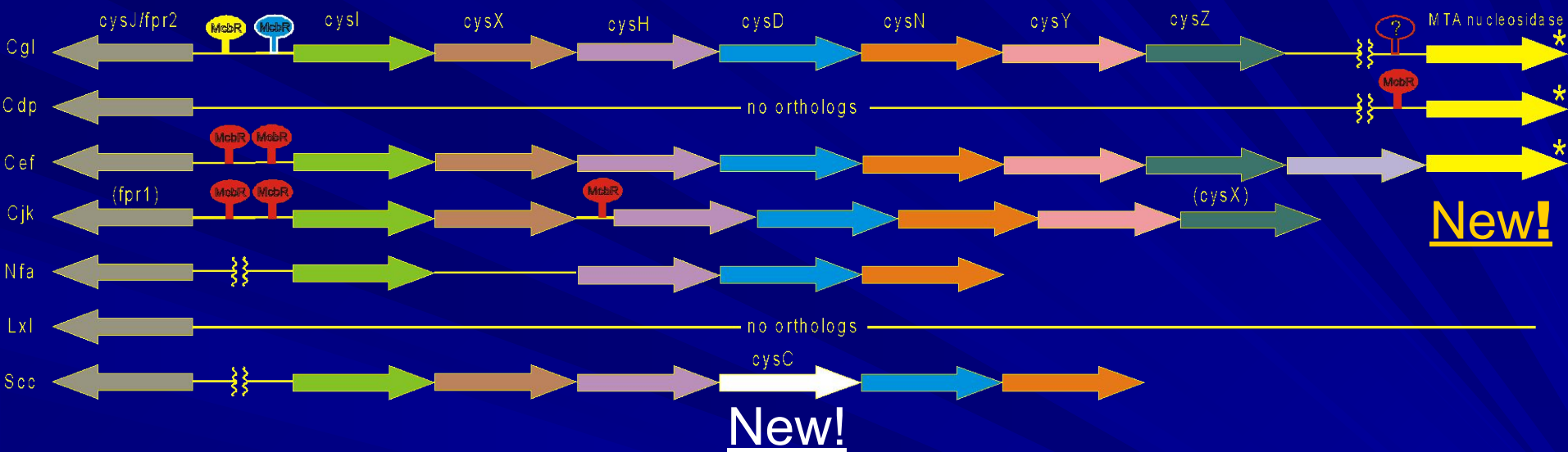




- терминаторная шпилька. Предсказана в работе Rey et al., 2005.
- сайт связывания McbR. Экспериментально подтвержден в работе Rey et al., 2005.
- сайт связывания McbR. Предсказан в работе Rey et al., 2005.
- сайт связывания McbR. Предсказан в данной работе.
- гены разнесены по геному
- не ортологичное замещение



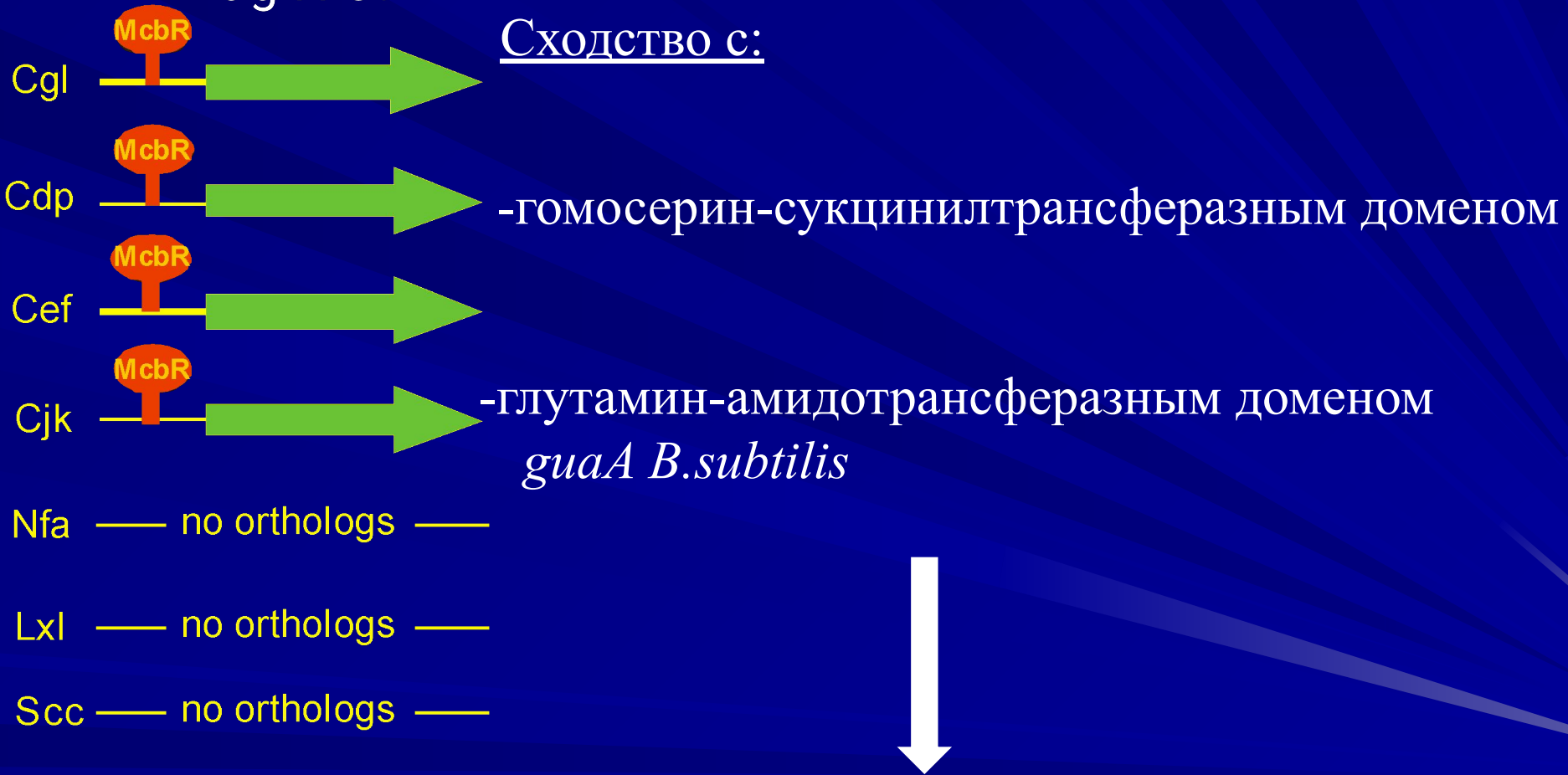
Предъявлено несколько новых членов регулона McbR:



MTA нуклеозидазы: восстановление пула метионина из побочного продукта биосинтеза полиаминов

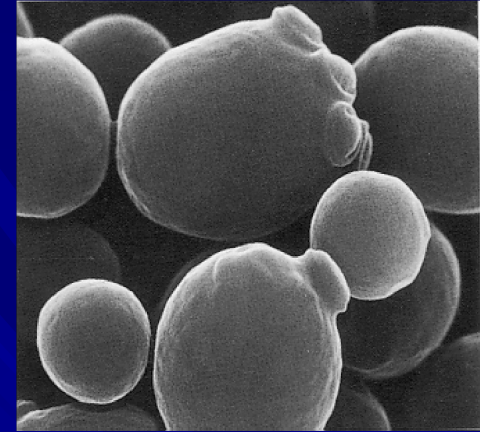
CysC: принимает участие в восстановлении сульфата

cg1739



Роль в биосинтезе метионина не очевидна

Дрожжевые геномы. Род *Saccharomyces*



- длина регуляторных областей в среднем 600 п.н.
- известно три транскрипционных регулятора биосинтеза метионина:
 - 1) Gcn4p. Глобальный регулятор биосинтеза аминокислот. Консенсус сайта связывания TGAATC.
 - 2) Комплекс Met31/Met32. Функция не известна. Консенсус сайта сайта связывания AAATGTGG.
 - 3) Комплекс Cbf1/Met4/Met28. По видимому, основной регулятор биосинтеза метионина. Консенсус сайта связывания TCACGTG.

Предсказание сайтов в ортологичных регуляторных областях. Выравнивание регуляторных областей

1) Несмотря на довольно высокое качество выравниваний регуляторных областей, очевиден высокий уровень перепредсказаний (false-positives) вследствие слишком малых длин сайтов.

2) Замечено, что даже экспериментально подтвержденные сайты часто не консервативны



Вводим понятие **консервативности сайта**:

met5

Smik	___	ATTTCT	<u>ATCACGTG</u>	TGAATT
Skudr	___	ATTTTC-	<u>ATCACGTG</u>	CAGTTT
Scer	___	ATTTTC-	<u>ATCACGTG</u>	CGTATT
Spar	___	ATTCC-	<u>ATCACGTG</u>	CGGATT
		***	* *****	**

Консервативность сайта
в каждом геноме = 1.0

met13

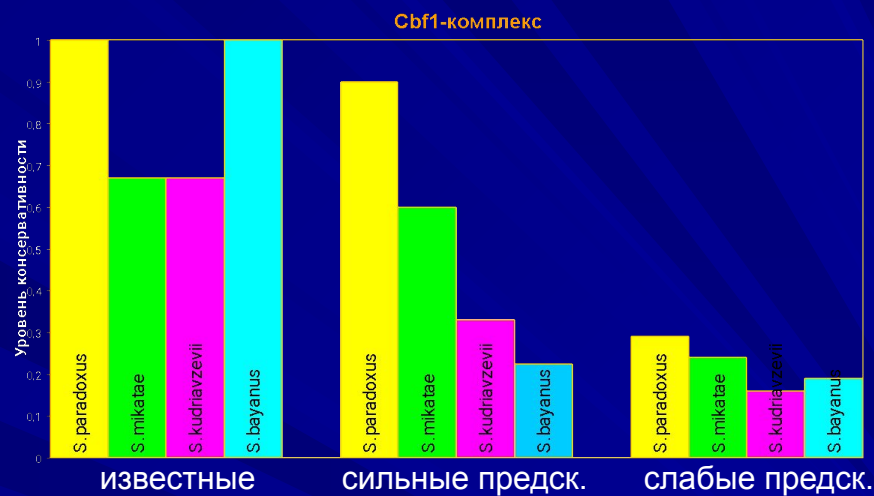
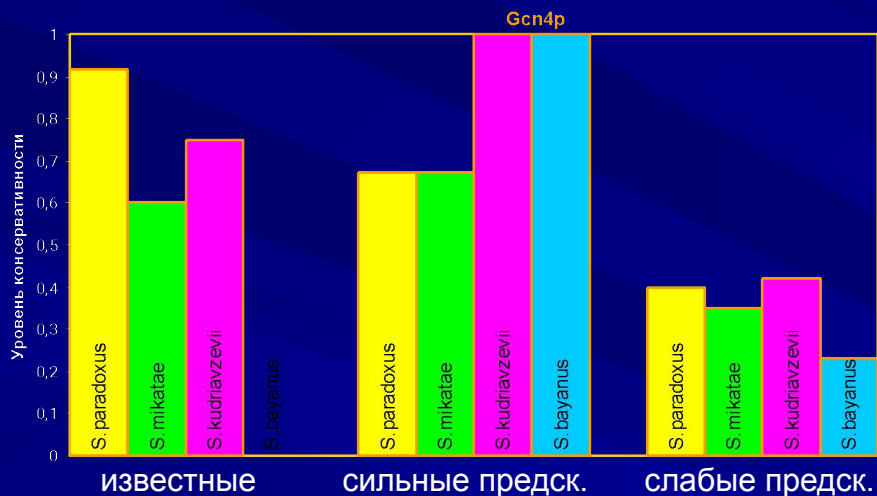
Scer	_	TTTC	<u>GCTCGTG</u>	GAAAA
Spar	_	TTTC	<u>GCTCGTG</u>	CAAAA
Smik	_	TTTT	<u>GCTCGTG</u>	GGAAA
Sbay	_	TTAC	<u>ACTCGCG</u>	GAAAA
		**	*****	* ***

В геноме *S.bayanus*
консервативность сайта = 0

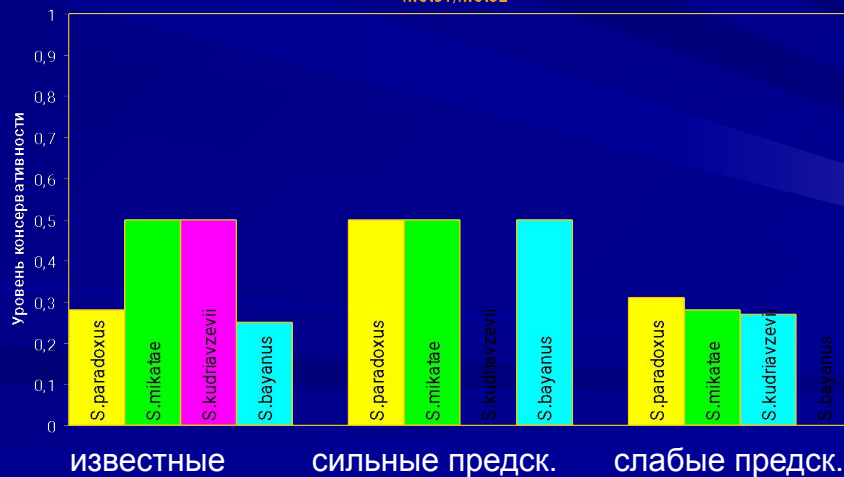
Промежуточный вариант, консервативность = 0.5: в сайте есть точечная замена, но он все еще удовлетворяет распознающему правилу

Все сайты связывания регуляторов были разбиты на три группы:

- показанные экспериментально («известные»)
- **сильные предсказанные**. Вес значительно выше порогового
- **слабые предсказанные**. Пороговый вес.



Met31/Met32



Даже экспериментально подтвержденные сайты связывания регуляторов не абсолютно консервативны

Консервативность только «сильных» сайтов сравнима с таковой для экспериментально подтвержденных сайтов

Аскомицеты.

Neurospora crassa, *Aspergillus nidulans*



- регуляторные области длиной до 3000 п.н.

- предсказан консенсус сайта связывания регулятора вида ATG-n₄-CAT. Показан для *N.crassa*

Задача: предъявить сайты связывания регулятора биосинтеза метионина для *Aspergillus nidulans*

- основная часть генов пути в *N.crassa* не картирована. Для *A.nidulans* известно больше генов, но не известно ни одного сайта связывания

- нет геномов организмов, занимающих промежуточное положение между *A.nidulans* и *N.crassa*, таких как *Magnaporthe grisea*

Выравнивания регуляторных областей:

- низкое качество выравниваний
- наличие **инсерций/делеций** длиной в среднем в 200 п.н.
- длина регуляторных областей (**3000 п.н.**)
- длина сайтов связывания транскрипционного фактора (**10 п.н.**)
- центральные нуклеотиды сайтов связывания не информативны

1990:

???

Cys14_1

TGTTTCGCTGATGCCATTCAT
ACAAGCGACTACGGTAAGTAA

- спейсер в 5 п.н.
- неконсусный сайт

Cys14_2

TTTTTCGCTTGGGGATGACGTGC
AAAAGCGAACCCCTACTGCACG

???

Cys14_3

TTGAGAACATTGCGCCATGAAACCCCTGGGATGTCGTCATGTTAAAG
G
AACTCTTCTAACGCGGTACTTTGGGGACCCCTACAGCAGTACAATTTTC

Cys3

C
CCGAGAAATGGTGTCATTTCTCGTGACTTTGGGGGGATTGCACCATCGAGGG
G
GGCTCTTACCACACTAAAGAGCACTGAAACCCCCCTAACCTGCTAGCTCCC
C

Проверенные способы интерпретации экспериментально показанных сайтов:

- поиск по предложенному консенсусу
- двухблочный сайт со спейсером 4-5 п.н.
- варьирующий спейсер между двумя сайтами

Работа была выполнена под руководством М.С.Гельфанда

Спасибо
за
внимание!!!!