

УДК 57.065 : 612.398

О.Н. ДЕМЧУК, Я.Б. БЛЮМ

Институт клеточной биологии и генетической инженерии
НАН Украины, Киев

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДРЕВО
БАКТЕРИАЛЬНЫХ
И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ
FtsZ-БЕЛКОВ НА ОСНОВАНИИ
ГОМОЛОГИИ ИХ ПЕРВИЧНЫХ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**



Построено филогенетическое древо с использованием последовательностей FtsZ-белков архебактерий, бактерий и эукариот. Произведен анализ относительного расположения отдельных последовательностей и их кластеров, а также их расстояния до гипотетического корня полученного древа. Продемонстрировано, что почти все последовательности как про-, так и эукариотических FtsZ-белков находятся на расстоянии от 0,3 до 0,8 замен на сайт от гипотетического корня древа, в то время как тубулины по сравнению с ними удалены от корня на расстояние в 7–8 раз большее. Это подтверждает слабую аминокислотную гомологию между двумя данными группами цитоскелетных белков. Одновременно показано значительное сходство между последовательностями FtsZ-белков цианобактерий и растительных пластид.

© О.Н. ДЕМЧУК, Я.Б. БЛЮМ, 2005

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2005. № 4

Введение. Деление клетки является одним из важнейших биологических процессов, в обеспечении которого в клетках эукариот непосредственное участие принимает такой класс специфических белков, как тубулины, состоящие из α - и β -субъединиц [1]. В царстве прокариот у большинства эу- и археобактерий функции тубулинов выполняют высококонсервативные филаментные температурочувствительные Z-белки — FtsZ [2, 3], аналоги которых были найдены также в пластидах водорослей и высших растений [4–8], что является вполне ожидаемым результатом ввиду происхождения этих органелл от цианобактерий. Однако считается, что в митохондриях большинства видов эукариотических организмов молекулы FtsZ отсутствуют, несмотря на их активную роль в делении α -протеобактерий, являющихся предшественниками этих органелл [3, 9, 10]. Тем не менее совсем недавно молекулы FtsZ-белков все-таки были обнаружены в митохондриях красных водорослей *Mallomonas splendens* [11, 12] и *Cyanidioshizon meliorae*, а также слизневики *Dictyostelium discoideum* [13].

Известно, что деление митохондрий и хлоропластов осуществляется за счет очень подобных механизмов, предусматривающих взаимодействие FtsZ-кольца, динаминовых колец и кольца пластидного/митохондриального деления [14]. В то время как в ходе эволюционирования эукариот эта система осталась высококонсервативной в случае пластид, у митохондрий постепенно происходила потеря FtsZ-кольца. Очевидно, что поскольку кольцо митохондриального деления может или утратиться, или упроститься, его составные части, вовлеченные в процесс сжимания органеллы, могут быть заменены на неизвестные пока механизмы [15]. Следовательно, эта гипотеза позволяет проводить исследования механизмов деления хлоропластов, основываясь на информации по механизму деления митохондрий и наоборот.

Сравнивая последовательности и структурные особенности про- и эукариотических белков, ответственных за деление как клеток, так и их органелл, следует отметить их довольно значительное структурное сходство [16], несмотря на низкий уровень гомологии первичных последовательностей

[17, 18] и наличие целого ряда отличий в распределении компонентов вторичной структуры и их устойчивости во времени [19]. Элементы этого сходства также распространяются на структурно-функциональные свойства тубулинов и FtsZ: оба типа белков имеют одинаковые механизмы сворачивания (за исключением небольших фрагментов в N- и C-концевых доменах) и связывания нуклеотидов, а также характеризуются ГТФ-зависимой полимеризацией в филаментные структуры [20, 21]. FtsZ-белки и тубулины более тесно связаны с динуклеотид-связывающими белками (белки со сборкой по Россману), такими, как глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа [22], чем с классическими ГТФ-азами, однако образуют новое семейство последних [18]. *In vivo* филаменты тубулина организованы параллельно, тогда как молекулярная организация филаментов FtsZ-белков изучена слабо; в то же время при полимеризации в условиях *in vitro* оба этих белка формируют трубочки и листы из параллельных или антипараллельных протофиламентов [23, 24].

Гомология тех или иных белков, базирующаяся на сходстве их последовательностей и механизмов сборки, предполагает наличие общего предка, но не обязательно одинаковых функций. Однако поскольку FtsZ-белки и тубулины характеризуются наличием общей функции — сборки в протофиламент, последние исследования показали, что прокариотические FtsZ-белки являются структурными гомологами и, возможно, эволюционными предшественниками тубулинов эукариот [16, 17, 25–27]. В частности, это подтверждается особенностями динамики ГТФ-зависимой сборки бактериальных FtsZ-белков в длинные филаменты *in vitro* [28, 29]. Как у тубулинов, так и у FtsZ-белков петля T7 соседней субъединицы в составе протофиламента проникает в активный сайт связывания нуклеотидов и стимулирует ГТФ-азную активность, обуславливая тем самым возможность гидролиза нуклеотида указанными белками только в полимерной форме. Очевидно, наличие таких структурных и функциональных особенностей у обеих групп рассматриваемых нами белков де-

лает невозможным их дважды независимое появление в ходе эволюции [24]. Поэтому исследование эволюционной связи между про- и эукариотическими белками деления является важным этапом в решении проблемы корректной экстраполяции свойств одних белков на другие.

Таким образом, целью настоящей работы было построение филогенетического дерева FtsZ-белков на основе секвенированных и описанных в литературе или электронных базах данных первичных последовательностей молекул FtsZ-белков прокариотического, хлоропластного и митохондриального происхождения.

Материалы и методы. Для построения филогенетического дерева в работе были использованы последовательности FtsZ-белков архебактерий из родов *Archaeoglobus*, *Halobacterium*, *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Mycoplasma*, *Pyrococcus*, *Thermoplasma*; эубактерий из родов *Acholeplasma*, *Anabaena*, *Anaplasma*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Brucella*, *Buchnera*, *Campylobacter*, *Caulobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Deinococcus*, *Ehrlichia*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Francisella*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Lactococcus*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Pasteurella*, *Prochlorococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shewanella*, *Sodalis*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Synechococcus sp.*, *Synechocystis sp.*, *Thermotoga*, *Treponema*, *Vibrio*, *Wigglesworthia*, *Wollbachia sp.*, *Xylella*, *Yersinia*, *Zymomonas*; слизевика *Dictyostelium*; водорослей из родов *Chlamydomonas*, *Cyanidioschyzon*, *Cyanidium*, *Guillardia*, *Mallomonas*; мхов из родов *Marchantia* и *Physcomitrella*; покрытосеменных растений из родов *Arabidopsis*, *Gentiana*, *Lilium*, *Nicotiana*, *Oryza*, *Pisum* и *Tagetes*. В качестве стандартов для определения эволюционных дистанций между FtsZ-белками различного происхождения и тубулинами растений были использованы известные последовательности α -, β - и γ -семейств тубулинов из *A. thaliana*. Первичные последовательности FtsZ-белков были получены из электронных баз данных Swiss Prot (sp) и TrEMBL (tr) (<http://us.expasy.org/sprot/sprot-search.html>), а последовательности FtsZ *Anabaena sp.*, *plastFtsZ1 Physcomitrella patens*,

plastFtsZ2 *Physcomitrella patens*, plastFtsZ2 *Chlamydomonas reinhardtii*, FtsZ *Chlamydomonas reinhardtii*, plast1FtsZ *Arabidopsis thaliana*, plast2FtsZ *Arabidopsis thaliana*, mitFtsZA *Dictyostelium discoideum* и mitFtsZB *Dictyostelium discoideum* были получены из базы данных Gen Bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) под кодами U14408, AJ249138, AJ249140, AF449446, AB084236, AY091183, AY050844, AF304356 и AF304441 соответственно. Все последовательности тубулинов получены из базы данных Swiss Prot.

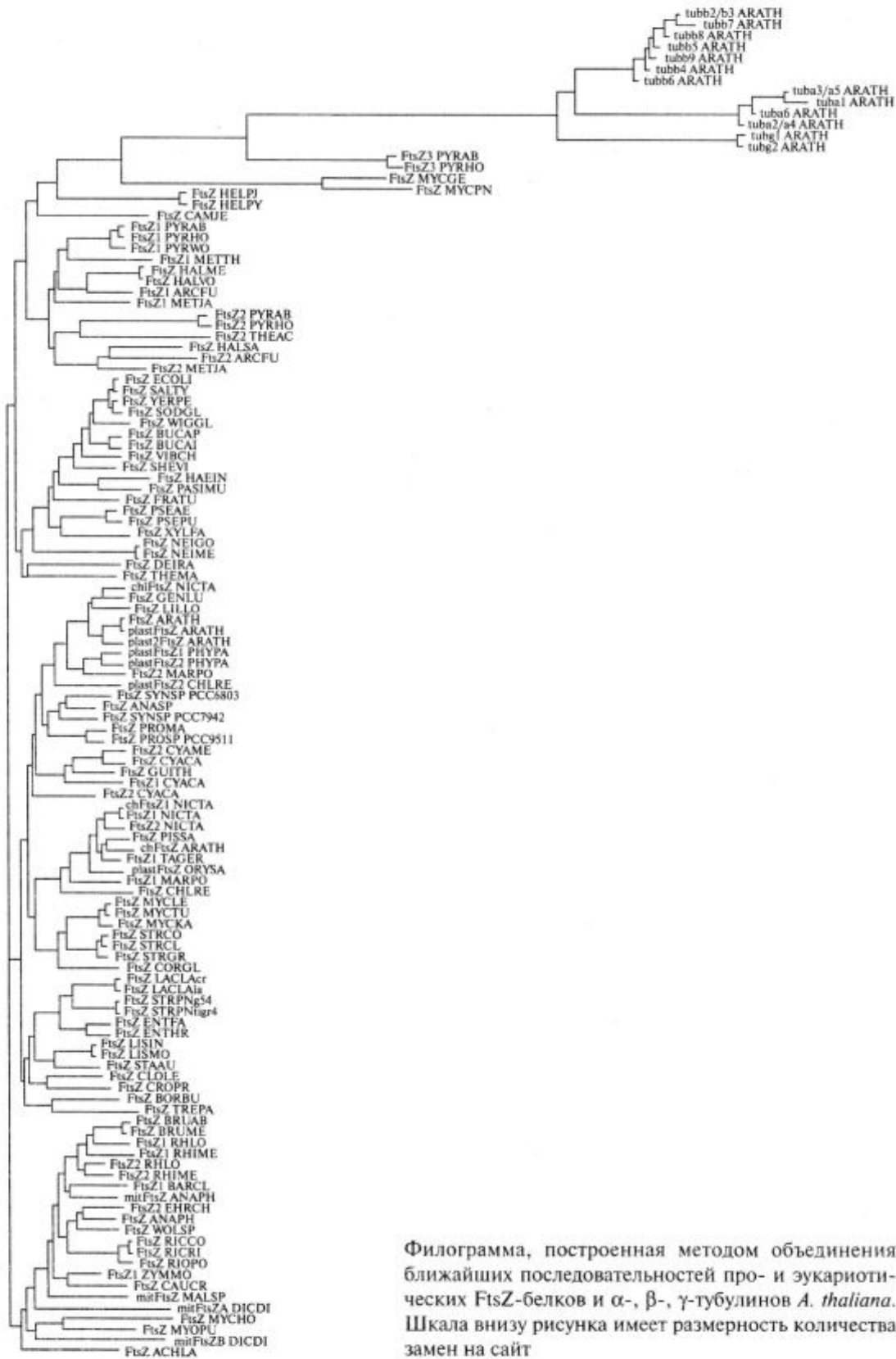
Выравнивание анализируемых белковых последовательностей выполнено с помощью программы ClustalX [30]. Затем с помощью этой же программы было построено их филогенетическое древо методом объединения ближайших последовательностей (Neighbor-Joining метод) [31] с использованием коррекции для сложных замен и бутстреп-теста с числом повторностей 1000. Древо было визуализировано в виде филограммы с помощью программы TreeView (<http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview/>). Представленные в таблице числовые значения расстояния от гипотетического корня древа до последовательностей получены с помощью программы PhyloDraw 0.82 [32].

Результаты исследований и их обсуждение. Филогенетическое древо, построенное с использованием бактериальных и эукариотических пластидных и митохондриальных FtsZ-белков, а также тубулинов арабидопсиса (рисунок), позволяет сгруппировать все анализируемые последовательности в три больших кластера: в первый кластер попадают последовательности тубулинов, FtsZ-белков архебактерий, β -, γ - и Δ/ϵ -протеобактерий, а также FtsZ-белков из представителей дейнококковой и фирмикутной групп эубактерий. Второй кластер составляют последовательности как цитоплазматических, так и пластидных молекул FtsZ-белков высших растений и водорослей, FtsZ-белков цианобактерий и эубактерий (фирмикуты и спирохеты). В третьем кластере присутствуют последовательности FtsZ-белков α -протеобактерий, двух родов фирмикутных энтеробактерий, а также митохондриальных FtsZ-белков как красных водорослей *M. splendens* и *C. melorae*, так и

слизевика *D. discoideum*. В целом, такое деление на кластеры не противоречит общепринятым взглядам на более тесное сходство белков деления эукариотических органелл с архебактериальными, чем с эубактериальными [33, 34], и на цианобактерии как предшественники хлоропластов [4, 5], а α -протеобактерии — как предшественники митохондрий [10]. Интересным является присутствие в первом кластере последовательностей FtsZ-белков β -, γ -, Δ/ϵ - и ϵ -протеобактерий, тогда как последовательности этих белков из α -протеобактерий составляют основу третьего кластера.

Таким образом, из данных, представленных в таблице, видно, что почти все последовательности FtsZ-белков как про-, так и эукариотического происхождения находятся на расстоянии от гипотетического корня общего филогенетического древа в пределах от 0,3 до 0,8 замен на сайт, в то время как тубулины по сравнению с ними удалены в 7–8 раз дальше от корня: на расстояние $\sim 4,0 \pm 0,1$ для семейства α -тубулинов, $\sim 3,5 \pm 0,1$ для семейства β -тубулинов и $\sim 3,9 \pm 0,05$ замен на сайт для семейства γ -тубулинов. Тот факт, что используемые в настоящей работе последовательности растительных тубулинов являются типичными представителями трех тубулиновых семейств и обладают высоким уровнем внутрисемейственной гомологии [35], подтверждает слабую аминокислотную гомологию между двумя данными группами цитоскелетных белков [17]. Исключение составляют четыре последовательности FtsZ-белков: FtsZ3 из *Pyrococcus abyssi* и FtsZ3 из *P. horikoshii*, FtsZ из *Mycoplasma genitalium* и FtsZ из *M. pneumoniae*, которые также находятся на значительном расстоянии от общего корня древа — 1,69571; 1,7227; 1,6474 и 1,76646 замены на сайт соответственно. При этом другие последовательности этих же белков из *P. abyssi* и *P. horikoshii* не выпадают из общей картины расположения на филогенетическом древе, что верно также и для рода *Mycoplasma*.

Анализируя особенности первичных последовательностей FtsZ-белков из этих двух видов рода *Pyrococcus*, относящихся к первому кластеру, можно отметить и тот интерес-



Филограмма, построенная методом объединения ближайших последовательностей про- и эукариотических FtsZ-белков и α -, β -, γ -тубулинов *A. thaliana*. Шкала внизу рисунка имеет размерность количества замен на сайт

Расстояния от гипотетического корня филогенетического древа для последовательностей FtsZ-белков и тубулинов различного происхождения

Систематическое положение	Обозначение последовательности на рисунке	Видовое название источника последовательности	Расстояние от корня древа, замен на сайт
Архебактерии	FtsZ1 ARCFU	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	0,527880
	FtsZ2 ARCFU	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	0,823640
	FtsZ HALME	<i>Halobacterium mediterranei</i>	0,575390
	FtsZ HALSA	<i>Halobacterium salinarium</i>	0,743770
	FtsZ HALVO	<i>Halobacterium volcanii</i>	0,555590
	FtsZ1 METTH	<i>Methanobacterium thermoautotrophycus</i>	0,616290
	FtsZ1 METJA	<i>Methanococcus jannaschii</i>	0,518180
	FtsZ2 METJA	<i>Methanococcus jannaschii</i>	0,587910
	FtsZ1 PYRAB	<i>Pyrococcus abyssi</i>	0,488160
	FtsZ2 PYRAB	<i>Pyrococcus abyssi</i>	0,856570
	FtsZ3 PYRAB	<i>Pyrococcus abyssi</i>	1,695710
	FtsZ1 PYRHO	<i>Pyrococcus horikoshii</i>	0,487360
	FtsZ2 PYRHO	<i>Pyrococcus horikoshii</i>	0,877500
	FtsZ3 PYRHO	<i>Pyrococcus horikoshii</i>	1,722700
	FtsZ1 PYRWO	<i>Pyrococcus woesei</i>	0,496910
	FtsZ THEAC	<i>Thermoplasma acidophilum</i>	0,870970
Эубактерии			
α-протеобактерии	FtsZ ANAPH	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	0,440350
	FtsZ1 BARCL	<i>Bartonella clarridgeiae</i>	0,494460
	FtsZ BRUAB	<i>Brucella abortus</i>	0,502130
	FtsZ BRUME	<i>Brucella melitensis</i>	0,480720
	FtsZ1 CAUCR	<i>Caulobacter crescentus</i>	0,489090
	FtsZ EHRCH	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	0,475480
	FtsZ RICCO	<i>Rickettsia conorii</i>	0,505200
	FtsZ RICPO	<i>Rickettsia prowazekii</i>	0,516930
	FtsZ RICRI	<i>Rickettsia rickettsii</i>	0,504770
	FtsZ1 RHILO	<i>Rhizobium loti</i>	0,494860
	FtsZ2 RHILO	<i>Rhizobium loti</i>	0,392530
	FtsZ1 RHIME	<i>Rhizobium meliloti</i>	0,523230
	FtsZ2 RHIME	<i>Rhizobium meliloti</i>	0,430270
	FtsZ WOLSP	<i>Wolbachia sp.</i>	0,457100
	FtsZ1 ZYMMO	<i>Zymomonas mobilis</i>	0,369850
β-протеобактерии	FtsZ NEIGO	<i>Neisseria meningitidis</i>	0,549510
	FtsZ NEIME	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0,542460
	FtsZ BUCAP	<i>Buchnera aphidicola</i> (подвид <i>S. graminum</i>)	0,472480
	FtsZ BUCAI	<i>Buchnera aphidicola</i> (подвид <i>A. pisum</i>)	0,471670
γ-протеобактерии	FtsZ ECOLI	<i>Escherichia coli</i>	0,449460
	FtsZ FRATU	<i>Francisella tularensis</i>	0,463770
	FtsZ HAEIN	<i>Haemophilus influenzae</i>	0,601180
	FtsZ PASMU	<i>Pasteurella multocida</i>	0,567870
	FtsZ PSEAE	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,453450
	FtsZ PSEPU	<i>Pseudomonas putida</i>	0,479340
	FtsZ SALTY	<i>Salmonella typhi</i>	0,452130
	FtsZ SHEVI	<i>Shewanella violacea</i>	0,449070
	FtsZ SODGL	<i>Sodalis glossinidius</i>	0,472110
	FtsZ VIBCH	<i>Vibrio cholerae</i>	0,477390
	FtsZ WIGGL	<i>Wigglesworthia glossinidia</i>	0,512830
	FtsZ XYLFA	<i>Xylella fastidiosa</i>	0,511990
	FtsZ YERPE	<i>Yersinia pestis</i>	0,445340

Систематическое положение	Обозначение последовательности на рисунке	Видовое название источника последовательности	Расстояние от корня дерева, замен на сайт
δ/ε-протеобактерии	FtsZ CAMJE	<i>Campilobacter jejuni</i>	0,597930
	FtsZ HELPJ	<i>Helicobacter pylori J99</i>	0,755970
	FtsZ HELPY	<i>Helicobacter pylori</i>	0,755870
Фирмикуты	FtsZ ACHLA	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	0,455950
	FtsZ CLOLE	<i>Clostridium lentocellum</i>	0,382550
	FtsZ CLOPR	<i>Clostridium propionicum</i>	0,418870
	FtsZ CORGL	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	0,464750
	FtsZ ENTFA	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,420740
	FtsZ ENTHR	<i>Enterococcus hirae</i>	0,420310
	FtsZ LACLAcr	<i>Lactococcus lactis</i> (подвид <i>cremoris</i>)	0,460430
	FtsZ LACLAla	<i>Lactococcus lactis</i> (подвид <i>lactis</i>)	0,446810
	FtsZ LISIN	<i>Listeria innocua</i>	0,346340
	FtsZ LISMO	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,346190
	FtsZ MYCKA	<i>Mycobacterium kansasii</i>	0,431920
	FtsZ MYCLE	<i>Mycobacterium leprae</i>	0,422060
	FtsZ MYCTU	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0,415270
	FtsZ MYCGE	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1,647400
	FtsZ MYCHO	<i>Mycoplasma hominis</i>	0,691640
	FtsZ MYCPN	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,766460
	FtsZ MYCPU	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	0,527630
	FtsZ STAAU	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,375650
	FtsZ STRPNg54	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,452470
	FtsZ STRPNtigr4	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,452580
FtsZ STRCO	<i>Streptomyces coelicolor</i>	0,403760	
FtsZ STRCL	<i>Streptomyces collinus</i>	0,405470	
FtsZ STRGR	<i>Streptomyces griseus</i>	0,411220	
Спирохетовые	FtsZ BORBU	<i>Borrelia burgdorferi</i>	0,459950
	FtsZ TREPA	<i>Treponema pallidum</i>	0,545940
Терматого/дейнококковые	FtsZ DEIRA	<i>Deinococcus radiodurans</i>	0,471540
	FtsZ THEMA	<i>Thermotoga maritima</i>	0,452840
Цианобактерии	FtsZ ANASP	<i>Anabaena sp.</i>	0,351410
	FtsZ PROMA	<i>Prochlorococcus marinus</i>	0,402040
	FtsZ PROSPPCC9511	<i>Prochlorococcus sp.</i>	0,396010
	FtsZ SYNSPPCC7942	<i>Synechococcus sp.</i>	0,367740
	FtsZ SYNSPPCC6803	<i>Synechocystis sp.</i>	0,418840
Водоросли	FtsZ CHLRE	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	0,524480
	plast FtsZ2 CHLRE	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	0,473710
	FtsZ2 CYAME	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	0,490530
	mit FtsZ CYAME	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	0,449260
	FtsZ CYACA	<i>Cyanidium caldarium</i>	0,490630
	FtsZ1 CYACA	<i>Cyanidium caldarium</i>	0,481800
	FtsZ2 CYACA	<i>Cyanidium caldarium</i>	0,354430
	FtsZ GUITH	<i>Guillardia theta</i>	0,442120
	mitFtsZ MALSP	<i>Mallomonas splendens</i>	0,493080
Мхи	FtsZ1 MARPO	<i>Marchantia polymorpha</i>	0,468350
	FtsZ2 MARPO	<i>Marchantia polymorpha</i>	0,493690
	plastFtsZ1 PHYPA	<i>Physcomitrella patens</i>	0,470020
	plastFtsZ2 PHYPA	<i>Physcomitrella patens</i>	0,483930

Систематическое положение	Обозначение последовательности на рисунке	Видовое название источника последовательности	Расстояние от корня древа, замен на сайт
Покрывтосеменные растения	tuba1 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	4,208090
	tuba2/a4 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,851070
	tuba6 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,873970
	tuba3/a5 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	4,097850
	tubb2/b3 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,583190
	tubb4 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,493430
	tubb5 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,542470
	tubb6 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,443160
	tubb7 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,717340
	tubb8 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,557240
	tubb9 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,537610
	tubg1 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,913550
	tubg2 ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	3,903340
	chlFtsZ ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,522680
	FtsZ ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,477180
	plastFtsZ ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,484570
	plast2FtsZ ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,477000
	FtsZ GENLU	<i>Gentiana lutea</i>	0,484970
	FtsZ LILLO	<i>Lilium longiflorum</i>	0,501760
	plastFtsZ ORYSA	<i>Oryza sativa</i>	0,483130
	chlFtsZ1 NICTA	<i>Nicotiana tabacum</i>	0,469280
	FtsZ1 NICTA	<i>Nicotiana tabacum</i>	0,471220
FtsZ2 NICTA	<i>Nicotiana tabacum</i>	0,485670	
chlFtsZ NICTA	<i>Nicotiana tabacum</i>	0,482600	
FtsZ PISSA	<i>Pisum sativum</i>	0,499340	
FtsZ1 TAGER	<i>Tagetes erecta</i>	0,469610	
Слизевик	mitFtsZA DICDI	<i>Dictyostelium discoideum</i>	0,681750
	mitFtsZB DICDI	<i>Dictyostelium discoideum</i>	0,660700

Примечание. Последовательности сгруппированы по филогенетическому принципу. Chl-, mit-, plast-последовательности обозначены в базе данных как хлоропластные, митохондриальные и пластидные соответственно; tuba — α-тубулин, tubb — β-тубулин, tubg — γ-тубулин; ct и la — подвиды *cremoris* и *pisum* вида *Lactococcus lactis*; g54 и tigr4 — штаммы *Streptococcus pneumoniae*; PCC9511, PCC7942 и PCC6803 — штаммы *Prochlorococcus sp.*, *Synechococcus sp.* и *Synechocystis sp.* соответственно.

ный факт, что они образуют три миниподкластера, содержащих по последовательности каждого вида: FtsZ1 *P. abyssi*/FtsZ1 *P. horikoshii*, FtsZ2 *P. abyssi*/FtsZ2 *P. horikoshii* и FtsZ3 *P. abyssi*/FtsZ3 *P. horikoshii* (рисунок). Напрашивается предположение, что указанные виды бактерий имеют несколько изоформ FtsZ-белков и отличие между изоформами у них больше межвидового отличия каждого члена пары (что, возможно, связано с разными функциями, выполняемыми каждым изоформом). Все это свидетельствует о значительном преобладании у данных FtsZ-белков межвидовых отличий над внут-

ривидовыми. Для тубулинов наблюдается противоположная картина — изоформы тубулинов одного семейства из разных видов более сходны между собой, чем с последовательностями тубулинов других семейств своего вида (данные не представлены). Иными словами, среди указанных FtsZ-белков нельзя выделить отдельные семейства, как в случае с тубулинами, а только их изоформы.

Это невозможно сделать и по причине наличия одного-единственного гена FtsZ-белка в подавляющем большинстве видов эубактерий. Вместе с тем, хотя все эубактерии

имеют по одному FtsZ-гену, растения же располагают по крайней мере четырьмя разными FtsZ-генами, принадлежащими к двум различным семействам генов, что свидетельствует о более комплексной роли растительных FtsZ-белков [7, 36]. Однако здесь есть интересное исключение: у двух видов α -протеобактерий рода *Rhizobium*, *R. loti* и *R. meliloti* обнаружено по два FtsZ-гена, кодирующих разные изоформы этих белков. Группируются они так же, как и описанные выше последовательности рода пироккоккус: FtsZ2 *R. loti* и FtsZ2 *R. meliloti* образуют свой отдельный подкластер, тогда как FtsZ1-белки данных видов бактерий менее схожи между собой (рисунок).

Последовательности FtsZ-белков цианобактерий образуют «сердцевину» второго кластера, разбивая эукариотические FtsZ-белки на две группы. Интересно, что одна из этих групп проявляет большее сходство с последовательностями белков из родов *Corynebacterium*, *Mycobacterium* и *Streptomyces*, чем с изоформами FtsZ-белков этих же видов другой группы и последовательностями FtsZ-белков водорослей и цианобактерий.

Митохондриальные же филаментные белки слизевика *D. discoideum* настолько отличны друг от друга, что их нельзя объединить в один кластер. К тому же последовательность В-изоформа FtsZ-белка миксомицета проявляет большее сходство с FtsZ-белками из *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma pulmonis*, чем с α -протеобактериальными последовательностями, и только А-изотип ближе к последним. Впрочем, следует еще раз напомнить об отсутствии митохондриальных FtsZ-белков у большинства исследованных животных организмов и грибов [37].

Митохондриальный FtsZ-белок из красной водоросли *M. splendens* проявляет немного более высокий уровень сходства со своими бактериальными предшественниками, а последовательность митохондриального FtsZ-белка из *Cyanidioschyzon merolae* имеет с последовательностями FtsZ-белков из α -протеобактерий еще гораздо более тесное родство (рисунок). Однако ввиду незначительного наличия секвенированных митохондриальных последовательностей FtsZ-

белков пока не представляется возможным сделать более конкретные выводы относительно степени их гомологии или родства с другими группами цитоскелетных белков, представленных на построенном филогенетическом древе (рисунок).

Таким образом, результаты проведенного анализа показывают очень тесную гомологию первичных последовательностей бактериальных и эукариотических FtsZ-белков, особенно последовательностей из цианобактерий и растительных пластид. Растительные тубулины, в свою очередь, относительно далеки как от прокариотических, так и от эукариотических FtsZ-белков, проявляя чуть более высокую степень родства с архебактериальными представителями белков данного класса. Дальнейшие исследования с использованием большего количества последовательностей тубулинов и пополнение базы данных о последовательностях FtsZ-белков приведут к более полному пониманию как функционирования, так и эволюционных взаимоотношений этих цитоскелетных составляющих.

SUMMARY. In this report we present phylogenetic tree based on the sequences of FtsZ-proteins of Archaea, Bacteria and Eukaryota. We have analyzed the relative positions of separate sequences and their clusters and their distance to the hypothetical root of phylogenetic tree as well. It has been demonstrated that most of procaryotic and eucaryotic FtsZ-protein sequences are located at the distance of 0.3–0.8 substitutions per site from the hypothetical root of phylogenetic tree. The tubulins are outlined from the root at 7–8 fold larger distances in comparison with the separate sequences. This confirms the slight aminoacid homology between these two groups of cytoskeletal proteins. At the same time the significant similarity between FtsZ-proteins of cyanobacteria and of plant plastids has been shown.

РЕЗЮМЕ. Побудовано філогенетичне дерево з використанням послідовностей FtsZ-білків архебактерій, бактерій та еукаріот. Здійснений аналіз відносного розташування окремих послідовностей та їх кластерів, а також їх відстані від гіпотетичного кореня отриманого дерева. Продемонстровано, що майже всі послідовності як про-, так і еукаріотичних FtsZ-білків знаходяться на відстані від 0,3 до 0,8 заміни на сайт від

гіпотетичного кореня дерева, тоді як тубуліни в порівнянні з ними більш віддалені від кореня у 7–8 разів. Це підтверджує слабку амінокислотну гомологію між цими двома групами цитоскелетних білків. Одночасно з цим показано значну подібність між послідовностями FtsZ-білків ціанобактерій та рослинних пластид.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fosket D.E., Morejhon L.C. Structural and functional organization of tubulin // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 1992. — **43**. — P. 201–240.
2. Margolin W. Themes and variations in prokaryotic cell division // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2000. — **24**. — P. 531–548.
3. Rothfield L., Justice S., Garcia-Lara J. Bacterial cell division // *Annu. Rev. Genet.* — 1999. — **33**. — P. 423–448.
4. Vitha S., McAndrew R.S., Osteryoung K.W. FtsZ ring formation at the chloroplast division site in plants // *J. Cell Biol.* — 2001. — **153**. — P. 111–119.
5. Stokes K.D., McAndrew R.S., Figueroa R., Vitha S., Osteryoung K.W. Chloroplast division and morphology are differentially affected by overexpression of FtsZ1 and FtsZ2 genes in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* — 2000. — **124**. — P. 1668–1677.
6. McFadden G.I. Skeletons in the closet: how do chloroplasts stay in shape? // *J. Cell Biol.* — 2000. — **151**. — P. F19–F21.
7. Kiessling J., Kruse S., Rensing S.A., Harter K., Decker E.L., Reski R. Visualization of a cytoskeleton-like FtsZ network in chloroplasts // *J. Cell Biol.* — 2000. — **151**. — P. 945–950.
8. Osteryoung K.W., Stokes K.D., Rutherford S.M., Percival A.L., Lee W.Y. Chloroplast division in higher plants requires members of two functionally divergent gene families with homology to bacterial FtsZ // *Plant Cell.* — 1998. — **10**. — P. 1991–2004.
9. Erickson H.P. FtsZ, a tubulin homologue in prokaryote cell division // *Trends Cell Biol.* — 1997. — **7**. — P. 362–367.
10. Lang B.F., Gray M.W., Burger G. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes // *Annu. Rev. Genet.* — 1999. — **33**. — P. 351–397.
11. Beech P.L., Nheu T., Schultz T., Herbert S., Lithgow T., Gilson P.R., McFadden G.I. Mitochondrial FtsZ in a chromophyte alga // *Science.* — 2000. — **287**. — P. 1276–1279.
12. Nishiga K., Takahara M., Miyagishima S., Kuroiwa H., Matsuzaki M., Kuroiwa T. Dynamic recruitment of dynamin for final mitochondrial severance in a primitive red alga // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2003. — **100**, № 4. — P. 2146–2151.
13. Miyagishima S.Y., Nozaki H., Nishida K., Matsuzaki M., Kuroiwa T. Two types of FtsZ proteins in mitochondria and red-lineage chloroplasts: the duplication of FtsZ is implicated in endosymbiosis // *J. Mol. Evol.* — 2004. — **58**. — P. 291–303.
14. Erickson H.P. Dynamin and FtsZ: missing links in mitochondrial and bacterial division // *J. Cell Biol.* — 2000. — **148**. — P. 1103–1105.
15. Miyagishima S.Y., Nishida K., Mori T., Matsuzaki M., Higashiyama T., Kuroiwa H., Kuroiwa T. A plant-specific dynamin related protein forms a ring at the chloroplast division site // *Plant Cell.* — 2003. — **15**. — P. 655–665.
16. Erickson H.P. Atomic structures of tubulin and FtsZ // *Trends Cell Biol.* — 1998. — **8**. — P. 133–137.
17. Pereda J.M. de, Leynadier D., Evangelio J.A., Chason P., Andreu J.M. Tubulin secondary structure analysis, limited proteolysis sites and homology to FtsZ // *Biochemistry.* — 1996. — **35**. — P. 14203–14215.
18. Nogales E., Downing K.H., Amos L.A., Lowe J. Tubulin and FtsZ form a distinct family of GTPases // *Nature Struct. Biol.* — 1998. — **5**. — P. 451–458.
19. Ныпорко А.Ю., Блюм Я.Б. Сравнительный анализ вторичной структуры тубулинов и FtsZ-белков // *Биополимеры и клетка.* — 2001. — **17**, № 1. — С. 61–69.
20. Nogales E. A structural view of microtubule dynamics // *Cell Mol. Life Sci.* — 1999. — **56**. — P. 133–142.
21. Mukherjee A., Lutkenhaus J. Dynamic assembly of FtsZ regulated by GTP hydrolysis // *EMBO J.* — 1998. — **17**. — P. 462–469.
22. Gupta R.S., Soltys B.J. Prokaryotic homolog of tubulin? Consideration of FtsZ and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase as probable candidates // *Biochem. Mol. Bio. Int.* — 1996. — **38**. — P. 1211–1221.
23. Lowe J., Amos L.A. Helical tubes of FtsZ from *Methanococcus jannaschii* // *Biol. Chem.* — 2000. — **381**. — P. 993–999.
24. Ent F. van den, Amos L., Lowe J. Bacterial ancestry of actin and tubulin // *Curr. Opin. Microbiol.* — 2001. — **4**. — P. 634–638.
25. Erickson H.P. FtsZ, a prokaryotic homolog of tubulin? // *Cell.* — 1995. — **80**. — P. 367–370.
26. Erickson H.P., Taylor D.W., Taylor K.A., Bramhill D. Bacterial cell division protein FtsZ assembles into protofilament sheets and minirings, structural homologs of tubulin polymers // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1996. — **93**. — P. 519–523.

27. *Lowe J., Amos L.A.* Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ // *Nature*. — 1998. — **391**. — P. 203–206.
28. *Bramhill D.* Bacterial cell division // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* — 1997. — **13**. — P. 395–424.
29. *Yu X.-C., Margolin W.* Ca²⁺-mediated GTP-dependent dynamic assembly of bacterial cell division protein FtsZ into asters and polymer networks in vitro // *EMBO J.* — 1997. — **16**. — P. 5455–5463.
30. *Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G.* The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools // *Nucl. Acids Res.* — 1997. — **24**. — P. 4876–4882.
31. *Saitou N., Nei M.* The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // *Mol. Biol. Evol.* — 1987. — **4**. — P. 406–425.
32. *Choi J.-H., Jung H.-Y., Kim H.-S., Cho H.-G.* PhyloDraw: a phylogenetic tree drawing system // *Bioinformatics. Appl. Note*. — 2000. — **16**, № 11. — P. 1056–1058.
33. *Baumann P., Jackson S.P.* An archaeobacterial homologue of the essential eubacterial cell division protein FtsZ // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1996. — **93**. — P. 6726–6730.
34. *Margolin W., Wang R., Kumar M.* Isolation of an ftsZ homolog from the archaeobacterium *Halobacterium salinarum*: Implications for the evolution of FtsZ and tubulin // *J. Bacteriol.* — 1996. — **178**. — P. 1320–1327.
35. *Демчук О.Н., Блюм Я.Б.* Построение филогенетического древа растительных тубулинов на основании гомологии их белковых последовательностей // *Цитология и генетика*. — 2005. — **39**, № 2. — С. 3–9.
36. *Reski R.* Rings and networks: the amazing complexity of FtsZ in chloroplasts // *Trends Plant Sci.* — 2002. — **7**. — P. 103–105.
37. *Osteryoung K.W.* Organelle fission. Crossing the evolutionary divide // *Plant Physiol.* — 2000. — **123**. — P. 1213–1216.

Поступила 18.01.05