

Регуляция генов метаболизма тиамин посредством РНК-переключателей

М. Молдован, С.Петрова.

Abstract

Riboswitches are RNA regulatory elements capable of direct binding by small ligands. TPP riboswitches are the most widespread riboswitch family in bacteria. Previous studies that identified the exact regulatory mechanism of the TPP riboswitches was limited to genomes. Here we analyzed and characterized the mechanism of TPP-riboswitch-mediated regulation in 77 representatives of eight bacterial phyla not studied before. We demonstrated that the mode of regulation depends on the taxonomic group, rather than on the function of the regulated gene. Representatives of two rarely observed types of riboswitch-mediated regulation have been found:

- A structure with a regulatory hairpin which is both a sequester and a terminator in genes *thiB* and *thiP* from *Deinococcus geothermalis* and genes *thiB*, *Deide_15841*, *Deide_15870*, *thiP*, *thiQ2*, *DR1733* and *thiN* in *Deinococcus deserti*.
- Structures without a regulatory hairpin, located near the Shine-Dalgarno sequence or the start-codon and sometimes containing them which regulate translation. They should influence translation initiation immediately, being (partially) unfolded in the absence of TPP, and releasing the initiation site.

Введение

Тиаминовый РНК-переключатель способен регулировать синтез генов на уровне как транскрипции (рис 1,А), так и трансляции (рис 1, В). В обоих случаях регуляция происходит за счет образования альтернативной вторичной структуры в 5' UTR генов, участвующих в производстве тиамин.

При избытке тиамин в клетке он связывается с РНК-переключателем и стабилизирует его структуры, что приводит к образованию терминаторов транскрипции или шпилек, закрывающих область Шайн-Дальгарно и старт-кодон. А следовательно ни транскрипции ни трансляция более не возможны.

Если же тиамин не хватает, то 5' UTR сворачивается в другую вторичную структуры не препятствующую синтезу генов.

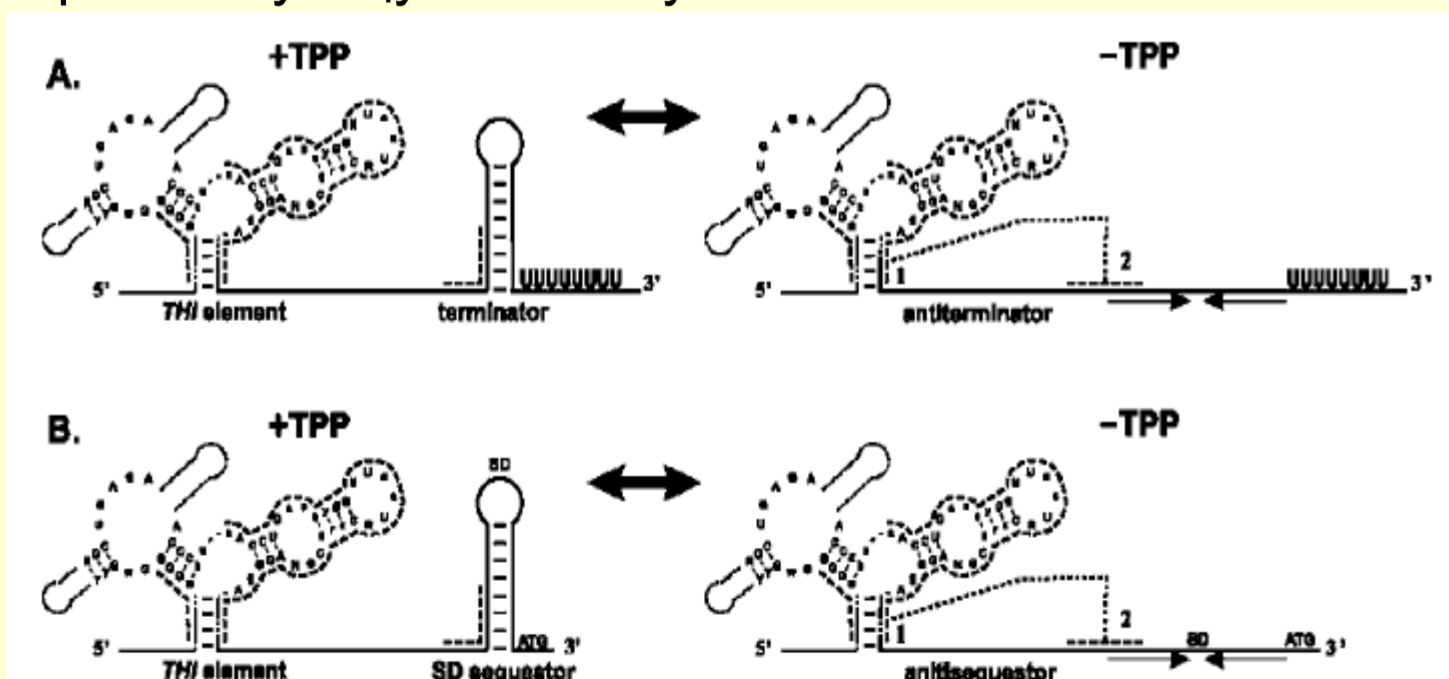


Рис.1 Механизм работы тиаминового РНК-переключателя. А. регуляция транскрипции; В, регуляция трансляции *
Fig.1 The mechanism of TPP-riboswitch action. A. Regulation of transcription. B. Regulation of translation

Результаты

Нами были установлены механизмы регуляции генов тиамин для 77-ми представителей из 8-ми таксонов.

- Был обнаружен тип регуляции, при котором в присутствии тиамин образуется шпилька, являющаяся одновременно секвестором и терминатором.
- В некоторых таксонах бактерий предпочтителен определенный тип регуляции, однако тип регуляции не зависит от гена в целом,
- Регуляция трансляции встречается во всех организмах, в то время как регуляция транскрипции встречается реже и только наравне или одновременно с регуляцией трансляции.

Таксон	Сокращение	Транскрипция	Трансляция
Chlorobiales	C	✓	✓
Chloroflexi	F	✓	✓
Цианобактерия	Y		✓
Thermotogales	T	✓	✓
Bacteroidaceae	B		✓
Мycobacteriaceae	M		✓
Corynebacteriaceae	O		✓
Deinococcus-Thermus	D		✓

Табл.1 Способы регуляции генов тиамин в различных группах микроорганизмов
Table1. Mode of regulation of thiamine metabolism genes in various bacterial phyla

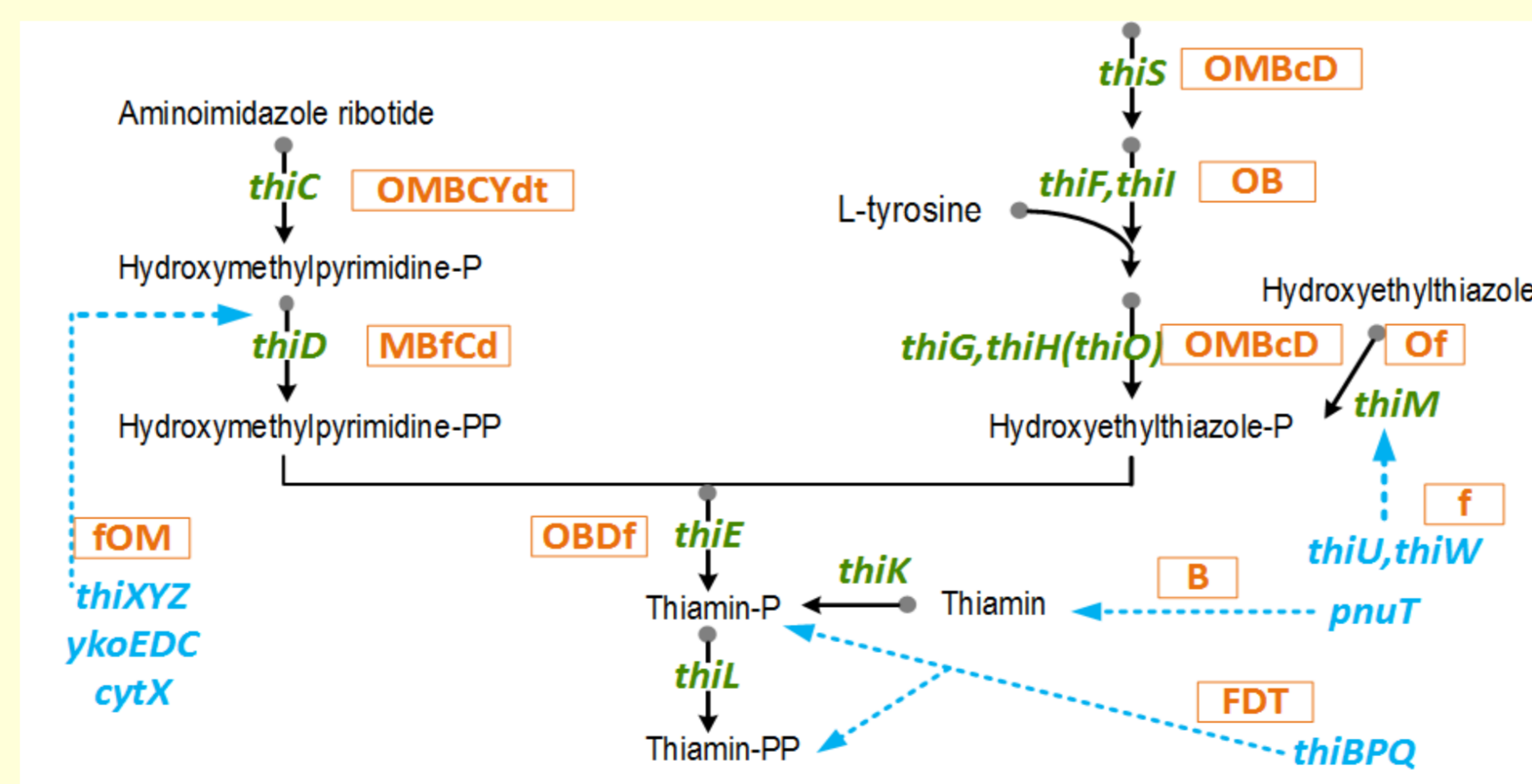


Рис.2 Путь биосинтеза тиамин с учетом его транспорта и интермедиатов. Оранжевым буквами (в соответствии с сокращениями в таблице 1) показаны таксоны, в которых есть регуляция. Заглавные буквы -- регуляция трансляции, строчные – транскрипции. Синим показан транспорт интермедиатов.
Fig.2 Thiamine-biosynthesis and transport pathway. Taxa with riboswitch-regulated genes are shown in orange using abbreviations given in Table 1. Capital letters indicate regulation of translation. Small letters indicate regulation of transcription. Transport of intermediates is shown in blue.

На рис.1 показаны два общих механизма: регуляция транскрипции (рис. 1,А) и трансляции (рис. 1,В выравнивания трех последних последовательностей), однако есть и другие подтипы. Например: сам переключатель закрывает собой последовательность Шайн-Дальгарно (на рис. 3,А). Также шпилька может являться и секвестором и терминатором одновременно (рис. 3,В первые две последовательности).

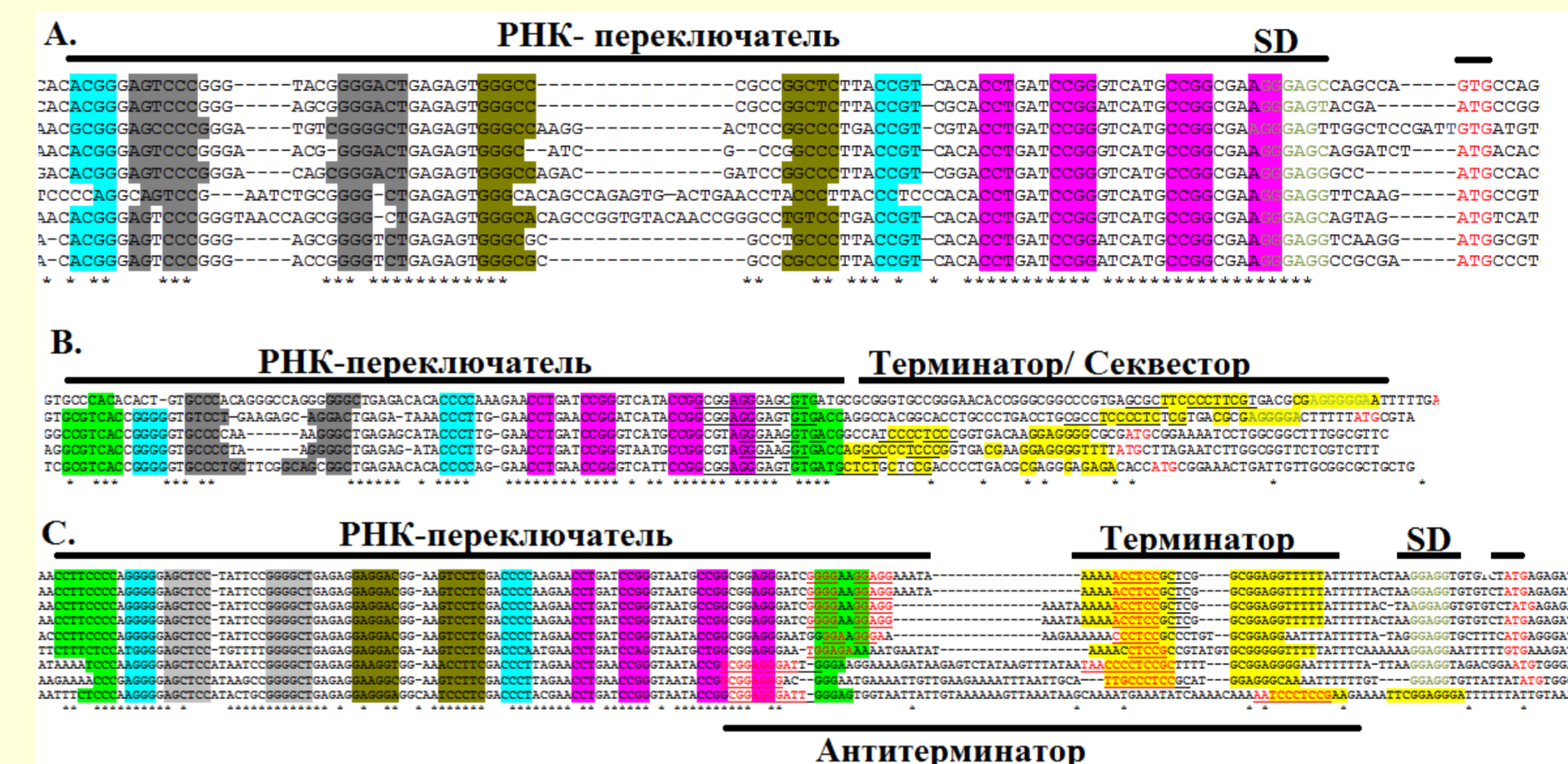


Рис.3 Структурных выравнивания 5'UTR А . для гена *thiO* в *Mycobacteria*, В . гена *thi4* в *Thermotoga*, С. гена *thiB* в *Deinococcus-Thermus*.

Fig.3 Structural alignment of 5'UTRs, А . mycobacterial *thiO* gene, the TPP riboswitch directly covers the Shine-Dalgarno sequence, В . Gene *thi4* from *Thermotoga*. Hairpin (marked in yellow) acts as a dual sequester / terminator . Three remaining sequences contain standard sequester hairpins. С . gene *thiB* from *Deinococcus-Thermus*. The hairpin is a terminator of transcription .

Данные и методы

- Данные о генах под регуляцией тиаминового РНК-переключателя были взяты с ресурса RegPrecise.
- Последовательности 5'UTR этих генов были вырезаны на сервере MicrobesOnline.
- Выравнивание последовательностей производилось с помощью программы Clustal.
- Структурный анализ 5' UTR проводился вручную при помощи программ Mfold и ViennaRNA.
- Для предсказания терминаторов использовали программы ARNold и GesTer

*D. Rodionov, A.Vitreschak, M. Gelfand Comparative genomics of Thiamin biosynthesis in prokaryotes,

Руководитель проекта
М.Гельфанд