

Эволюция сдвигов рамки считывания в транскриптомах инфузорий

Софья Гайдукова¹, Михаил Молдован²³, Михаил Гельфанд²³⁴

¹ ФББ МГУ имени М.В.Ломоносова, 119234, Москва, Россия,

² Институт Проблем Передачи информации им. А.А. Харкевича, 127051, Москва, Россия,

³ Сколковский институт науки и технологий, 121205, Москва, Россия,

⁴ Факультет Компьютерных Наук Высшей Школы Экономики

sofya.gaydukova@gmail.com

Аннотация. В работе исследуется эволюция сдвигов рамки считывания, которые происходят на мРНК инфузорий рода *Euplotes* на стоп-кодонах посреди транскрипта. Исследуются сдвиги в известном контексте АААТАА. По промежуточным результатам, сайты сдвига в ходе эволюции накапливаются. Настоящая терминация, возможно, регулируется двойными стопами.

Ключевые слова: Сдвиг рамки считывания, инфузории, транскриптом.

Инфузории – эукариоты, гетеротрофные простейшие. Обладают сложно устроенным ядерным геномом: есть микронуклеус, содержащий всю генетическую информацию, и используемый при половом процессе и репарации макронуклеуса. В макронуклеусе содержится около 2% генов микронуклеуса, это гены необходимые в вегетативный период. Именно с макронуклеуса происходит транскрипция при обычной жизнедеятельности клетки. [4]

При трансляции происходит последовательное считывание нуклеотидных остатков с мРНК по кодонам: одному триплету соответствует определенная аминокислота. Так как считывание идет покодоно, то крайне важен порядок, в котором происходит считывание. Если рибосома сместиться на 1 или 2 нуклеотида вдоль цепи, то получаемая аминокислотная последовательность сильно изменится. Такое явление называется сдвигом рамки считывания.

Для эукариот сдвиги рамки считывания не характерны, и рибосома обычно считывает ровно одну рамку. (для вирусов такие сдвиги, наоборот, происходят достаточно часто – таким образом достигается разнообразие получаемых белков) [2]

Было показано [1], что у некоторых инфузорий сдвиги рамок считывания, наоборот, крайне частое и необходимое для нормального синтеза белка явление, точнее, что участки закодированного белка расположены на разных рамках, и рибосоме в процессе трансляции необходимо менять рамки считывания.

В данной работе мы хотим дальше исследовать происходящие сдвиги, их эволюцию и особенности терминации у инфузорий.

Были построены множественные выравнивания транскриптов девяти видов инфузорий рода *Euplotes*. Далее по выравниваниям были найдены последовательности АААТАА, стоящие напротив ААА-АА – то есть такие, где в одном организме есть стоп кодон и происходит сдвиг рамки, а в другом – нет. Далее на имеющемся дереве видов инфузорий [5] были отмечены события приобретения и потери стоп-кодонов, чтобы понять, возник сдвиг из-за вставки Т, или произошла делеция Т. Оказалось, что приобретений 24 против 3 потерь.

Несмотря на небольшие цифры, мы предполагаем, что сайты сдвига все-таки накапливаются в ходе эволюции инфузорий, причем в основном в наиболее эволюционно молодых видах – *E. crassus* и *E. octocarinus*.

Ранее было показано [1], что сдвиги рамки считывания наиболее часто происходят именно на стоп-кодонах в контексте АААТАА – после вставки лизина происходит смещение на 1 нуклеотид вперед.

Было показано, что, при трансляции у инфузорий чаще всего на стоп-кодонах происходит сдвиг рамки. Если это так, то вопрос о механизмах терминации трансляции остается открытым. Известно, что многие бактерии, в которых стоп-кодоны служат сайтами сдвига рамки, имеют множественные стоп-кодоны, расположенные на маленьком расстоянии. На них и происходит терминация трансляции. Для грубой проверки гипотезы о терминации трансляции инфузорий на множественных стоп-кодонах, мы посчитали расстояние между всеми триплетами ТАА. Из результатов (табл. 1) видно, что чаще всего встречаются расстояния, кратные трем. Также мы посчитали расстояния от стоп-кодонов ТАА в контексте АААТАА до следующих стоп-кодонов и получили весьма схожую картину. Для дальнейшего исследования нужно произвести разметку открытых рамок считывания и сдвигов рамок на транскриптах.

Таблица 1. Распределение расстояний до следующего стоп-кодона в случае триплета ТАА и триплета ТАА в составе гексамера АААТАА.

| x = | ТАА(x)ТАА | АААТАА(x)ТАА |
|-----|-----------|--------------|
| 0 | 206049 | 21654 |
| 1 | 161844 | 14414 |
| 2 | 169115 | 18489 |
| 3 | 224416 | 27237 |
| 4 | 160582 | 14385 |
| 5 | 163351 | 16558 |
| 6 | 225256 | 28857 |
| 7 | 169331 | 15438 |
| 8 | 162726 | 15321 |

В дальнейшем мы планируем произвести разметку открытых рамок считывания и сайтов сдвига рамки в транскриптах. Для этого мы, установив порог на

минимальный размер аминокислотной последовательности, считываемой в промежутках между сдвигами рамки, положим стоп-кодона, лежащие на стыке двух предсказанных фрагментов белка, сайтами сдвига рамки считывания.

По имеющимся рибосекам можно посмотреть на влияние сайтов сдвига на трансляцию – для известных сайтов было показано, что рибосомы тормозят на сайтах сдвига, поэтому интересно, какое это оказывает влияние на трансляцию. Мы сможем что-то сказать, как только получится разметить сайты сдвига

Интересно также понять, как происходит настоящая терминация, и всегда ли на стоп-кодонах в середине происходит сдвиг. Для этого, опять-таки, надо разметить сайты сдвигов

Ссылки

1. Alexei V. Lobanov, Stephen M. Heaphy, Anton A. Turanov, Maxim V. Gerashchenko, Sandra Pucciarelli, Raghul R. Devaraj, Fang Xie, Vladislav A. Petyuk, Richard D. Smith, Lawrence A. Klobutcher, John F. Atkins, Cristina Miceli, Dolph L. Hatfield, Pavel V. Baranov, and Vadim N. Gladyshev: Position dependent termination and widespread obligatory frameshifting in *Euplotes* translation, *Nat Struct Mol Biol.* 2017 January; 24(1): 61–68. doi:10.1038/nsmb.3330.
2. Atkins JF, Loughran G, Bhatt PR, Firth AE, Baranov PV: Ribosomal Frameshifting and Transcriptional slippage: from genetic steganography & cryptography to adventitious use. Published online 19 July 2016 *Nucleic Acids Research*, 2016, Vol. 44, No. 15 7007–7078 doi: 10.1093/nar/gkw530
3. Vladyslav S. Bondarenko, Mikhail S. Gelfand: Evolution of the Exon-Intron Structure in Ciliate Genomes, *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0161476 September 7 (2016)
4. Pavel V. Baranov, John F. Atkins and Martina M. Yordanova: Augmented genetic decoding: global, local and temporal alterations of decoding processes and codon meaning, *Nature Reviews Genetics* | AOP, published online 11 August 2015; doi:10.1038/nrg3963
5. Mitchell J. Syberg-Olsen: Biogeography and Character Evolution of the Ciliate Genus *Euplotes* (Spirotrichea, Euplotia), with Description of *Euplotes curdsii* sp. Nov. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0165442 November 9 (2016)