МИКРОБИОЛОГИЯ, 2019, том 88, № 1, с. 45–52

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ α-ГЛЮКОЗИДАЗ MAL И IMA МЕЖДУНАРОДНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* S288C

© 2019 г. Г. И. Наумов[a], А. Н. Боровкова[a, b], А. В. Шнырева[b], Е. С. Наумова[a, *]

[a]*Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра "Курчатовский институт", Москва, 117545, Россия*

[b]*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 дупликации генома (ПДГ) у дрожжей рода *Saccharomyces*, проведен сравнительный анализ множественных α-глюкозидаз MAL и IMA генетической линии *Saccharomyces cerevisiae* S288C и α-глюкозидаз протоплоидных (геномы которых не прошли дупликации) дрожжей родов *Kluyveromyces* и *Lachancea*. Показано, что только некоторые изоформы MAL и IMA дрожжей *Kluyveromyces* и *Lachancea* находятся в близком филогенетическом родстве с α-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*, *Kluyveromyces* и *Lachancea* возникли от общего протоплоидного предка и поэтому могут иметь общие близкородственные α-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 α-глюкозидазы MAL и IMA независимо дивергировали в каждом роде, виде и даже штамме.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae*, гены *MAL* и *IMA*, дупликация генома, изомальтаза, мальтаза, протоплоид, филогения α-глюкозидаз

DOI: 10.1134/S0026365619010075

Генетическая линия *Saccharomyes 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 htpp://www.yeast-genome.org). Гены, представленные в геноме этих дрожжей, приняты в качестве референсных для распознавания и изучения генов различных эукариотических организмов.

Генетика ферментации α-глюкозида мальтозы, важной для производства хлеба, кваса, пива, пищевого и технического спирта, имеет большое фундаментальное и прикладное значение. Так, у эукариотических микроорганизмов оперонноподобная структура впервые была обнаружена на примере мальтозных полимерных (множественных) локусов *MAL*, состоящих из одного регуляторного и двух структурных генов: пермеазы мальтозы и α-глюкозидазы мальтазы (Needleman et al., 1984; Наумов, Юркевич, 1985).

Биохимический и генетический анализы показали, что существуют два типа родственных α-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 α-1,4-глюкозидов (мальтозы и туранозы), а второй (изомальтаза/α-метилглюкозидаза, К.Ф. 3.2.1.10) – за гидролиз и ферментацию α-1,6-глюкозидов (α-метилглюкозида и изомальтозы) (Наумов, Наумов, 2012; Deng et al., 2014). Оба фермента имеют также общие субстраты: сахарозу и паранитрофенил-α-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 α-глюкозидаз.

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

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изученные штаммы дрожжей и их происхождение приведены в табл. 1. Поиск гомологичных α-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 α-глюкозидаз IMA и MAL позволило изучать их филогенетику. Была определена суммарная копийность 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 α-глюкозидаз дрожжей *L. thermotolerans* и *L. kluyveri*, наиболее важных и близких *S. cerevisiae*, не было изучено. Показано только, что одна и две α-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 α-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 α-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 α-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*.

α-Глюкозидазы *S. cerevisiae*, *K. lactis*, *K. dobzhanskii* и десяти видов *Lachancea* образовали отдельный кластер со 100%-ной достоверностью. Среди α-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	α-Глюкозидазы (IMA, MAL)	Название белка или регистрационный номер в GenBank
		Saccharomyces		
S288C	*S. cerevisiae*	Генетическая линия	IMA1	YGR287C
			IMA2	YOL157C
			IMA3	YIL172C
			IMA4	YJL221C
			IMA5	YJL216C
			MAL32	YBR299W
			MAL12	YGR292W
		Kluyveromyces		
NRRL Y-1140	*K. lactis*	Сливки, США	MAL	KLLA0D00231p
			MAL	KLLA0_B00242g
CBS 2104	*K. dobzhanskii*	*Drosophila pseudoobscura*, США	MAL	CDO93416.1
		Lachancea		
CBS 10888	*L. dassiensis*	Листья папоротника *Angiopterisly godiifolia*, Тайвань	IMA	LADA_0G16754g1_1
			IMA	LADA_0F00320g1_1
			MAL	LADA_0G16688g1_1
			MAL	LADA_0H04346g1_1
CBS 6924	*L. fantastica*	Почва, Южная Африка (Претория)	IMA	LAFA_0F00782g1_1
			MAL	LAFA_0E00188g1_1
			MAL	LAFA_0D17568g1_1
CBS 6772	*L. fermentati*	Безалкогольные напитки, Южная Корея	IMA	LAFE_0G01134g1_1
			IMA	LAFE_0A00254g1_1
			MAL	LAFE_0G01090g1_1
CBS 3082	*L. kluyveri*	*Drosophila pinicola,* США	IMA	SAKL0A00154p
			IMA	SAKL0C00176p
			MAL	SAKL0A05698p
			MAL	SAKL0A05654p
			MAL	SAKL0C02112p
CBS 6340	*L. thermotolerans*	Кондитерские изделия, консервы Мирабель, Россия	IMA	KLTH0B00308p
			MAL	KLTH0E17006p
			MAL	KLTH0G19470p
			MAL	KLTH0H05324p
CBS 8951	*L. meyersii*	Морская вода (мангровые заросли), Багамские острова	IMA	LAME_0A00232g1_1
			MAL	LAME_0D11342g1_1
			MAL	LAME_0C08394g1_1
CBS 11611	*L. nothofagi*	Сокотечение *Nothofagus*, Аргентина	IMA	LANO_0G18272g1_1
			MAL	LANO_0F01354g1_1

Таблица 1. Окончание

Штамм	Вид	Источник выделения	α-Глюкозидазы (IMA, MAL)	Название белка или регистрационный номер в GenBank
CBS 11717	*L. mirantina*	Кашаса ("Бразильский ром"), Бразилия	IMA	LAMI_0F07580g1_1
			MAL	LAMI_0B00122g1_1
			MAL	LAMI_0F07646g1_1
CBS 12615	*L. lanzarotensis*	Виноград, Канарские острова, Испания	IMA	LALA0_S01e00672g
			MAL	LALA0_S01e19174g
			MAL	LALA0_S13e02894g
CBS 14138	*L. quebecensis*	Кора клена, Канада	IMA	LAQU0S17e02674g1_1
			MAL	LAQU0S06e05864g1_1
			MAL	LAQU0S02e00122g1_1
			MAL	LAQU0S02e11166g1_1
Debaryomyces				
CBS 767	*D. hansenii*	Неизвестно	MAL	DEHA2A13882p
			MAL	DEHA2E00528p
Scheffersomyces				
CBS 6054	*Schef. stipitis*	Фруктовые деревья, личинки насекомых, Франция	IMA	ABN65252.1
			MAL	ABN67312.1
			MAL	ABN67767.1
			MAL	ABN66628.1
			MAL	ABN64883.1
Schizosaccharomyces				
CBS 7264	*Schi. pombe*	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. Т – 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 α-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 α-глюкозидазами этого кластера составил 57–64%. Необходимо отметить, что у первых двух изомальтаз в диагностическом триплете 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 α-глюкозидазы *L. fantastica* попали в первый кластер, тогда как α-глюкозидазы *L. kluyveri*, *L. nothofagi*, *K. lactis* и *K. dobzhanskii* обнаружены только во втором. α-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

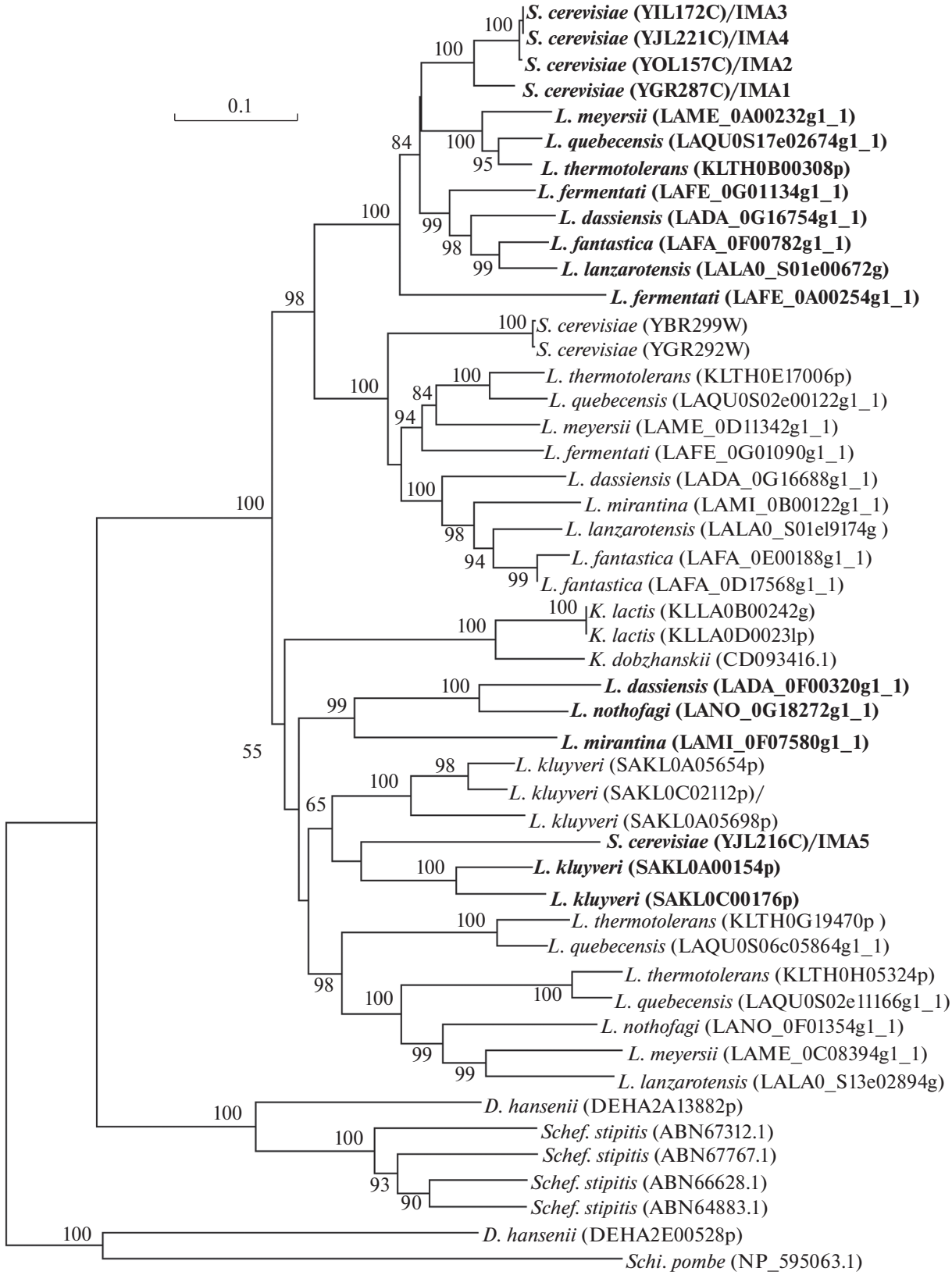


Рис. 1. Филогенетическое древо α-глюкозидаз дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* S288C и родственных им видов родов *Lachancea* (*L.*) и *Kluyveromyces* (*K.*). Приводятся значения бутстрепа не менее 50%. Шкала соответствует 100 заменам на 1000 аминокислотных остатков. В скобках указан регистрационный 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*.

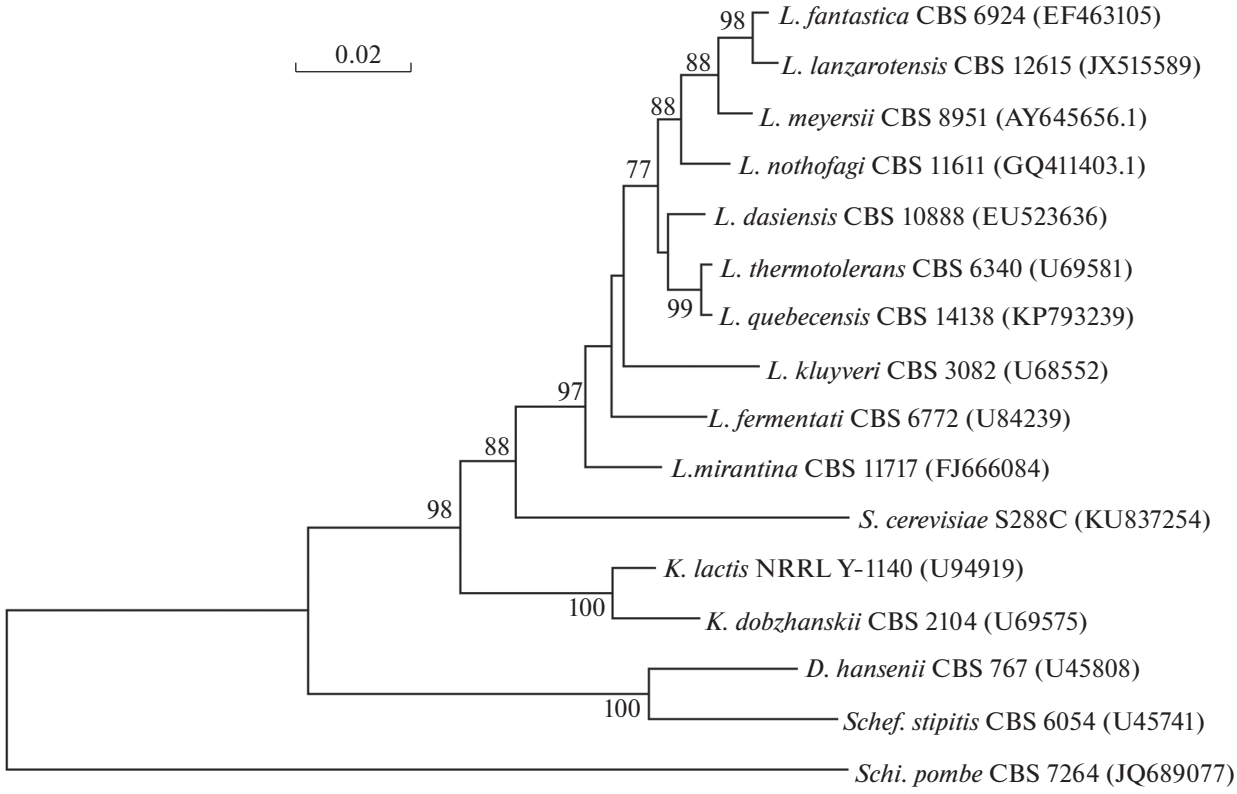


Рис. 2. Филогенетическое древо нуклеотидных последовательностей домена D1/D2 26S рДНК дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* S288C и родственных их родов *Lachancea* (*L.*) и *Kluyveromyces* (*K.*). Приводятся значения бутстрепа не менее 70%. Шкала соответствует 20 заменам на 1000 нуклеотидных остатков. 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 α-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* (Naumova et al., 2005, 2011). Кроме того, было обнаружено перемещение генов *PGU* у родственных дрожжей *Galactomyces citri-aurantii*, *Geotrichum klebahii* 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 α-глюкозидаз у представителей разных родов дрожжей, очевидно, можно объяснить только общим происхождением соответствующих родов дрожжей. В настоящее время хорошо обоснована концепция полной дупликации 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 проходила (Kellis et al., 2004; Scannell et al., 2007; Souciet et al., 2009; Dujon, Louis, 2017). Причем, полная дупликация восьми предковых хромосом у дрож-

жей *S. cerevisiae* произошла уже после их расхождения с дрожжами *Lachancea* (Souciet et al., 2009; Dujon, 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 *Kluyveromyces*, т.е. до их расхождения и до полной дупликации генома *Saccharomyces*. Затем в каждом роде, виде и даже штамме происходила дивергенция своих α-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 α-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 α-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 α-глюкозидаз дрожжей: мальтазы и изомальтазы // Микробиология. 2012. Т. 81. № 3. С. 301–305.

Naumov G.I., Naumoff D.G. Molecular genetic differentiation of yeast α-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 *Zygowilliopsis* // Генетика. 2009. Т. 45. № 12. С. 1609–1615.

Naumov G.I., Kondratieva V.I., Naumova E.S. Taxonomic genetics of *Zygowilliopsis* yeasts // Russian J. Genet. 2009. V. 45. P. 1422–1427.

Наумов Г.И., Никоненко Т.А., Кондратьева В.И. Таксономическая идентификация сахаромицетов 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". Пущино (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.

Souciet 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., Filipski 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 α-glucosidase in *Saccharomyces cerevisiae* // Eur. J. Biochem. 2004. V. 271. № 16. P. 3414–3420.

Phylogenetic Origin of the MAL and IMA α-Glucosidases MAL of the International Genetic Line of *Saccharomyces cerevisiae* S288C

G. I. Naumov[1, †], A. N. Borovkova[1, 2], A. V. Shnyreva[2], and E. S. Naumova[1, *]

[1]*State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, 117545 Russia*

[2]*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 α-glucosidases MAL and IMA of the genetic line *Saccharomyces cerevisiae* S288C and α-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 α-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 α-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 α-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 α-glucosidases