

© Е. В. Самбук, М. В. Падкина

Санкт-Петербургский
государственный университет

✿ В обзоре на примере семейства генов *RHO*, кодирующих структуру кислых фосфатаз дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, рассмотрены пути эволюции мультигенных семейств. Анализ баз данных продемонстрировал, что основным направлением эволюции мультигенных семейств, кодирующих экзоферменты, является дивергенция за счет изменения регуляции структурных генов и включения их в новые регуляторные сети.

✿ **Ключевые слова:** кислая фосфатаза; мультигенные семейства; экспрессия генов; эволюция дублицированных генов.

ДИВЕРГЕНЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ПАРАЛОГОВ *RHO3, RHO5, RHO11, RHO12* ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* — МЕХАНИЗМ ЭВОЛЮЦИИ МУЛЬТИГЕННЫХ СЕМЕЙСТВ

ВВЕДЕНИЕ

В основе эволюционной пластичности организмов и появления новых функций лежит формирование новых генов. Гены могут возникать в результате дубликации и последующей дивергенции генов-предшественников (Ohno, 1991), «перетасовки» экзонов, слияния генов, ретротранспозиции при участии мобильных элементов, латерального переноса генов, а также за счет возникновения генов *de novo* из некодирующих последовательностей, хотя доля последних и несущественна (Tsai et al., 2012).

Ведущую роль в этом процессе играют дубликации. Обычно рассматривают два типа дубликаций: сегментные (от нескольких нуклеотидов до нескольких т. п. о.) и геномные (полиплоидия), которые вносят различный вклад в эволюционный процесс. Сегментные дубликации встречаются в процессе эволюции эукариот довольно часто (Levasseur Pontarotti, 2011), тогда как удвоение всего генома происходит реже, хотя считается, что именно этот тип дубликаций — причина основных преобразований в эволюции (van Hoek, Hogeweg, 2009).

В процессе эволюции полиплоидия возникала у растений (*Arabidopsis thaliana* — 3 события за последние 150 млн лет), костных рыб, грибов. Возникновение новых генов за счет дубликаций кажется очевидным. Однако дальнейшую судьбу дубликации будет определять механизм ее возникновения. Если удваивается отдельный ген, продукт которого вовлечен в большую белковую сеть, то произойдет увеличение отдельной ферментативной активности или повышение уровня определенного структурного белка, что может нарушать равновесие в устоявшихся белковых сетях. В этом случае отбор будет действовать против дубликации. При дубликации всего генома такого противоречия не возникает, поэтому такие дубликации сохраняются (Fares et al., 2013). К сохранению дублицированных генов могут привести следующие процессы (Force et al., 1999):

1. Инактивация одной из копий вследствие накопления мутаций, образование псевдогенов (nonfunctionalization). Это наиболее частый и быстрый способ (Lynch, Conery, 2000).
2. Приобретение одной из копий новых выгодных функций и их сохранение путем естественного отбора (neofunctionalization). При этом другая копия сохраняет свою основную функцию.
3. Накопление мутаций в цис-регуляторных областях обеих копий и их экспрессия в разных условиях (subfunctionalization) (Levasseur, Pontarotti, 2011).

Примером подобного видообразования являются также дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces castellii*, возникшие в результате дубликации генома предковой формы и последующей дивергенции (Albertin, Marullo, 2012). Как правило, образование новых видов после удвоения генома в ходе эволюции происходит либо с восстановлением гаплоидности, либо с сохранением диплоидности, но при этом происходит потеря многих дублицированных генов. Так, сахаромицеты сохранили двойной набор хромосом $n = 16$, а *Saccharomyces castellii* восстановили гаплоидный набор $n = 9$ (Cliften et al., 2005).

Дрожжи *S. cerevisiae* являются исключительно удобным модельным организмом для решения проблем экологии и эволюции. Известно, что в процессе адаптации дрожжей к стрессорным факторам наблюдается значительное

Поступила в редакцию 09.09.2013
Принята к публикации 20.11.2013

изменение протеома (Kroll et al., 2013). Это происходит за счет изменения регуляции транскрипции, дубликации структурных генов, диплоидизации всего генома или удвоения конкретных хромосом. Было обнаружено, что в процессе культивирования диплоидных дрожжей при повышенной температуре в течение более 300 поколений в популяции возрастает доля клонов с трисомией по хромосоме III, содержащей ген *HSP30*. После восстановления нормальной температуры, постепенно восстанавливается дисомия. В некоторых случаях были обнаружены дубликации сегментов хромосомы IV, содержащей гены *HSP78*, *HSP31*, *SSB*, которые кодируют белки теплового шока (Yopa et al., 2012). Таким образом, резкое повышение количества продукта может быть выгодно в стрессорной ситуации, но по мере исчезновения таковой, избыток белка не выгоден и ген элиминируется.

У *S. cerevisiae* после удвоения генома и последующей потери генов сохранилось около 500 парных генов, и существуют семейства паралогов, которые «пережили» первый сложный период после дубликации, сохранились и оказались востребованными в дальнейшем. Основным условием сохранения таких генов является отсутствие строгого давления естественного отбора. Только в этом случае в течение определенного времени могут сохраниться все варианты. Секретция продукта на поверхность клетки дрожжей ослабляет действие отбора, поэтому обнаружены мультигенные семейства генов, кодирующих переносчики глюкозы, кислые фосфатазы (КФ) и инвертазу.

Кислые фосфатазы дрожжей и адаптивные возможности клетки

Структурные гены КФ *PHO3*, *PHO5*, *PHO11* и *PHO12* дрожжей *S. cerevisiae* возникли в результате дубликации предкового гена (Venter, Horz, 1989). В процессе эволюции структурная часть генов и, соответственно, ферментативная функция сохранились практически неизменными, но дивергенция цис-регуляторных областей структурных генов привела к включению паралогов в новые регуляторные сети.

Кислые фосфатазы дрожжей — физико-химические свойства и функции

Неспецифические КФ дрожжей-сахаромицетов представлены несколькими изозимами, число которых варьирует у разных штаммов (Venter, Horz, 1989). На первом этапе исследований ферменты классифицировали по наличию или отсутствию синтеза в средах, содержащих неорганический фосфат. Была выявлена группа ферментов, синтез которых подавлялся добавлением в среду неорганического фосфата (*Pho5p*, *Pho11p*, *Pho12p*), и фермент *Pho3p*, синтез которого не зависел от концентрации фосфата (Toh-E et al., 1975). Интересно, что репрессировавшая концентрация фосфата различ-

на у лабораторных штаммов разного происхождения. Синтез рКФ у штаммов Петергофской генетической коллекции подавляется при 250 мг/л неорганического фосфата, тогда как у штаммов GRF18 и S288C ингибирование синтеза рКФ происходит только при 1000 мг/л (Sambuk et al., 2011).

КФ являются экзоферментами, локализируются в периплазматическом пространстве и представляют собой гликопротеины с молекулярной массой более 200 кДа. Молекулярная масса дегликозилированных пептидов составляет 57 кДа (*Saccharomyces* genome database). В клетке белок *Pho5p* обнаружен в виде димера (Mizunaga et al., 1988), а в периплазматическом пространстве КФ представлен как олигомерный энзим, состоящий из *Pho5p*, *Pho11p* и *Pho12p* (Shnyreva et al., 1996).

Все рКФ дрожжей имеют высокую степень идентичности по аминокислотной последовательности до 87 % (Meyhack et al., 1982), но есть некоторые различия по физико-химическим свойствам. В частности, кКФ штаммов Петергофской генетической коллекции является более термостабильным ферментом по сравнению с формами рКФ: при 40 °С сохраняется 100 % активности *Pho3p*, тогда как рКФ *Pho5p* теряет 60 % активности в течение 15 минут, а *Pho10p*, *Pho11p* почти неактивны при этой температуре. Оптимум pH для *Pho3p* (3,7–3,8), для *Pho5p* и *Pho11p* — pH 4,6. Как видно, кКФ более устойчива к стрессорным факторам — закислению среды и повышению температуры (Sambuk et al., 2011).

Субстратами для КФ являются различные фосфорорганические соединения. Кроме того, все КФ являются фитазами. Фитиновые кислоты, или фитаты, представляют собой кальциевые и магниевые соли инозитолгексафосфорной кислоты. Фитазы (мио-инозитолгексафосфатфосфогидролазы) катализируют освобождение фосфатов из фитиновых кислот, которые являются основной запасной формой фосфора в злаках, бобах и орехах (Савинов и др., 2007).

В условиях дефицита неорганического фосфата функцией КФ является обеспечение клетки фосфатом за счет расщепления фосфорорганики. В этом отношении особняком стоит *Pho3p*, основным субстратом которой является тиаминдифосфат. Функция этого фермента — обеспечение клетки тиаминном в условиях его дефицита, а не фосфатом, так как его и так достаточно в среде. Биологическая необходимость кКФ для дрожжей неочевидна. Промышленные штаммы дрожжей генетически нестабильны в отношении кКФ. При культивировании в полной среде от 0,3–1 % клонов теряют активность кКФ, либо из-за точковых мутаций, либо в результате делеции промежуточной области, затрагивающей и ген *PHO5*, и ген *PHO3*. Такие мутации возникают за счет выпетливания гена *PHO3*. Интересно, что ранее такие мутации были обнаружены у ПГЛ — штамм 93–1-Г-П188 синтезировал только КФ3 и содержал

делецию промежуточной области гена (Малкова, неопубл.). Отсутствие активности кКФ не влияет на спиртовое брожение. У промышленных штаммов дрожжей, используемых в производстве саке, как правило, нет кКФ (Takashita et al., 2013). Возможно, это связано с высоким содержанием тиамин в рисе, который используется для производства саке.

Гены КФ возникли в результате дупликации предкового гена

Гены, кодирующие КФ дрожжей, представлены в геноме несколькими копиями, количество которых варьирует в зависимости от происхождения штамма. Структурным геном кКФ является ген *PHO3*, локализованный в правом плече хромосомы II и тесно сцепленный с геном основной фракции рКФ — *PHO5* (Toh-E et al., 1975). Гены *PHO11* и *PHO12* локализованы в теломерных областях I и VIII хромосомах, соответственно (Venter, Horz, 1989; de Steensma et al., 1989). Происхождение дупликаций различно. Гены *PHO3* и *PHO5* являются тандемной дупликацией, а структурные гены *PHO11* и *PHO12* были дуплицированы в составе сегмента, включающего гены *YAR073W*, *YAR071W*, *YAR070C*, *YAR069C* на первой хромосоме и *YHR216W*, *YHR215W*, *YHR214C-B*, *YHR214C-D* — на хромосоме VIII (Katju et al., 2009). Следует отметить, что близость генов *PHO11* и *PHO12* к теломерам приводит к повышенной рекомбинации и утрате этих генов. Поэтому при анализе нескольких лабораторных штаммов все 4 гена были обнаружены лишь у немногих, в их числе S288C (Venter, Horz, 1989). Считают, что *PHO5* или *PHO3* служили донорами для создания новых генов. Аналогичная ситуация характерна и для генов *SUC*, кодирующих секреторный фермент инвертазу. Эти гены также представлены большим числом копий и локализованы в области теломер (Carlson et al., 1985).

Репрессибельные КФ синтезируются только при дефиците неорганического фосфата (Φ_H). Структурные гены *PHO5*, *PHO11* и *PHO12* клонированы и демонстрируют высокую степень сходства (85%) (Bergman et al., 1986; Thill et al., 1983). Тот факт, что у некоторых штаммов все идентифицированные паралоги сохранились, видимо, можно объяснить тем, что КФ являются экзоферментами и формируют комплексы друг с другом только в периплазматической мембране (Shnyreva et al., 1996). Именно это, вероятно, ослабило действие естественного отбора против повышения копийности предкового гена.

При анализе регуляторных областей дуплицированных генов у дрожжей было выявлено действие позитивного отбора в отношении регуляторных последовательностей (Papp et al., 2003). Даже в цис-регуляторных областях генов *PHO5*, *PHO11* и *PHO12* нет полной идентичности. А регуляторные области генов рКФ демонстрируют полное отсутствие сходства с промотором гена

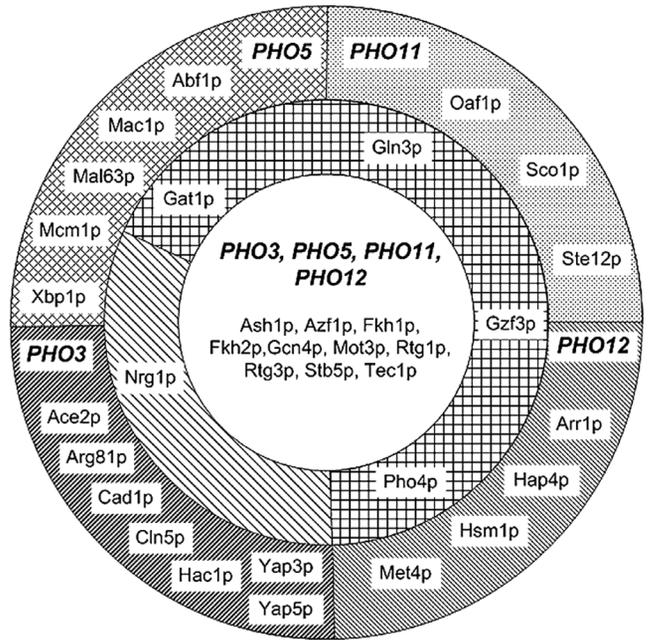


Рис. 1. Транскрипционные факторы (ТФ), для которых обнаружены последовательности в промоторах генов *PHO* (гены выделены жирным шрифтом). В центре представлены ТФ, последовательности для которых обнаружены у всех анализируемых генов. Второй круг — представлены ТФ, общие для некоторых генов *PHO*. Третий круг: представлены специфические для каждого гена *PHO* ТФ

PHO3. Ранее было показано, что регуляторные области паралогов дивергируют значительно быстрее, чем кодирующие (Papp et al., 2003; Dong et al., 2011).

Анализ потенциальных сайтов для ТФ в цис-регуляторных областях генов *PHO*

Наибольшие изменения у дуплицированных генов в процессе эволюции наблюдаются в регуляторных областях (Hurles, 2004). Используя базу данных YEASTRACT (<http://www.yeasttract.com/>) (Abdulrehman et al., 2011), мы сравнили спектр транскрипционных факторов, для которых в промоторах генов *PHO3*, *PHO5*, *PHO11* и *PHO12* обнаружены потенциальные сайты связывания (рис. 1). В промоторах всех 4 генов были обнаружены сайты связывания для транскрипционных факторов (ТФ) — Ash1p, Azf1p, Fkh1p, Fkh2p, Gcn4p, Gcr1p, Mot3p, Rtg1p, Rtg3p, Stb5p, Tec1p. Вероятно, эти сайты присутствовали в промоторе исходного предкового гена *PHO*.

Анализ промоторов генов *PHO11*, *PHO12* и *PHO3* показал, что в сравнении с промотором гена *PHO5* у них отсутствуют сайты связывания для белков Abf1p, Mac1p, Mal63p, Mcm1p, Xbp1p, Nrg1p. Причем сайт для Nrg1p отсутствует только у *PHO11* и *PHO12*, но есть в промоторе *PHO3*. Возможно, что он был утрачен генами уже после дупликации фрагмента хромосомы. В то же время

в промоторах генов *PHO11* и *PHO12* обнаружены новые регуляторные последовательности, общие для этих генов и не обнаруженные у *PHO5* и *PHO3*. Это последовательности для ТФ — Ndt80p, Stp1p1, Stp2p, Sum1p, Urc2p и Yap1p. При этом последовательность для Yap1p есть и в промоторе *PHO3*. Скорее всего этот сайт был утрачен *PHO5* в ходе эволюции.

Поиск специфических для каждого гена последовательностей выявил новые сайты связывания для транскрипционных факторов Gis1p, Ime1p в промоторе гена *PHO12*, а также сайты связывания для ТФ — Ace2p, Arg81p, Cad1p, Cin5p, Hac1p, Yap3p, Yap5p в промоторе гена *PHO3*, для ТФ — Abf1, Mac1, Mal63, Mcm1, Xbp1 в промоторе гена *PHO5*. Наиболее вероятно, что «индивидуальные» регуляторные факторы и могут быть ключевыми при специализации паралофов.

Следует отметить, что доказанных взаимодействий ТФ с промоторами генов *PHO3*, *PHO5*, *PHO11* и *PHO12* существенно меньше. По данным базы YEASTRACT, с промотором гена *PHO3* взаимодействуют транскрипционные факторы Fkh2p, Mcm1p, Thi2p, Yap5p; с промотором гена *PHO5* — Arg81p, Fkh1p, Fkh2p, Mcm1p, Thi2p, Pho4p, Rap1p, Tec1p; с промотором гена *PHO11* - Fkh2p, Nrg1p, Sko1p, Ste12p, Tec1p; для промотора гена *PHO12* — сведения отсутствуют. В настоящее время доказаны взаимодействия промотора гена *PHO3* с факторами Fkh2p, Mcm1p, Thi2p, Yap5; для гена *PHO5* — с Arg81p, Fkh1p, Fkh2p, Mcm1p, Thi2p, Pho4p, Rap1p, Tec1p; для гена *PHO11* - с Fkh2p, Nrg1p, Sko1p, Ste12p, Tec1p. Таким образом, изменения в регуляторных областях создают предпосылки для формирования новых взаимодействий и вовлечения генов КФ в новые метаболические пути.

Как известно, довольно значительная часть генома представлена регуляторными последовательностями, но все ли эти последовательности вносят вклад в регуляцию транскрипции остается неизвестным. Хотя картирование взаимодействий 203 регуляторных факторов в 12 различных условиях проведено, проанализировано более 3000 взаимодействий транскрипционных факторов и промоторов (Harbison et al., 2004), всегда остается возможность возникновения в природе таких условий, при которых ранее не работавший сайт узнается своим ТФ.

Сравнение ТФ, которые потенциально способны взаимодействовать с промоторами генов *PHO*, показало, что все гены *PHO* содержат последовательности для ТФ углеводного метаболизма (Azi1p, Gcg1p), регуляторов кислородного обмена и функций митохондрий (Mot3p, Rtg1p, Rtg3p, Stb5p), регуляторов переключения типов спаривания (Ash1p, Fkh1p, Fkh2p), регулятора биосинтеза аминокислот — Gcn4p, а также для Tec1p, контролирующего гены мицелиального роста. Общими для генов репрессибельных КФ являются регуляторные факторы азотного метаболизма (Gat1p, Gln3p, Gzf3p) и позитивный регулятор метаболизма фосфата — Pho4p.

Общим для *PHO3* и *PHO5* является Nrg1p — ТФ, обеспечивающий глюкозную репрессию. Как видно на рисунке 1, у каждого из генов есть сайты и для индивидуальных ТФ. Ген *PHO5* способен реагировать на концентрацию меди (Mac1p), изменения источника углерода (Mal63p), репрессироваться при стрессе (Xbp1p). Ген *PHO11* потенциально может регулироваться совместно с генами бета-окисления жирных кислот (Oaf1p). Промотор гена *PHO12* содержит последовательность для регулятора генов устойчивости к соединениям мышьяка (Arg1p), а также может регулироваться координировано с генами биосинтеза серосодержащих аминокислот (Met4p). Ген *PHO3* способен реагировать на наличие аргинина (Arg81p) и кадмия (Cad1p) в среде, а также на окислительный стресс (Yap1, Yap5p). Как видно, сохранение ферментативной функции КФ в процессе эволюции сопровождалось дивергенцией цис-регуляторных областей и формированием чувствительности к новым сигналам, что позволило адаптировать экспрессию генов *PHO* к различным условиям среды. Подобные процессы характерны для эволюции дублированных генов, обнаруженных у дрожжей. Анализ генома дрожжей *S. cerevisiae* показал, что число общих регуляторных мотивов в промоторах дублированных генов снижается в процессе эволюции, тогда как общее число регуляторных мотивов остается неизменным. Обнаружено действие позитивного отбора на цис-регуляторные мотивы после дубликации генов (Papp et al., 2003). В то же время следует помнить, что наличие сайта в промоторной области еще не доказывает участия соответствующего ТФ в регуляции, о чем свидетельствует работа (Hu et al., 2007).

Структура хроматина в промоторах генов *PHO*

Сейчас стало очевидным, что важную роль в регуляции экспрессии генов играет структура хроматина в регуляторной области. Ген *PHO5* является классической моделью для изучения структуры хроматина в связи с индукцией и репрессией транскрипции гена (Almer, Horz, 1986). В условиях репрессии промотор гена *PHO5* связан с 4 нуклеосомами и только 70 п. о. представляют область, чувствительную к нуклеазам. При низкой концентрации Φ_H две пары нуклеосом, фланкирующие эту область, освобождают промотор, и происходит активация транскрипции *PHO5*. Транскрипционная активация и разрушение структуры хроматина зависят от активатора Pho4p, который связывается с двумя сайтами в промоторной области *PHO5* — UAS1 (5'-AATTAGCACGTTTTTCGCCATA-3'), локализованным внутри короткой, свободной от нуклеосом области, и UAS2 (5'-GCACTCACACGTGGGA-3'), который находится внутри нуклеосомы-2. Ремоделирование хроматина наблюдается в отсутствие репликации ДНК и требует наличия активирующего домена Pho4p. Только после освобождения промотора от нуклеосом, активирующий домен может взаимодействовать с аппаратом

транскрипции и усиливать формирование инициаторного комплекса на промоторе (Mao et al., 2011). В активации транскрипции принимает участие и SAGA-комплекс, который физически притягивается к промотору *PHO5*. На экспрессию гена *PHO5* влияют мутации в гене *GCN5*, кодирующем ацетилтрансферазу гистонов. Делеция этого гена приводит к изменению нуклеосомной структуры промотора *PHO5* и к резкому снижению транскрипционной активности (Gregory et al., 1998). Ранее было показано, что в процессе активации промотор гена *PHO11* также претерпевает перестройку нуклеосом, но несколько иначе, чем *PHO5*. Структура хроматина в цис-регуляторной области гена *PHO3* отличается от *PHO5* (Venter, Horz, 1989) и содержит только одну нуклеосому.

Паралоги *PHO* сформировали свой «круг общения»

Возникновение нового «круга общения» паралогов *PHO* может осуществляться как на уровне транскрипции, так и на уровне белковых молекул. В первом случае возможно выявление генов, продукты которых влияют на экспрессию структурных генов КФ. В нашей работе для анализа генетических и физических взаимодействий генов *PHO* и их продуктов мы использовали базы данных BioGrid (<http://thebiogrid.org>) (Chatr-Aryamontri et al., 2013) и STRING (<http://string-db.org/>) (Franceschini et al., 2013)

Как уже упоминалось, в процессе эволюции пути регуляции паралогов *PHO5*, *PHO11*, *PHO12* и *PHO3* разошлись. Гены *PHO11*, *PHO12* и *PHO5* содержат последовательности для взаимодействия с активатором Pho4p, а промотор гена *PHO3* — нет, в силу этого он вышел из *PHO*-регулона. Экспрессия генов рКФ зависит от концентрации фосфата и осуществляется на уровне транскрипции при участии факторов позитивного (Pho2p, Pho4p) и негативного контроля (Pho85p, Pho80p). Синтез Pho5p, Pho11p, Pho12p репрессируется в ответ на высокую концентрацию Φ_H , а синтез Pho3p не зависит от концентрации фосфата.

Путь передачи сигнала о концентрации фосфата подробно изучен. Обнаружены три транспортные системы с разным сродством к фосфату, работа которых зависит от концентрации Φ_H , а также ионов H^+ и Na^+ . За транспорт Φ_H внутрь клетки отвечают продукты генов *PHO84*, *PHO86*, *PHO87*, *PHO88*, *PHO89*, *GTR1*. Транспортная система, обладающая высоким сродством к фосфату, включает две пермеазы — Pho84p и Pho89p. Активность этих переносчиков репрессируется при высоких концентрациях неорганического фосфата в среде (Bun-Ya et al., 1991; Persson et al., 1999). Транспортная система с низким сродством к Φ_H включает пермеазы Pho87p, Pho90p и Pho91p, которые активны при высокой концентрации Φ_H в среде. Пермеазы способны формировать комплексы. Так, например, Pho84p может взаимодействовать с Pho86p, Pho87p, Pho88p и Gtr1p. Особое значение имеет белок Gtr1p, который обладает участком для свя-

зывания ГТФ на N-конце и относится к семейству ГТФ-связывающих белков *ras*. Комплекс Gtr1p-Pho84p, возможно, принимает сигналы о количестве фосфата в среде и клетке и выполняет регуляторную функцию (Bun-Ya et al., 1992). Кроме пермеаз на транспорт фосфата влияют мутации в генах *PMA1* (АТФаза плазматической мембраны), *ACC1* (ген, вовлеченный в синтез синтетазы жирных кислот) и новый ген — *PHO23*. Продукты этих генов контролируют различные этапы переноса сигнала о концентрации Φ_H к регуляторам экспрессии генов *PHO*-регулона (Lau et al., 1998; Lau et al., 2000).

Отличительной особенностью Pho3p является зависимость ее синтеза от концентрации тиамин в среде (Kowalska, Kozik, 2007). Тиамин (витамин B_1) необходим для реакций цикла трикарбоновых кислот и пентозофосфатного пути окисления углеводов. Из окружающей среды тиамин поступает в клетки с помощью специфического мембранного белка-транспортера, продукта гена *THI7*. Дрожжи-сахаромицеты могут синтезировать тиамин и самостоятельно с помощью фермента, продукта гена *THI4* (Singleton, 1997). Ген *THI4* и другие *THI*-гены представляют собой тиаминовый регулон, который полностью репрессируется при высокой концентрации тиамин в среде и активирован на среде без тиамин. КФ Pho3p имеет тиамин-связывающую активность при pH 5,0. У мутантов *pho3* в отличие от клеток дикого типа значительно снижена интенсивность транспорта тиаминных пиро- и монофосфатов, что свидетельствует о том, что Pho3p гидролизует тиаминфосфаты (Nosaka et al., 1989). Добавление тиамин подавляет активность кКФ Pho3p и ферментов биосинтеза тиамин. Этот эффект обусловлен фактором негативной регуляции, продуктом гена *THI81* (Nishimura et al., 1997).

Таким образом, при наличии фосфата и тиамин в среде регуляция экспрессии генов, кодирующих репрессибельные и конститутивную фосфатазы, различна.

Анализ данных базы BIOGRID, в которой представлены физические и генетические взаимодействия для генов дрожжей-сахаромицетов, выявил интересные особенности регуляции генов *PHO*. Так как гены *PHO11* и *PHO12* были дублированы в составе фрагмента хромосомы, логично предположить, что их физические и генетические взаимодействия будут сходными. Тем не менее это не так. Для Pho11p идентифицировано 5 физических взаимодействий, выявленных с помощью методов масс-спектрометрии сопряженной с аффинной хроматографией. Pho11p взаимодействует с Bud5p (фактор обмена ГТФ/ГДФ для Bud1p, участвует в регуляции аксиального и биполярного почкования), с Gdh3p [НАДФ (+) — зависимая глутаматдегидрогеназа, участвует в синтезе глутамата из аммония и α -кетоглутаровой кислоты], Gus1p (глутамил-тРНК-синтетаза), Igc7p (β -лиаза, участвует в продукции тилолов) и Pho5p. Обнаружено три генетических взаимодействия — с мутациями в генах *EOS1* (продукт

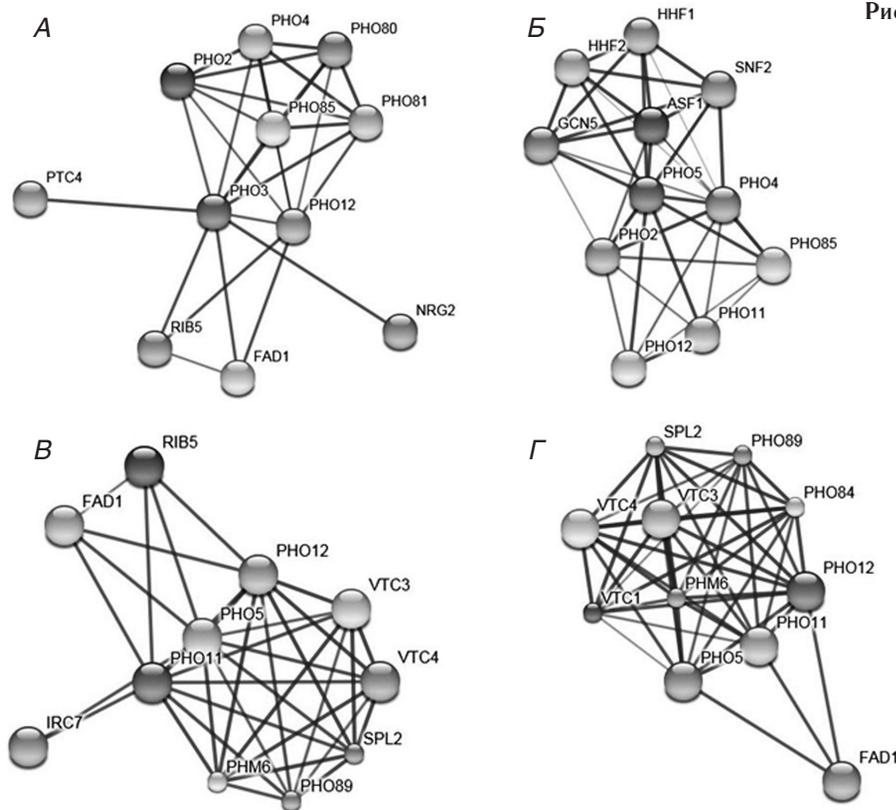


Рис. 2. Белок-белковые взаимодействия изоформ кислых фосфатаз (по данным базы STRING (<http://string-db.org/>)) (Franceschini et al., 2013)

- а) Белок-белковые взаимодействия Pho3p.
- б) Белок-белковые взаимодействия Pho5p.
- в) Белок-белковые взаимодействия Pho11p.
- г) Белок-белковые взаимодействия Pho12p.

участвует в N-гликозилировании), *RTF1* (субъединица РНК полимеразы II), *SLX5* (кодирует субъединицу комплекса убиквитинлигазы).

Для Pho12p обнаружено только два физических взаимодействия с белками Fzf1 — в двугибридной системе, и с Ser3p — с помощью масс-спектрометрии. Белок Fzf1 является транскрипционным фактором, который регулирует метаболизм сульфитов, а Ser3p (3-фосфоглицератдегидрогеназа), катализирует первый этап биосинтеза серина и глицина. Пять генетических взаимодействий обнаружено с генами *ATG32*, *MSS18*, *SSO2*, *YDJ1*, *YJR054W*. *ATG32* — кодирует митохондриальный трансмембранный рецептор, который участвует в деградации митохондрий при голодании; *MSS18* — кодирует белок, который участвует в сплайсинге митохондриальных интронов; *SSO2* кодирует гомолог синтаксина, необходим для слияния секреторных везикул; *YDJ1* (кошаперон I типа), участвует в регуляции шаперонов *Hsp90* и *Hsp70*; *YJR054W* — кодирует вакуолярный белок, функция которого пока неизвестна. Таким образом, на данном этапе даже самые близкие по происхождению гены *PHO11* и *PHO12* регулируются по-разному, и их продукты взаимодействуют с различными белками. *Pho11p* участвует в реакциях азотного метаболизма, а продукт гена *PHO12* связан с митофагией и созреванием митохондриальной РНК, а также с вакуолярными процессами. Возможно, дальнейшие исследования расширят представления о взаимодействующих белках.

Особенно интересно сравнение взаимодействий продуктов генов *PHO5* и *PHO3*, а также их генетических взаимодействий. Для гена *PHO5* и Pho5p идентифицировано 6 физических взаимодействий и 31 генетическое взаимодействие. Для гена *PHO3* и Pho3p — 1 физическое взаимодействие и 35 генетических. При этом среди генов, с которыми обнаружены позитивные и негативные взаимодействия, можно обнаружить только 2 перекрытия — это ген *NRG2*, кодирующий транскрипционный репрессор, который необходим для глюкозной катаболитной репрессии, а также ген *PTC4*, кодирующий цитоплазматическую 2C-протеинфосфатазу. Обнаружено физическое взаимодействие Pho5p с Atp3p (γ-субъединица компонента F1 митохондриальной F1F0 АТФ-синтазы), Vgl2p (эндо-β-глюканаза, основной белок клеточной стенки), Mpm1p (митохондриальный белок неизвестной функции), Pdi1p (протеиндисульфидизомераза), Pho11p (одна из 4 КФ), Swi3p (субъединица SWI/SNF хроматин — ремоделирующего комплекса). Для Pho3p обнаружено только одно взаимодействие — с Sbp1p. Полагают, что этот белок участвует в биогенезе малых ядрышковых РНК snR10 и snR11.

Белок-белковые взаимодействия продуктов генов *PHO*, доказанные экспериментально, представлены в базе данных STRING (<http://string-db.org/>) (Franceschini et al., 2013) (рис. 2). Как видно, существуют взаимодействия различных изоформ КФ с регуляторными белками *PHO*-системы. В то же время сле-

дует отметить наличие специфических взаимодействий для каждого из изоцимов. Сопоставление результатов, приводимых в различных базах данных, показывает их неполное соответствие, что может быть связано с различными методологическими подходами при создании баз данных. Окончательный вывод о существовании тех или иных белок-белковых взаимодействий может быть сделан на основании прямых экспериментальных данных.

Таким образом, анализ физических контактов различных изоцимов КФ выявил неперекрывающиеся взаимодействия с другими белками, которые и формируют их различные «круги общения». Семейство КФ дрожжей в процессе эволюции сохранило основную функцию — отщепление неорганического фосфата от широкого спектра субстратов, но в тоже время каждый из изоцимов работает в своей «экологической нише» в соответствии с изменяющимися условиями среды. Тот факт, что КФ секретируются в периплазматическое пространство, по-видимому, ослабляет давление естественного отбора (Christiaens et al., 2012).

В процессе эволюции все паралоги *PHO* сохранили способность дифференцировать различные источники углерода в среде. В регуляции транскрипции генов *PHO* участвует активатор транскрипции генов гликолиза *Gcr2p*; транскрипционный фактор *Adr1p*, обеспечивающий репрессию гена *ADH2* глюкозой. Кроме того, все паралоги могут регулироваться позитивным фактором азотного метаболизма *Gat4 p*, активатором стресс-ответа *Msn2 p*, регуляторами метаболизма фосфора, а также регулятором биосинтеза аминокислот *Gcn4p* и др. Таким образом, при дефиците фосфата клетка способна корректировать уровень экспрессии генов *PHO* в зависимости от углеводного и азотного состава среды (www.yeasttract.com).

Эволюция цис-регуляторных областей повлекла за собой вовлечение в регуляцию новых транскрипционных факторов. В процессе адаптации к разным условиям появилась возможность более тонкой регуляции, благодаря возникновению новых регуляторных последовательностей. У гена *PHO5* обнаруживается новый регулятор *Arg81p* — активатор генов, регулируемых аргинином. Появляется зависимость экспрессии *PHO5* от фактора *Gal4* на среде с галактозой, а также от *Pip2* — олеат-специфического транскрипционного активатора. Специфическими для *PHO11* являются транскрипционные факторы: *Oaf1* необходим при росте на олеате, *Rim101* обеспечивает адаптацию к щелочным условиям, *Ste12* контролирует инвазивный рост. В контроле *PHO12* участвует ТФ *Fzf1p*, регулирующий метаболизм сульфитов.

На экспрессию гена *PHO3* влияет репрессор углеводного метаболизма *Mig1*, что свидетельствует о том, что уровень кКФ может изменяться в зависимости от источника углерода. Специфическим для *PHO3* является фактор *Pdc2*, который необходим для экспрессии генов пируват-декарбоксилазы и генов, регулируемых тиаминном.

Эволюция за счет субфункционализации может быть связана с повышением запаса прочности генетической системы (Li, Johnson, 2010). Так, например, у сахаромисетов гены *SIR2* и *HST1* кодируют гистон-деацетилазы, имеющие неперекрывающиеся функции. Однако в случае делеции одного из генов, продукт другого способен компенсировать его отсутствие, что, безусловно, работает в пользу сохранения этой дубликации (Levasseur Pontarotti, 2011). В случае генов *PHO* у сахаромисетов не происходит изменения функции фермента, так как не происходит накопления мутаций в структурной части генов, есть перекрывание в регуляции экспрессии, что обеспечивает стабильность системы, однако появляются и индивидуальные особенности, которые расширяют адаптивные возможности клетки.

Расширение представлений о взаимодействиях белков в клетке и особенностях регуляции экспрессии генов позволит в дальнейшем расширить наши представления об эволюции паралога у эукариот.

Благодарности: Авторы признательны Дмитрию Музаеву и Андрею Румянцеву за помощь в оформлении статьи.

Работа поддержана грантами Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5345.2012.4, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 г. (Соглашение № 8045 от 20 июля 2012 г.); грантами программы развития СПбГУ по приоритетным направлениям: «Молекулярно-генетические механизмы адаптации микроорганизмов к стрессовым воздействиям»; «Взаимосвязь генетических и эпигенетических механизмов наследственности и изменчивости».

ЛИТЕРАТУРА

1. Савинов В. А., Самбук Е. В., Падкина М. В. (2007) **Природные и рекомбинантные фитазы микроорганизмов.** *Вестн. С.-Петерб. Ун-та.* Сер.3, Вып. 2. С. 66–75.
2. Abdulrehman D., Monteiro P. T., Teixeira M. C., et al. (2011) **YEASTRACT: providing a programmatic access to curated transcriptional regulatory associations in *Saccharomyces cerevisiae* through a web services interface.** *Nucl. acids res.* V. 39: P. D136–D140.
3. Albertin W., Marullo P. (2012) **Polyploidy in fungi: evolution after whole-genome duplication.** *Proc. Boil. sci.* V. 279: P. 497–509.
4. Almer A., Hörz W. (1986) **Nuclease hypersensitive regions with adjacent positioned nucleosomes mark the gene boundaries of the *PHO5/PHO3* locus in yeast.** *EMBO J.* V. 5: P. 2681–2687.
5. Bergman L. W., Stranathan M. C., Preis L. H. (1986) **Structure of the transcriptionally repressed phosphate-**

- repressible acid phosphatase gene (PHO5) of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. cell. biol.* V. 6: P. 38–46.
6. Carlson M., Celenza J.L., Eng F.J. (1985) Evolution of the dispersed SUC gene family of *Saccharomyces* by rearrangements of chromosome telomeres. *Mol. cell. biol.* V. 5: P. 2894–2902.
 7. Chatr-Aryamontri A., Breitkreutz B.-J., Heinicke S., et al. (2013) The BioGRID interaction database: 2013 update. *Nucl. acid. Res.* V. 41 (Database issue): D 816–23. doi: 10.1093/nar/gks1158.
 8. Christiaens J.F., Van Mulders S.E., Duitama J., et al. (2012) Functional divergence of gene duplicates through ectopic recombination. *EMBO Rep.* V. 13: P. 1145–1151.
 9. Cliften P.F., Fulton R.S., Wilson R.K., Johnston M. (2006) After duplication: gene loss and adaptation in *Saccharomyces* genome. *Genetics.* V. 172: P. 863–872
 10. De Steensma H.Y., de Jonge P., Kaptein A., Kaback D.B. (1989) Molecular cloning of chromosome I DNA from *Saccharomyces cerevisiae*: localization of a repeated sequence containing an acid phosphatase gene near a telomere of chromosome I and chromosome VIII. *Curr. genet.* V. 16: P. 131–137.
 11. Dong D., Yuan Z., Zhang Z., 2011. Evidences for increased expression variation of duplicate genes in budding yeast: from cis- to trans-regulation effects. *Nucl. acids res.* V. 39: P. 837–847.
 12. Fares M.A., Keane O.M., Toft C., et al. (2013) The roles of whole-genome and small-scale duplications in the functional specialization of *Saccharomyces cerevisiae* genes. *PLoS Genet.* V. 9: e1003176. doi: 10.1371/journal.pgen.1003176.
 13. Franceschini A., Szklarczyk D., Frankild S., et al. (2013) STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. *Nucleic Acids Res.* V. 1 (Database issue): D 808–815.
 14. Force A., Lynch M., Pickett F.B., et al. (1999) Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics.* V. 151: P. 1531–1545.
 15. Gregory P.D., Schmid A., Zavari M., Lui L., Berger S.L., Horz W. (1998) Absence of Gcn5 HAT activity defines a novel state in the opening of chromatin at the PHO5 promoter in yeast. *Mol. cell.* V. 1: P. 495–505.
 16. Harbison C.T., Gordon D.B., Lee T.I., et al. (2004) Transcriptional regulatory code of a eukaryotic genome. *Nature.* V. 431: P. 99–104.
 17. Hu Z., Killion P.J., Iyer V.R. (2007) Genetic reconstruction of a functional transcriptional regulatory network. *Nat Genet.* V. 39: P. 683–687.
 18. Hurles M. (2004) Gene duplication: the genomic trade in spare parts. *PLoS Biol.* V. 2: E206.
 19. Katju V., Farslow J.C., Bergthorsson U. (2009) Variation in gene duplicates with low synonymous divergence in *Saccharomyces cerevisiae* relative to *Caenorhabditis elegans*. *Genome Biol.* V. 10: R75. doi: 10.1186/gb-2009-10-7-r75.
 20. Kowalska E., Kozik A. (2008) The genes and enzymes involved in the biosynthesis of thiamin and thiamin diphosphate in yeasts. *Cell. mol. biol. lett.* V. 13: P. 271–282.
 21. Kroll K., Pätz V., Kniemeyer O. (2013) Elucidating the fungal stress response by proteomics. *J. Proteomics.* V. 10. doi: pii: S1874–3919 (13) 00315–1.
 22. Lau W., Schneider K.R., O’Shea E.K. (1998) A genetic study of signaling processes for repression of PHO5 transcription in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics.* V. 150: P. 1349–1359.
 23. Lau W.-T., Howson R.W., Malkus P., et al. (2000) Pho86p, an endoplasmic reticulum (ER) resident protein in *Saccharomyces cerevisiae* is required for ER exit of the high-affinity phosphate transporter Pho84p. *Proc. natl. acad. sci. USA.* V. 97: P. 1107–1112.
 24. Levasseur A., Pontarotti P. (2011) The role of duplications in the evolution of genomes highlights the need for evolutionary-based approaches in comparative genomics. *Biology direct.* V. 6: P. 11–23.
 25. Li H., Johnson A.D. (2010) Evolution of transcription networks—lessons from yeasts. *Curr. biol.* V. 20: P. 746–753.
 26. Lynch M., Conery J.S. (2000) The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science.* V. 290: P. 1151–1155.
 27. Mao C., Brown C.R., Griesenbeck J., Boeger H. (2011) Occlusion of regulatory sequences by promoter nucleosomes in vivo. *PLoS One.* V. 6: e17521. doi:10.1371/journal.pone.0017521.
 28. Meyhack B., Baiwa W., Rudolph H., Hinnen A. (1982) Two yeast acid phosphatase structural genes are the result of a tandem duplication and show different degrees of homology in their promoter and coding sequences. *EMBO J.* V. 1: P. 675–680.
 29. Mizunaga T., Izawa M., Ikeda K., et al. (1988) Secretion of an active nonglycosylated form of the repressible acid phosphatase of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of tunicamycin at low temperatures. *J. Biochem. (Tokyo).* V. 103: P. 321–326.
 30. Nishimura K., Yasumura K., Igarashi K., Harashima S., Kakinuma Y. (1999) Transcription of some PHO genes in *Saccharomyces cerevisiae* is regulated by spt7p. *Yeast.* V. 15: P. 1711–1717.
 31. Nosaka K., Nishimura H., Iwashima A. (1989) Identity of soluble thiamine-binding protein with thiamine repressible acid phosphatase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast.* V. 5: P. 447–451.
 32. Ohno S. (1993) Patterns in genome evolution. *Curr. Opin. Genet Dev.* V. 3: P. 911–914.
 33. Papp B., Pal C., Hurst L.D. (2003) Evolution of cis-regulatory elements in duplicated genes in yeast. *Trends in Genetics.* V. 19: P. 417–422

34. Sambuk E. V., Fizikova A. Y., Savinov V. A., Padkina M. V. (2011) **Acid phosphatases of budding yeast as a model of choice for transcription regulation research.** *Enzyme Res.*; 2011:356093. doi: 10.4061/2011/356093.
35. Shnyreva M. G., Petrova E. V., Egorov S. N., Hinnen A. (1996) **Biochemical properties and excretion behavior of repressible acid phosphatases with altered subunit composition.** *Microbiol. Res.* V. 151: P. 291–300.
36. Singleton C. K. (1997) **Identification and characterization of the thiamine transporter gene of *Saccharomyces cerevisiae*.** *Gene.* V. 15: P. 111–121.
37. Takashita H., Kajiwara Y., Shimoda M., et al. (2013) **Genetic instability of constitutive acid phosphatase in shochu and sake yeast.** *J. biosci. bioeng.* V. 116: P. 71–78.
38. Thill G. P., Kramer R. A., Turner K. J., Bostian K. A. (1983) **Comparative analysis of the 5'-end regions of two repressible acid phosphatase genes in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Mol. cell. biol.* V. 3: P. 570–579.
39. Toh-E A., Kakimoto S. (1975) **Genes coding for the structure of the acid phosphatases in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Mol. gen. genet.* V. 143: P. 65–70.
40. Tsai Z. T., Tsai H. K., Cheng J. H., et al. (2012) **Evolution of cis-regulatory elements in yeast de novo and duplicated new genes.** *BMC Genomics.* V. 13: P. 717–729.
41. Van Hoek M. J., Hogeweg P. (2009) **Metabolic adaptation after whole genome duplication.** *Mol. biol. eV.* V. 26: P. 2441–2453.
42. Venter U, Hörz W. (1989) **The acid phosphatase genes PHO10 and PHO11 in *S. cerevisiae* are located at the telomeres of chromosomes VIII and I.** *Nucleic acids res.* V. 17: P. 1353–1369.
43. Yona A. H., Manor Y. S., Herbst R. H., et al. (2012) **Chromosomal duplication is a transient evolutionary solution to stress.** *Proc. natl. acad. sci. U S A.* V. 109: P. 21 010–21 015.
- ✿ **REFERENCES (TRANSLITERATED)**
1. Savinov V. A., Sambuk E. V., Padkina M. V. **Natural and recombinant phytases of microorganisms.** *Vestnik SPbU.* V. 3, I. 2: P. 66–75.
 2. Abdulrehman D., Monteiro P. T., Teixeira M. C., et al. (2011) **YEASTRACT: providing a programmatic access to curated transcriptional regulatory associations in *Saccharomyces cerevisiae* through a web services interface.** *Nucl. acids res.* V. 39: P. D136–D140.
 3. Albertin W., Marullo P. (2012) **Polyploidy in fungi: evolution after whole-genome duplication.** *Proc. Boil. sci.* V. 279: P. 497–509.
 4. Almer A., Hörz W. (1986) **Nuclease hypersensitive regions with adjacent positioned nucleosomes mark the gene boundaries of the PHO5/PHO3 locus in yeast.** *EMBO J.* V. 5: P. 2681–2687.
 5. Bergman L. W., Stranathan M. C., Preis L. H. (1986) **Structure of the transcriptionally repressed phosphate-repressible acid phosphatase gene (PHO5) of *Saccharomyces cerevisiae*.** *Mol. cell. biol.* V. 6: P. 38–46.
 6. Carlson M., Celenza J. L., Eng F. J. (1985) **Evolution of the dispersed SUC gene family of *Saccharomyces* by rearrangements of chromosome telomeres.** *Mol. cell. biol.* V. 5: P. 2894–2902.
 7. Chatr-Aryamontri A., Breitkreutz B.-J., Heinicke S., et al. (2013) **The BioGRID interaction database: 2013 update.** *Nucl. acid. Res.* V. 41 (Database issue): D 816–23. doi: 10.1093/nar/gks1158.
 8. Christiaens J. F., Van Mulders S. E., Duitama J., et al. (2012) **Functional divergence of gene duplicates through ectopic recombination.** *EMBO Rep.* V. 13: P. 1145–1151.
 9. Cliften P. F., Fulton R. S., Wilson R. K., Johnston M. (2006) **After duplication: gene loss and adaptation in *Saccharomyces* genome.** *Genetics.* V. 172: P. 863–872
 10. De Steensma H. Y., de Jonge P., Kaptein A., Kackback D. B. (1989) **Molecular cloning of chromosome I DNA from *Saccharomyces cerevisiae*: localization of a repeated sequence containing an acid phosphatase gene near a telomere of chromosome I and chromosome VIII.** *Curr. genet.* V. 16: P. 131–137.
 11. Dong D., Yuan Z., Zhang Z., 2011. **Evidences for increased expression variation of duplicate genes in budding yeast: from cis- to trans-regulation effects.** *Nucl. acids res.* V. 39: P. 837–847.
 12. Fares M. A., Keane O. M., Toft C., et al. (2013) **The roles of whole-genome and small-scale duplications in the functional specialization of *Saccharomyces cerevisiae* genes.** *PLoS Genet.* V. 9: e1003176. doi: 10.1371/journal.pgen.1003176.
 13. Franceschini A., Szklarczyk D., Frankild S., et al. (2013) **STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration.** *Nucleic Acids Res.* V. 1 (Database issue): D 808–815.

DIVERGENCE IN EXPRESSION OF PHO3, 5, 11, 12 PARALOGUES YEASTS IS THE MECHANISM GUIDING THE EVOLUTION OF MULTIGENE FAMILIES

Sambuk E. V., Padkina M. V.

✿ **SUMMARY:** This review considers evolution of multigene families based on the example of the PHO gene family, which encodes acid phosphatases. An analysis of databases revealed that the divergence of regulation of structural genes transcription and their involvement in novel regulatory pathways, is the main direction in evolution of multigene families.

✿ **KEY WORDS:** acid phosphatase; multigene family; gene expression; evolution of duplicate genes.

14. Force A., Lynch M., Pickett F.B., et al. (1999) **Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations.** *Genetics*. V. 151: P. 1531–1545.
15. Gregory P.D., Schmid A., Zavari M., Lui L., Berger S.L., Horz W. (1998) **Absence of Gcn5 HAT activity defines a novel state in the opening of chromatin at the PHO5 promoter in yeast.** *Mol. cell*. V. 1: P. 495–505.
16. Harbison C.T., Gordon D.B., Lee T.I., et al. (2004) **Transcriptional regulatory code of a eukaryotic genome.** *Nature*. V. 431: P. 99–104.
17. Hu Z., Killion P.J., Iyer V.R. (2007) **Genetic reconstruction of a functional transcriptional regulatory network.** *Nat Genet*. V. 39: P. 683–687.
18. Hurles M. (2004) **Gene duplication: the genomic trade in spare parts.** *PLoS Biol*. V. 2: E206.
19. Katju V., Farslow J.C., Bergthorsson U. (2009) **Variation in gene duplicates with low synonymous divergence in *Saccharomyces cerevisiae* relative to *Caenorhabditis elegans*.** *Genome Biol*. V. 10: R75. doi: 10.1186/gb-2009-10-7-r75.
20. Kowalska E., Kozik A. (2008) **The genes and enzymes involved in the biosynthesis of thiamin and thiamin diphosphate in yeasts.** *Cell. mol. biol. lett*. V. 13; P. 271–282.
21. Kroll K., Pätz V., Kniemeyer O. (2013) **Elucidating the fungal stress response by proteomics.** *J. Proteomics*. V. 10. doi: pii: S1874–3919 (13) 00315–1.
22. Lau W., Schneider K.R., O’Shea E.K. (1998) **A genetic study of signaling processes for repression of PHO5 transcription in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Genetics*. V. 150: P. 1349–1359.
23. Lau W.-T., Howson R.W., Malkus P., et al. (2000) **Pho86p, an endoplasmic reticulum (ER) resident protein in *Saccharomyces cerevisiae* is required for ER exit of the high-affinity phosphate transporter Pho84p.** *Proc. natl. acad. sci. USA*. V. 97: P. 1107–1112.
24. Levasseur A., Pontarotti P. (2011) **The role of duplications in the evolution of genomes highlights the need for evolutionary-based approaches in comparative genomics.** *Biology direct*. V. 6: P. 11–23.
25. Li H., Johnson A.D. (2010) **Evolution of transcription networks—lessons from yeasts.** *Curr. biol*. V. 20: P. 746–753.
26. Lynch M., Conery J.S. (2000) **The evolutionary fate and consequences of duplicate genes.** *Science*. V. 290: P. 1151–1155.
27. Mao C., Brown C.R., Griesenbeck J., Boeger H. (2011) **Occlusion of regulatory sequences by promoter nucleosomes in vivo.** *PLoS One*. V. 6: e17521. doi:10.1371/journal.pone.0017521.
28. Meyhack B., Baiwa W., Rudolph H., Hinnen A. (1982) **Two yeast acid phosphatase structural genes are the result of a tandem duplication and show different degrees of homology in their promoter and coding sequences.** *EMBO J*. V. 1: P. 675–680.
29. Mizunaga T., Izawa M., Ikeda K., et al. (1988) **Secretion of an active nonglycosylated form of the repressible acid phosphatase of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of tunicamycin at low temperatures.** *J. Biochem. (Tokyo)*. V. 103: P. 321–326.
30. Nishimura K., Yasumura K., Igarashi K., Harashima S., Kakinuma Y. (1999) **Transcription of some PHO genes in *Saccharomyces cerevisiae* is regulated by spt7p.** *Yeast*. V. 15: P. 1711–1717.
31. Nosaka K., Nishimura H., Iwashima A. (1989) **Identity of soluble thiamine-binding protein with thiamine repressible acid phosphatase in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Yeast*. V. 5: P. 447–451.
32. Ohno S. (1993) **Patterns in genome evolution.** *Curr. Opin. Genet. Dev*. V. 3: P. 911–914.
33. Papp B., Pal C., Hurst L.D. (2003) **Evolution of cis-regulatory elements in duplicated genes in yeast.** *Trends in Genetics*. V. 19: P. 417–422.
34. Sambuk E.V., Fizikova A.Y., Savinov V.A., Padkina M.V. (2011) **Acid phosphatases of budding yeast as a model of choice for transcription regulation research.** *Enzyme Res.*; 2011:356093. doi: 10.4061/2011/356093.
35. Shnyreva M.G., Petrova E.V., Egorov S.N., Hinnen A. (1996) **Biochemical properties and excretion behavior of repressible acid phosphatases with altered subunit composition.** *Microbiol. Res*. V. 151: P. 291–300.
36. Singleton C.K. (1997) **Identification and characterization of the thiamine transporter gene of *Saccharomyces cerevisiae*.** *Gene*. V. 15: P. 111–121.
37. Takashita H., Kajiwara Y., Shimoda M., et al. (2013) **Genetic instability of constitutive acid phosphatase in shochu and sake yeast.** *J. biosci. bioeng*. V. 116: P. 71–78.
38. Thill G.P., Kramer R.A., Turner K.J., Bostian K.A. (1983) **Comparative analysis of the 5’-end regions of two repressible acid phosphatase genes in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Mol. cell. biol*. V. 3: P. 570–579.
39. Toh-E A., Kakimoto S. (1975) **Genes coding for the structure of the acid phosphatases in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Mol. gen. genet*. V. 143: P. 65–70.
40. Tsai Z.T., Tsai H.K., Cheng J.H., et al. (2012) **Evolution of cis-regulatory elements in yeast de novo and duplicated new genes.** *BMC Genomics*. V. 13: P. 717–729.
41. Van Hoek M.J., Hogeweg P. (2009) **Metabolic adaptation after whole genome duplication.** *Mol. biol. eV*. V. 26: P. 2441–2453.
42. Venter U., Hörz W. (1989) **The acid phosphatase genes PHO10 and PHO11 in *S. cerevisiae* are located at the telomeres of chromosomes VIII and I.** *Nucleic acids res*. V. 17: P. 1353–1369.

43. Yona A.H., Manor Y.S., Herbst R.H., et al. (2012) **Chromosomal duplication is a transient evolutionary solution to stress.** *Proc. natl. acad. sci. U S A.* V. 109: P. 21 010–21 015.

✉ Информация об авторах

Самбук Елена Викторовна — д. б. н., доцент, ведущий научный сотрудник. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: esambuk@mail.ru.

Sambuk Elena Viktorovna — Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: esambuk@mail.ru.

Падкина Марина Владимировна — ведущий научный сотрудник профессор. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: mpadkina@mail.ru.

Padkina Marina Vladimirovna — Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: mpadkina@mail.ru.