

Антогонизм цитостатического действия разобщителей и азольных антимикотиков на клетки дрожжей *S.cerevisiae* (Antagonistic drug X drug interaction of mitochondrial uncouplers and azole antifungal in yeast *S.cerevisiae*)

Научный руководитель – Галкина Ксения Викторовна

Финкельберг Иосиф Александр Михайлович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: osyafinkelberg@gmail.com

Работа АВС-переносчиков с низкой субстратной специфичностью является одним из механизмов возникновения множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), в том числе и у патогенных видов грибов. Так как работа АВС-переносчиков сопряжена с гидролизом АТФ, в условиях дефицита энергии клетка вынуждена “выбирать” между активацией этих переносчиков и другими процессами, требующими затраты АТФ. В нашей работе мы изучали систему регуляции МЛУ клетки в условиях дефицита энергии на примере модельного организма – пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Известно, что активация экспрессии АВС-переносчиков в клетках данных дрожжей происходит за счет транскрипционных факторов Pdr1p и Pdr3p. Сотрудниками нашей лаборатории было показано, что в присутствии разобщителя окислительного фосфорилирования карбонил цианид-п-трифторметоксифенилгидразона (FCCP) максимальная скорость роста штамма $\Delta pdr1\Delta pdr3$, лишённого АВС-переносчиков, на несбраживаемом субстрате глицерине выше, чем у контрольного штамма. В наших экспериментах доля клеток штамма $\Delta pdr1\Delta pdr3$, также превышала долю клеток дикого типа после совместной инкубации штаммов на глицерине в присутствии разобщителя FCCP. Скорее всего, клетки штамма $\Delta pdr1\Delta pdr3$ обладают большей скоростью роста по сравнению с клетками дикого типа благодаря экономии в энергии, которую им не приходится расходовать на работу АВС-переносчиков. Мы предположили, что в сочетании с антимикотиками разобщители окислительного фосфорилирования могут оказывать значительный синергетический эффект на их действие, истощая запас клеточной энергии, необходимый для работы системы МЛУ. Мы оценили рост клеток в условиях добавления азольного антимикотика клотримазола и различных митохондриальных разобщителей (FCCP, РСР, никлозамид) на сбраживаемом (глюкоза) и несбраживаемых (глицерин, этанол) субстратах. В последнем случае единственным источником энергии в клетке является окислительное фосфорилирование. Вопреки нашему предположению, РСР и FCCP увеличивали резистентность клеток к клотримазолу, в то время как никлозамид, вообще, не влиял на устойчивость к антимикотику. Эти данные указывают на то, что даже в условиях дефицита энергии, связанного с дисфункцией митохондрий, клетка активирует систему МЛУ в ответ на добавление ксенобиотиков.

Известно, что ген фосфатидилсерин-декарбоксилазы *PSD1* необходим для активации МЛУ в клетках дрожжей в ответ на нарушение работы митохондрий. Мы нокаутировали этот ген в штамме дрожжей дикого типа и в штамме, в котором к геномной копии основного АВС-переносчика *PDR5* добавлена нуклеотидная последовательность гена GFP. С помощью этих штаммов мы исследовали роль *PSD1* в активации МЛУ под действием разобщителей.