

Характеристика N-ацетил-L-глутаматкиназы *Dunaliella salina*

Научный руководитель – Ермилова Елена Викторовна

Власова Виталина Анатольевна

Аспирант

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

E-mail: derkachvita99@gmail.com

Синтез аргинина играет важную роль в процессах метаболизма азота у растений, поскольку эта аминокислота используется не только для биосинтеза белков, но также выступает предшественником в образовании окиси азота и полиаминов, которые, в свою очередь, участвуют в адаптации к стрессовым условиям. Ключевым ферментом биосинтеза аргинина у представителей Chlorophyta является N-ацетил-L-глутаматкиназа (NAGK) [1]. При этом у Cyanobacteria и Archaeplastida активность этого фермента контролируется сигнальным белком из семейства PII.

У галофильной зеленой водоросли *Dunaliella salina* ген, кодирующий PII-белок, был обнаружен лишь в 2020 году [2], поэтому вопрос о вовлечении PII в процесс контроля NAGK у этого организма до сих пор оставался открытым. Целью данной работы стало описание свойств и механизмов регуляции ключевого фермента биосинтеза аргинина N-ацетил-L-глутаматкиназы у галофильной одноклеточной зеленой водоросли *D. salina*.

Для этого мы поставили следующие задачи: (1) Методами клонирования и аффинной хроматографии получить рекомбинантную N-ацетил-L-глутаматкиназу (*DsaNAGK*) и PII-белок *D. salina*. (2) Охарактеризовать кинетические параметры полученного фермента и сравнить их со свойствами изученных ранее N-ацетил-L-глутаматкиназ. (3) Оценить роль PII-белка в контроле активности *DsaNAGK*.

Проведенный анализ свойств и механизмов регуляции *DsaNAGK in vitro* показал, что этот фермент ингибируется аргинином по принципу обратной связи, а значит относится к аргинин-чувствительным N-ацетил-L-глутаматкиназам. Сравнение каталитической активности *DsaNAGK* с другими одноклеточными зелеными водорослями позволяет говорить о сходных ферментативных возможностях, а имеющиеся отличия, вероятнее всего, отражают особенности метаболизма разных представителей.

Пул-даун эксперимент показал, что *DsaPII*-белок взаимодействует с *DsaNAGK*. Однако фермент не контролируется собственным PII. С другой стороны, в гетерологичных экспериментах с PII близкородственной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* PII-зависимый контроль *DsaNAGK* зафиксирован. Высказано предположение, что в процессе эволюции галофильная водоросль утратила зависимость синтеза аргинина от глутамина.

Источники и литература

- 1) Selim K. A., Ermilova E., Forchhammer K. From cyanobacteria to Archaeplastida: new evolutionary insights into PII signalling in the plant kingdom. // New Phytologist. 2020. V. 227(3). P. 722-731.
- 2) Polle J. E. W., Calhoun S., McKie-Krisberg Z. [et al.] Genomic adaptations of the green alga *Dunaliella salina* to life under high salinity // Algal Research. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101990>