



УДК 577.214.(337+622)

**ПЕРВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ НОВОГО СЕМЕЙСТВА  
ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ,  
ОБНАРУЖЕННЫЙ С ПОМОЩЬЮ МЕЖВИДОВОЙ  
КОМПЛЕМЕНТАЦИИ**© 1997 г. Г. В. Шпаковский<sup>#</sup>, Е. Н. ЛебеденкоИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступило в редакцию 01.11.96 г.

Заговорило, зацвело все, что вчера томилось немо...

А.А. Фет

Межвидовой комплементацией условнодефектной функции незаменимого компонента ядерных РНК-полимераз I–III *Saccharomyces cerevisiae* – субъединицы ABC10β – клонирована кДНК ранее не описанного гена *fet5* (от *factor of eukaryotic transcription*; цифра 5 обозначает номер соответствующего супрессорного клона) делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, кодирующего новый эукариотический фактор транскрипции. Фактор Fet5 *Sz. pombe* оказался первым членом целого семейства широко распространенных у эукариот и консервативных в эволюции белков, для которого определена сфера функционирования. Новое Fet-5-семейство белков включает в себя три подсемейства с характерными структурными особенностями. Консервативные домены, обнаруженные нами в аминокислотной последовательности Fet5, указывают на то, что он является, вероятно, АТР/ГТР-связывающим белком.

**Ключевые слова:** обшая субъединица РНК-полимераз I–III ABC10β, мультикопийный гетерологичный супрессор, *Schizosaccharomyces pombe*, ген *fet5*, фактор транскрипции, пуриносвязывающие белки, новое семейство белков.

Эукариотические организмы имеют очень сложный аппарат транскрипции, включающий три ядерные ДНК-зависимые РНК-полимеразы и множество других белковых факторов (общих факторов инициации, активаторов, медиаторов транскрипции и т.д.), участвующих на различных этапах синтеза РНК, прежде всего в инициации этого процесса [1, 2]. Одним из важных подходов к установлению возможных функциональных партнеров в сложном процессе экспрессии генома является генетический метод супрессорного анализа [3]. Арсенал генетических подходов для изучения системы транскрипции эукариот был расширен в конце 1992 г., когда мы впервые продемонстрировали возможность межвидовой комплементации, т.е. показали, что некоторые субъединицы ядерных РНК-полимераз взаимозаменяемы даже для эволюционно очень далеких эукариотических видов [4].

Позднее было показано, что заменяемы многие (хотя и далеко не все) компоненты и что иногда комплементация является лишь частичной,

приводя к образованию условных мутантов дрожжей по специфической функции [5]. Дальнейшее развитие этого подхода привело к первому доказательству функционального родства субъединиц РНК-полимераз Archaea и Eucarya (см. [6]), а также к успешному клонированию компонента эукариотических РНК-полимераз путем межвидовой комплементации [6, 7].

Действительно, клонирование кДНК гена *rpb10*, кодирующего одну из пяти малых общих субъединиц ядерных РНК-полимераз *Schizosaccharomyces pombe*, было осуществлено нами прямой супрессией с помощью межвидовой комплементации соответствующего термочувствительного мутанта *Saccharomyces cerevisiae* [6, 7]. Мы рассчитывали также, что среди мультикопийных супрессоров в этом эксперименте помимо субъединицы Rpb10 (гомолог дефектной субъединицы *S. cerevisiae*) окажутся и новые, ранее не описанные белки (гетерологичные супрессоры). Поскольку чужеродная генетическая система является очень строгим функциональным фильтром для гетерологичных супрессоров, в случае их обнаружения можно было ожидать, что они будут действительно прямыми, а значит, наиболее ценными с

<sup>#</sup> Автор для переписки. Тел.: (095) 330-65-83; e-mail: gvs@ibch.siobc.ras.ru; факс: (095) 335-71-03.



	Р-петля		С-домен	G-домен					
Fet5 ( <i>S. pombe</i> ):	MVKAAAFVGVASSGKSTFC	EAALMSYMKSVGRSCHLVNLDPA	ENFEWETVDIRDLSIDDVMEELDYAPNGLIYCF	79					
L9672.8 ( <i>S. cerevisiae</i> , XII):	MSRVGVMLGPGAGKSTFC	NSIISHMOTVGRRAHIVLDPAAEATKY	EFFTIDIRLDLSIDDVMEEMDLGPNGALIYCF	79					
YOR262w ( <i>S. cerevisiae</i> , XV):	MPEAQIVIGPPGSGKSTY	NGCSQFFNAIGHRSQVVMDDPANDAL	YPYCAVDIRDFITLBEIMQEQQLGPNGLMYAV	78					
YJR072c ( <i>S. cerevisiae</i> , X):	MSLSTIIICIMAGSGKTF	QRLNSHLRAEKTFFVINLDPVLRV	PYGANIDIRDSIKYKKVMENYQLGPNGAIVTSL	79					
YLB2_CE ( <i>C. elegans</i> ):	MAEKAENLPSSAEASEE	PSPTGPNVNVKPSILVEMAGSGKTF	QRLTAFLHARKTPPYVINLDPVSKVYPVNV	106					
					GXXXGKS/T				
Fet5:	EFLMENLDWLNEEIGDYED	---	YLIEDMPGQIHL	LYTHVPI	LALIRHLQVTLNFRPCAVL	LESQFLVDRTKFFAGVLSAMSAMVMMEVPH	NLLSKVDLLKQNN	182	
L9672.8:	EYLLKNLDWLDDEEIGDFN	DE---	YLIEDCPGQIHL	LYTHI	PVLNIVRHLTQQLNFCANFYLL	EAFVIDSSKFFSGALSAMAMILLELPH	NVLNLSKLDLIRKDI	182	
YOR262w:	ESLDNSIDLFI	LQIKSLVEEKAYIV	EDCPGQVLE	LTHSSLE	FNIFKKMEKELDIRFCVVN	LIDCFYMTSPSQVISILLLALRSMLMMDL	PHENVFSKIDMLKSYG	184	
YJR072c:	NLFSTKIDQVIRL	VEQKDKFQ-N	LIDTPGQIHL	CFVWSAG	AIITSEFASFPETVI--	AVIVDTRNNSPTTFMSNMLYAC	SILYKTKLPMVVFVFNKTDVCKADF	182	
YLB2_CE:	NLMCTRFDKVIE	LINKRSSDFS-V	LLDTPGQIHL	FAFTWSAG	SIITDSLASHSHFTV--	MYIVDSARATNPTTFMSNMLYAC	SILYRKLPTFVVFNKADIVKPTF	209	
								N/SKXD	
Fet5:	NITKAEIKRFLNTD	PLLLTGE---	INETNPKFHELNRC	IVQLIDDFNMVNF	PLESGNEESVTEYIVIL	TMPTQWYEDQPKDPDRFEADDLEDDE	276		
L9672.8:	NKKK--	LKRF	LPDAMLME	TG--	MNQA	SNPKFLRNLQCIANLVD	DFGMVQFLPLESNPDSIETILSYVDITOWAEGEQEKEENQIDVVEE	272	
YOR262w:	ELPFRLDYYTE	VQDLDYLEPYIE	KEGSSV	LK	TETIKELVSDN	LVSFVLSVDDKESMINLQGV	IDRANGYIFGASEVGGDTVVAEASREGALIANYDIQ	290	
YJR072c:	AKEMWTD	EF	SFQAAT	KEDQ	DLNGDNLG	SGYMSLMEEFYSQ	LDVVGV	SFTGDGDFEFMCVDDKVKVDEYDQYKQERERKALNKKKKEEMRKQKSLNG	288
YLB2_CE:	ALKWMQD	EF	RFDE	ALED	-----	ARSSYMN	DLRSLSLV	DEFYGLKTVCVSATGEGFEDVMTAIDESVEAYKKEYVPMYKVLAEKKLLDEEERKKRDEE	306
YOR262w:	DRWIDN	KEKYDKEE	EKR	TALL	KEQELQ	NKAVDVNEE	DEWENALKEWEEKQGMDFVR	347	
YJR072c:	LMKDLGL	INEKSSAA	ANDSD	IDAISD	LEED	DANDGLVDR	DEGVEREYTFPGEERTKGEV	NENSAPDLQRRYQEAQQVGTASSETAENIAKIYRN	385
YLB2_CE:	TLKGA	VHDLNK	VNP	DEF	LESEL	NKIDRIH	GGVDEENE	DAELERS	355

Рис. 2. Сравнение аминокислотных последовательностей фактора эукариотической транскрипции Fet5 и других представителей обнаруженного нами нового суперсемейства белков. Звездочками отмечены идентичные аминокислотные остатки соседних последовательностей, плюсами – консервативные замены. Последовательности L9672.8, YOR262w и YJR072c (соответственно из хромосом XII, XV и X *S. cerevisiae*), а также YLB2\_CE из *C. elegans* выведены из депонированных в GenBank открытых рамок считывания неизвестной природы (номера депонирования соответственно U20865, Z75170, Z49572 и U10402). В рамки заключены обсуждаемые в тексте структурные домены, характерные для ATP/GTP-связывающих белков.

*Caenorhabditis elegans*, номера депонирования соответственно Z75170, Z49572 и U10402; последовательности YOR262w, YJR072c и YLB2\_CE на рис. 2). Все три этих потенциальных белка также содержат классическую Р-петлю и структурные домены С и G (рис. 2) и принадлежат, вместе с Fet5 и его полными гомологами из других эукариотических организмов (см. выше), к новому суперсемейству эукариотических факторов транскрипции.

Мы полагаем, что Fet5 является компонентом холофермента РНК-полимеразы II (см. [2, 6]), а возможно, и субъединицей, обнаруженной в препаратах РНК-полимеразы II *Sz. pombe* в виде полосы белка с молекулярной массой 33 кДа [11]. Белок Fet5, вероятно, непосредственно взаимодействует с субъединицей Rpb10 (ABC10β) на энергетически зависимых стадиях синтеза мРНК, например при перестройках хроматина в момент формирования открытого комплекса и при инициации транскрипции. Действительно, АТР-азная активность, необходимая для функционирования РНК-полимеразы II на этих стадиях [1], до сих пор не найдена.

Настоящая работа была поддержана грантом № 96-04-49867 Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Roeder R.G. // Trends Biochem. Sci. 1991. V. 16. P. 402–408.
2. Li Y., Bjorklund S., Jiang Y.W., Kim Y.-J., Lane W.S., Sillman D.J., Kornberg R.D. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 10864–10868.
3. Guarente L. // Trends Genetics. 1993. V. 9. P. 362–366.
4. Shpakovski G.V. // Gene. 1994. V. 147. P. 63–69.
5. Shpakovski G.V., Acker J., Wintzerith M., Lacroix J.-F., Thuriaux P., Vigneron M. // Mol. Cell. Biol. 1995. V. 15. P. 4702–4710.
6. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н., Тюрью П. // Биоорганич. химия. 1997. Т. 23. С. 110–117.
7. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. // Биоорганич. химия. 1996. Т. 22. С. 938–940.
8. Walker J.E., Saraste M., Runswick M.J., Gay N.J. // EMBO J. 1982. V. 1. P. 945–951.
9. Saraste M., Sibbald P.R., Wittighofer A. // Trends Biochem. Sci. 1990. V. 15. P. 430–434.
10. Lochrie M.A., Simon M.I. // Biochemistry. 1988. V. 27. P. 4957–4965.
11. Azuma Y., Yamagishi M., Ishihama A. // Nucl. Acids Res. 1993. V. 21. P. 3749–3754.

## The First Member of a Novel Family of Protein Factors of Eukaryotic Transcription Discovered by the Heterospecific Complementation

G. V. Shpakovski and E. N. Lebedenko

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

**Abstract**—The cDNA of a previously uncharacterized gene *fet5* (*factor of eukaryotic transcription, clone no. 5*) of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* was cloned by the heterospecific complementation of a conditional mutant of *Saccharomyces cerevisiae* defective in the function of the RNA polymerases I–III common subunit ABC10β. The gene encodes a new factor of eukaryotic transcription, Fet5, the first member of a superfamily of proteins for which the area of functioning is determined. The Fet5-superfamily consists of three distinct families of proteins highly evolutionarily conserved and widely spread among eukaryotes. Features of the Fet5 amino acid sequence suggest that it belongs to ATP/GTP-binding proteins.

**Key words:** RNA polymerases I–III; common subunit ABC10β; multicopy extragenic suppressor; heterospecific suppressor; *Schizosaccharomyces pombe*; *fet5* gene; transcription factor; purine nucleotides binding proteins; new protein superfamily.