



УДК 577.214.(337+622)

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ *grp19<sup>+</sup>* И *grp40<sup>+</sup>* *Schizosaccharomyces pombe*, КОДИРУЮЩИХ ОБЩИЕ СУБЪЕДИНИЦЫ ЯДЕРНЫХ РНК-ПОЛИМЕРАЗ I И III\*

© 1998 г. Г. В. Шпаковский<sup>#</sup>, 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 14.08.98 г. Принято к печати 20.08.98 г.

Из геномной и кДНК-клонотек *Schizosaccharomyces pombe* выделены и проанализированы полноразмерные кДНК и участки хромосом (~10 т.п.о.) с генами *grp19<sup>+</sup>* и *grp40<sup>+</sup>*, кодирующими общие субъединицы ядерных РНК-полимераз I и III. Установлено, что клонированные гены расположены соответственно на хромосомах I и II делящихся дрожжей, причем ген *grp40<sup>+</sup>* безынtronный, а ген *grp19<sup>+</sup>* содержит два интрана. Сопоставление выведенных из кДНК первичных структур субъединиц Rpc19 (125 а.о.; M 13722 кДа; pI 4.51) и Rpc40 (348 а.о.; M 39141 кДа; pI 5.40) *Sz. pombe* с ортологичными компонентами других эукариот позволило выявить наиболее консервативные структурнофункциональные домены этих белков.

**Ключевые слова:** делящиеся дрожжи; ядерные РНК-полимеразы I и III; гены *grp19<sup>+</sup>* и *grp40<sup>+</sup>*; субъединицы *Rpc19* и *Rpc40*;  $\alpha$ -мотив.

Аппарат транскрипции эукариотических организмов устроен гораздо сложнее, чем у прокариот, и состоит из трех ядерных РНК-полимераз (I, II и III) [3]. Каждый из этих трех ферментов организован вокруг сердцевины, включающей в себя субъединицы, родственные компонентам кора РНК-полимеразы бактерий ( $\alpha_2\beta'\beta$ ), а также набор из пяти субъединиц (Rpb5, Rpb6, Rpb8, Rpb10 и Rpc10), общих для всех трех РНК-полимераз. Структурными гомологами субъединиц  $\beta'$  и  $\beta$  бактериальной РНК-полимеразы у эукариот являются две самые большие субъединицы ядерных РНК-полимераз [3]. Роль же прокариотического гомодимера  $\alpha_2$  в эукариотических ферментах, по всей видимости, выполняют гетеродимер *Rpc40–Rpc19* в случае ферментов I и III [4] и гетеродимер *Rpb3–Rpb11* в случае РНК-полимеразы II [5, 6]. С целью изучения эволюционной консервативности этих компонентов РНК-полимераз I, II и III мы ранее клонировали ген *rpb11<sup>+</sup>*, кодирующий субъединицу РНК-полимеразы II *Sz. pombe* [7] и впоследствии показали, что он способен функционально замещать ген-ортолог (*RPB11*) в клетках *Saccharomyces cerevisiae*, хотя полученный штамм характеризуется замедленным ростом и выраженным *ts*-фенотипом\*\* (Г.В.Ш., не-

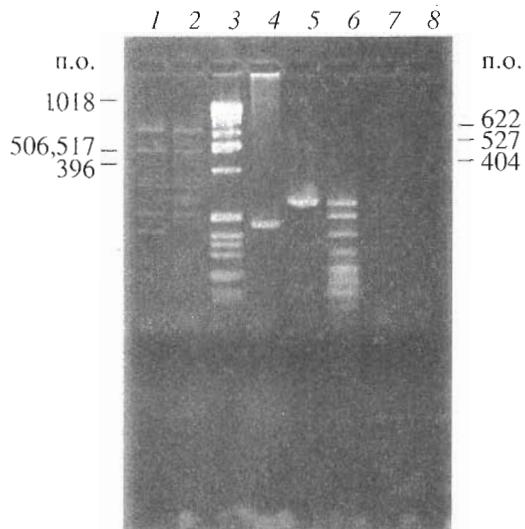
опубликованные данные). Настоящая работа посвящена клонированию и характеристике генов *Sz. pombe*, кодирующих две другие родственные белку  $\alpha$  субъединицы, *Rpc19* и *Rpc40*, входящие в состав ядерных РНК-полимераз I и III.

Компьютерный анализ базы данных GenBank/EMBL на присутствие гомологов субъединицы *RPC19 S. cerevisiae* [8] выявил гомологичную гену этой субъединицы нуклеотидную последовательность, описанную в качестве побочного продукта поиска генетических детерминант *Sz. pombe*, препятствующих (в случае их повышенной экспрессии с мультикопийных плазмид) нормальному расхождению хромосом [9]. Эта структурная информация позволила нам сконструировать специфические праймеры (см. подпись к рис. 1) для поиска кДНК *grp19<sup>+</sup>* в представительной клонотеке *Sz. pombe* [10]. Просеивание кДНК-клонотеки делящихся дрожжей, проведенное по методу последовательных разведений [11], привело к клону pESH38, содержавшемуся в первичном разведении № 18 (клон #18-2-1-6-38). ПЦР с теми же специфическими праймерами на матрице геномной ДНК *Sz. pombe*, а также на матрице первичного разведения Аб геномной клонотеки привела к более длинному продукту (620 п.о. вместо 460 п.о.), что указывает на присутствие в гене *grp19<sup>+</sup>* по крайней мере одного интрана (рис. 1). Полное секвенирование вставки ДНК *Sz. pombe*, содержащейся в плазмиде pESH38, позволило установить первичную структуру полноразмерной кДНК *grp19<sup>+</sup>* и

\* Результаты данной работы были частично представлены ранее [1, 2].

\*\* *ts* – термочувствительный.

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



**Рис. 1.** Анализ продуктов ПЦР со специфическими для *grp19<sup>+</sup>* праймерами (5')CAGCTAGCGACATGGCG-GCAATGACAG и (5')CAGCTAGCTAACTGCAGCT-GATGGAATG на матрицах ДНК первичных разведений A4, A5, A6, A7 и A8 геномной клонотеки [12] (1, 2, 5, 7, 8) и ДНК pESH38 в качестве положительного контроля (4); маркеры молекулярной массы – 1 Kb DNA Ladder (BRL) (3) и ДНК pBR322/MspI (6). Слева и справа приведены, соответственно, длины некоторых маркерных фрагментов из (3) и (6). Гель-электрофорез в 1.5% агарозе в ТВЕ-буфере.

устранить неоднозначности в последовательности, депонированной в публикации [9] (рис. 2).

С целью выяснения общей организации, экзон-инtronной структуры и хромосомной локализации гена *grp19<sup>+</sup>*, мы выделили также геномный клон. Дальнейшее просеивание дающего положительный ПЦР-сигнал первичного разведения Ab привело к плазмиде pYUL23 (A6-5-2-23), несущей фрагмент ДНК *Sz. pombe* длиной около 11 т.п.о. Секвенирование этой плазмиды с использованием уже упоминавшихся специфических праймеров показало, что ген состоит из трех экзонов и двух инtronов, а секвенирование обоих концов вставки *Sz. pombe* с помощью праймеров вектора клонотеки (#1224 и #1233, New England Biolabs, США) позволило установить хромосомную локализацию *grp19<sup>+</sup>* и выявить некоторые из близлежащих генов. Выяснилось, что pYUL23 содержит с одного из концов вставки более 4.5 т.п.о. из космиды c22H12 (секвенируется в Сенгеровском центре, Великобритания, <http://www.sanger.ac.uk>), несущей участок ДНК *Sz. pombe* с генами *rgd1* и *rps1* (EMBL/GenBank X55360). Обе эти последовательности, а значит и расположенный в том же фрагменте ДНК ген *grp19<sup>+</sup>*, принадлежат длинному плечу хромосомы I *Sz. pombe* (см. [13, 14]).

Сравнение первичных структур ортологов субъединицы Rpc19 из *Sz. pombe*, *S. cerevisiae*, *Arabidopsis thaliana* и *Mus musculus* (рис. 3) показы-

вает, что наиболее консервативной областью является так называемый  $\alpha$ -мотив (см. [4]), в то время как N- и C-концы белков вариабельны. Ранее нами было установлено, что ген *AiRPAC14* из арабидопсиса не способен замещать функцию ген-ортолога в клетках *S. cerevisiae* (Г.В. Шпаковский, М. Виньeron и П. Тюрьо, неопубликованные данные). Дальнейшие эксперименты покажут, обладает ли такой способностью описываемый в этой статье ген из *Sz. pombe*, имеющий более высокую гомологию с *RPC19* из *S. cerevisiae* (соответственно 58 и 35% идентичности).

Фрагменты открытой рамки считывания, высокогомологичные гену *RPC40* *S. cerevisiae*, были обнаружены нами в нуклеотидной последовательности космиды c1289 *Sz. pombe*, секвенируемой в Сенгеровском центре. Исходя из этой структурной информации были сконструированы специфические праймеры (5')CATGCTAGCAAAATGGCAGCGGTTGAC и (5')AGGCTAGCAAGTAGTGATTGAAAACC, использованные для просеивания геномной и кДНК-клонотек. С помощью ПЦР на ДНК изолированных из этих клонотек индивидуальных клонов и частичного их секвенирования было доказано, что ген *grp40<sup>+</sup>* *Sz. pombe* не содержит инtronов. Полное секвенирование кодирующей части гена из плазмиды pYUL18 (A11-3-2-18) позволило определить первичную структуру субъединицы Rpc40 делящихся дрожжей *Sz. pombe* (348 а.о.; M 39141 кДа; pI 5.40), приведенную на рис. 4 в сопоставлении с последовательностями субъединицы *RPC40* *S. cerevisiae* [16] и *RPA40* *M. musculus* [17]. Как видно из приведенных данных, структура субъединиц-ортологов консервативна на всем протяжении белковой цепи (56 и 50% идентичности), причем можно выделить три наиболее консервативных района, включая  $\alpha$ -мотив.

В EMBL/GenBank мы обнаружили неполную (участок 5-348 а.о.) последовательность Y10542, почти идентичную нашей (всего лишь три нуклеотидные и одна аминокислотная замены). Авторы описывают ее как мРНК 40-кДа субъединицы РНК-полимераз I и III китайского хомячка (*Cricetulus griseus*), однако почти полная идентичность ортологичных субъединиц mRPA40 мыши и hRPA39 человека и их существенное отличие от обсуждаемой последовательности (рис. 4) свидетельствуют об ошибочности этого отнесения.

Секвенирование концевых участков вставки ДНК *Sz. pombe* из плазмиды pYUL18 (использовались праймеры #1224 и #1233) показало, что они соответствуют фрагментам космиды c1289. В соответствии с космидной картой генома *Sz. pombe* [18], это означает, что ген *grp40<sup>+</sup>* *Sz. pombe* расположен в контиге 9 на длинном плече хромосомы II, недалеко от ее правой теломеры.

Идентификация субъединиц Rpc19 и Rpc40 в данной работе завершает характеристику всех

gctgtttcatagaagttcgctgtatcttctttttataaaaataaaacttagac	59
MetAlaAlaMetThrAspValThrAspProSerSerValAlaMetGluSerAlaThrGlu ATGGCGGCAATGACAGACGTAACAGATCCTAGCTCAGTTGCTATGGAATCTGCAACTGAA	[20] 119
LysIleIleIleLeuProGlyHisSerAlaGluLeuThrSerValThrPheGlnIleGln AAAATAATTATCCTCCTGGTCATTCTGCTGATCTTACATCTGTGACATTCAAATTCAA	[40] 179
LysGluAspHisThrLeuGlyAsnSerLeuArgTyrValIleMetLysAsnProGluVal AAAGAGGACCATA <u>C</u> CTAGGCAATTCTCGCTATGTCATTATGAAAAATCCTCAGGTT	[60] 239
GluPheCysGlyTyrSerIleProHisProSerGluAlaLysMetAsnPheArgIleGln GAGTTTGC <del>GG</del> TACTCCATCCCACATCCATCTGAAGCAAAATGAATTTCGAATT <u>C</u> AG EcoRT	[80] 299
ThrAlaProSerThrThrAlaValAspValLeuArgLysGlyLeuAspAspLeuIleAsp ACAGCACCTCAACAACCGCTGTAGATGTTAAGAAAAGGGCTCGATGATTGATTGAC	[100] 359
LeuCysAspAlaValThrGluLysPheThrGluGlnLeuProArgAspThrSerThrThr CTTTGTGATGCGGTTACAGAAAAATTACTGAACAACTCCTAGAGATA <u>C</u> ATCTACTACC	[120] 419
MetGluValAspGly***	<i>Swa</i> I
ATGGAGGTTGATGGATA <u>A</u> atttggttat <u>t</u> ttgttcccttgactttcc <u>catttaaa</u> t <u>tct</u>	[125] 479
<i>Pst</i> I	
atcattccat <u>cag</u> <u>ctgcag</u> tttagcaggtaatattggcatttcaattccattaaagg <u>t</u>	539
cggtaaa <u>a</u> tt <u>gtt</u> aa <u>agg</u> ag <u>aga</u> <u>aa</u> <u>t</u> actttat <u>ttt</u> gttaggg <u>t</u> atgggt <u>tg</u> ct <u>actt</u> <u>a</u>	599
aa <u>att</u> <u>t</u> q <u>at</u> <u>gtt</u> ttat <u>ttt</u> tt <u>aaaaaaa</u>	628

**Рис. 2.** Нуклеотидная последовательность кДНК *grp19<sup>+</sup>* *Sz. pombe* и выведенная из нее аминокислотная последовательность субъединицы *Rpc19* РНК-полимераз I и III. Приведены нумерация нуклеотидов и (в скобках) аминокислот; отмечены уникальные участки узнавания рестриктаз и расхождения с депонированной последовательностью [9]. Тремя звездочками отмечен терминирующий кодон ТАА.

<i>A. thaliana</i>		1	MEHGS	5
<i>S. cerevisiae</i>	1	MTEDIEQKKTATEVTPQEPKHIQEEEEQDVDMTGDEEQEEEPDREKIKLLTQAT D+T E EKI + L		54
<i>Sz. pombe</i>		1 MAAMTDVTDPSSVAMESATEKIIIILP-GH ++ + E + +		28
<i>M. musculus</i>		1 MEDDQELERKISGLKTSMAEGERKTALEMVQAA		33
6	FTNVSHASF'TLSEEDHTLANAVRFVVLNQDPRTVVAAYTIPHPSLEQVNIRVQTTGD-PAREVFKDAC + ASF + EEDHTL NA+R+V+ + P V Y+IPHPs +NIR+QT G+ A + +			71
55	SEDTGSASFQIIVEEDHTLGNALRYVIMKRNPDVEFCGYSIPHPSSENLLNIRIQTYGETTAVDALQKGL S D TS + FQI +EDHTLGN+LRYVIMKRNPDVEFCGYSIPHPS +N RIQT TTAVD L+KGL			121
29	SADITSVTFQIQKEDHTLGNLRLYVIMKRNPEVEFCGYSIPHPSAEAKMNFRIQTAPSTTAVDVLRKGL D VTF + +EDHTLGN LRY+IMKNPEVEFCGY+ HPSE+K+N RIQT + AV+ +KGL			95
34	GTDRQCVTFLHEEDHTLGNCLRYIIMKNPEVEFCGYTTTHPSESINKLRIQTRGALPAVEPFQKGL			100
72	QELMQMNRHVRSVFDKAVA EYKDEQKRKEEAE EEEELKRQRDLFGSMDIENN ++LM + V S F + +			122
122	KDLMDLCDVVESKFTEKIKSM DL+DLCD V KFTE++			142
96	DDLIDLCDAVTEKFTEQLPRDTSTTMEVDG ++L+++C V KF + +			125
101	NELLNVCOHVVLVKFEASIKDYKAKKASKKEPTF			133

**Рис. 3.** Сравнение аминокислотных последовательностей субъединицы Rpc19 РНК-полимераз I и III *Sz. pombe* и ее ортологов из *S. cerevisiae* [8], *M. musculus* (GenBank D86609) и *A. thaliana* (GenBank U35050); здесь и ниже – программа Advanced Gapped BLAST 2.0 [15]. Жирным шрифтом отмечен консервативный  $\alpha$ -мотив.

<i>S. cerevisiae</i>	1	MSNIVGIEYNRTNTTSTDFFGFSKDAEENWNVEKFKKDFEVNISSLDAREANFDLINIDTSIA	64
		+ + + RVT+ S DFPG+ D + N W+++KFKK+ V+I+SLD F++ ID SIA	
<i>Sz. pombe</i>	1	MAAVDRSRTESVLSDRVTDVGSDFFPGYYFDEDNIWDLDFKKNLKVSISSLQETMVFEISGIDASIA	70
		AV+ RT + + V + V + DFPG Y D+ WD ++F+KN +V + +D+ +T+ F++ GIDA+IA	
<i>Mm</i>	1	MGCTRLVSMMAAAQAVEEMRTRVVLGEFGVRNVHHTDFPFGNYAGYDDAWDQRNFKEKNFRVGVVQMDDETLFDMVGIDAAIA	82
<i>Hs</i>	1	MAASQAVEEMRSRVVLFEGFVRNVHHTDFPFGNYSGYDDAWDQRNFKEKNFRVDVVHMDENSLEFDMVGIDAAIA	73
<hr/>			
$\alpha$ -МОТИВ			
	65	NAFRRI <del>M</del> SEVPSVAAEYVYFFNNNTSVI <del>Q</del> DEVLAHRIGLVP <del>L</del> KVDPMLTWVD <del>S</del> NLPDDEK-FTDENTIV	133
		NAFRRI+I+E+P++A E+VY NNTS+IQDEVL+HRIGLVP+ DPDM W LP E TD +T+V	
	71	NAFRRI <del>L</del> I <del>A</del> E IPTLAFEFVIIINNTS <del>I</del> IQDEVLSH <del>R</del> IGLVP <del>I</del> SADPDMFKWFQHPLPGQEATHTDYDTVV	140
		NAFRRI <del>L</del> +A +PT+A E V + NNTS+QDE+L+HR+GL+PI ADP +F++ E T+ DT+	
<i>M. musculus</i>	83	NAFRRI <del>L</del> LLARVPTMAVEKVLVYNNNTSIVQDE <del>I</del> LAHRLGLIP <del>I</del> ADPRLFEYRNQG---EEEGTEIDTLQ	150
<i>H. sapiens</i>	74	NAFRRI <del>L</del> LLAEVPTMAVEKVLVYNNNTSIVQDE <del>I</del> LAHRLGLIP <del>I</del> ADPRLFEYRNQG---DEEGTEIDTLQ	141
<hr/>			
	134	LSLNVKCTRNP <del>D</del> APKGSTDPKELYNNAHVYARDLK <del>F</del> EPQRQSTTFADCPVVPADPDILLAKLRPGQEIS	203
		SLN KC N +A DPK LY N+ VY+ DL +PQRQ FAD P+ +PDI++AKLRPGQEIS	
	141	FSLNKCEFNKNAATDEKDPKRLYVNSEVYSGD <del>I</del> WKPQRQEERFADNP <del>I</del> RVNPDIVVAKLRPGQEID	210
		F L +C N NAA D DP LYVN +VY+ + W P G Q + F + IR V+ DI++A+LRPGQEID	
	151	FRLQVRCTRNPNAAKDSSDPNELYVNHKVYTRHMTWVPLGNQADVFPEGTIRPVHDDILIAQLRPGQEID	220
	142	FRLQVRCTRNP <del>H</del> A <del>K</del> DSSDPNELYVNHKVYTRHMTW <del>I</del> PLGNQAD <del>I</del> LFPEGTIRPVHDDILIAQLRPGQEID	211
<hr/>			
	204	LKAHCILGIGGDHAKFSPV <del>T</del> ASYRLLPQINILQPKIGESARRFQKCFCPPGVIGIDE <del>G</del> SD--EAYVKDA	270
		L+AH ILGIG DHAKFSPV+T SYRLLP I+IL PI+GE A +FQKCFP GVI ++EG D +A V D	
	211	LEAHAILLGIGGDHAKFSPV <del>T</del> ASYRLLP <del>T</del> I <del>H</del> ILSPIEGEDAVKFQKCFCPKGVIELEEGPDGKQCARADV	280
		L H + GIG+DHAKFSPV <del>T</del> SYRLLP J +L P+E <del>G</del> A + +CF GVIE+EE GKK ARVA+	
	221	LMMHCVKGIGKD <del>H</del> AKFSPV <del>T</del> ASYRLLP <del>A</del> ITILEPVEGEAAEELSQCFS <del>P</del> GVIEVE-VQGKKVARVANA	289
	212	LMMHCVKGIGKD <del>H</del> AKFSPV <del>T</del> ASYRLLP <del>D</del> ITLLEPVEGEAAEELSQCFS <del>P</del> GVIEVE-VQGKKVARVANP	280
<hr/>			
	271	RKDTVSREVLRYEEFADKV <del>K</del> GRVRNHFIFNVESAGAMTPEEI <del>F</del> FKSVRILK <del>N</del> KA <del>E</del> YLKNCPITQ	336
		RKDTVSRE LR+ EFADKV+LG <del>R</del> VR+H++F+VES G M P+ +F KS+ +LK+K +K+	
	281	RKDTVSRECLRHPEFADKVQLGRVRDHYLFSVESTGIMKPDVLFIKSIAVLKSKCLAVKSSLQNISSD	348
		R DT SRE RH + V+L RVRDHY+FSVESTG++ PDVL ++I +L KC L + D	
	290	RLDTFSRE IFRHEKLKKAVRLARVRDHYI <del>F</del> SVESTGVLPPDV <del>L</del> VSEAIKILMGKRRFLDELDAVEMD	356
	281	RLDTFSRE IFR <del>N</del> EKLKK <del>V</del> RLARVRDHYI <del>F</del> SVESTGVLPPDV <del>L</del> SEA <del>I</del> KVLMGKRRFLDELDAVQMD	347

**Рис. 4.** Сравнение аминокислотных последовательностей субъединицы Rpc40 РНК-полимераз I и III *Sz. pombe* и ее ортологов из *S. cerevisiae* [16], *M. musculus* (*Mm*, mRPA40) [17] и *Homo sapiens* (*Hs*, hRPA39; GenBank AF008442). Жирным шрифтом отмечены наиболее консервативные участки; в аминокислотной последовательности hRPA39 человека подчеркнуты отличия от последовательности mRPA40 мыши.

семи общих субъединиц ядерных РНК-полимераз делящихся дрожжей *Sz. pombe*. Установленные последовательности депонированы в GenBank под номерами AF079779 (кДНК *rpc19<sup>+</sup>* *Sz. pombe*) и AF082512 (ген *rpc40<sup>+</sup>* *Sz. pombe*).

Настоящая работа частично финансирована грантами Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 96-04-49867) и Государственной научно-технической программы “Новейшие методы биоинженерии” (направление “Генная и клеточная инженерия”).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Шпаковский Г.В., Лебеденко Е.Н. // Цитология. 1996. Т. 39. С. 122–123.
- Shpakovski G.V., Proshkin S.A., Shematorova E.K., Lebedenko E.N. // Abstracts of papers presented at the 3rd EMBL Meeting on Transcription, Heidelberg, 1998. P. 222.
- 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.
- Lalo D., Carles C., Sentenac A., Thuriaux P. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. V. 90. P. 5524–5528.
- Pati U.K. // Gene. 1994. V. 145. P. 289–292.
- Ulmashov T., Larkin R.M., Guilfoyle T.J. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 5085–5094.
- Шпаковский Г.В., Лебеденко Е.Н. // Биоорган. химия. 1997. Т. 23. С. 988–991.
- Dequard-Chablat M., Riya M., Carles C., Sentenac A. // J. Biol. Chem. 1991. V. 266. P. 15300–15307.
- Javerzat J.P., Cranston G., Allshire R.C. // Nucl. Acids. Res. 1996. V. 24. P. 4676–4683.
- Becker D.M., Fikes J.D., Guarente L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. P. 1968–1972.

11. Shpakovski G.V. // Gene. 1994. V. 147. P. 63–69.
12. Weaver D.C., Shpakovski G.V., Caputo E., Levin H.L., Boeke J.D. // Gene. 1993. V. 131. P. 135–139.
13. 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.
14. Lehmann A.R., Walicka M., Griffiths D.J., Murray J.M., Watts F.Z., McCready S., Carr A.M. // Mol. Cell. Biol. 1995. V. 15. P. 7067–7080.
15. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D. // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. P. 3389–3402.
16. Mann C., Buhler J.-M., Treich I., Sentenac A. // Cell. 1987. V. 48. P. 627–637.
17. Song C.Z., Hanada K., Yano K., Maeda Y., Yamamoto K., Muramatsu M. // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 26976–26981.
18. Mizukami T., Chang W.I., Garkavtsev I., Kaplan N., Lombardi D., Matsumoto T., Niwa O., Kounosu A., Yanagida M., Marr T.G., Beach D. // Cell. 1993. V. 73. P. 121–132.

## Molecular Cloning and Characterization of the *rpc19<sup>+</sup>* and *rpc40<sup>+</sup>* Genes of *Schizosaccharomyces pombe* Encoding Subunits Shared by Nuclear RNA Polymerases I and 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*

Full-length copies of cDNAs of the *rpc19<sup>+</sup>* and *rpc40<sup>+</sup>* genes encoding the common subunits of nuclear RNA polymerases I and III and the corresponding fragments of chromosomes were isolated from genomic and cDNA libraries of *Schizosaccharomyces pombe* and characterized. It was established that the cloned genes are located on chromosomes III and II of the fission yeast, respectively. The *rpc40<sup>+</sup>* gene lacks introns, and the *rpc19<sup>+</sup>* gene contains two intervening sequences. The comparison of subunits Rpc19 (125 aa; *M* 13 722 Da; pI 4.51) and Rpc40 (348 aa; *M* 39 141 Da; pI 5.40) of *Sz. pombe*, whose characteristics were deduced from the sequences of their cDNAs, with the orthologous components of other eukaryotes allowed the most conserved structure-functional domains of these proteins to be identified.

**Key words:** fission yeast, nuclear RNA polymerases I and III, *rpc19<sup>+</sup>* and *rpc40<sup>+</sup>* genes, subunits Rpc19 and Rpc40,  $\alpha$ -motif

<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.