

Генетические механизмы регуляции активности магний-хелатазы у зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*

Научный руководитель – Чекунова Елена Михайловна

Матив Антон Богданович

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: antonmativ@yandex.ru

Хлорофиллы - уникальные природные тетрапирролы, играющие ключевую роль не только в жизни фотосинтезирующих организмов, но и во всей биосфере. Изучение супрессии мутаций, блокирующих ключевые этапы биосинтеза хлорофилла (БХ), открывает возможность выявления компенсаторных механизмов, обеспечивающих функционирование аппарата биосинтеза хлорофилла при его нарушении, и позволяет оценить адаптивный потенциал фотосинтезирующей клетки.

У зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* мутация *brs-1* в гене *CHLH*, кодирующем большую субъединицу магний-хелатазы (МХ) - ключевого фермента БХ, блокирует синтез этого тетрапиррола. Бесхлорофильные клетки мутантов по этому гену светочувствительны и в темноте формируют оранжевые колонии. В результате их УФ-мутагенеза ($\lambda 260$) было получено несколько зеленых светоустойчивых ревертантов, у которых восстанавливался БХ в темноте и на свету. Один из этих ревертантов, R6-*brs*, стал предметом исследований механизмов, восстанавливающих биосинтез хлорофилла в условиях нарушения функций магний-хелатазы.

Для определения генетической природы реверсий был проведен гибридологический анализ ревертанта. Его скрещивали с исходными мутантами и штаммами дикого типа, и анализировали потомство методом тетрадного анализа. В мейотическом потомстве скрещиваний ревертанта R6-*brs* все полученные тетрады оказались родительского дитипа (4 зел. : 0 ор.), при этом, наблюдалось менделевское расщепление по размеру колоний: 2 норм. : 2 карлика. Эти результаты свидетельствовали о том, что супрессорная мутация является ядерной, наследуется моногенно, и тесно сцеплена с геном *CHLH*.

Клетки ревертанта морфологически отличаются от штамма дикого типа. Они формируют мелкие колонии за счет уменьшения скорости деления, - время их удвоения в 2,5 раза превышает данный показатель у дикого типа. При этом сами клетки ревертанта во время роста достигают больших размеров. Биохимический анализ показал, что клетки ревертанта R6-*brs* накапливают в 28 раз больше 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) - интермедиата БХ, и в 5 раз хлорофиллов, чем клетки дикого типа.

Анализ экспрессии генов, кодирующих ферменты биосинтеза хлорофилла, показал, что в клетках ревертанта уровень экспрессии гена *CHLH* в темноте выше, чем в клетках дикого типа. Транскрипция гена *GUN4*, кодирующего белок, регулирующий активность МХ, напротив, слабее. Экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза АЛК (*GTS*, *GSA*), и субъединицы *CHLD* МХ у ревертанта не отличалась от таковой у дикого типа и сохраняла светоиндуцированный характер. По-видимому, усиление синтеза АЛК у ревертанта происходит на посттранскрипционном уровне. Ген *CHL1* малой субъединицы МХ у ревертанта и в темноте, и на свету экспрессируется слабее, нежели у дикого типа.

Дальнейшие исследования, направленные на изучение генетической природы супрессорной мутации, помогут выяснить природу восстановления функции магний-хелатазы.