



Учебно-Научный Центр



Биоинформатика

Функциональная аннотация бактериальных геномов

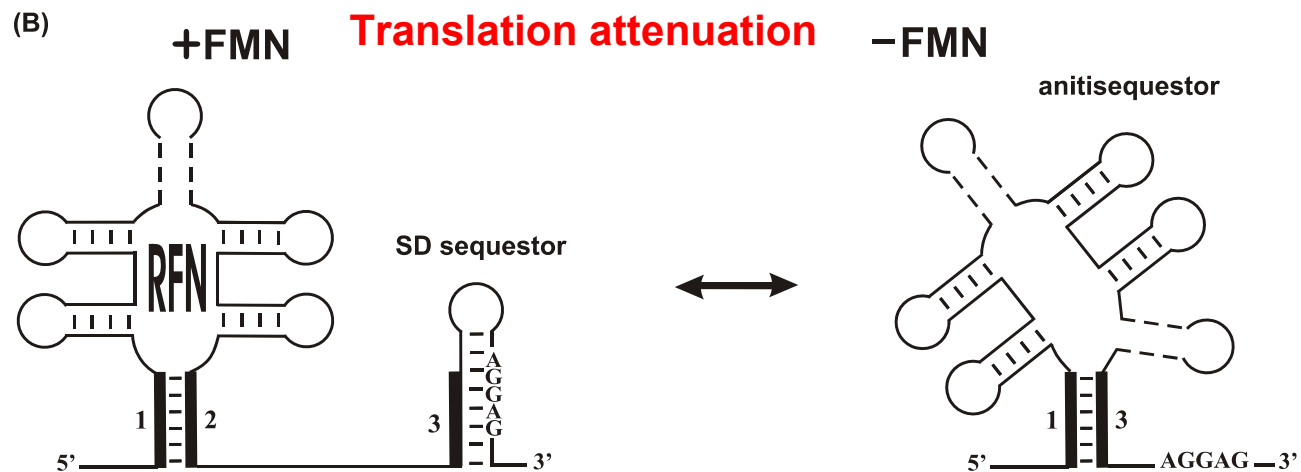
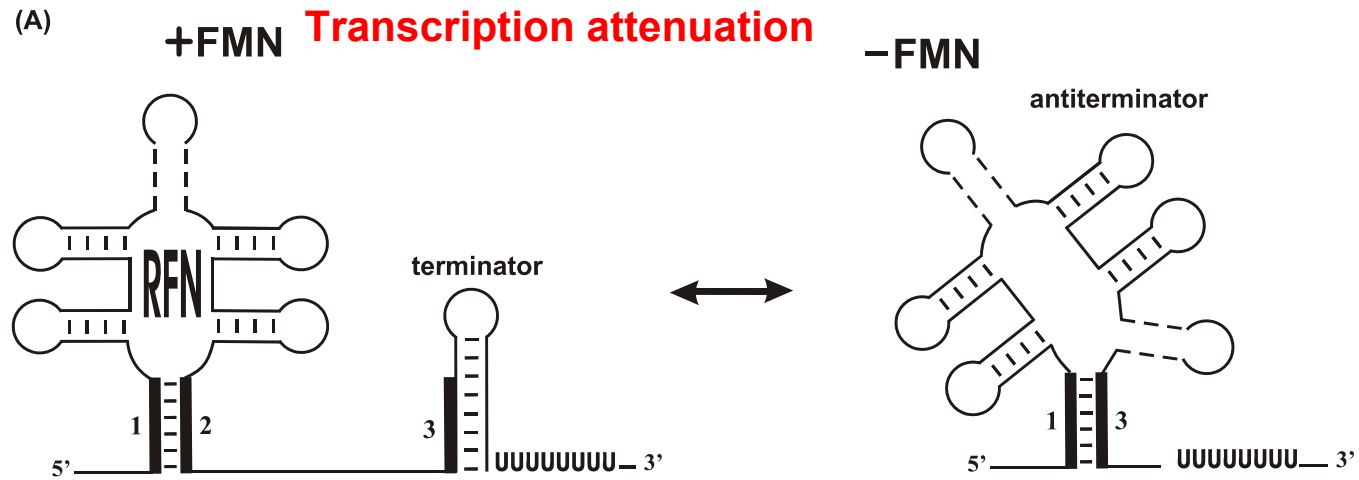
М.Гельфанд (ИППИ РАН)

Пятый съезд Общества биотехнологов России
3.11.2008

Функциональный анализ транспортеров

- Предсказание общей функции
 - гомология
 - анализ трансмембранных сегментов
- Отнесение к функциональной подсистеме (метаболическому пути)
 - ко-локализация
 - ко-регуляция
- Предсказание специфичности
 - анализ филогенетического профиля
 - конечный продукт биосинтетического пути: присутствует в геномах, не имеющих пути (импорт заменяет биосинтез)
 - промежуточный продукт биосинтетического пути; может заменять часть пути «выше по течению»
 - исходный продукт катаболического или биосинтетического пути: не встречается в геномах, где этот путь отсутствует

Рибопереключатель RFN: регуляторный механизм



УраА/RibU: транспортёр рибофлавина

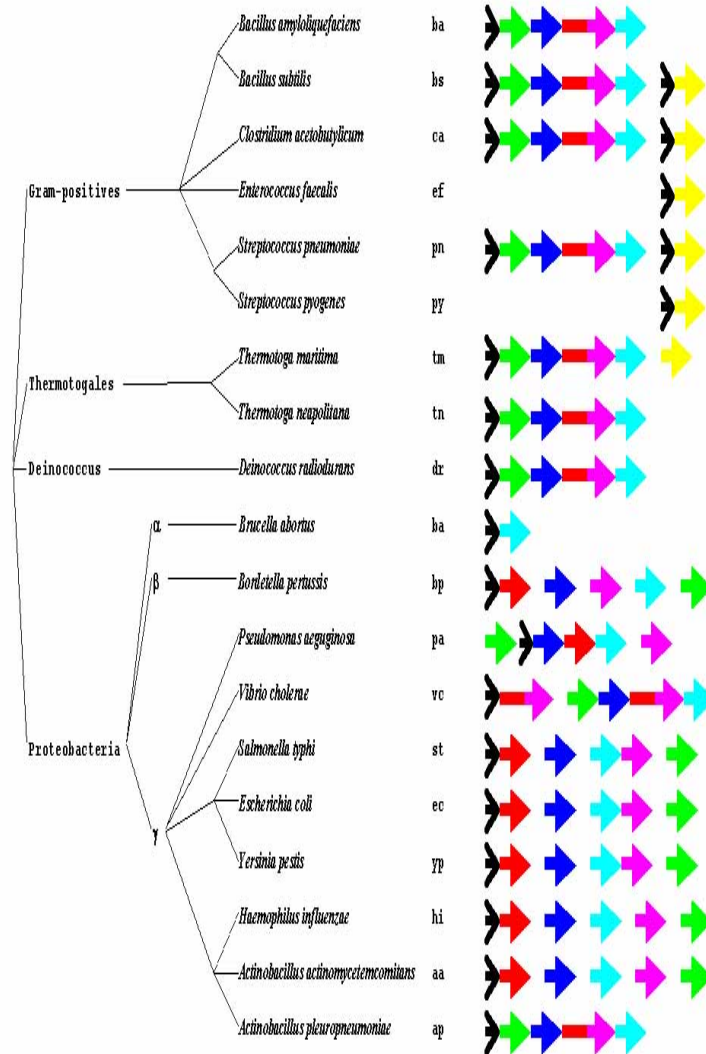
- 5 предсказанных ТМ-сегментов => потенциальный транспортёр
- регуляторный RFN-элемент => ко-регуляция с генами метаболизма рибофлавина => транспорт рибофлавина или предшественника
- *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *Listeria*: есть ураА, нет генов биосинтеза рибофлавина => транспорт рибофлавина

Предсказание:

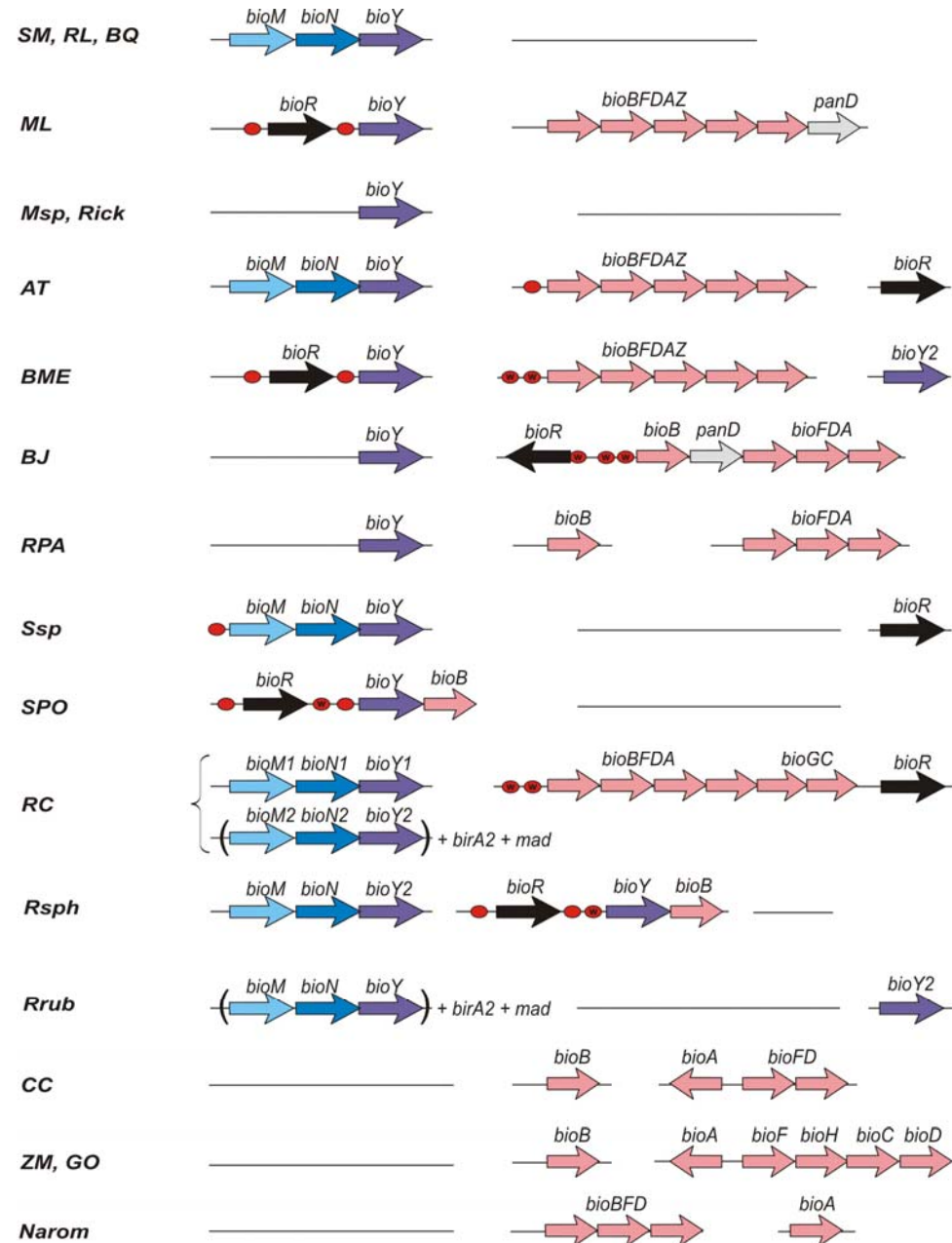
УраА – рибофлавиновый транспортёр (Gelfand et al., 1999)

Проверка:

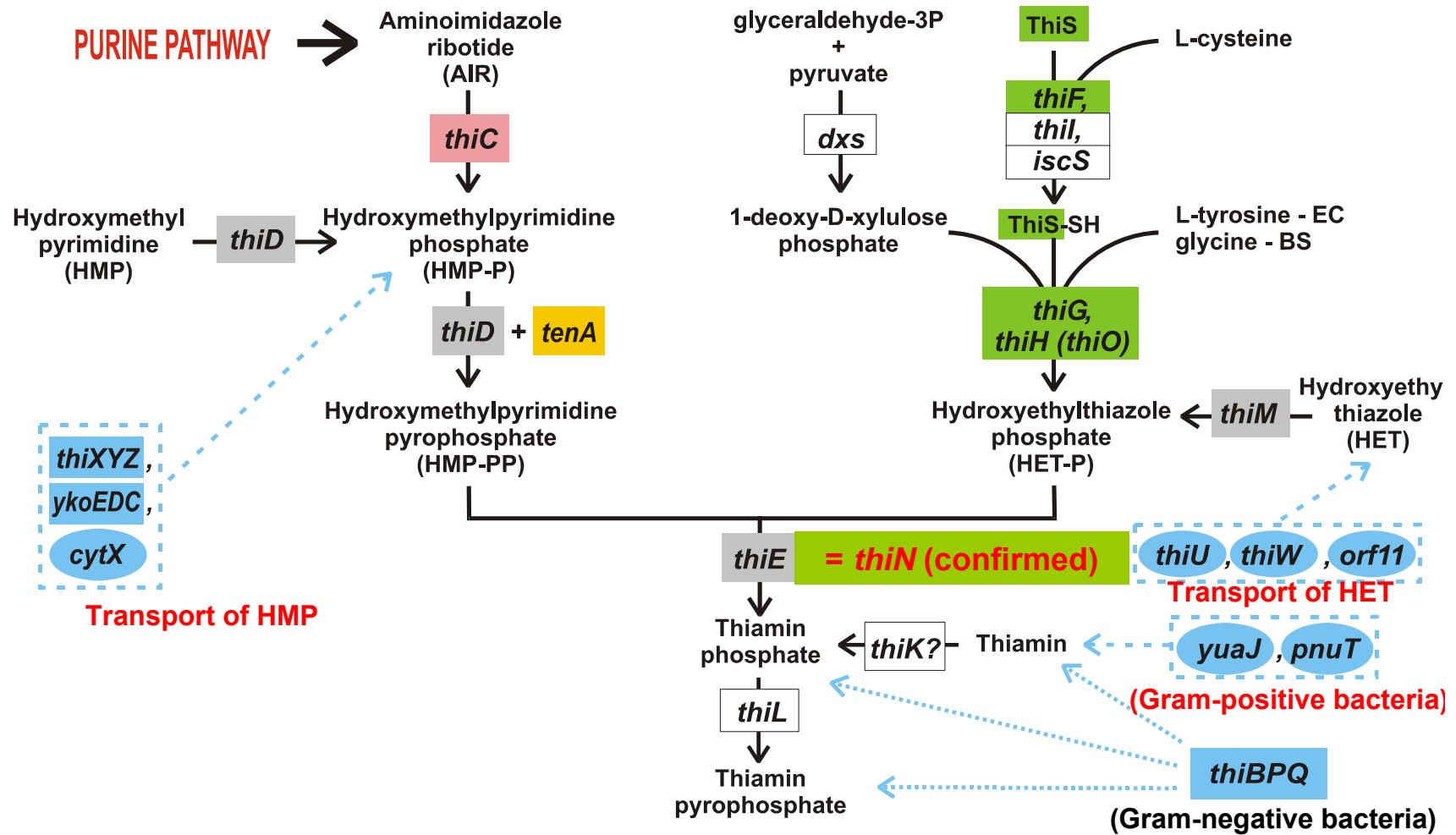
- генетический анализ (Кренева и др., 2000)
- биохимический эксперимент (Burgess et al., 2006)

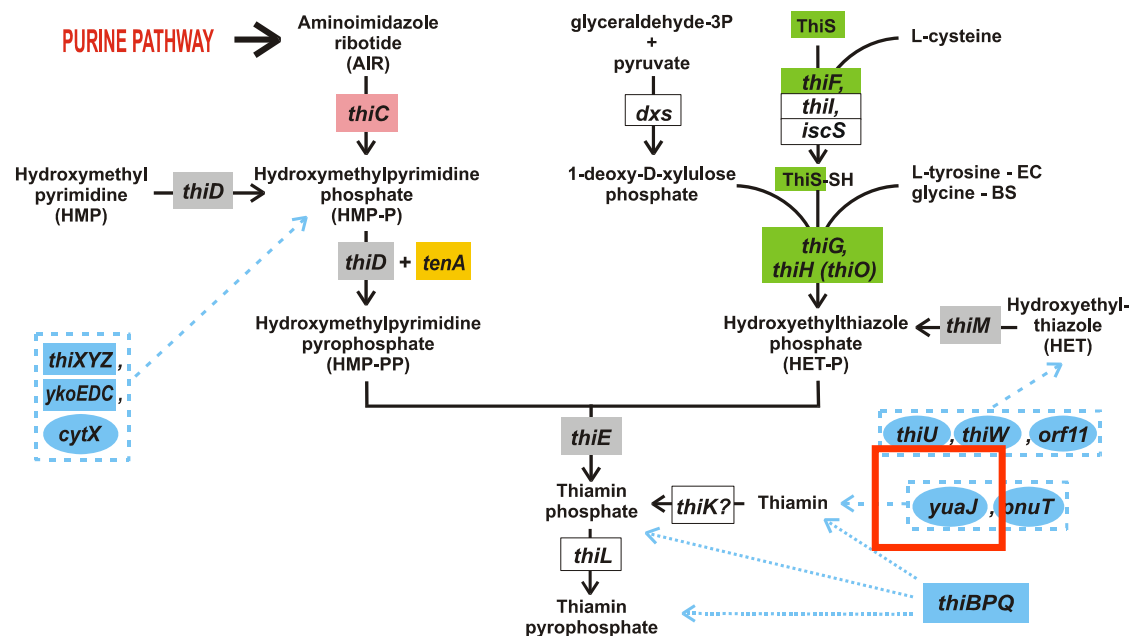


Биотиновый транспортер BioY



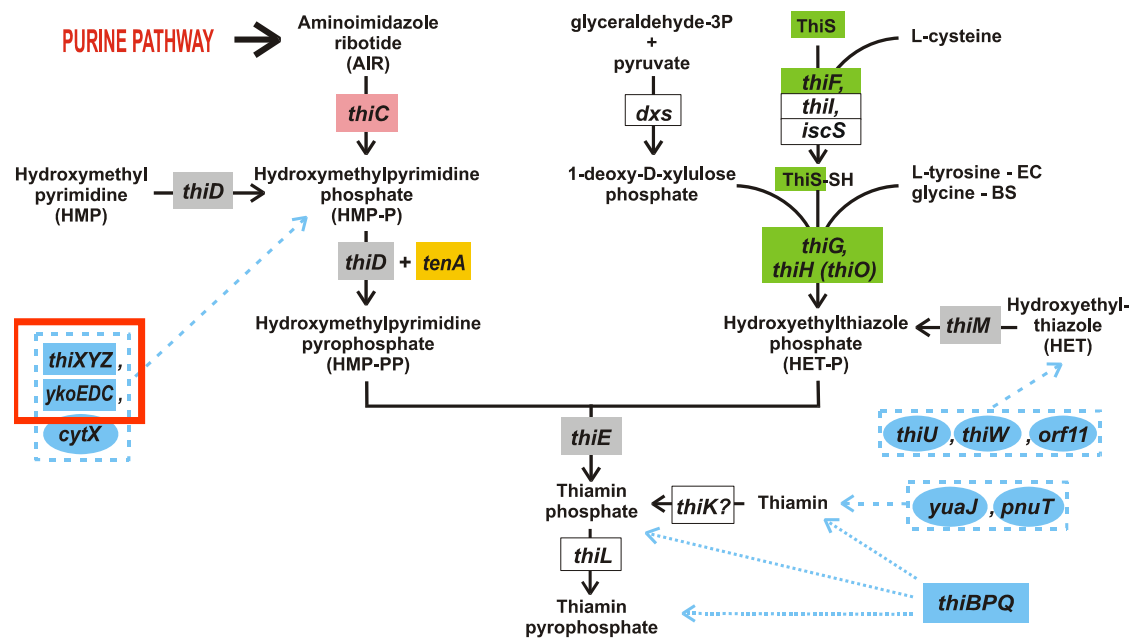
Метаболическая реконструкция тиаминового биосинтеза





yuaJ(=thiT):
тиаминовый
транспортер
(возможно, H⁺-
зависимый) в
фирмикутах

- 6 предсказанных трансмембранных сегментов
- Почти всегда регулируется ТН-рибопереключателями
- Встречается в геномах, в которых отсутствует тиаминовый путь (*Streptococci*);
- В *B. cereus* импорт тиамин сопряжен с током протонов (Arch. Microbiol., 1977)

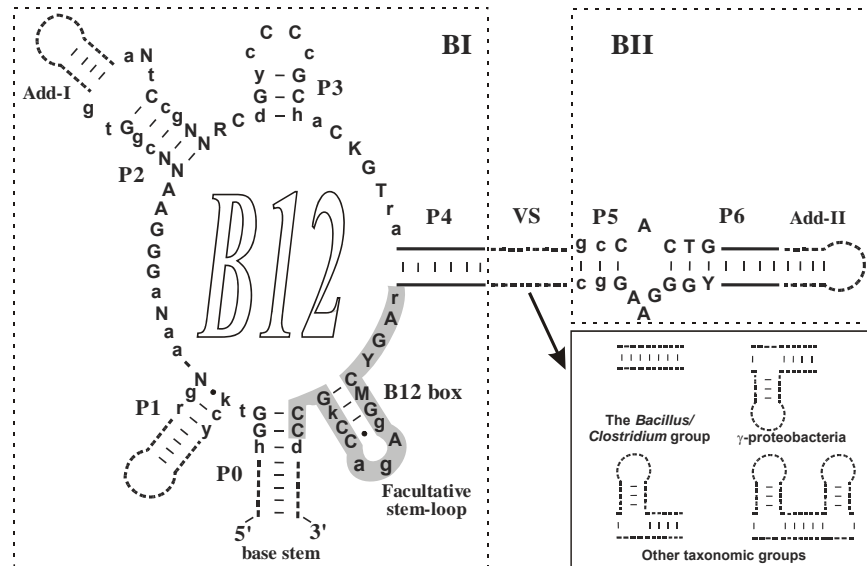
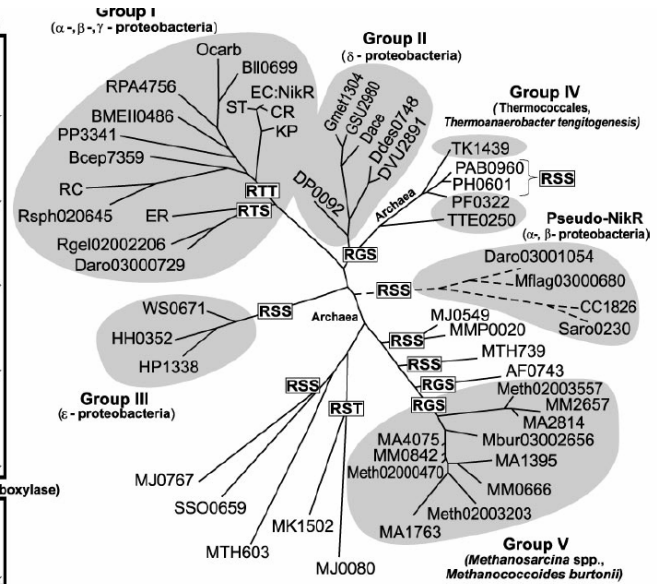
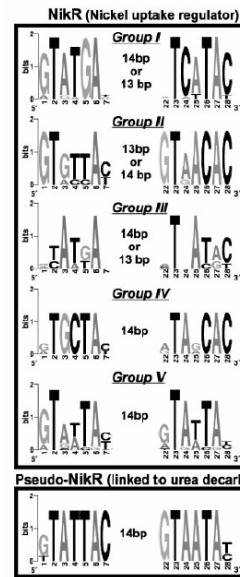


***thiX-thiY-thiZ* и
ykoF-ykoE-ykoD-ykoC:
предсказанные
АТФ-
зависимые
транспортеры
НМР**

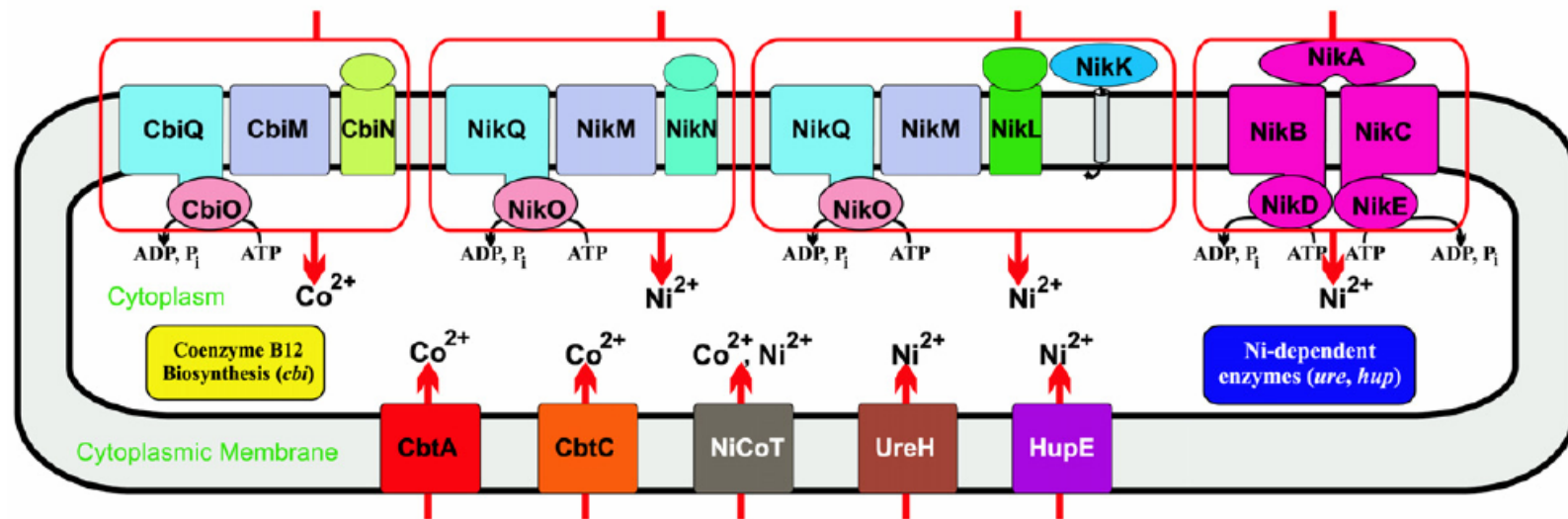
- Почти всегда регулируются ТН-рибопереклочателями
- Не встречаются в геномах, в которых отсутствует тиаминовый путь
- Всегда встречаются вместе с *thiD* и *thiE*
- В ряде геномов (Pasteurellacee, Brucella некоторые фирмикуты) встречаются в отсутствие *thiC*

Co и Ni

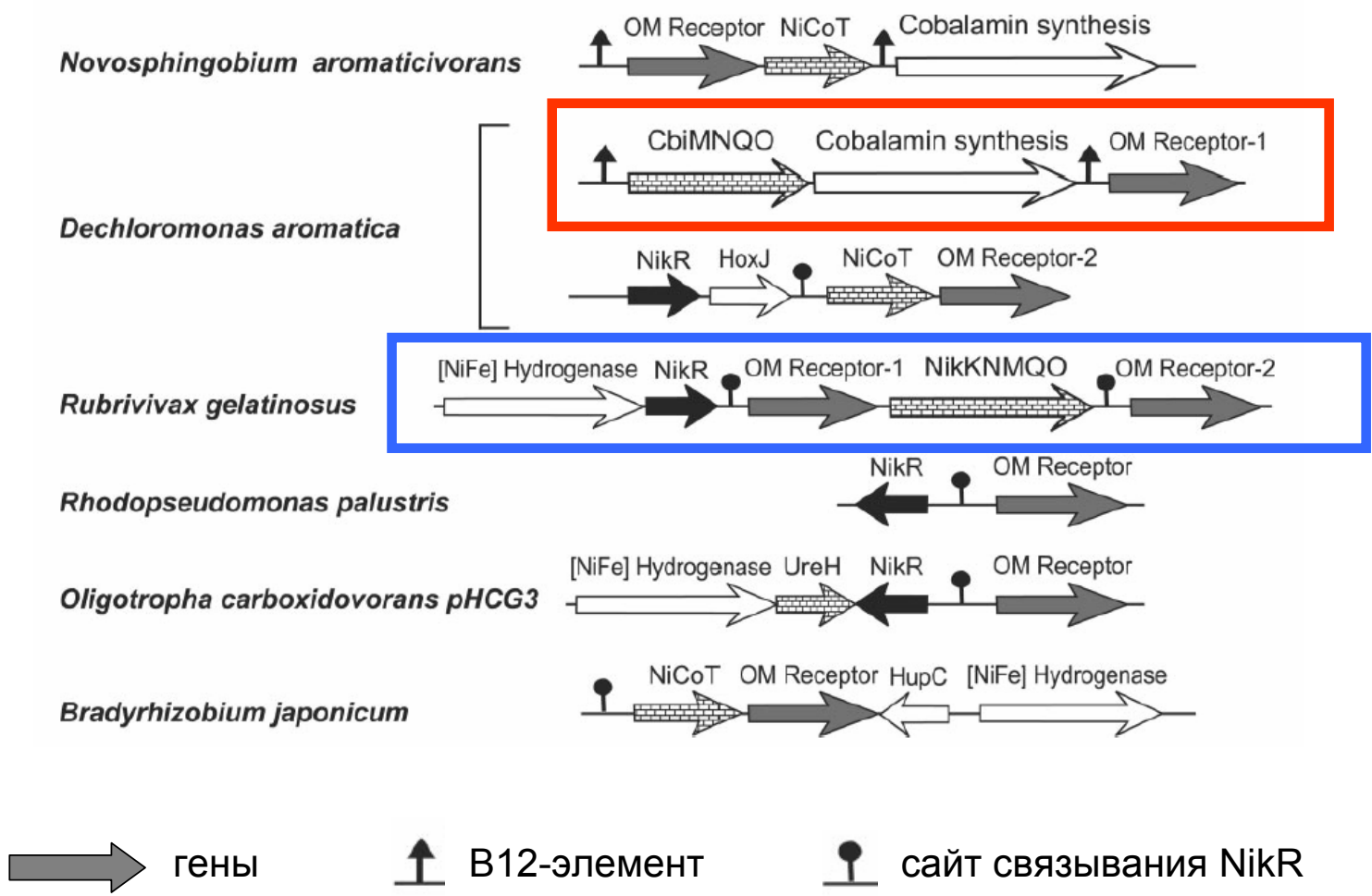
- ко-локализация (хромосомные локусы)
 - транспортеры Ni – с генами никель-зависимых ферментов
 - транспортеры Co – с генами синтеза кобаламина
- ко-регуляция
 - транспортеры Ni – фактор транскрипции NikR
 - транспортеры Co – рибопереключател B12



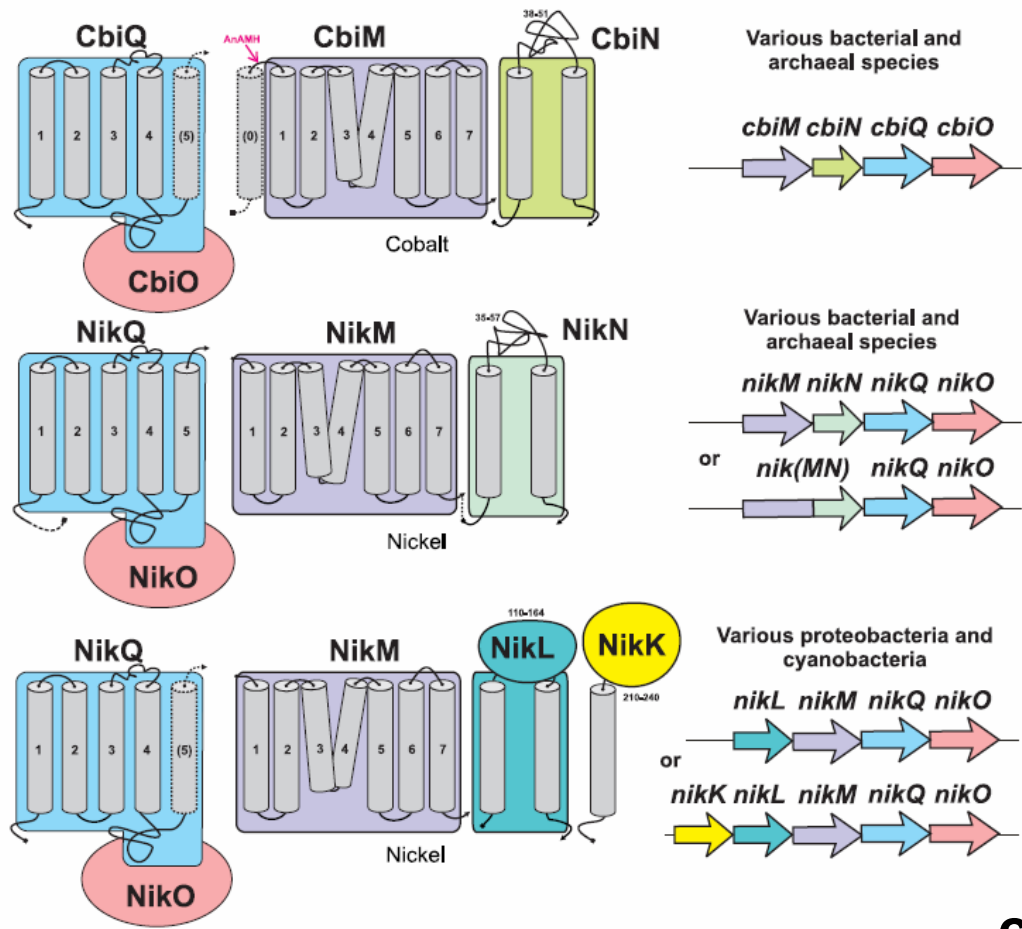
Пять семейств транспортеров



Структура локусов

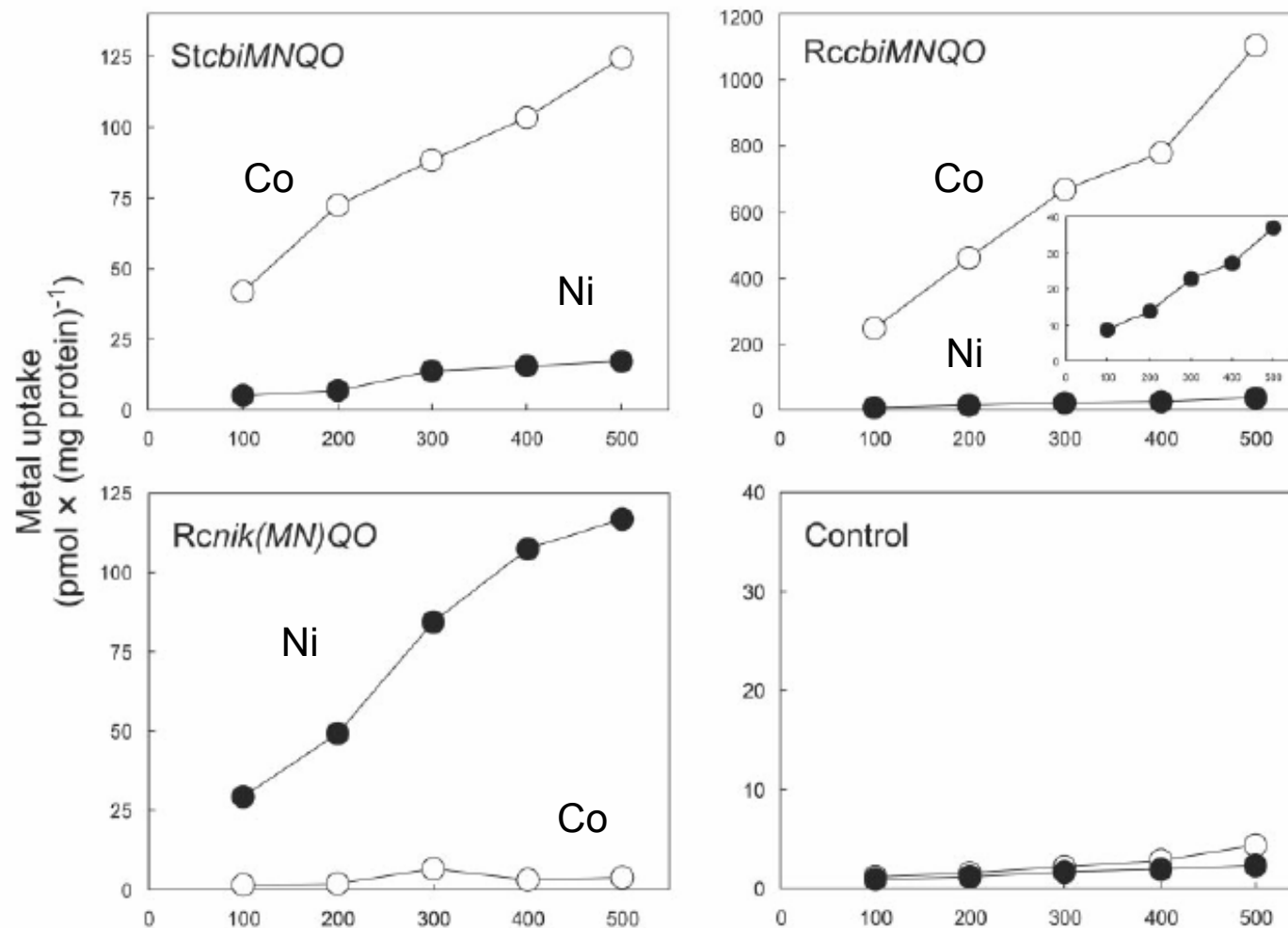


Структура

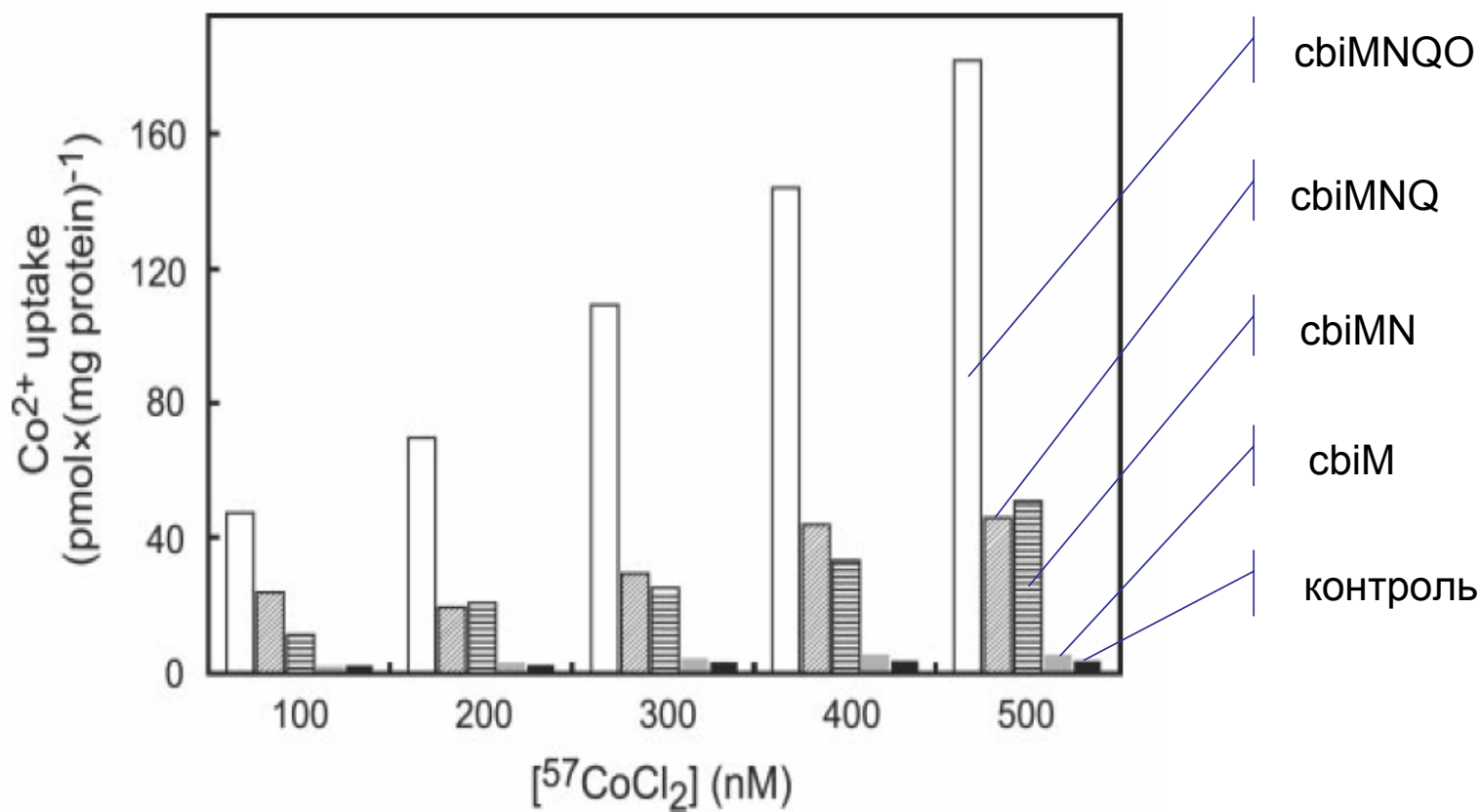


cbiO=NikO~bioM
cbiQ=NikQ~bioN

Проверка: тест на транспорт ионов

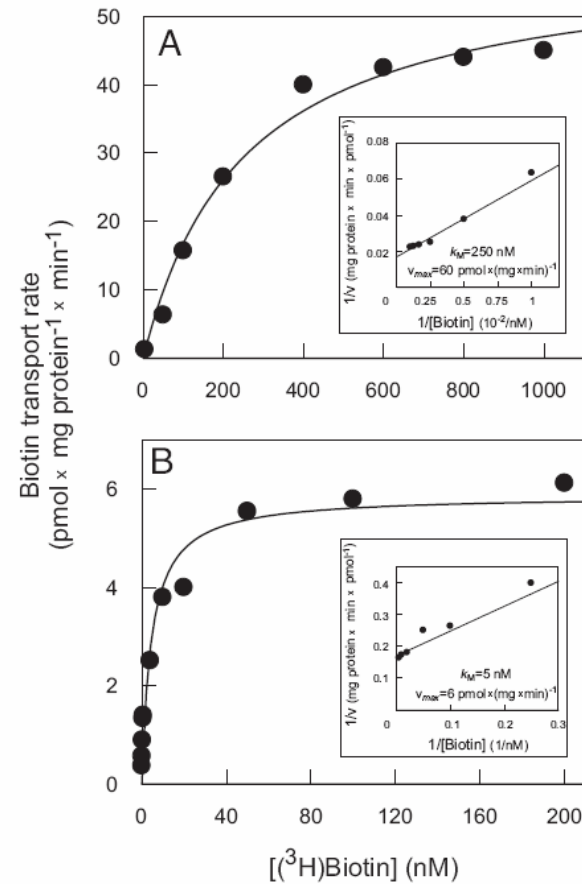
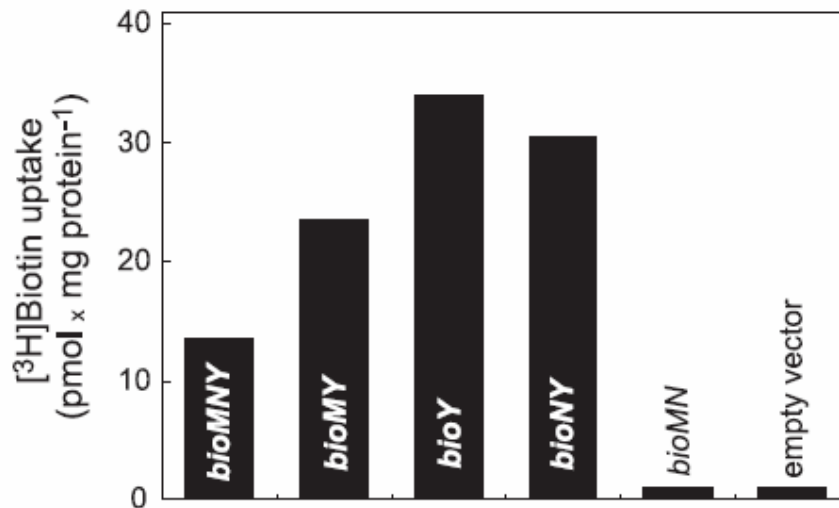


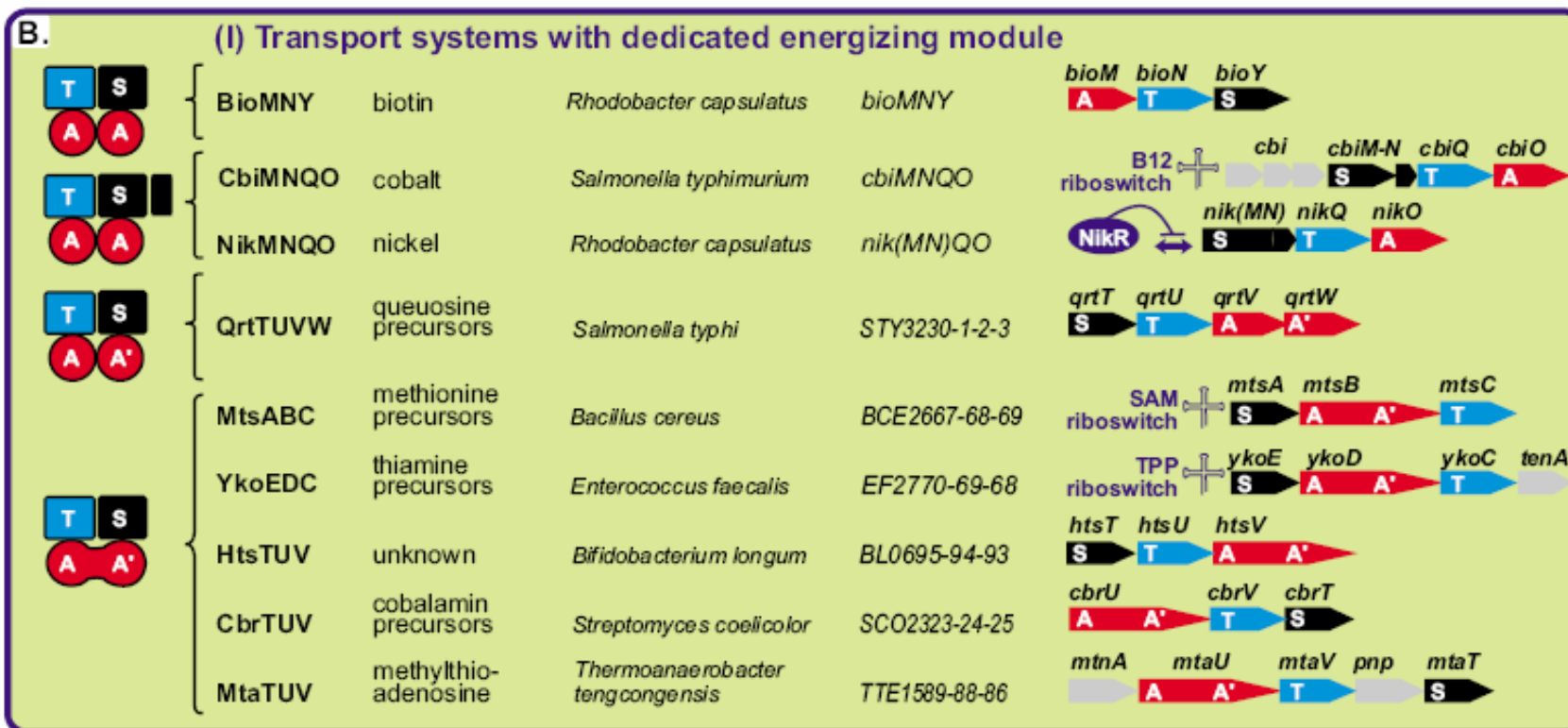
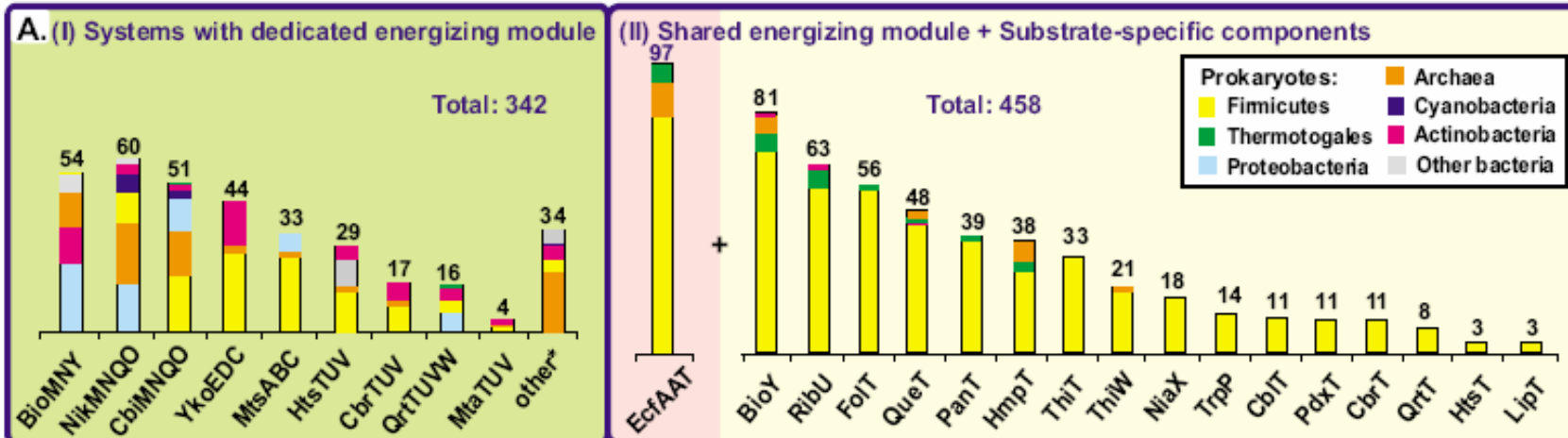
Для транспорта достаточно компонент MN (первый пример такого ABC-транспортера)

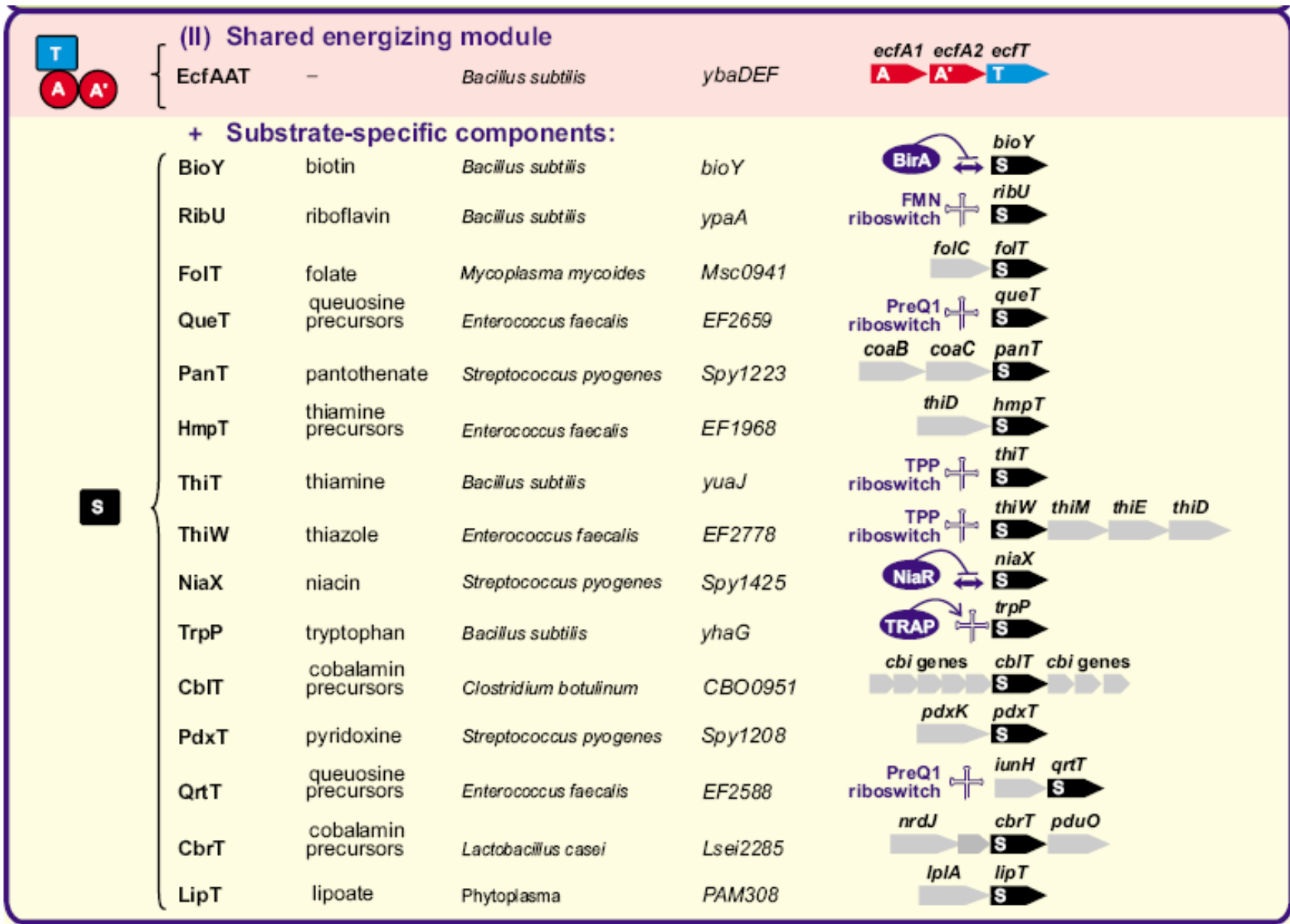


Вспомним BioY.

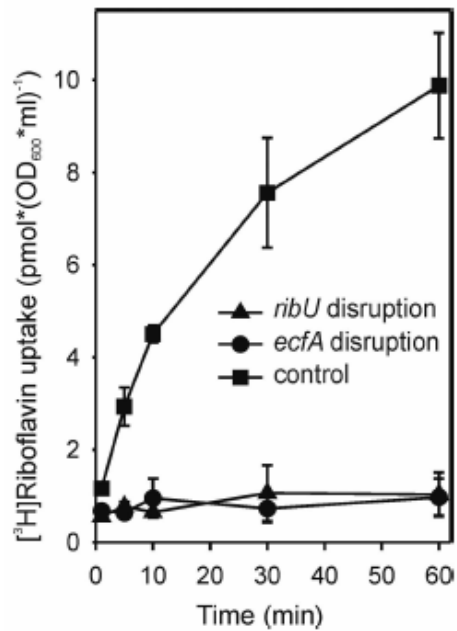
Действительно, BioY достаточно;
у BioMNY более крутая кинетика



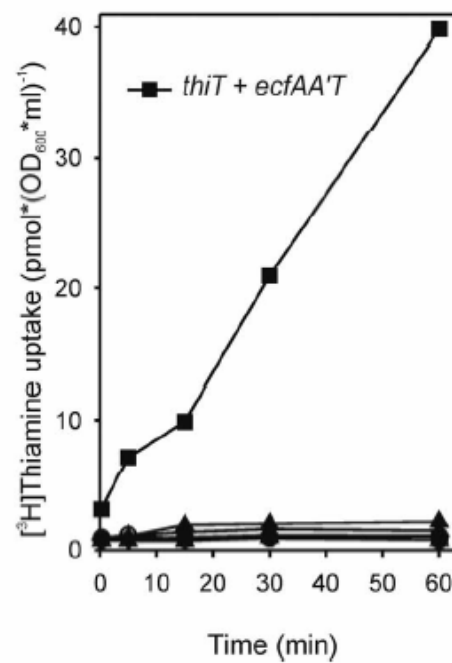




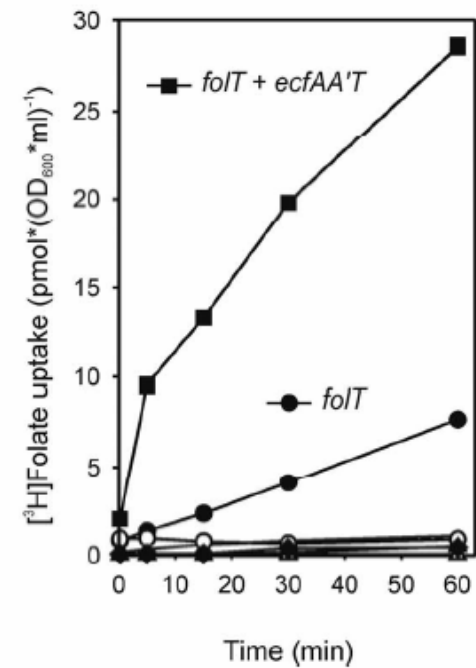
Экспериментальные подтверждения



рибофлавин



тиамин



фолат

- Дмитрий Родионов
 - регуляция транскрипции
 - метаболическая реконструкция
 - идентификация транспортеров
- Алексей Витрещак
 - рибопереключателы
- Андрей Миронов
 - программное обеспечение
- Томас Хеббельн (Берлин) – Со, Ni, биотин
- Андрей Остерман (Сан Диего) – рибофлавин
- Эндрю Хансон (Флорида) – тиамин
- Дирк Слотблум (Гронинген) – фолат
- Медицинский институт Ховарда Хьюза
- INTAS
- РФФИ
- Программа «Молекулярная и клеточная биология» РАН

