

УДК 57.065 : 612.398

О.Н. ДЕМЧУК, Я.Б. БЛЮМ

Институт клеточной биологии и генетической инженерии
НАН Украины, Киев

**ПОСТРОЕНИЕ
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО
ДРЕВА РАСТИТЕЛЬНЫХ ТУБУЛИНОВ
НА ОСНОВАНИИ
ГОМОЛОГИИ ИХ БЕЛКОВЫХ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**



Построено филогенетическое древо α -, β - и γ -тубулинов растительного царства, α - и β -тубулинов свиньи, а также всех ϵ - и δ -тубулинов с известными первичными последовательностями и произведен анализ уровней гомологии тубулиновых последовательностей для представителей разных групп организмов. Выявлены низкая гетерогенность α - и γ -тубулиновых семейств и более чем в два раза более высокая гетерогенность β -тубулинов, обусловленная особенностями последовательностей тубулинов из водорослей. Продемонстрировано, что последовательности тубулинов из животных не входят ни в один кластер, образованный растительными тубулинами. Также показано наличие в первичных последовательностях тубулинов трех основных семейств небольших специфических отличий, являющихся характерными для таких филогенетических единиц растительного царства, как водоросли и классы покрытосеменных. Кладограмма иллюстрирует четкую кластеризацию исследуемых последовательностей по их принадлежности к тубулиновым семействам.

© О.Н. ДЕМЧУК, Я.Б. БЛЮМ, 2005

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2005. № 2

Введение. Тубулины — надсемейство высококонсервативных цитоплазматических белков с молекулярной массой порядка 50—55 кДа, представители которого обнаружены во всех без исключения эукариотических организмах, поскольку являются основным структурным компонентом микротрубочек [1, 2]. Функции микротрубочек достаточно разнообразны, однако в первую очередь они сводятся к обеспечению клеточного деления и клеточной подвижности, поддержанию формы клетки, транспорту везикул и других надмолекулярных образований к ядру и от ядра [1].

С учетом особенностей структуры и функций тубулины принято подразделять на три основных семейства — α , β и γ . Следует отметить, что, как правило, в клетках эукариот экспрессируются множественные изоформы как α - и β -тубулинов, формирующих микротрубочки, так и γ -тубулинов, обеспечивающих взаимодействие микротрубочек с ЦОМТами. У некоторых организмов обнаружены также δ - [3], ϵ - [4, 5], ζ - [5] и η - [6] семейства тубулинов. Однако ответить на вопрос о целесообразности наличия таких специализированных видов тубулинов, в равной степени как и множественных изоформ одних и тех же видов тубулинов, можно будет лишь после проведения углубленного анализа особенностей их структуры и выявления функционального значения отдельных изоформ.

Результаты секвенирования как самих α - и β -тубулинов, так и их кДНК позволили установить, что эти белки являются близкородственными с уровнем гомологии порядка 40 % [4, 7, 8]. К настоящему времени *in vitro* удалось получить упорядоченную структуру антипараллельных протофиламентов тубулинов животного происхождения и проанализировать ее с учетом данных кристаллографических исследований [9, 10]. На основании результатов структурного моделирования, базирующегося на данных кристаллографии, можно заключить, что консервативность последовательностей α - и β -тубулинов отражает еще более высокую степень их структурной консервативности. Поскольку получение кристаллов тубулинов из растений до сих пор было технически неразрешимо из-за сложности получения достаточного количества высокоочищенного белка, трехмерные модели α - и β -тубулинов растительного происхождения были построены *de novo* с помощью сравнительного (профильного) метода [11, 12] благодаря относительно высокому уровню гомологии последова-

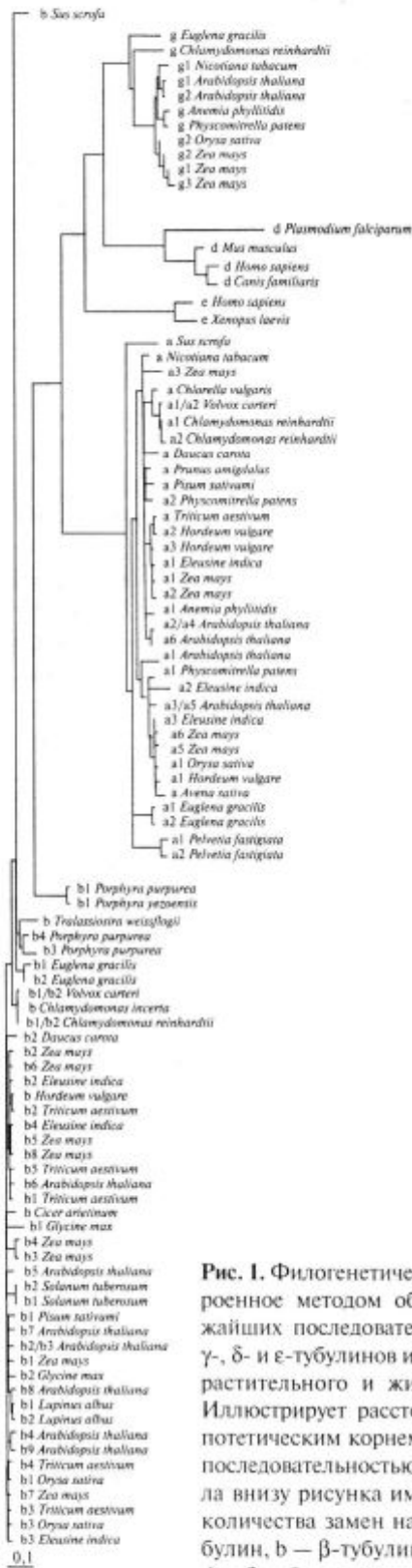


Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное методом объединения ближайших последовательностей α -, β -, γ -, δ - и ϵ -тубулинов из представителей растительного и животного царств. Иллюстрирует расхождение между гипотетическим корнем древа и каждой последовательностью тубулина. Шкала внизу рисунка имеет размерность количества замен на сайт: а — α -тубулин, б — β -тубулин, г — γ -тубулин, д — δ -тубулин, е — ϵ -тубулин

тельностью тубулинов животного и растительного происхождения.

Для более успешного применения методов структурного моделирования тубулинов растений и для корректной экстраполяции возможных свойств, обусловленных их первичной структурой, на белки одного или другого семейства тубулинов необходимым условием является правильная оценка уровней гомологии как между различными семействами данных белков, так и отдельными их представителями. Такая оценка может быть произведена путем построения филогенетического древа первичных последовательностей искомым белков. Ввиду того, что до сих пор не было построено детальное филогенетическое древо тубулинов растительного происхождения, нами и была предпринята попытка построения и анализа их филогенетического древа с целью установления уровней гомологии между последовательностями растительных тубулинов как внутри каждого их семейства, так и между семействами этих белков.

Материалы и методы. В работе были использованы последовательности α -, β - и γ -тубулинов: водорослей *Chlamydomonas reinhardtii*, *C. incerta*, *Chlorella vulgaris*, *Euglena gracilis*, *Porphyra purpurea*, *P. yezoensis*, *Volvox carteri*, *Thalassiosira weissflogii*; мхов *Pelvetia fastigiata*, *Physcomitrella patens*; папоротника *Anemia phyllitidis*; покрытосеменных *Arabidopsis thaliana*, *Avena sativa*, *Cicer arietinum*, *Daucus carota*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare*, *Lupinus albus*, *Nicotiana tabacum*, *Oryza sativa*, *Pisum sativum*, *Prunus amygdalus*, *Solanum tuberosum*, *Triticum aestivum*. Для сравнительного анализа уровней гомологии тубулинов различного происхождения были также использованы последовательности α - и β -тубулинов свиньи (*Sus scrofa*), а также все известные к настоящему времени последовательности δ - и ϵ -тубулинов: δ -тубулинов слизевика *Plasmodium falciparum*, собаки (*Canis familiaris*), человека (*Homo sapiens*) и мыши (*Mus musculus*), ϵ -тубулинов шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) и человека. Первичные последовательности исследуемых в настоящей работе тубулинов были получены из электронной базы данных SwissProt (<http://us.expasy.org/sprot/sprot-search.html>).

Выравнивание анализируемых белковых последовательностей было выполнено с помощью программы ClustalX [13]. Затем для построения

филогенетического дерева тубулинов с помощью этой же программы был использован метод объединения ближайших последовательностей (Neighbor-Joining) [14] с применением опции для коррекции последовательностей при сложных заменах и «усовершенствующего» (Bootstgar) теста [15] с числом повторностей 1000. Дерево было построено в виде филограммы (иллюстрирует относительное расположение последовательностей относительно гипотетического корня дерева) с помощью программы TreeView (<http://taxonometry.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview/>) и в виде кладограммы (иллюстрирует объединение последовательностей в кластеры разных уровней) с помощью программы PhyloDraw 0,8 [16].

Результаты исследований и их обсуждение. Построенные филогенетические деревья α -, β -, γ -тубулинов растений, а также δ - и ϵ -тубулинов животных представлены на рис. 1 в виде филограммы и на рис. 2 в виде кладограммы. На филогенетических деревьях, построенных ранее с помощью метода «максимальной экономии» (maximum parsimony) при использовании небольшого количества последовательностей α - и β -тубулинов грибов, животных и растений, видно, что последовательности как α -, так и β -тубулинов растений формируют кластеры, полностью обособленные от кластеров последовательностей тубулинов грибного и животного происхождения [17]. Аналогичные результаты наблюдаются и при построении филогенетического дерева при использовании метода объединения ближайших последовательностей [18]. Таким образом, обособленность кластера, формируемого последовательностями тубулинов растений, позволяет сосредоточиться на анализе этой части филогенетического дерева данных белков, не опасаясь возможного искажения закономерностей распределения последовательностей растительных тубулинов из-за наличия последовательностей тубулинов животных и грибов.

Вполне естественно предположить, что в тубулиновом надсемействе, как и во многих других белковых семействах, эволюционные процессы изменяли «исходную» молекулу «пратубулина», вследствие чего возникали ее варианты с различным функциональным предназначением. В таком случае должен был существовать один родоначальный тубулин, который, возможно, произошел от бактериального FtsZ-белка (филамен-

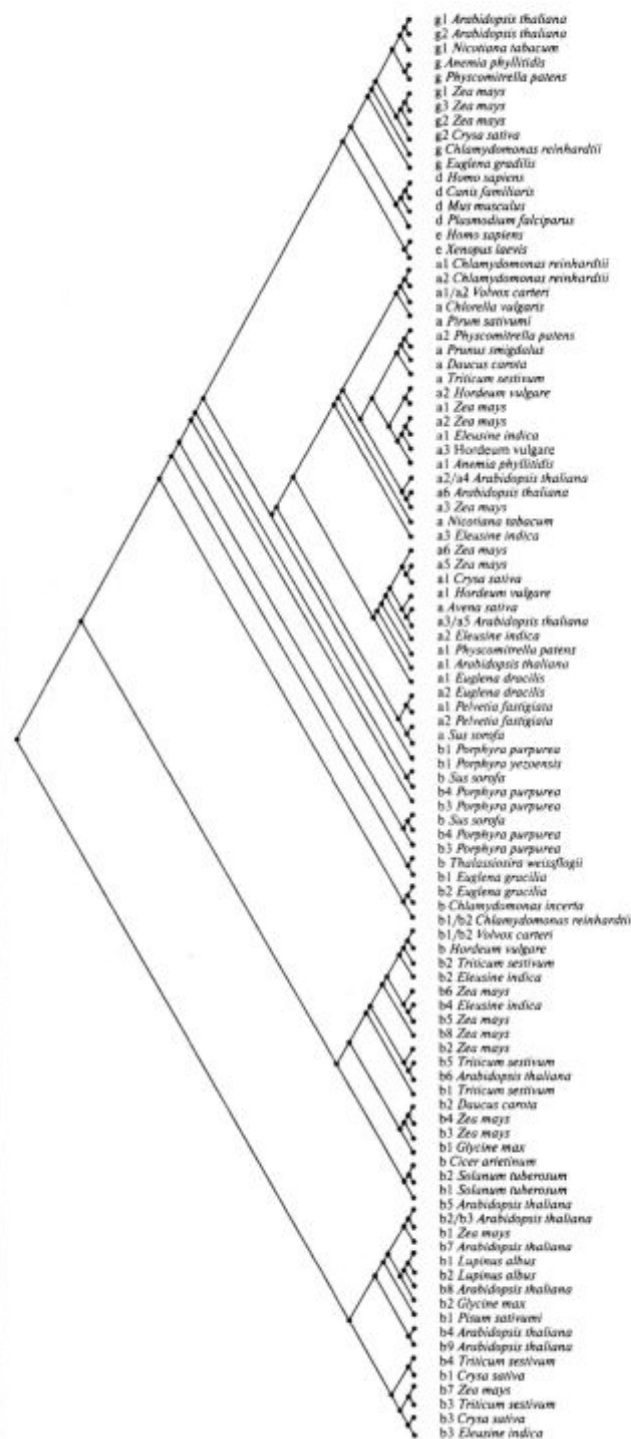


Рис. 2. Шиферная кладограмма последовательностей α -, β - и γ -тубулинов из представителей растительного и животного царств: а — α -тубулин, b — β -тубулин, g — γ -тубулин, d — δ -тубулин, e — ϵ -тубулин. Гипотетический корень дерева расположен в исходной точке кладограммы

тного температурочувствительного белка) или имел с ним общего предка. По современным представлениям, в клетке-предшественнице всех существующих эукариот такой белок дал начало трем семействам этих белков (α -, β - и γ -тубулины), характеризующихся различными функциями [19]. Поскольку для α - и β -тубулинов характерна более высокая степень сходства между собой, чем с представителями семейства γ -тубулинов, то вероятно, что вначале от «пратубулина» произошло разделение γ -тубулина и общего предка α - и β -тубулинов, который уже впоследствии дал начало отдельным семействам α - и β -тубулинов. Хотя происхождение α - и β -тубулинов связано с ранней дупликацией генов, эта дупликация предшествовала появлению всех известных эукариот [20].

В свою очередь, δ - и ϵ -тубулины могли отщепиться от одного из основных семейств тубулинов в жгутике-предшественнике, ибо они, вероятно, имеют значение для функционирования и репликации жгутиков [19]. Особенности локализации в клетке различных тубулинов, а также сравнение их аминокислотных последовательностей указывают на то, что α - и β -тубулины скорее всего откололись от линии γ -тубулина, а не от α - и β -тубулинов [4, 21]. Впоследствии они, очевидно, были утрачены организмами с редуцированной способностью к формированию ресничек и жгутиков. Возможно, ζ -тубулин является наиболее молодым в эволюционном плане и характеризуется специализированной функцией у кинетопластидных простейших [19].

Первое, что следует отметить при анализе данных, представленных на рис. 1, — это очень незначительная степень вариабельности внутри каждого семейства тубулинов, на фоне которой отличия между представителями различных семейств характеризуются более высоким уровнем дивергенции. В свою очередь рис. 2 демонстрирует, что первые две ветви, отходящие от гипотетического корня построенного филогенетического древа, образованы исключительно последовательностями β -тубулинов растений, а вторая включает в себя как β -тубулины низших растений и животных, так и все α -, γ -, ϵ - и δ -тубулины.

Как уже отмечалось выше, в результате расширенного изучения генов α - и β -тубулинов у различных видов организмов стало очевидным наличие множественных их генов у подавляю-

щего большинства эукариот при сохранении высокой степени консервативности данных белков как в пределах одного вида, так и между видами, хотя в целом значение такого разнообразия не всегда очевидно [22]. Анализ построенного нами филогенетического древа позволяет выявить ряд определенных закономерностей в группировании последовательностей различных семейств тубулинов.

α -Тубулины даже из очень филогенетически отдаленных организмов проявляют общий уровень гомологии порядка 60 %; почти такая же степень гомологии характерна и для β -тубулинов [7]. Эта закономерность хорошо иллюстрируется данными, представленными на рис. 1. Так, средние расстояния между последовательностями α -тубулинов составляют около 0,05, между последовательностями β -тубулинов — 0,14 и между последовательностями γ -тубулинов — около 0,06 замен на сайт. Следовательно, можно сделать вывод о том, что β -тубулины являются относительно намного более гетерогенной группой среди трех основных семейств тубулинов. Анализируемые в настоящем исследовании последовательности δ - и ϵ -тубулинов животных также отличаются между собой в среднем на 0,1 и 0,02 замены на сайт соответственно.

Как известно из литературных источников, последовательности α -тубулинов имеют 36—42 % гомологии с последовательностями β -тубулинов [7, 8], что позволяет рассматривать их в качестве высококонсервативных семейств белков тубулинового надсемейства. Результаты анализа построенного филогенетического древа не противоречат этим данным и свидетельствуют в пользу того, что отличия между последовательностями тубулинов из различных семейств составляют величину на порядок выше той, которая характеризует отличия тубулиновых последовательностей из одного семейства: в среднем 0,95; 0,33 и 1,26 замены на сайт при сравнении между собой семейств α - и β -тубулинов, α - и γ -, а также β - и γ -тубулинов соответственно. Как и можно было ожидать исходя из результатов работы [17], последовательность α -тубулина из свиньи располагается обособленно и не входит ни в один подкластер, образованный последовательностями тубулинов растительного происхождения.

Повышенную гетерогенность β -тубулинов растений обуславливают последовательности

этих белков из водорослей *Euglena gracilis*, *Porphyra purpurea*, *P. yezoensis* и *Thalassiosira weissflogii*, которые удалены от гипотетического корня древа на расстояние в 1,5–3 раза большее, чем последовательности остальных представителей данного семейства (рис. 1). Аналогично α -тубулину, β -тубулин свиньи также явным образом располагается обособленно по отношению к последовательностям данного семейства тубулинов растительного происхождения.

Степень гомологии аминокислотных последовательностей γ -тубулинов с последовательностями α - и β -тубулинов составляет 29–35 % [23] при приблизительно одинаковой с ними молекулярной массе. Это бесспорно самостоятельное семейство надсемейства тубулинов все же более схоже с α -тубулинами, нежели с β -тубулинами (рис. 2). Последовательности γ -тубулинов водорослей довольно сильно отличаются от последовательностей γ -тубулинов остальных организмов и наиболее близки к гипотетическому корню филогенетического древа в своем семействе (рис. 1).

Следует также отметить, что хотя последовательности α -, β - и γ -тубулинов, как правило, высококонсервативны, именно γ -тубулины из *Saccharomyces cerevisiae* и *Caenorhabditis elegans* настолько существенно отличаются от других γ -тубулинов, что до открытия δ - и ϵ -тубулинов их поначалу хотели позиционировать как δ - и ϵ -тубулины [24]. Несмотря на то, что теперь они признаны в качестве γ -тубулинов, было бы ошибкой приуменьшать отличия между ними и другими γ -тубулинами. Например, γ -тубулин из *S. cerevisiae* не является функционально взаимозаменяемым с γ -тубулинами *S. pombe* или человека [25–27], тогда как тубулин *S. pombe* полностью функционально взаимозаменяем с γ -тубулином человека [28]. Хотя и нет прямого доказательства функциональных отличий γ -тубулина *C. elegans* от других γ -тубулинов, все же было предсказано его полное структурное отличие от α - и β -тубулинов [29], в то время как трехмерная структура γ -тубулина человека очень схожа с таковыми α - и β -тубулинов [30]. Геном *C. elegans* также содержит несколько генов α - и β -тубулинов. При этом два α -тубулина являются необычными. ТВА6 имеет длинную, необычную С-концевую часть, а ТВА9 содержит в головной части 20 аминокислотных остатков, которые не были найдены в других α -

тубулинах. Одновременно β -тубулин ТВВ6 является самым коротким (длиной 420 аминокислотных остатков) и содержит несколько небольших делеций в отличие от последовательностей остальных β -тубулинов [29].

Особого обсуждения заслуживает положение на филогенетическом древе последовательностей таких минорных семейств тубулинов животных, как ϵ и δ . Два представленных в построенном нами древе ϵ -тубулина и четыре δ -тубулина формируют свои отдельные кластеры, которые располагаются между кластерами последовательностей α - и γ -тубулиновых семейств, причем намного ближе именно к γ -тубулинам (рис. 2). Данные минорные семейства являются также и наиболее удаленными от гипотетического корня филогенетического древа последовательностями. Самым удаленным из них является δ -тубулин из *Plasmodium falciparum* (рис. 1), что обуславливается его аномально длинной аминокислотной последовательностью, состоящей из 735 остатков и имеющей молекулярную массу порядка 86,5 кДа [31], тогда как размер молекул остальных δ -тубулинов находится в пределах 430–450 аминокислотных остатков. Все это свидетельствует о присущей ϵ - и δ -тубулиновым семействам высокой степени гетерогенности и специфических клеточных функциях [19], а также служит подтверждением их происхождения от γ -тубулинов [4, 21].

Заслуживает внимания и формирование последовательностями тубулинов отдельных подкластеров в зависимости от их принадлежности к различным группам растений: так, тубулины однодольных и водорослей образуют свои подкластеры, а последовательности тубулинов двудольных, как правило, располагаются обособленно ($\alpha 1$ и $\alpha 3/\alpha 5$ из *A. thaliana*, α из *N. tabacum*, $\beta 1$ из *Pisum sativum*, $\beta 2$ из *D. carota*) (рис. 2). Это свидетельствует о наличии небольших специфических особенностей в первичных последовательностях этих белков, характерных для крупных филогенетических единиц растительного царства.

В то же время для разных изотипов тубулинов отдельных видов растений характерной является их очень высокая степень сходства, например, $\beta 3$ - и $\beta 4$ -тубулины, $\beta 5$ - и $\beta 8$ -тубулины из *Z. mays*, $\beta 1$ - и $\beta 2$ -тубулины из *Lupinus albus*, $\beta 4$ - и $\beta 9$ -тубулины из *A. thaliana*, $\beta 1$ - и $\beta 2$ -тубулины из *S.*

tuberosum и т.п. Подобная закономерность также наблюдается и в роде *Chlamydomonas*, где последовательность β -тубулина *C. incerta* очень схожа с $\beta 1/\beta 2$ -тубулином *C. reinhardtii*. Все та же закономерность характерна для последовательностей α - и γ -тубулинов: $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -тубулин, $\alpha 5$ - и $\alpha 6$ -тубулин из *Z. mays*, $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -тубулин из *E. gracilis*, $\gamma 1$ - и $\gamma 2$ -тубулин из *A. thaliana*. Вполне вероятно, что такие последовательности являются результатом спонтанных нелетальных мутаций в одном из мультикопийных генов. Функциональный смысл присутствия в клетке столь схожих тубулинов одного семейства так же, как и аномальных белков из этих же семейств [29], еще не установлен, хотя существует достаточно рациональная гипотеза о наличии у последних специализированных функций [19]. Если это действительно так, то в дальнейшем при проведении проектов по геномному скринингу возможно открытие новых необычных представителей α -, β - и γ -тубулиновых семейств, а также выяснение их специализированных функций.

Таким образом, построенное нами филогенетическое древо дает достаточно обобщенное представление о гомологии первичных последовательностей различных семейств тубулинов растительного происхождения. Наименее гетерогенным из рассмотренных нами семейств белков является семейство α -тубулинов. В то же время выявлена повышенная гетерогенность среди белков β -тубулинового семейства, обусловленная особенностями последовательностей β -тубулинов из водорослей. У представителей γ -тубулинов растений она лишь немногим меньше опять же из-за особенностей последовательностей γ -тубулинов водорослей. Замечательно, что последовательности тубулинов из различных семейств животного происхождения не входят ни в один кластер, образованный растительными тубулинами.

Также показано наличие в первичных последовательностях тубулинов трех основных семейств небольших специфических особенностей, характерных для таких филогенетических единиц растительного царства, как водоросли и классы покрытосеменных. Дальнейшие исследования в этом направлении с использованием большего количества как растительных, так и последовательностей из животного и грибного царств, позволят более детально проследить уровни гомологии первичных последователь-

ностей тубулинов разных семейств из разных организмов. Это, в свою очередь, позволит более рационально подходить к моделированию трехмерной структуры данных цитоскелетных белков и исследованию их свойств.

SUMMARY. We have built phylogenetic tree of α -, β - and γ -tubulins of plant kingdom, α - and β -tubulins of pig, and all ϵ - and δ -tubulins with known primary sequences and analyzed the levels of homology of tubulin sequences for representatives of different groups of organisms. It has been established low heterogeneity of α -, γ -tubulin families and more than two fold higher heterogeneity of β -tubulins, based on the sequence speciality of alga tubulins. We have showed that sequences of animal tubulins do not fit any cluster formed by on the plant tubulins. Presence in primary tubulin sequences of three major families of insignificant specific differences which are specific for such phylogenetic items of plant kingdom as alga and angiosperms has been also demonstrated. The cladogram shows clear clasterization of investigated sequences according to their belonging to the tubulin families.

РЕЗЮМЕ. Побудовано філогенетичне древо α -, β - та γ -тубулінів рослинного царства, α - та β -тубулінів свині а також всіх ϵ - та δ -тубулінів з відомими первинними послідовностями та проведено аналіз рівнів гомології тубулінових послідовностей для представників різних груп організмів. Виявлено низьку гетерогенність α - та γ -тубулінових сімейств та понад у два рази вищу гетерогенність β -тубулінів. Остання зумовлена особливостями послідовностей тубулінів водоростей. Продемонстровано, що послідовності тубулінів тваринного походження не належать до жодного кластера, утвореного рослинними тубулінами. Також показано наявність в первинних послідовностях тубулінів трьох основних сімейств невеликих специфічних відмінностей, характерних для таких філогенетичних одиниць рослинного царства, як водорості та класи покритонасінневих рослин. Кладограма ілюструє чітку кластеризацію досліджуваних послідовностей за їх приналежністю до тубулінових сімейств.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Fosket D.E., Morejhon L.C. Structural and functional organization of tubulin // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 1992. — 43. — P. 201—240.
2. Nogales E. Structural insights into microtubule function // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. — 2001. — 30. — P. 397—420.
3. Dutcher S.K., Trabuco E.C. The UNI3 gene is required for assembly of basal bodies of *Chlamydomonas* and encodes delta-tubulin, a new member of the tubulin superfamily // Mol. Biol. Cell. — 1998. — 9. — P. 1293—1308.
4. Chang P., Stearns T. δ -Tubulin and ϵ -tubulin: two new human centrosomal tubulins reveal new aspects of centrosome structure and function // Nat. Cell Biol. — 2000. — 2. — P. 30—35.
5. Vaughan S., Attwood T., Navarro M., Scott V., McKean P.,

- Gull K. New tubulins in protozoal parasites // *Curr. Biol.* — 2000. — **10**. — R258—R259.
6. Ruiz F., Krzywicka A., Klotz C., Keller A.M., Cohen J., Koll F., Balavoine G., Beisson J. The SM19 gene, required for duplication of basal bodies in *Paramecium*, encodes a novel tubulin, η -tubulin // *Curr. Biol.* — 2000. — **10**. — P. 1451—1454.
 7. Little M., Seehaus T. Comparative analysis of tubulin sequences // *Comp. Biochem. Physiol.* — 1988. — **90B**. — P. 655—670.
 8. Burns R.G. α -, β - and γ -tubulins: sequence comparisons and structural constraints // *Cell Motil. Cytoskeleton.* — 1991. — **20**. — P. 181—189.
 9. Nogales E., Whittaker W.M., Milligan R.A., Downing K.H. High-resolution model of the microtubule // *Cell.* — 1999. — **96**. — P. 79—88.
 10. Lowe J., Li H., Downing K.H., Nogales E. Refined structure of $\alpha\beta$ -tubulin at 3.5 Å resolution // *J. Mol. Biol.* — 2001. — **313**. — P. 1045—1057.
 11. Ныпорко А.Ю., Блюм Я.Б. Сравнительный анализ вторичной структуры тубулинов и FtsZ-белков // Биополимеры и клетка. — 2001. — **17**. — С. 61—69.
 12. Nyporko A.Y., Demchuk O.N., Blume Y.B. Cold adaptation of plant microtubules: structural interpretation of primary sequence changes in a highly conserved region of alpha-tubulin // *Cell Biol. Int.* — 2003. — **27**. — P. 241—243.
 13. Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools // *Nucl. Acids Res.* — 1997. — **24**. — P. 4876—4882.
 14. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // *Mol. Biol. Evol.* — 1987. — **4**. — P. 406—425.
 15. Efron B., Tibshirani R. The bootstrap method for standard errors, confidence intervals, and other measures of statistical accuracy // *Statistical Sci.* — 1986. — **1**, № 1. — P. 1—35.
 16. Choi J.-H., Jung H.-Y., Kim H.-S., Cho H.-G. PhyloDraw: a phylogenetic tree drawing system // *Bioinformatics Appl. Note.* — 2000. — **16**. — P. 1056—1058.
 17. Baldauf S.L., Palmer J.D. Animals and fungi are each other's closest relatives: Congruent evidence from multiple proteins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1993. — **90**. — P. 11558—11562.
 18. Keeling P.J., Doolittle W.F. Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family // *Mol. Biol. Evol.* — 1996. — **13**. — P. 1297—1305.
 19. Oakley B.R. An abundance of tubulins // *Trends Cell Biol.* — 2000. — **10**. — P. 537—542.
 20. Raff E.C. Genetics of microtubule systems // *J. Cell Biol.* — 1984. — **99**. — P. 1—10.
 21. Smrzka O.W., Delgehyr N., Bornens M. Tissue-specific expression and subcellular localisation of mammalian δ -tubulin // *Curr. Biol.* — 2000. — **10**. — P. 413—416.
 22. McKean P.G., Vaughan S., Gull K. The extended tubulin superfamily // *J. Cell Sci.* — 2001. — **114**. — P. 2723—2733.
 23. Oakley C.E., Oakley B.R. Identification of γ -tubulin, a new member of the tubulin superfamily encoded by *mipA* gene of *Aspergillus nidulans* // *Nature.* — 1989. — **338**. — P. 662—664.
 24. Burns R.G. Identification of two new members of the tubulin family // *Cell Motil. Cytoskeleton.* — 1995. — **31**. — P. 255—258.
 25. Marshall L.G., Jeng R.L., Mulholland J., Searns T. Analysis of Tub4p, a yeast γ -tubulin-like protein: implication for microtubule-organizing center function // *J. Cell Biol.* — 1996. — **134**. — P. 443—454.
 26. Sobel S.G., Snyder M. A highly divergent γ -tubulin gene is essential for cell growth and proper microtubule organization in *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Cell Biol.* — 1995. — **131**. — P. 1775—1788.
 27. Spang A., Geissler S., Grein K., Schiebel E. γ -Tubulin-like Tub4p of *Saccharomyces cerevisiae* is associated with the spindle pole body substructures that organize microtubules and is required for mitotic spindle formation // *J. Cell Biol.* — 1996. — **134**. — P. 429—441.
 28. Horio T., Oakley B.R. Human γ -tubulin functions in fission yeast // *J. Cell Biol.* — 1994. — **126**. — P. 1465—1473.
 29. Gogonea C.B., Gogonea V., Ali Y.M., Merz K.M. Jr., Siddiqui S.S. Computational prediction of the three-dimensional structures for the *Caenorhabditis elegans* tubulin family // *J. Mol. Graph. Model.* — 1999. — **17**. — P. 90—100.
 30. Paluh J.L., Nogales E., Oakley B.R., McDonald K., Pidoux A.L., Cande W.Z. A mutation in γ -tubulin alters microtubule dynamics and organization and is synthetically lethal with the kinesin-like protein Pkl1p // *Mol. Biol. Cell.* — 2000. — **11**. — P. 1225—1239.
 31. Hall N., Pain A., Berriman M., Churcher C., Harris B., Harris D., Mungall K., Bowman S., Atkin R., Baker S., Barron A., Brooks K., Buckee C.O., Burrows C., Cherevach I., Chillingworth C., Chillingworth T., Christodoulou Z., Clark L., Clark R., Corton C., Cronin A., Davies R., Davis P., Dear P., Dearden F., Doggett J., Feltwell T., Goble A., Goodhead I., Gwilliam R., Hamlin N., Hance Z., Harper D., Hauser H., Hornsby T., Holroyd S., Horrocks P., Humphray S., Jagels K., James K.D., Johnson D., Kerhornou A., Knights A., Konfortov B., Kyes S., Larke N., Lawson D., Lennard N., Line A., Maddison M., Mclean J., Mooney P., Moule S., Murphy L., Oliver K., Ormond D., Price C., Quail M.A., Rabinowitsch E., Rajandream M.A., Rutter S., Rutherford K.M., Sanders M., Simmonds M., Seeger K., Sharp S., Smith R., Squares R., Squares S., Stevens K., Taylor K., Tivey A., Unwin L., Whitehead S., Woodward J., Sulston J.E., Craig A., Newbold C., Barrell B.G. Sequence of *Plasmodium falciparum* chromosomes 1, 3-9 and 13 // *Nature.* — 2002. — **419**. — P. 527—531.

Поступила 14.01.05