

Участие мБТШ *AlpA* в регуляции клеточного деления *Acholeplasma laidlawii*

Научный руководитель – Каюмов Айрат Рашитович

Федорова Марина Сергеевна

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия

E-mail: MaSFedorova97@mail.ru

Федорова М. С.¹, Чернова Л.С.¹, Каюмов А.Р.¹, Вишняков И.Е.²

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Малые белки теплового шока (мБТШ) входят в семейство АТФ-независимых молекулярных шаперонов, препятствующих необратимой агрегации белков в неблагоприятных условиях среды. У *Acholeplasma laidlawii*, единственной микоплазмы, которая способна существовать вне организма хозяина, и обладает повышенной адаптивной способностью, найдены только один ген мБТШ - *IbpA* (*AlpA*), и единственный ген белка деления - *FtsZ*. Белок *FtsZ* является высококонсервативным и выполняет одну из ключевых функций в процессе деления клеток большинства прокариот. Для *Escherichia coli* показано, что мБТШ *IbpA* и *IbpB*, также участвуют и в регуляции клеточного деления. Целью данной работы было определить участие мБТШ *AlpA* в регуляции клеточного деления ахолеплазм.

Ранее нами было обнаружено, что белок *AlpA* ко-элюируется с *FtsZ* - ключевым ГТФ-связывающим белком клеточного деления бактерий. Участие N- и C-концовых мотивов *AlpA* во взаимодействии с *FtsZ* было изучено *in vitro* с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) *VIAScore* и *in vivo* с помощью бактериальной двугибридной системы. Данные ППР позволили предположить, что *AlpA* связывает *FtsZ* как «мБТШ-субстрат», без белок специфического взаимодействия. Метод двугибридной системы, основанный на восстановлении активности аденилатциклазы, говорит о взаимодействии белков по C-концевым доменам. Каталитический домен фермента аденилатциклазы (*cyoA*) состоит из двух фрагментов - T25 и T18, расположенных в разных плаزمиде. Фермент является неактивным, если фрагменты T25 и T18 физически разделены. Соединение комплементарных фрагментов происходит при взаимодействии шитых с фрагментами рекомбинантных белков. Для данного эксперимента *AlpA* был шит с C-концом фрагмента T25 аденилатциклазы, а *FtsZ* с фрагментом аденилатциклазы T18 на обоих терминальных его концах. Активность определяли количеством продуцируемой цАМФ в клетке, что коррелирует с ферментативной активностью β -галактозидазы. В результате, в клетках, продуцирующих T25-*IbpA*, шитый с N-концом *FtsZ*, уровень активности β -галактозидазы свидетельствовал о прямом взаимодействии рекомбинантных белков, в то время как с фрагментом, шитым C-концом *FtsZ*, взаимодействия не происходило. Тем не менее, в клетках, выращенных при температуре 30°C или 42°C, не наблюдалось существенных различий в активности β -галактозидазы, что свидетельствует о конститутивном взаимодействии *AlpA* и *FtsZ* *in vivo* согласно данным бактериальной двугибридной искусственной системы. Эти данные были также подтверждены измерением ГТФазной активности *FtsZ*, которая определяет количество высвобождаемого неорганического фосфата.

В результате полученных данных предполагается, что *AlpA* все же взаимодействует с белком деления *FtsZ*, но не оказывает регуляторного влияния на работу самого белка.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (Проект № 20-34-90066).