

Роль белка Gas1 клеточной поверхности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в сайленсинге рибосомных генов.**Научный руководитель – Калебина Татьяна Сергеевна***Анастасия А.А.¹, Солодовников А.А.¹*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия

Gas1 - бетаглюканозилтрансфераза, GPI-заякоренный белок, один из ключевых глюкан-ремоделирующих ферментов, который локализуется на клеточной поверхности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [2]. В 2009 году были опубликованы данные, что делеция гена *GAS1* или подавление активности Gas1 путём замены каталитических аминокислотных остатков приводит к усилению сайленсинга рибосомных генов и одновременному ослаблению сайленсинга теломерных генов [1]. Данный факт явился первым примером влияния белка клеточной поверхности на транскрипционный сайленсинг. Неожиданностью явилось обнаружение того, что к аналогичному эффекту приводит обработка клеток *S. cerevisiae* Congo Red (CR). До настоящего момента механизм описанного явления остается невыясненным. Исследователи предполагали, что Gas1 транспортируется в ядро и осуществляет там свою функцию, взаимодействуя с Sir2, Sir4. Однако, убедительного подтверждения высказанной гипотезе ими получено не было.

Методом иммуноблоттинга в предварительных экспериментах мы продемонстрировали отсутствие Gas1 в ядре как в норме, так и при сайленсинге, вызванном CR. Мы предположили, что взаимодействие Gas1 и белков сайленсинга происходит не в ядре, а на поверхности клетки, а именно в клеточной стенке, где CR блокирует этот процесс. В данной работе мы показали, что в клеточных стенках содержится фракция Gas1, прочно закреплённая, но ковалентно несвязанная с другими компонентами клеточной стенки, представленная двумя формами, отличающимися по молекулярной массе: Gas1^{cw 1} и Gas1^{cw 2}. Ранее наличие таких форм обнаружено не было. Было показано, что после инкубации клеток с CR в культуральную жидкость выходит глюкантрансфераза Bgl2, что свидетельствует о нарушениях в формировании клеточной стенки. Важным является то, что воздействие CR сопровождается снижением количества Gas1^{cw 1} и исчезновением Gas1^{cw 2}. Такое воздействие CR хорошо объясняется недавно выявленными амилоидными свойствами Gas1 [3]. Полученные результаты свидетельствуют в пользу высказанной нами гипотезы. Данные LC-MS/MS-анализа позволяют предположить, что белком-посредником, участвующим во взаимодействии с белками Gas1^{cw 1}, Gas1^{cw 2} и Sir2, Sir4 может являться GTP-связывающий белок Gsp2.

Источники и литература

- 1) Koch M. R., Pillus L. (2009) The glucanosyltransferase Gas1 functions in transcriptional silencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106(27):11224–11229.
- 2) Lesage G, Bussey H. (2006) Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 70(2):317–343.
- 3) Ryzhova T.A., Sopova J.V., Zadorsky S.P., Siniukova V.A., Sergeeva A.V., Galkina S.A., Nizhnikov A.A., Shenfeld A.A., Volkov K.V., Galkin A.P. (2017) Screening for amyloid proteins in the yeast proteome. *Curr Genet* doi:10.1007/s00294-017-0759-7.