



УДК 577.214.(337+622)

## ХАРАКТЕРИСТИКА κДНК ГЕНА *rpa43<sup>+</sup>* *Schizosaccharomyces pombe*: СТРУКТУРНОЕ СХОДСТВО СУБЪЕДИНИЦЫ Rpa43 РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ I С СУБЪЕДИНИЦЕЙ Rpc25 РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ III

© 1999 г. Г. В. Шпаковский#, Е. К. Шематорова

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступило в редакцию 02.06.99 г. Принято к печати 24.06.99 г.

Выделена и охарактеризована полноразмерная κДНК гена *rpa43<sup>+</sup>* *Schizosaccharomyces pombe*, кодирующего одну из субъединиц ядерной РНК-полимеразы I. Ген содержит два интрона и расположен на хромосоме II. Сравнение выведенной из κДНК первичной структуры субъединицы Rpa43 (173 а. о.; M 19385 кДа; pI 5.36) *Sz. pombe* с аминокислотными последовательностями субъединиц A43 *Saccharomyces cerevisiae* и *Drosophila melanogaster* указывает на высокую степень дивергенции этого белка в эволюции, а сопоставление Rpa43 с другими белками из базы данных SwissProt позволило выявить определенную гомологию этой субъединицы с субъединицей Rpc25 РНК-полимеразы III, которая, как известно, имеет структурное сходство с субъединицей Rpb7 РНК-полимеразы II. Таким образом, вместе с этим новым тройственным семейством Rpa43 ↔ Rpc25 ↔ Rpb7 ядерные РНК-полимеразы I–III содержат по крайней мере 11 одинаковых и/или родственных субъединиц, что говорит об удивительном сходстве общего плана строения всех трех ферментов аппарата транскрипции эукариот. Более того, по крайней мере десять из одиннадцати отмеченных выше семейств субъединиц эукариотических РНК-полимераз имеют своих представителей в 13-ти субъединичной РНК-полимеразе архей.

**Ключевые слова:** делящиеся дрожжи; ядерные РНК-полимеразы I, II и III; ген *rpa43<sup>+</sup>*, субъединица Rpa43; классификация и номенклатура субъединиц, семейство Rpb7-Rpc25-Rpa43; надсемейство E субъединиц РНК-полимераз Archaea и Eucarya.

Три ядерные РНК-полимеразы (I, II и III) эукариотических организмов состоят из разного числа белковых субъединиц: в случае дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в состав РНК-полимеразы I входит 14 субъединиц, РНК-полимераза II состоит из 12 различных полипептидов и, наконец, в РНК-полимеразе III идентифицировано 17 разнородных компонентов [1, 2]. Охарактеризованы также все 12 субъединиц РНК-полимеразы II человека [3, 4] и делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* [5, 6; Г.В. Шпаковский и Г.М. Баранова, готовится к печати].

Многие из субъединиц РНК-полимераз I, II и III несомненно родственны друг другу. Пять субъединиц\*, Rpb5 (ABC27), Rpb6 (ABC23), Rpb8 (ABC14.5), Rpb10 (ABC10β) и Rpc10 (ABC10α), входят в состав всех трех ферментов – они так и называются общими [7–9]. Две другие субъединицы, Rpc19 (AC19) и Rpc40 (AC40), являются общими только для РНК-полимераз I и III [10, 11], од-

нако в РНК-полимеразе II им соответствуют во многих отношениях близкие субъединицы: соответственно Rpb11 (B12.5) и Rpb3 (B44) (см. [12, 13]). Последние четыре упомянутые субъединицы имеют сходство, в рамках так называемого α-мотива, с субъединицей α РНК-полимеразы бактерий [14, 15]. Родственны друг другу в каждой из трех РНК-полимераз эукариот и две самые большие субъединицы: Rpa1 (A190), Rpb1 (B220) и Rpc1 (C160) (все они гомологичны субъединице β' бактериальной РНК-полимеразы [16]), а также Rpa2 (A135), Rpb2 (B150) и Rpc2 (C128) (гомологи субъединицы β РНК-полимеразы бактерий [17]). И, наконец, в каждой из трех эукариотических РНК-полимераз присутствует малая субъединица (молекулярная масса ~11–13 кДа), связывающая ионы цинка: Rpa12 (A12.2) в РНК-полимеразе I [18], Rpb9 (B12.6) в РНК-полимеразе II [19] и недавно открытая Rpc11 (C11) в РНК-полимеразе III [2, 20].

Все эти десять семейств уникальных белков, являющихся субъединицами РНК-полимераз эукариот, были отмечены исследователями ранее (см. ссылки, данные выше). Более того, по край-

# Автор для переписки (тел.: (095) 330-65-83; e-mail: gvs@ibch.siobc.ras.ru; факс: (095) 335-71-03).

\* В скобках приведены названия по ранней номенклатуре см. [1].

Классификация субъединиц, родственных в РНК-полимеразах эукариот и архей\*

Надсемейство (субъединица РНК-полимеразы Archaea [21])	Субъединица ядерной РНК-полимеразы I Eucarya	Субъединица ядерной РНК-полимеразы II Eucarya	Субъединица ядерной РНК-полимеразы III Eucarya
A	Rpa1	Rpb1	Rpc1
B	Rpa2	Rpb2	Rpc2
D	<b>Rpc40</b>	Rpb3	<b>Rpc40</b>
E	Rpa43	Rpb7	Rpc25
H	<b>Rpb5</b>	<b>Rpb5</b>	<b>Rpb5</b>
K	<b>Rpb6</b>	<b>Rpb6</b>	<b>Rpb6</b>
-	<b>Rpb8</b>	<b>Rpb8</b>	<b>Rpb8</b>
L	<b>Rpc19</b>	Rpb11	<b>Rpc19</b>
M	<b>Rpc10</b>	<b>Rpc10</b>	<b>Rpc10</b>
N	<b>Rpb10</b>	<b>Rpb10</b>	<b>Rpb10</b>
X [22]	Rpa12	Rpb9	Rpc11

\* Жирным шрифтом выделены общие субъединицы ядерных РНК-полимераз эукариот.

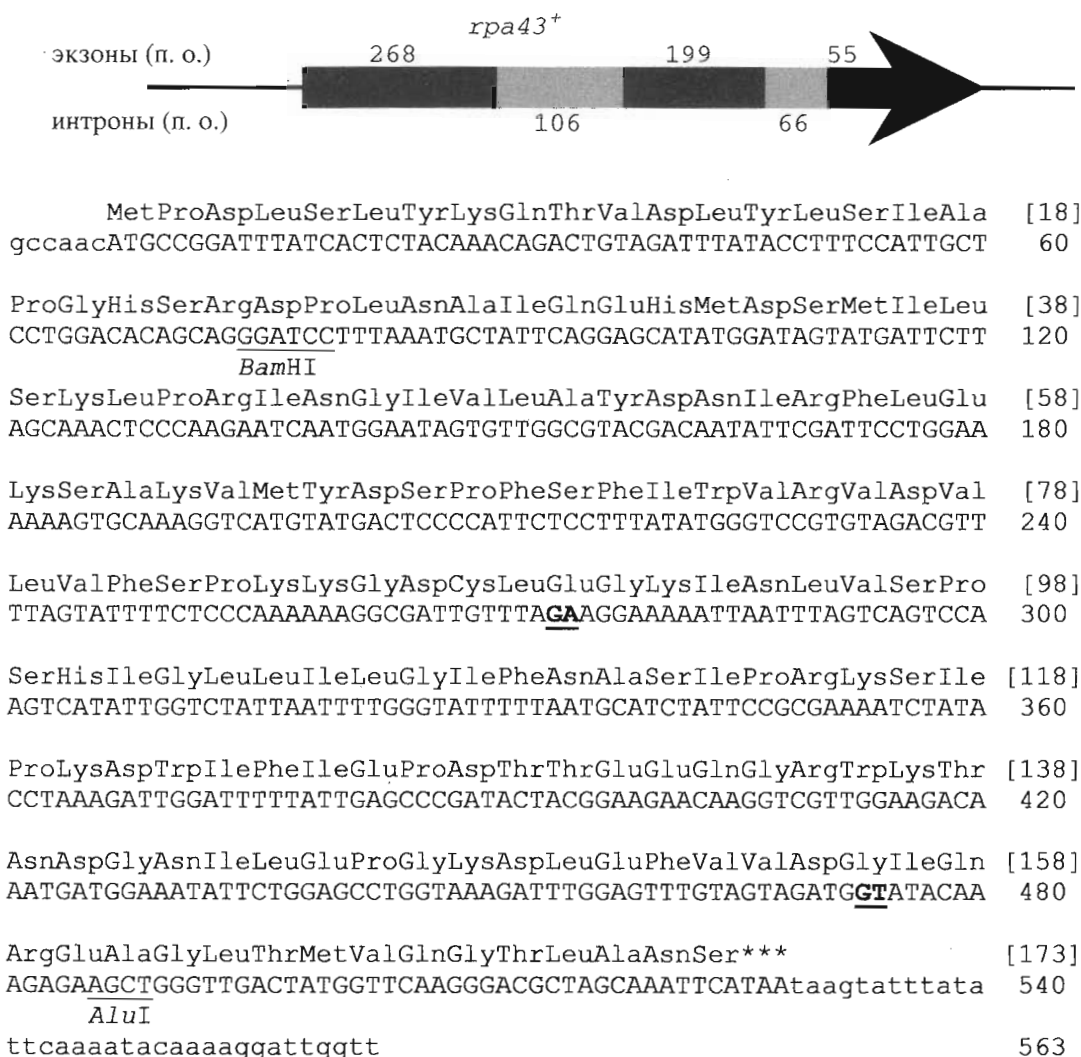
ней мере для восьми или девяти из этих семейств были найдены гомологи среди субъединиц РНК-полимеразы архея *Sulfolobus acidocaldarius*, аппарат транскрипции которого благодаря работам лаборатории Вольфрама Циллига (Мюнхен, Германия) изучен наиболее подробно из всех представителей надцарства Archaea [21]. Поэтому все упомянутые выше семейства (надсемейства), так же как и обсуждаемое ниже тройственное семейство, удобно классифицировать по названиям соответствующей субъединицы-прародителя из РНК-полимеразы архей на примере *Sul. acidocaldarius* (см. таблицу).

При характеристике субъединицы Rpc25 (C25) РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* было отмечено ее структурное сходство с субъединицей Rpb7 (B16), входящей в состав РНК-полимеразы II [23]. Однако третьего компаньона для этой пары субъединиц, несмотря на то, что были установлены первичные структуры всех 14 субъединиц РНК-полимеразы I *S. cerevisiae*, так и не было найдено. В настоящей работе мы показываем, что недостающим звеном для формирования полного тройственного надсемейства является субъединица Rpa43, которая в случае *Sz. pombe* имеет существенное сходство с субъединицей Rpc25.

Компьютерный анализ базы данных EMBL/GenBank (<http://www.ebi.ac.uk>) на присутствие гомологов субъединицы A43 *S. cerevisiae* [24] выявил гомологичную гену этой субъединицы нуклеотидную последовательность в составе космиды сЗВ9, секвенированной в Сэнгеровском центре (Великобритания, номер депонирования AL022070). Исходя из этой структурной информации были сконструированы специфические праймеры (5') CGGAATTTCGCGTCCCGCCAACATGCCG и (5') CGGGTACCAATCCTTTTGTATTTG, ис-

пользованные для поиска кДНК *rpa43*<sup>+</sup> в представительной клонотеке *Sz. pombe* [25] по методу последовательных разведений [26]. В результате был получен клон рESH2, содержащийся в первичном разведении № 6 (клон #6-2-4-2). Полное секвенирование вставки ДНК *Sz. pombe*, содержащейся в плазмиде рESH2, позволило установить первичную структуру полноразмерной кДНК *rpa43*<sup>+</sup>, сравнение которой с геномной последовательностью из космиды сЗВ9 показало, что ген, кодирующий субъединицу Rpa43 *Sz. pombe*, содержит два интрона длиной 106 и 66 нт (рис. 1). Присутствие интронов в гене *rpa43*<sup>+</sup> подтверждается также тем, что ПЦР со специфическими праймерами на матрице геномной ДНК *Sz. pombe* привела к более длинному продукту, ~750 п.о. вместо 580 п.о. (данные не приведены). На космидной карте генома *Sz. pombe* [27] космида сЗВ9, а значит и ген *rpa43*<sup>+</sup>, расположены на длинном плече хромосомы II, в районе маркерного гена *nda3*<sup>+</sup>.

В работе, посвященной характеристике специфической субъединицы A43 РНК-полимеразы I *S. cerevisiae* [24], отмечалось, что A43 не имеет существенной гомологии ни с одним белком из баз данных. Выведенная из первичной структуры обнаруженной нами кДНК последовательность нового белка *Sz. pombe* имеет несомненное сходство с субъединицей A43 РНК-полимеразы I *S. cerevisiae* (36% идентичности и 58% гомологии в интервале 144 а. о.), так что не приходится сомневаться, что клонирована кДНК гомологичной субъединицы из *Sz. pombe*. Интересно отметить, что несмотря на впечатляющие темпы секвенирования геномов в течение последних пяти лет (статья о субъединице A43 *S. cerevisiae* была опубликована в 1995 г.) только еще одну сходную рамку считывания, кодирующую, по-видимому, субъединицу A43



**Рис. 1.** Общая организация гена *rpa43+* *Sz. pombe*, нуклеотидная последовательность соответствующей кДНК и выведенная из нее аминокислотная последовательность субъединицы Rpa43 РНК-полимеразы I делящихся дрожжей. Приведены нумерация нуклеотидов и (в скобках) аминокислот; показаны уникальные участки узнавания рестриктаз. Три звездочки отмечен терминирующий кодон ТАА. Нуклеотиды кДНК, между которыми в гене *rpa43+* располагаются интроны, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

*Drosophila melanogaster* (номер депонирования AC004277), можно обнаружить в базах данных GenBank/EMBL (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

В ранней работе, посвященной биохимической характеристике РНК-полимеразы I из разных видов дрожжей, указывалось на возможное отсутствие полипептида, эквивалентного субъединице A43 *S. cerevisiae*, в препаратах РНК-полимеразы I *Sz. pombe* и *Candida tropicalis* ([28], см. также [1]). Однако такой вывод был сделан лишь на основании сходства молекулярных масс субъединиц как простом критерию гомологии. Из данных настоящей работы следует, что субъединица Rpa43 *Sz. pombe* (173 а.о.) в действительности гораздо короче белка A43 *S. cerevisiae* (326 а.о.) и вполне может соответствовать белку с молекулярной

массой 23 кДа в препаратах РНК-полимеразы I делящихся дрожжей (см. [28]). Более того, сравнение первичных структур гомологов субъединицы Rpa43 из *Sz. pombe*, *S. cerevisiae* и *D. melanogaster* показывает чрезвычайную дивергенцию этого белка в эволюции – на сегодняшний день это, пожалуй, самая вариабельная из всех субъединиц ядерных РНК-полимераз эукариот. Наиболее консервативная область – середина молекулы, в то время как N-конец может варьировать, а C-концевые последовательности трех обсуждаемых белков совершенно различны, причем только у субъединицы A43 из *S. cerevisiae* имеется протяженный C-концевой домен, обогащенный остатками глутаминовой и аспарагиновой кислот (рис. 2а).

(a)

Dm:		1	MAKILQKYIKFSVKELENYAS	21
			K K V +	
Sc:		1	MSQVKRANENRETARFIKHKHKQVTNPIDEKN	32
Dm:	22	SPESCVR	CITTDHMLAMG <b>P</b> YGMANFKHAL-HE---LLIRT <b>K</b> VGFYDSGLD <b>GIVL</b> GIKNIKVL	79
			P T D++L++ <b>P</b> + +A+ E +I <b>+K+</b> ++ <b>GIVL</b> NI+ <b>L</b>	
Sp:	1	MPDLSLYKQTV	DLYLSIAP <b>G</b> HRSRDLN <b>A</b> I-QEHMDSMIL <b>S</b> KL-PRINGIVLAYDNIRFL	57
			+ + + LY+S+ <b>A</b> P + +PL + ++H++ +++ <b>K</b> ++ <b>G+VL</b> Y+ ++ <b>L</b>	
Sc:	33	GTSNCIVRVPIALYVSLA <b>P</b> MYLENPLQGV <b>M</b> KQHLNPL <b>V</b> M- <b>K</b> YN---NKV <b>G</b> V <b>L</b> GYEGL <b>K</b> IL	89	
			<b>P</b> <b>K</b> <b>G VL</b> <b>L</b>	
Dm:	80	-----GQTAGLRAD <b>D</b> PTMHLVINAD <b>F</b> Y <b>V</b> FR <b>P</b> KAGAIL <b>S</b> GVV <b>R</b> HISRHHVSAVIYRV <b>F</b> NT <b>S</b> I	135	
			++A + <b>D P</b> + + D <b>V F P K G L G</b> + + <b>S H</b> + +I + <b>FN SI</b>	
Sp:	58	-----EKS <b>A</b> KVMY <b>D</b> SP <b>F</b> SFIWVRVD <b>V</b> LV <b>F</b> SP <b>K</b> KG <b>D</b> C <b>L</b> E <b>G</b> KINLVSP <b>S</b> HIGLLILGI <b>F</b> NAS <b>I</b>	113	
			EK K+ <b>D+P</b> F F W V++ <b>V+ P+ GD</b> <b>LEG I + S</b> SHIGLLI <b>FNASI</b>	
Sc:	91	DADPLSKEDTSEKLIKIT <b>P</b> D <b>T</b> P <b>F</b> GTWCHVNLY <b>V</b> W <b>Q</b> P <b>V</b> GD <b>V</b> LE <b>G</b> YIFIQ <b>S</b> ASHIGLLIHDA <b>F</b> NAS <b>I</b>	157	
			<b>D P</b> <b>V P G L G</b> <b>S H I FN SI</b>	
Dm:	136	RFTNQ <b>S</b> ASREDIAM <b>D</b> Q <b>E</b> IKIRIK <b>N</b> FDIS <b>N</b> LM-PYIEGELLENGEAPK <b>V</b> GHYLIK <b>K</b> QIDLI <b>A</b> F	197	
			+ I <b>D</b> + + <b>N++ P</b> + E++++ + + +	
Sp:	114	PRKSIPKDWIFIE <b>P</b> DT <b>T</b> EEQGRWKT <b>N</b> D <b>G</b> NI <b>L</b> EPGKDLEFVVDGIQ <b>R</b> EAGLTMVQ <b>G</b> TLANS	173	
			+ +IP DW F+ <b>D</b> E+ T++ <b>N</b> + +D + G + +	
Sc:	158	KKNNIPVDWTFVH <b>N</b> D <b>V</b> EEDADVINTDEN <b>N</b> GN <b>N</b> NNEDNKDSNGGS <b>N</b> SLG <b>K</b> FSFG <b>N</b> RS <b>L</b> GH <b>V</b> D <b>S</b>	220	
			<b>D</b> <b>N</b>	

гиперкислый C-концевой домен A43 (Sc):

Sc:	221	NGEPIDGKLRFTVRNVHTTGRVVSVDGTLISDADEEGNGYNSSRSQAESLPIVSNKKIVF	280
Sc:	281	DDEVSIENKESHKELDLPEVKEDNGSEIVYEENTSESNDGESSDSD	326

(б)

Rpa43 (Sp):	6	LYKQTV	DLYLSIAP <b>G</b> H-SRDPLN <b>A</b> I <b>Q</b> EHMDSMIL <b>S</b> KL-PRINGIVLAYDNIRFL <b>E</b> KS	60
			+ + DL + I <b>P</b> RD ++ <b>A</b> I +++ <b>+K+</b> P + + <b>YD</b> + <b>E</b>	
RPC25 (Sc):	3	ILSKIADL-VRI <b>P</b> D <b>Q</b> FHRDTIS <b>A</b> ITHQL <b>N</b> N <b>K</b> F <b>A</b> N <b>K</b> IIPNVGLCIT <b>I</b> Y <b>D</b> LLT <b>V</b> EE <b>G</b> Q	58	
Rpa43 (Sp):	64	<b>A</b> KVMY <b>D</b> SP <b>F</b> SFIWVRVD <b>V</b> LV <b>F</b> SP <b>K</b> KG <b>D</b> C <b>L</b> E <b>G</b> KINLVSP <b>S</b> HIGLLILGI <b>F</b> NAS <b>I</b> PR <b>K</b> S	117	
			<b>K</b> S S+I V + <b>V F P G</b> + + <b>G I</b> + + I + <b>+LGIF</b>	
RPC25 (Sc):	62	<b>L</b> K <b>P</b> GDGS--SYINVT <b>F</b> RA <b>V</b> <b>V</b> <b>F</b> <b>K</b> <b>P</b> <b>F</b> <b>L</b> <b>G</b> E <b>I</b> VT <b>G</b> W <b>I</b> SKCT <b>A</b> E <b>G</b> IK <b>V</b> SL <b>L</b> GI <b>F</b> DD <b>I</b> F----	109	
Rpa43 (Sp):	124	<b>I</b> PKDWIFIE <b>P</b> DT <b>T</b> EEQGRW	136	
			<b>I</b> P++ + <b>F</b> T E+ W	
RPC25 (Sc):	116	<b>I</b> P <b>Q</b> N <b>M</b> L <b>F</b> E <b>G</b> CY <b>T</b> P <b>E</b> ES <b>A</b> W	128	

**Рис. 2.** Структурное сходство субъединицы Rpa43 РНК-полимеразы I *Sz. pombe* с ее ортологами из других эукариот и со специфической субъединицей C25 РНК-полимеразы III *S. cerevisiae*. (a) Сравнение аминокислотных последовательностей субъединицы Rpa43 РНК-полимеразы I *Sz. pombe* (Sp) и ее гомологов из *S. cerevisiae* (Sc) [24] и *Drosophila melanogaster* (GenBank AC004277) (Dm); здесь и ниже – программа Advanced Gapped BLAST 2.0. Жирным шрифтом выделены инвариантные аминокислотные остатки. (б) Гомологичные участки аминокислотных последовательностей субъединиц Rpa43 РНК-полимеразы I *Sz. pombe* и RPC25 (C25) РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* [23]. Жирным шрифтом выделены аминокислотные остатки, консервативные также в субъединице A43 *S. cerevisiae*.

Обнаруженная нами гомология субъединицы Rpa43 РНК-полимеразы I *Sz. pombe* с субъединицей С25 РНК-полимеразы III *S. cerevisiae* показана на рис. 2б (26% идентичности и 45% гомологии в интервале 133 а. о.). Примерно такое же сходство Rpa43 имеет и с недавно идентифицированной нами субъединицей Rpc25 РНК-полимеразы III *Sz. pombe* (25% идентичности и 43% гомологии в интервале 143 а.о.; данные не приведены), что подтверждает неслучайный характер обнаруженной гомологичности обсуждаемых компонентов ядерных РНК-полимераз I и III (см. таблицу).

Тест на межвидовую комплементацию показал, что ген *rpa43+* *Sz. pombe* не способен замещать функцию гена-ортолога *RPA43* в клетках *S. cerevisiae*. В ходе этого эксперимента полноразмерная кДНК *rpa43+* *Sz. pombe* была перенесена в челночный вектор pGEN (*TRP1*) [3]. Полученной плазмидой pESH3 трансформировали гаплоидный штамм *S. cerevisiae* D101-4b (*MATa ade2-101 his3-Δ200 leu2-Δ1 lys2-801 trp1-Δ63 ura3-52 rpa43Δ::LEU2* [УСр43-6: *CEN URA3 RPA43*]), несущий на хромосоме нулевой аллель *rpa43Δ::LEU2*, при этом незаменимую для жизнедеятельности дрожжей функцию белка А43 поставляет аллель дикого типа из плазмиды УСрА43-6 (*URA3*) [24]. Полученные трансформанты дрожжей не растут на селективной среде с 5-FOA, т.е. не способны терять нативный ген *RPA43*, используя вместо него соответствующий ген *rpa43+* *Sz. pombe*. По-видимому, это может быть объяснено отсутствием в Rpa43 *Sz. pombe* гиперкислого домена субъединицы А43 (см. выше), который, как показано в работе [24], необходим для нормального функционирования этой субъединицы в клетках *S. cerevisiae*.

Rpa43 стала девятой субъединицей РНК-полимеразы I, охарактеризованной для *Sz. pombe*. Первой среди всех субъединиц РНК-полимераз I–III *Sz. pombe* была изучена субъединица Rpa1 [29, 30], нами идентифицированы и охарактеризованы семь субъединиц (Rpb5, Rpb6, Rpb8, Rpb10, Rpc10, Rpc19 и Rpc40), общих для ядерных РНК-полимераз I и III [3, 5, 26, 31–33]. Совсем недавно мы клонировали также кДНК *Sz. pombe*, гомологичные генам *RPA12* и *RPA49* *S. cerevisiae*, и показали, что кДНК *rpa12+* *Sz. pombe* способна комплементировать *in vivo* дефекты нулевого аллеля *rpa12-Δ::LEU2* *S. cerevisiae*. Таким образом, из компонентов РНК-полимеразы I на сегодняшний день у *Sz. pombe* остаются пока не идентифицированными только белки, гомологичные субъединицам RPA2 (A135), RPA34 (A34.5) и RPA14 (A14) *S. cerevisiae*.

Установленная в данной работе последовательность кДНК *rpa43+* *Sz. pombe* депонирована в GenBank под номером AF129106.

Настоящая работа частично финансирована грантом Государственной научно-технической

программы “Новейшие методы биоинженерии” (направление “Генная инженерия и трансгеноз”).

Авторы благодарны Пьеру Тюрью (Отдел биохимии и молекулярной генетики Центра атомной энергии в Сакле, Франция) за предоставление штамма D101-4b.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Thuriaux P., Sentenac A. // The Molecular and Cellular Biology of the Yeast *Saccharomyces*: Gene Expression / Eds J.R. Broach, J.R. Pringle, E.W. Jones. Cold Spring Harbor; N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992. V. II. P. 1–48.
2. Chedin S., Riva M., Schultz P., Sentenac A., Carles C. // *Genes Dev.* 1998. V. 12. P. 3857–3871.
3. Shpakovski G.V., Acker J., Wintzerith M., Lacroix J.-F., Thuriaux P., Vigneron M. // *Mol. Cell. Biol.* 1995. V. 15. P. 4702–4710.
4. Khazak V., Estojak J., Cho H., Majors J., Sonoda G., Testa J.R., Golemis E.A. // *Mol. Cell. Biol.* 1998. V. 18. P. 1935–1945.
5. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. // *Биоорг. химия.* 1997. Т. 23. С. 988–991.
6. Sakurai H., Kimura M., Ishihama A. // *Gene.* 1998. V. 221. P. 11–16.
7. Valenzuela P., Bell G.I., Weinburg F., Rutter W.J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1976. V. 71. P. 1319–1325.
8. Woychik N., Liao S.-M., Kolodziej P.A., Young R.A. // *Genes Dev.* 1990. V. 4. P. 313–323.
9. Carles C., Treich I., Bouet F., Riva M., Sentenac A. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 24092–24096.
10. Dequard-Chablat M., Riva M., Carles C., Sentenac A. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 15300–15307.
11. Mann C., Buhler J.-M., Treich I., Sentenac A. // *Cell.* 1987. V. 48. P. 627–637.
12. Woychik N.A., McKune K., Lane W.S., Young R.A. // *Gene Expr.* 1993. V. 3. P. 77–82.
13. Kolodziej P.A., Young R.A. // *Mol. Cell. Biol.* 1989. V. 9. P. 5387–5394.
14. Martindale D.W. // *Nucl. Acids Res.* 1990. V. 18. P. 2953–2959.
15. Lalo D., Carles C., Sentenac A., Thuriaux P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. V. 90. P. 5524–5528.
16. Allison L.A., Moyle M., Shales M., Ingles C.J. // *Cell.* 1985. V. 42. P. 599–610.
17. Sweetser D., Nonet M., Young R.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987. V. 84. P. 1192–1196.
18. Nogi Y., Yano R., Dodd J., Carles C., Nomura M. // *Mol. Cell. Biol.* 1993. V. 13. P. 114–122.
19. Woychik N.A., Lane W.S., Young R.A. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 19053–19055.
20. Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н. // *Биоорг. химия.* 1998. Т. 24. С. 877–880.
21. Lanzendorfer M., Langer D., Hain J., Klenk H.-P., Holz I., Arnoldhammer I., Zillig W. // *System. Appl. Microbiol.* 1994. V. 16. P. 656–664.
22. Kaine B.P., Mehr I.J., Woese C.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 3854–3856.

23. *Sadhale P.P., Woychik N.A.* // *Mol. Cell. Biol.* 1994. V. 14. P. 6164–6170.
24. *Thuriaux P., Mariotte S., Buhler J.-M., Sentenac A.* // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 24252–24257.
25. *Becker D.M., Fikes J.D., Guarente L.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 1968–1972.
26. *Shpakovski G.V.* // *Gene.* 1994. V. 147. P. 63–69.
27. *Hoheisel J.D., Maier E., Mott R., McCarthy L., Grigoriev A.V., Schalkwyk L.C., Nizetic D., Francis F., Lehrach H.* // *Cell.* 1993. V. 73. P. 109–120.
28. *Riva M., Buhler J.-M., Sentenac A., Fromageot P., Hawthorne D.C.* // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 4570–4577.
29. *Yamagishi M., Nomura M.* // *Gene.* 1988. V. 74. P. 503–515.
30. *Hirano T., Konoha G., Toda T., Yanagida M.* // *J. Cell Biol.* 1989. V. 108. P. 243–253.
31. *Шпаковский Г.В., Лебедеко Е.Н.* // *Биоорганическая химия.* 1996. Т. 22. С. 938–940.
32. *Шпаковский Г.В., Прошкин С.А., Каюшин А.Л., Коростелева М.Д., Лебедеко Е.Н.* // *Биоорганическая химия.* 1998. Т. 24. С. 119–125.
33. *Шпаковский Г.В., Шематорова Е.К.* // *Биоорганическая химия.* 1998. Т. 24. С. 933–937.

## Characterization of the *rpa43*<sup>+</sup> cDNA of *Schizosaccharomyces pombe*: Structural Similarity of Subunit Rpa43 of RNA Polymerase I and Subunit Rpc25 of RNA Polymerase III

G. V. Shpakovski<sup>#</sup> and E. K. Shematorova

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

We isolated and characterized full-length cDNA of the *rpa43*<sup>+</sup> gene encoding one of subunits of the nuclear RNA polymerase I of *Schizosaccharomyces pombe*. The gene contains two introns and is located on chromosome II. Comparison of the primary structure of the subunit Rpa43 of *Sz. pombe* (173 aa; *M* 19 385 Da; *pI* 5.36), deduced from the cDNA obtained, with the amino acid sequences of subunits A43 from *Saccharomyces cerevisiae* and *Drosophila melanogaster* demonstrates a high divergence of this protein in evolution. A comparison of the Rpa43 with other proteins from the SwissProt database revealed a similarity of this subunit to subunit Rpc25 of RNA polymerase III, which, as was shown previously, is structurally similar to subunit Rpb7 of RNA polymerase II. Thus, including the Rpa43 ↔ Rpc25 ↔ Rpb7 family, nuclear RNA polymerases I–III contain at least 11 identical and/or similar subunits. This fact illustrates a pronounced resemblance of the organization of all three enzymes of the eukaryotic transcription apparatus. Moreover, at least ten out of these eleven families of eukaryotic RNA polymerase subunits have homologues in the 13-subunit archaeal RNA polymerase.

*Key words:* fission yeast; nuclear RNA polymerases I, II and III; *rpa43*<sup>+</sup> gene; subunit Rpa43; subunit classification and nomenclature; Rpb7–Rpc25–Rpa43 family; superfamily E of the Archaea and Eucarya RNA polymerase subunits

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 330-6583; fax: +7 (095) 335-7103; e-mail: gvs@ibch.siobc.ras.ru.