

## ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ $\alpha$ -ГЛЮКОЗИДАЗ MAL И IMA МЕЖДУНАРОДНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* S288C

© 2019 г. **Г. И. Наумов<sup>a</sup>**, А. Н. Боровкова<sup>a, b</sup>, А. В. Шнырева<sup>b</sup>, Е. С. Наумова<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов  
Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, Москва, 117545, Россия

<sup>b</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, кафедра микологии и альгологии,  
Москва, 119991, Россия

\*e-mail: lena\_naumova@yahoo.com

Поступила в редакцию 18.07.2018 г.

После доработки 27.08.2018 г.

Принята к публикации 02.10.2018 г.

Принимая во внимание общепринятую концепцию полной дубликации генома (ПДГ) у дрожжей рода *Saccharomyces*, проведен сравнительный анализ множественных  $\alpha$ -глюкозидаз MAL и IMA генетической линии *Saccharomyces cerevisiae* S288C и  $\alpha$ -глюкозидаз протоплоидных (геномы которых не прошли дубликации) дрожжей родов *Kluuyveromyces* и *Lachancea*. Показано, что только некоторые изоформы MAL и IMA дрожжей *Kluuyveromyces* и *Lachancea* находятся в близком филогенетическом родстве с  $\alpha$ -глюкозидазами MAL12, MAL32 и IMA1–IMA4 дрожжей *S. cerevisiae* S288C, тогда как другие более близки дивергентной IMA5. Полученные результаты согласуются с концепцией ПДГ, согласно которой дрожжи *Saccharomyces*, *Kluuyveromyces* и *Lachancea* возникли от общего протоплоидного предка и поэтому могут иметь общие близкородственные  $\alpha$ -глюкозидазы MAL и IMA. Уровень сходства аминокислотных последовательностей изомальтаз IMA1–IMA4 дрожжей *S. cerevisiae* S288C и изомальтаз *L. dasiensis*, *L. fantastica*, *L. fermentati*, *L. lanzarotensis*, *L. meyersii*, *L. quebecensis*, *L. thermotolerans* составляет 75–100%, мальтазы MAL этих же видов идентичны на 75–99%. При этом  $\alpha$ -глюкозидазы MAL и IMA независимо дивергировали в каждом роде, виде и даже штамме.

**Ключевые слова:** *Saccharomyces cerevisiae*, гены MAL и IMA, дубликация генома, изомальтаза, мальтаза, протоплоид, филогения  $\alpha$ -глюкозидаз

DOI: 10.1134/S0026365619010075

Генетическая линия *Saccharomyces cerevisiae* S288C была первым эукариотическим организмом, у которого определили полную нуклеотидную последовательность генома (Goffeau et al., 1996), который в настоящее время является международным ресурсом (*Saccharomyces* Genome Database, SGD <http://www.yeast-genome.org>). Гены, представленные в геноме этих дрожжей, приняты в качестве референсных для распознавания и изучения генов различных эукариотических организмов.

Генетика ферментации  $\alpha$ -глюкозида мальтозы, важной для производства хлеба, кваса, пива, пищевого и технического спирта, имеет большое фундаментальное и прикладное значение. Так, у эукариотических микроорганизмов опероноподобная структура впервые была обнаружена на примере мальтозных полимерных (множественных) локусов MAL, состоящих из одного регуляторного и двух структурных генов: пермеазы

мальтозы и  $\alpha$ -глюкозидазы мальтазы (Needleman et al., 1984; Наумов, Юркевич, 1985).

Биохимический и генетический анализы показали, что существуют два типа родственных  $\alpha$ -глюкозидаз у дрожжей *S. cerevisiae* (семейство GH13, международная классификация CAZY <http://www.cazy.org>). Один тип (мальтаза, К.Ф. 3.2.1.20) отвечает за гидролиз и ферментацию  $\alpha$ -1,4-глюкозидов (мальтозы и туранозы), а второй (изомальтаза/ $\alpha$ -метилглюкозидаза, К.Ф. 3.2.1.10) — за гидролиз и ферментацию  $\alpha$ -1,6-глюкозидов ( $\alpha$ -метилглюкозида и изомальтозы) (Наумов, Наумов, 2012; Deng et al., 2014). Оба фермента имеют также общие субстраты: сахарозу и паранитрофенил- $\alpha$ -D-глюкопиранозид. Международный проект (Goffeau et al., 1996) по секвенированию и аннотированию генома генетической линии *S. cerevisiae* S288C позволил обнаружить, наряду с известными мальтазными генами MAL12 и MAL32, новое близкородственное им семейство

изомальтазных генов *IMA1–IMA5* (Наумов, Наумов, 2010; Brown et al., 2010; Teste et al., 2010). Уровень идентичности аминокислотных последовательностей известных мальтаз MAL12, MAL32, MAL62 и изомальтаз IMA1–IMA4 не превышает, соответственно, 99 и 92%, а между собой они имеют 71% идентичных аминокислотных остатков. Изомальтаза IMA5 имеет только 60–66% идентичных аминокислотных остатков с представителями обоих типов  $\alpha$ -глюкозидаз.

В литературе имеются только неполные данные об эволюции  $\alpha$ -глюкозидаз, депонированных в международных генетических базах (Наумов, Наумов, 2010; Naumoff, 2010; Brown et al., 2010; Teste et al., 2010). Цель нашего сообщения — установить происхождение  $\alpha$ -глюкозидаз IMA и MAL дрожжей *S. cerevisiae* S288C.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изученные штаммы дрожжей и их происхождение приведены в табл. 1. Поиск гомологичных  $\alpha$ -глюкозидаз (мальтаз и изомальтаз) у изученных видов дрожжей проводили в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) с помощью программы BLAST. В качестве запроса использовали полную аминокислотную последовательность мальтазы MAL12 (регистрационный номер в GenBank YGR292W) дрожжей *S. cerevisiae* S288C длиной 589 а.о. Частичные последовательности белков не использовали.

Для определения генетического родства изученных видов дрожжей был применен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей домена D1/D2 26S рДНК (600 п.н.). Множественные выравнивания изученных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводили вручную, используя программу BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Филогенетические деревья строили методом ближайших соседей (Neighbor-Joining) в программе MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружение множественных родственных  $\alpha$ -глюкозидаз IMA и MAL позволило изучать их филогенетику. Была определена суммарная копияность этих генов в геномах различных дрожжей: *S. cerevisiae* — 8, *Lachances (Saccharomyces) kluyveri* — 5, *Scheffersemyces (Pichia) stipitis* — 5, *Lachancea (Kluyveromyces) thermotolerans* — 4, *Kluyveromyces lactis* — 3, *Debaryomyces hansenii* — 2, *Candida albicans* — 2 и *Schizosaccharomyces pombe* — 1 (Brown et al., 2010; Naumoff, 2010; Teste et al., 2010). У различных штаммов *S. cerevisiae* в разном количестве и комбинациях были идентифицированы пять мальтазных генов: MAL12, MAL22, MAL32, MAL42 и MAL62 (Needleman et al., 1984).

Филогенетическое родство  $\alpha$ -глюкозидаз дрожжей *L. thermotolerans* и *L. kluyveri*, наиболее важных и близких *S. cerevisiae*, не было изучено. Показано только, что одна и две  $\alpha$ -глюкозидазы, соответственно, *L. thermotolerans* и *L. kluyveri*, содержат в субстрат-специфичном диагностическом сайте трипептид Val216-Gly-Ser (Teste et al., 2010). Последний характерен для изомальтаз, тогда как для мальтаз — Thr-Ala-Gly (Наумов, Наумов, 2010; Yamamoto et al., 2004). Сайт-направленный мутагенез подтвердил важность остатка Val216 для субстратной специфичности дрожжевой изомальтазы (Yamamoto et al., 2004).

На рис. 1 представлено построенное нами филогенетическое древо аминокислотных последовательностей  $\alpha$ -глюкозидаз MAL и IMA. Для сравнительного анализа мы взяли известные мальтазы MAL12 (регистрационный номер в GenBank YGR292W), MAL32 (YBR299W) и изомальтазы IMA1–IMA5 (соответственно, YGR287C, YOL157C, YIL172C, YJL221C, YJL216C) дрожжей *S. cerevisiae* S288C, а также  $\alpha$ -глюкозидазы их ближайших и дальних родственников. Диагностические сайты Val216-Gly-Ser и Thr-Ala-Gly позволили дифференцировать изомальтазы и мальтазы всех изученных дрожжей, кроме дивергентных мальтаз, которые представлены у *Schi. pombe* (NP\_595063.1) и *D. hansenii* (DEHA2E00528p). Филогенетический анализ аминокислотных последовательностей  $\alpha$ -глюкозидаз продемонстрировал существование нескольких изолированных кластеров (рис. 1). Отдельное положение на древе занимают мальтазы представителей неблизкородственных *S. cerevisiae* родов дрожжей: *Schi. pombe*, *D. hansenii* и *Schef. stipitis*. Обратим внимание, что *D. hansenii* обладает двумя дивергентными мальтазами: 46% идентичности. Уровень сходства аминокислотных последовательностей мальтазы DEHA2A13882p с мальтазами дрожжей *Schef. stipitis* составляет 70–72%, тогда как мальтаза DEHA2E00528p более сходна с мальтазой филогенетически неродственных дрожжей *Schi. pombe*.

$\alpha$ -Глюкозидазы *S. cerevisiae*, *K. lactis*, *K. dozhanskii* и десяти видов *Lachancea* образовали отдельный кластер со 100%-ной достоверностью. Среди  $\alpha$ -глюкозидаз этих дрожжей выделяется хорошо обособленный кластер (бутстреп 98%), который включает два субкластера также с высокими поддержками (100%). Первый объединяет изомальтазы IMA1–IMA4 дрожжей *S. cerevisiae* S288C и изомальтазы *L. dasiensis*, *L. fantastica*, *L. fermentati*, *L. lanzarotensis*, *L. meyersii*, *L. quebecensis*, *L. thermotolerans*, уровень сходства аминокислотных последовательностей которых составляет 75–100%. Во втором субкластере объединились мальтазы MAL этих 7 видов и *L. mirantina*, идентичные на 75–99%. Сходство указанных изомальтаз и мальтаз ниже: 68–72%.

**Таблица 1.** Происхождение изученных штаммов дрожжей

Штамм	Вид	Источник выделения	$\alpha$ -Глюкозидазы (IMA, MAL)	Название белка или регистрационный номер в GenBank
<i>Saccharomyces</i>				
S288C	<i>S. cerevisiae</i>	Генетическая линия	IMA1	YGR287C
			IMA2	YOL157C
			IMA3	YIL172C
			IMA4	YJL221C
			IMA5	YJL216C
			MAL32	YBR299W
			MAL12	YGR292W
<i>Kluyveromyces</i>				
NRRL Y-1140	<i>K. lactis</i>	Сливки, США	MAL	KLLA0D00231p
			MAL	KLLA0_B00242g
CBS 2104	<i>K. dobzhanskii</i>	<i>Drosophila pseudoobscura</i> , США	MAL	CDO93416.1
<i>Lachancea</i>				
CBS 10888	<i>L. dassiensis</i>	Листья папоротника <i>Angiopterisly godiiifolia</i> , Тайвань	IMA	LADA_0G16754g1_1
			IMA	LADA_0F00320g1_1
			MAL	LADA_0G16688g1_1
			MAL	LADA_0H04346g1_1
CBS 6924	<i>L. fantastica</i>	Почва, Южная Африка (Претория)	IMA	LAFA_0F00782g1_1
			MAL	LAFA_0E00188g1_1
			MAL	LAFA_0D17568g1_1
CBS 6772	<i>L. fermentati</i>	Безалкогольные напитки, Южная Корея	IMA	LAFE_0G01134g1_1
			IMA	LAFE_0A00254g1_1
			MAL	LAFE_0G01090g1_1
CBS 3082	<i>L. kluyveri</i>	<i>Drosophila pinicola</i> , США	IMA	SAKL0A00154p
			IMA	SAKL0C00176p
			MAL	SAKL0A05698p
			MAL	SAKL0A05654p
			MAL	SAKL0C02112p
CBS 6340	<i>L. thermotolerans</i>	Кондитерские изделия, консервы Мирабель, Россия	IMA	KLTH0B00308p
			MAL	KLTH0E17006p
			MAL	KLTH0G19470p
			MAL	KLTH0H05324p
CBS 8951	<i>L. meyersii</i>	Морская вода (мангровые заросли), Багамские острова	IMA	LAME_0A00232g1_1
			MAL	LAME_0D11342g1_1
			MAL	LAME_0C08394g1_1
CBS 11611	<i>L. nothofagi</i>	Сокотечение <i>Nothofagus</i> , Аргентина	IMA	LANO_0G18272g1_1
			MAL	LANO_0F01354g1_1

Таблица 1. Окончание

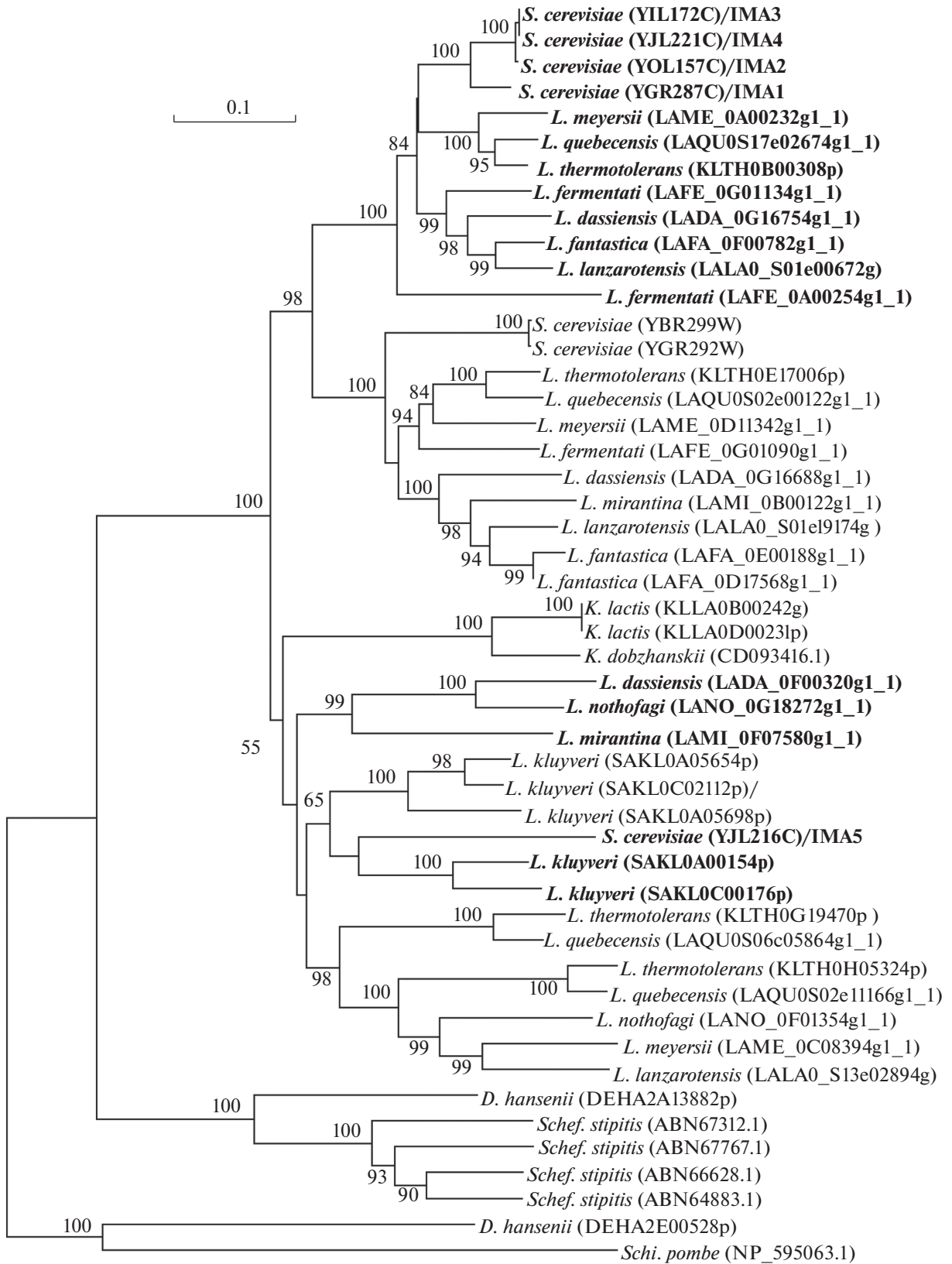
Штамм	Вид	Источник выделения	$\alpha$ -Глюкозидазы (IMA, MAL)	Название белка или регистрационный номер в GenBank
CBS 11717	<i>L. mirantina</i>	Кашаса (“Бразильский ром”), Бразилия	IMA	LAMI_0F07580g1_1
			MAL	LAMI_0B00122g1_1
			MAL	LAMI_0F07646g1_1
CBS 12615	<i>L. lanzarotensis</i>	Виноград, Канарские острова, Испания	IMA	LALAO_S01e00672g
			MAL	LALAO_S01e19174g
			MAL	LALAO_S13e02894g
CBS 14138	<i>L. quebecensis</i>	Кора клена, Канада	IMA	LAQU0S17e02674g1_1
			MAL	LAQU0S06e05864g1_1
			MAL	LAQU0S02e00122g1_1
			MAL	LAQU0S02e11166g1_1
<i>Debaryomyces</i>				
CBS 767	<i>D. hansenii</i>	Неизвестно	MAL	DEHA2A13882p
			MAL	DEHA2E00528p
<i>Scheffersomyces</i>				
CBS 6054	<i>Schef. stipitis</i>	Фруктовые деревья, личинки насекомых, Франция	IMA	ABN65252.1
			MAL	ABN67312.1
			MAL	ABN67767.1
			MAL	ABN66628.1
			MAL	ABN64883.1
<i>Schizosaccharomyces</i>				
CBS 7264	<i>Schi. pombe</i>	Виноградный сок, Швеция	MAL	NP_595063.1

Примечание. Сокращенные названия коллекций: CBS – The Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Утрехт, Нидерланды; NRRL – USDA-ARS Culture Collection, National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, США. T – типовая культура.

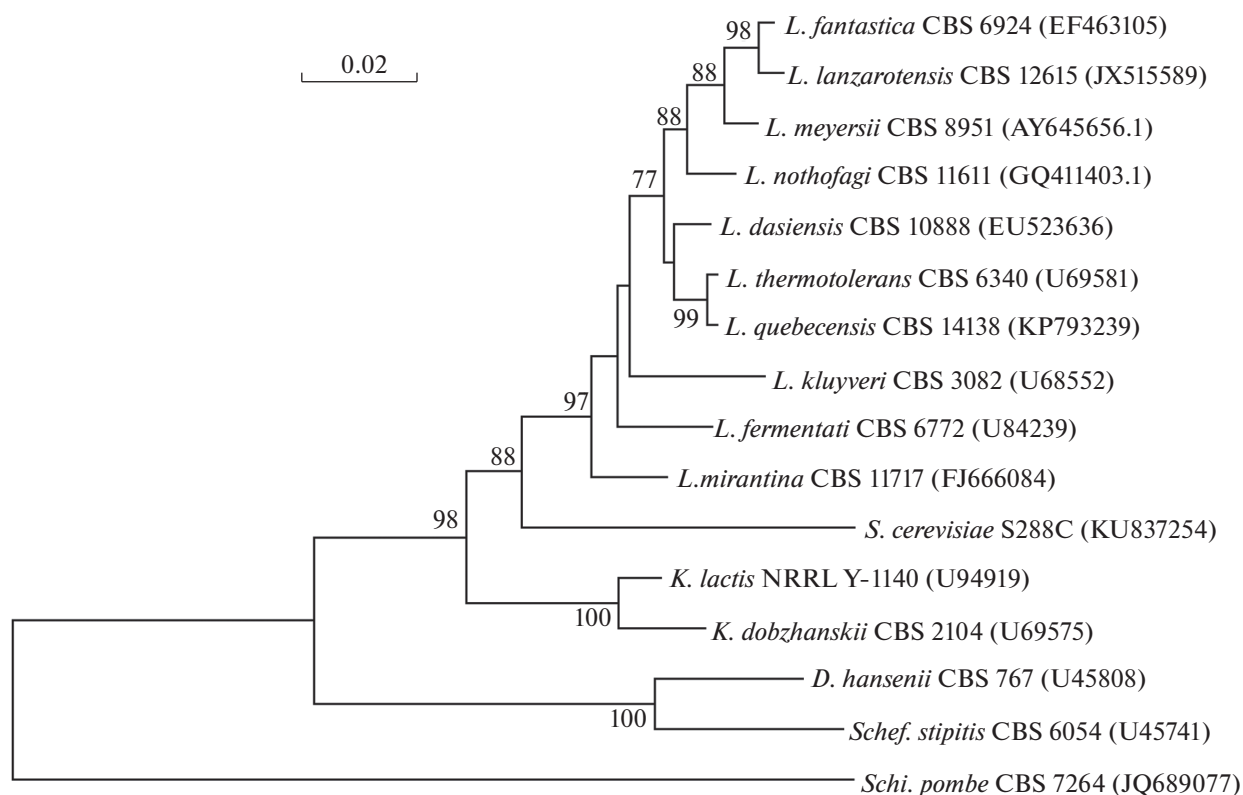
В гетерогенной группе (бутстреп 55%), наряду с мальтазами MAL и изомальтазами IMA дрожжей *K. lactis*, *K. dobzhanskii*, *L. dasiensis*, *L. kluyveri*, *L. lanzarotensis*, *L. meyersii*, *L. mirantina*, *L. nothofagi*, *L. quebecensis*, и *L. thermotolerans*, мы обнаруживаем изомальтазу IMA5 дрожжей *S. cerevisiae* S288C. В целом, уровень идентичности входящих в эту группу  $\alpha$ -глюкозидаз значительно ниже, чем в первом кластере (57–88%). Наибольшее сходство имеют изомальтазы (SAKL0A00154p, SAKL0C00176p) и мальтазы (SAKL0A05698p, SAKL0A05698p и SAKL0C02112p) дрожжей *L. kluyveri*, соответственно, 88 и 73–79%. Сопоставимый уровень сходства имеет также изомальтаза IMA5 *S. cerevisiae* и две изомальтазы *L. kluyveri*: 70–72%. Наиболее дивергентными оказались изомальтазы LADA\_0F00320g1\_1 дрожжей *L. dasiensis*, *L. nothofagi* (LANO\_0G18272g1\_1) и *L. mirantina* (LAMI\_0F07580g1\_1), аминокислотные последовательности которых идентичны на 73–83%,

а уровень сходства с остальными  $\alpha$ -глюкозидазами этого кластера составил 57–64%. Необходимо отметить, что у первых двух изомальтаз в диагностическом триplete Val216-Gly-Ser произошла замена Ser на Gly: Val216-Gly-Gly, тогда как у LAMI\_0F07580g1\_1 – произошла замена Gly на Ala: Val216-Ala-Gly. Следует отметить, что все обнаруженные  $\alpha$ -глюкозидазы *L. fantastica* попали в первый кластер, тогда как  $\alpha$ -глюкозидазы *L. kluyveri*, *L. nothofagi*, *K. lactis* и *K. dobzhanskii* обнаружены только во втором.  $\alpha$ -Глюкозидазы остальных восьми изученных видов *Lachancea* распределились между двумя кластерами.

Современная классификация аскомицетовых дрожжей основана на филогенетическом анализе ряда молекулярных маркеров, прежде всего домена D1/D2 гена 26S рДНК (около 600 п.н.). Обширная компьютерная база данных GenBank по нуклеотидным последовательностям домена D1/D2



**Рис. 1.** Филогенетическое древо α-глюкозидаз дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* S288C и родственных им видов родов *Lachancea* (*L.*) и *Kluyveromyces* (*K.*). Приводятся значения бутстрепа не менее 50%. Шкала соответствует 100 заменам на 1000 аминокислотных остатков. В скобках указан регистрационный номер α-глюкозидаз в GenBank. Изомальтазы, в отличие от мальтаз, помечены жирным шрифтом. В качестве внешней группы использованы мальтазы дрожжей *Debaryomyces hansenii* и *Schizosaccharomyces pombe*.



**Рис. 2.** Филогенетическое древо нуклеотидных последовательностей домена D1/D2 26S рДНК дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* S288C и родственных их родов *Lachancea* (*L.*) и *Kluyveromyces* (*K.*). Приводятся значения бутстрепа не менее 70%. Шкала соответствует 20 заменам на 1000 нуклеотидных остатков. В скобках указан регистрационный номер D1/D2-последовательностей в GenBank. В качестве внешней группы использованы дрожжи *Schizosaccharomyces pombe*.

широко используется для определения таксономического положения новых штаммов. На рис. 2 представлено филогенетическое древо нуклеотидных последовательностей домена D1/D2 26S рДНК анализируемых дрожжей. Со 100%-ной достоверностью выделяется кластер, объединяющий дрожжи *S. cerevisiae* S288C и 10 видов рода *Lachancea*, *K. lactis* NRRL Y-1140 и *K. dobzhanskii* CBS 2104. Их дальние родственники, *Schi. pombe*, *D. hansenii* и *Schef. stipitis*, занимают отдельное положение на филогенетическом древе. Следует отметить, что топологии деревьев, построенных на основании аминокислотных последовательностей  $\alpha$ -глюкозидаз и нуклеотидных последовательностей домена D1/D2 хорошо согласуются (рис. 1 и 2).

Ранее был показан природный межвидовой перенос пектиназных генов *PGU* из *S. cerevisiae* в *S. bayanus*, из *S. paradoxus* в *S. cerevisiae* (Наумов и соавт., 2016), а также генов *SUC*, *MAL*, *RTM* и *Y'*-последовательности из *S. cerevisiae* в *S. bayanus* (Наумова et al., 2005, 2011). Кроме того, было обнаружено перемещение генов *PGU* у родственных дрожжей *Galactomyces citri-aurantii*, *Geotrichum klebahnii* и *Galactomyces candidus* (Шаламитский, Наумов, 2017). Возможность межвидовых переносов

генов, очевидно, обусловлена наличием общей системы типов спаривания у видов одного рода, позволяющей им скрещиваться в любой комбинации (Наумов и соавт., 2009; Наумов, 2015). В нашем случае такой механизм передачи генов *MAL* и *IMA* у представителей разных родов исключается. Виды разных родов не могут скрещиваться, а их геномы рекомбинировать. Известно только феромонное межродовое взаимодействие дрожжей разных родов, например, между *S. cerevisiae* и *L. kluyveri* (McCullough, Herskowitz, 1979; Наумов, Пишкур, 1999).

Таким образом, нахождение близкородственных  $\alpha$ -глюкозидаз у представителей разных родов дрожжей, очевидно, можно объяснить только общим происхождением соответствующих родов дрожжей. В настоящее время хорошо обоснована концепция полной дубликации геномов в ходе эволюции некоторых родов дрожжей, в том числе видов рода *Saccharomyces*, тогда как у видов протоплоидных родов *Lachancea* (viz. *L. kluyveri*, *L. dasiensis*, *L. fantastica*, *L. fermentati* и *L. thermotolerans*) и *Kluyveromyces* (viz. *K. lactis*) она не прошла (Kellis et al., 2004; Scannell et al., 2007; Souciet et al., 2009; Dujon, Louis, 2017). Причем, полная дубликация восьми предковых хромосом у дрож-

жей *S. cerevisiae* произошла уже после их расхождения с дрожжами *Lachancea* (Souciet et al., 2009; Dijon, Louis, 2017). Гаплоидное число хромосом у дрожжей *Saccharomyces* равно 16, тогда как у видов *Lachancea* равно восьми. Полученные нами результаты указывают на то, что изомальтазы и мальтазы образовались у общего протоплоидного предка дрожжей родов *Saccharomyces*, *Lachancea* и *Kluveromyces*, т.е. до их расхождения и до полной дубликации генома *Saccharomyces*. Затем в каждом роде, виде и даже штамме происходила дивергенция своих  $\alpha$ -глюкозидаз, имеющих как IMA, так и MAL активности.

Созданные и идентифицированные изогенные генетические линии дрожжей *S. cerevisiae* (Mortimer, Johnston, 1986; Наумов и соавт., 1994) до сих пор обеспечивают проведение исследований по генетике, геномике и эволюции дрожжей рода *Saccharomyces*, а также являются основой изучения других аскомицетовых дрожжей.

Авторы признательны Д.Г. Наумову за помощь в работе. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-04-00309).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Наумов Г.И. Дрожжи *Komagataella* – генетический род согласно межвидовой гибридизации // Микробиология. 2015. Т. 84. № 4. С. 449–455.
- Naumov G.I. The yeast *Komagataella*: a genetic genus in accordance with interspecies hybridization // Microbiology (Moscow). 2015. V. 84. P. 538–543.
- Наумов Д.Г., Наумов Г.И. Обнаружение нового семейства  $\alpha$ -глюкозидазных генов IMA у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // ДАН. 2010. Т. 432. № 4. С. 549–551.
- Naumoff D.G., Naumov G.I. Discovery of novel family of  $\alpha$ -glucosidase genes IMA genes in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Dokl. Biochem. Biophys. 2010. V. 432. № 1. P. 114–116.
- Наумов Г.И., Наумов Д.Г. Молекулярно-генетическая дифференциация  $\alpha$ -глюкозидаз дрожжей: мальтазы и изомальтазы // Микробиология. 2012. Т. 81. № 3. С. 301–305.
- Naumov G.I., Naumoff D.G. Molecular genetic differentiation of yeast  $\alpha$ -glucosidases: maltases and isomaltases // Microbiology (Moscow). 2012. V. 81. P. 278–282.
- Наумов Г.И., Кондратьева В.И., Наумова Е.С. Таксономическая генетика дрожжей рода *Zygowillipsis* // Генетика. 2009. Т. 45. № 12. С. 1609–1615.
- Naumov G.I., Kondratieva V.I., Naumova E.S. Taxonomic genetics of *Zygowillipsis* yeasts // Russian J. Genet. 2009. V. 45. P. 1422–1427.
- Наумов Г.И., Никоненко Т.А., Кондратьева В.И. Таксономическая идентификация сахаромикетов Дрожжевого генетического центра Калифорнийского университета // Генетика. 1994. Т. 30. № 1. С. 45–48.
- Naumov G.I., Nikonenko T.A., Kondrat'eva V.I. Taxonomic identification of *Saccharomyces* from the yeast genetic stock center of the University of the California // Russian J. Genet. 1994. V. 30. P. 38–41.
- Наумов Г.И., Пишкур Ю. О феромонной активности музейных штаммов дрожжей *Saccharomyces sensu lato* // Микробиология. 1999. Т. 68. № 6. С. 860–863.
- Naumov G.I., Piskur J. Pheromone activity of collection strains of *Saccharomyces sensu lato* yeasts // Microbiology (Moscow). 1999. V. 68. P. 759–762.
- Наумов Г.И., Шаламитский М.Ю., Мартыненко Н.Н., Наумова Е.С. Молекулярная филогения пектиназных генов PGU дрожжей рода *Saccharomyces* // Микробиология. 2016. Т. 85. № 6. С. 703–712.
- Naumov G.I., Shalamitskiy M.Yu., Martynenko N.N., Naumova E.S. Molecular phylogeny of pectinase genes PGU in the yeast genus *Saccharomyces* // Microbiology (Moscow). 2016. V. 85. P. 734–743.
- Наумов Г.И., Юркевич В.В. Опероноподобная система дрожжей // Вест. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 1985. Т. 40. № 3. С. 40–42.
- Шаламитский М.Ю., Наумов Г.И. Филогенетический анализ пектиназ аскомицетных дрожжей // Биотехнология. 2017. Т. 33. № 6. С. 28–36.
- Shalamitskiy M.Yu., Naumov G.I. Phylogenetic analysis of pectinases of ascomycetous yeasts // Appl. Biochem. Microbiol. (Moscow). 2018. V. 54. № 7.
- Brown C.A., Murray A.W., Verstepen K.J. Rapid expansion and functional divergence of subtelomeric gene families in yeast // Curr. Biol. 2010. V. 20. P. 895–903.
- Deng X., Petitjean M., Teste M.-A., Kooli W., Tranier S., François J.M., Parrou J.L. Similarities and differences in the biochemical and enzymological properties of the four isomaltases from *Saccharomyces cerevisiae* // FEBS Open Bio. 2014. V. 4. P. 200–212.
- Dujon B.A., Louis E.J. Genome diversity and evolution in the budding yeasts (Saccharomycotina) // Genetics. 2017. V. 206. № 2. P. 717–750.
- Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., Davis R.W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J.D., Jacq C., Johnston M., et al. Life with 6000 genes // Science. 1996. V. 274. № 5287. P. 546–567.
- Kellis M., Birren B.W., Lander E.S. Proof and evolutionary analysis of ancient genome duplication in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Nature. 2004. V. 428. P. 617–624.
- McCullough J., Herskowitz I. Mating pheromones of *Saccharomyces kluyveri*: pheromone interactions between *Saccharomyces kluyveri* and *Saccharomyces cerevisiae* // J. Bacteriol. 1979. V. 138. P. 146–154.
- Mortimer R.K., Johnston J.R. Genealogy of principal strains of the yeast genetic stock center // Genetics. 1986. V. 113. P. 35–43.
- Naumoff D.G. Sequence-based classification of yeast glycoside hydrolases: CAZy vs. Génolevures // III Межд. Конф. “Математическая биология и биоинформатика”. Пушкино (10–15 октября 2010 г.). М.: Макс-Пресс, 2010. С. 139–140.
- Naumova E.S., Naumov G.I., Masneuf-Pomarède I., Aigle M., Dubourdieu D., Molecular genetic study of introgression between *Saccharomyces bayanus* and *S. cerevisiae* // Yeast. 2005. V. 22. P. 1099–1115.
- Naumova E.S., Naumov G.I., Michailova Y.V., Martynenko N.N., Masneuf-Pomarède I. Genetic diversity study of the yeast *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* reveals introgressed subtelomeric *Saccharomyces cerevisiae* genes // Res. Microbiol. 2011. V. 162. P. 204–213.

- Needleman R.B., Kaback D.B., Dubin R.A., Perkins E.L., Rosenberg N.G., Sutherland A., Forrest D.B., Michels C.A. *MAL6* of *Saccharomyces*: a complex genetic locus containing three genes required for maltose fermentation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1984. V. 81. P. 2811–2815.
- Scannell D.R., Butler G., Wolfe K.H. Yeast genome evolution – the origin of the species // Yeast. 2007. V. 24. P. 929–942.
- Soucié J.-L., Dujon B., Gaillardin C. et al. Comparative genomics of protoploid *Saccharomycetaceae* // Genome Res. 2009. V. 19. P. 1696–1709. doi 10.1101/gr.091546.109
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Teste M.-A., François J.M., Parrou J.-L. Characterization of a new multigene family encoding isomaltases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, the *IMA* family // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 26815–26824.
- Yamamoto K., Nakayama A., Yamamoto Y., Tabata S. Val 216 decides the substrate specificity of  $\alpha$ -glucosidase in *Saccharomyces cerevisiae* // Eur. J. Biochem. 2004. V. 271. № 16. P. 3414–3420.

## Phylogenetic Origin of the MAL and IMA $\alpha$ -Glucosidases MAL of the International Genetic Line of *Saccharomyces cerevisiae* S288C

G. I. Naumov<sup>1, †</sup>, A. N. Borovkova<sup>1, 2</sup>, A. V. Shnyreva<sup>2</sup>, and E. S. Naumova<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, NRC “Kurchatov Institute”, Moscow, 117545 Russia

<sup>2</sup>Department of Mycology and Algology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

\*e-mail: lena\_naumova@yahoo.com

Received 18 July, 2018

Revised August 27, 2018

Accepted October 2, 2018

**Abstract**—Taking into account the accepted concept of the ancient whole genome duplication (WGD) in the yeast genus *Saccharomyces*, comparative analysis of the multiple  $\alpha$ -glucosidases MAL and IMA of the genetic line *Saccharomyces cerevisiae* S288C and  $\alpha$ -glucosidases of protoploid yeasts *Kluyveromyces* and *Lachancea*, which have not experienced genome duplication, was carried out. Only certain MAL and IMA isoforms of the latter two genera were shown to be in a close phylogenetic relationship to  $\alpha$ -glucosidases MAL12, MAL32, and IMA1–IMA4 of *S. cerevisiae* S288C, while others were closer to the divergent IMA5. These results are consistent with the WGD concept, according to which the yeast *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, and *Lachancea* originated from the common protoploid ancestor and may therefore have common closely related  $\alpha$ -glucosidases MAL and IMA. The identity of amino acid sequences of the IMA1–IMA4 isomaltases of *S. cerevisiae* S288C to those of *L. dasiensis*, *L. fantastica*, *L. fermentati*, *L. lanzarotensis*, *L. meyersii*, *L. quebecensis*, and *L. thermotolerans* was 75–100%, while identity of the MAL maltases of the same species was 75–99%. Importantly, the MAL and IMA  $\alpha$ -glucosidases diverged independently in each genus, species, and even strain.

**Keywords:** *Saccharomyces cerevisiae*, the MAL and IMA genes, genome duplication, isomaltase, maltase, protoploid, phylogeny of  $\alpha$ -glucosidases