

**Влияние замены  $\beta$ Q263L на активность протон-зависимой АТФ-синтазы и физиологию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*****Научный руководитель – Лапашина Анна Сергеевна*****Зубарева Валерия Михайловна****Студент (специалист)*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет  
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия*E-mail: zubareva.valeriaa@gmail.com*

F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-АТФ-синтаза — это мембранный фермент, который катализирует синтез АТФ за счет энергии трансмембранной протон-движущей силы. Также фермент может работать в обратном направлении как АТФ-зависимая протонная помпа. В митохондриях эукариот АТФ-синтаза преимущественно катализирует синтез АТФ, используя протон-движущую силу, создаваемую ферментами дыхательной цепи. Однако, в условиях стресса, протон-движущая сила на митохондриальной мембране может падать. В таком случае АТФ-синтаза начинает гидролизовать АТФ и генерировать протон-движущую силу. Гидролитическая активность АТФ-синтазы может регулироваться несколькими способами. Самым распространенным из них является неконкурентное ингибирование комплексом MgАДФ (АДФ-ингибирование). Оно связано с тем, что когда АДФ связывается в каталитическом сайте в отсутствие фосфата, фермент может изменить свою конформацию и перейти в неактивное состояние [1]. Так как АДФ-ингибирование подавляет гидролиз в отсутствие протон-движущей силы, оно может предупреждать чрезмерную растрату АТФ в условиях деэнергизации, однако его физиологическая роль четко не была показана. Основной целью работы было прояснить роль АДФ-ингибирования в живых клетках дрожжей.

Известно, что замена  $\beta$ Q259L ослабляет АДФ-ингибирование АТФ-синтазы *Bacillus sp. PS3* и *Bacillus subtilis* [2]. Мы предположили, что аналогичная замена в ферменте пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* также приведет к ослаблению ингибирования. В ходе работы было исследовано влияние мутации  $\beta$ Q263L на свойства АТФ-синтазы *S. cerevisiae*. Для оценки выраженности АДФ-ингибирования использовали азид, стабилизирующий фермент в АДФ-ингибированном состоянии, и LDAO — детергент, который, напротив, стимулирует АТФазную активность, препятствуя АДФ-ингибированию. LDAO активировал гидролитическую активность на митохондриях родительского штамма в 2.5 раза, в то время как гидролиз митохондриями штамма W303 АТР2:: $\beta$ Q263L активировался на 10%. Азид подавлял гидролитическую активность митохондрий в 10 раз для родительского штамма и на 15% для штамма W303 АТР2:: $\beta$ Q263L. Результаты этих экспериментов позволяют утверждать, что замена  $\beta$ Q263L действительно ослабляет АДФ-ингибирование у фермента дрожжей.

На всех типах сред скорость роста штамма дрожжей W303 АТР2:: $\beta$ Q263L по сравнению со скоростью роста родительского штамма была снижена. Скорость роста клеток после выхода из стационарной фазы роста у штамма с мутацией также была значительно ниже, чем у родительского штамма. Эти данные позволяют считать, что АДФ-ингибирование АТФазной активности АТФ-синтазы дрожжей играет важную физиологическую роль, которая может быть связана с экономией внутриклеточного АТФ в условиях стресса.

**Источники и литература**

- 1) Lapashina AS, Feniouk BA. ADP-Inhibition of H<sup>+</sup>-FF-ATP Synthase. *Biochemistry* . 2018;83: 1141–1160.

- 2) Lapashina AS, Feniouk BA. Mutation Q259L in subunit beta in *Bacillus subtilis* ATP synthase attenuates ADP-inhibition and decreases fitness in mixed cultures. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;509: 102–107.