

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.2.08:681.3

**СОВМЕСТНАЯ МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТЛИ *Acyrtosiphon pisum* И СИМБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ *Buchnera aphidicola* STR. APS**

© 2009 г. Д. И. Ракитин<sup>1</sup>, М. С. Гельфанд<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119899

<sup>2</sup> Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, Москва, 127994

<sup>3</sup> Факультет биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992

Поступила в редакцию 18.04.2009 г.

Принята к печати 21.05.2009 г.

**Ключевые слова:** эндоцитобиоз, синтез аминокислот.

**CO-METABOLIC ACTIVITY OF APHID ACYRTHOSIPHON PISUM AND SYMBIOTIC BACTERIUM BUCHNERA APHIDICOLA STR. APS, by D. I. Rakitin<sup>1</sup>, M. S. Gelfand<sup>2,3\*</sup> (<sup>1</sup>Department of Biology, Moscow State University, Moscow, 119899 Russia; <sup>2</sup>Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, 127994 Russia; <sup>3</sup>Department of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow State University, Moscow, 119992 Russia; \*e-mail: gelfand@iitp.ru).**

**Key words:** endocytobiosis, syntheses of amino acid.

Явление симбиоза широко распространено в природе и присуще многим группам растений и животных. Частным его случаем является эндоцитобиоз, при котором симбионт живет непосредственно в клетках хозяина. В результате эндоцитобиоза возрастают биоразнообразие, возникают организмы с новыми свойствами, обеспечивающими их существование в экстремальных условиях [1].

Многие тли (Hemiptera: Aphididae), как и прочие насекомые отряда Homoptera, питаются флюэмным соком растений [2]. В связи с тем, что этот сок содержит лишь 20% незаменимых аминокислот, необходимых для нормального развития и жизнедеятельности тлей [3], последние “вынуждены вступать” в симбиотические отношения с эндоцитобиотическими бактериями рода *Buchnera*, которые восполняют недостающие питательные вещества. Эти бактерии располагаются в организме тли в клетках, называемых бактериоцитами [4].

За исключением синтеза метионина, бактерия *B. aphidicola* APS – симбионт тли *Acyrtosiphon pisum* – биосинтезирует все незаменимые для насекомого аминокислоты такие, как аргинин, валин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, гистидин, фенилаланин и триптофан [5].

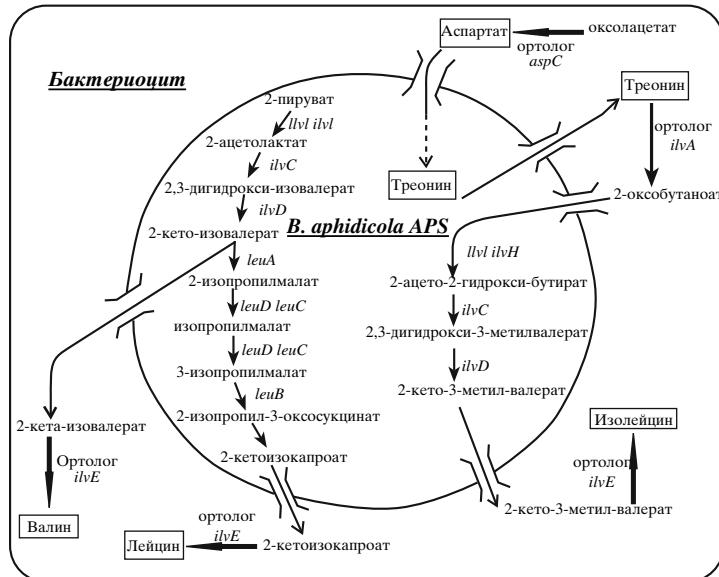
Мы провели поиск генов, отвечающих за функционирование указанных метаболических путей в

геноме *B. aphidicola* APS, используя программу GenomeExplorer [6] и сравнивая эти гены с генами тех же метаболических путей кишечной палочки (*Escherichia coli*); последняя принадлежит, как и *Buchnera*, к семейству Enterobacteriaceae.

Производили поиск ортологов каждого из этих генов в рассматриваемом геноме при помощи процедуры выделения “наилучшего двустороннего совпадения”. При этом обнаружили, что в геноме *B. aphidicola* APS отсутствуют гены *ilvE*, *ilvA*, *aspC*, кодирующие белки для нескольких реакций путей синтеза валина, лейцина, изолейцина и аспартата, хотя данные из литературных источников [6], свидетельствуют о том, что конечный химический продукт этих метаболических путей имеется в организме тли.

Одно из возможных объяснений этого парадокса – то, что недостающие гены находятся в геноме насекомого-хозяина, а процесс синтеза аминокислот распределен между симбиотическим и хозяйственным организмами. Сравнительный геномный анализ показал, что к ферментам путей синтеза валина, лейцина и изолейцина и аспартата, гены которых отсутствуют в геноме *B. aphidicola* APS, относятся ферменты конечных стадий синтеза валина, лейцина и изолейцина, за которые ответствен ген *ilvE*, а также ферменты первой реакции на пути синтеза аспартата (ген *aspC*) и первой реакции синтеза изолейцина из треонина (ген *ilvA*) (рисунок).

\*Эл. почта: gelfand@iitp.ru



Вероятное распределение реакций путей синтеза валина, лейцина, изолейцина, треонина и аспартата между бактерией *B. aphidicola* APS и тлей *Acyrthosiphon pisum*. Пунктирной стрелкой сокращенно обозначен путь синтеза треонина из аспартата.

Для проверки высказанного предположения белки родственной бактерии *E. coli*, катализирующие недостающие в клетке *B. aphidicola* APS реакции, а также взятые в качестве контроля, и белки, катализирующие остальные реакции путей, сравнивали при помощи программы BLAST [7] с черновым вариантом генома тли *A. pisum* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/>). Действительно, для всех недостающих звеньев (*ilvE*, *ilvA*, *aspC*), и только для них, в геноме тли *A. pisum* обнаруживаются гены-ортологи, функция которых подтверждена при сравнении с полной базой GenBank. Для контроля полученных результатов эти гены сравнивали при помощи программы BLAST [7] с полным геномом *Drosophila melanogaster* и показали, что в геноме *D. melanogaster* также имеется искомый набор генов.

Наличие этих генов в геномах насекомых может объясняться тем, что гены *ilvE* и *aspC* отвечают за обратимую реакцию трансаминирования и, по всей видимости, нужны всем насекомым для контроля относительного уровня валина, лейцина, изолейцина и аспартата в организме и для перераспределения пула азота. Ген *ilvA* отвечает за необратимую реакцию перехода треонина в 2-оксобутаноат; вопрос о необходимости для насекомых 2-оксобутаноата в заметном количестве, остается открытым.

По-видимому, в момент вступления тли *A. pisum* в симбиоз с бактерией *B. aphidicola* последняя стала отвечать за проведение большинства реакций на путях синтеза валина, лейцина, изолейцина и аспартата, а реакции, катализируемые генами *ilvE*, *ilvA* и *aspC*, остались включенными в метаболизм тли.

Сходная ситуация при распределении реакций синтеза известна для случая биосинтеза лейцина в дрожжах, у которых ген *Leu4* отвечает за первую реакцию пути синтеза лейцина и кодирует две изоформы  $\alpha$ -изопропилмалатсинтазы. Длинная изоформа локализуется в митохондриальном матриксе, а короткая – в цитоплазме. Обе изоформы функционируют в синтезе  $\alpha$ -изопропилмалата [8].

Был рассмотрен вопрос о необходимости трансмембранных белков, отвечающих за транспорт веществ из клетки *B. aphidicola* APS в пространство бактериоцита. Из четырнадцати известных у этой бактерии транспортных белков, информация о которых получена из базы данных TransportDB (<http://www.membranetransport.org/>), на данную роль подходят белки *YaiR*, *YnfM*, *Mdl*, *MdlB*, так как они относятся к мультиsubstrатным транспортерам. Остальные транспортеры обладают узкой специфичностью к структурно далечим веществам.

Ранее считалось, что все реакции синтеза аминокислот проходят в организме симбиотической бактерии. Из наших наблюдений, однако, следует, что одна часть пути синтеза проходит в организме насекомого-хозяина, а другая часть в организме симбиотической бактерии.

Работа частично поддержана Государственным контрактом 2.740.11.0101.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Громов Б.В. 1998. Эндоцитобионты клеток животных. *Биология. Соросовский образовательный журнал*. 2, 73–78.

2. Pollard D.G. 1973. Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera: Aphididae): a review. *Bull. Ent. Res.* **62**, 631–714.
3. Sandström J., Telang A., Moran N.A. 2000. Nutritional enhancement of host plants by aphids – a comparison of three aphid species on grasses. *Insect Physiol.* **46**, 33–40.
4. Moran N.A., Russell J.A., Koga R., Fukatsu T. 2005. Evolutionary relationships of three new species of Enterobacteriaceae living as symbionts of aphids and other insects. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 3302–3310.
5. Zientz E., Dandekar T., Gross R. 2004. Metabolic interdependence of obligate intracellular bacteria and their insect hosts. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **68**, 745–770.
6. Миронов А.А., Винокурова Н.П., Гельфанд М.С. 2000. Программное обеспечение анализа бактериальных геномов. *Молекулар. биология*. **34**, 253–262.
7. Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* **25**, 3389–3402.
8. Kovaleva G.Y., Bazykin G.A., Brudno M., Gelfand M.S. 2006. Comparative genomics of transcriptional regulation in yeasts and its application to identification of a candidate alpha-isopropylmalate transporter. *J. Bioinform. Comput. Biol.* **4**, 981–998.