

Обратимое формирование белковых скоплений в ответ на гиперосмотический шок в клетках дрожжей

Научный руководитель – Тер-Аванесян Михаил Давидович

Бабенко Ирина Владимировна

Студент (бакалавр)

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Новомосковск, Россия

E-mail: grosfelde@mail.ru

Бабенко И.В.¹, Александров А.И.², Чупров-Неточин Р.Н.³

Студент¹, кандидат биологических наук, кандидат биологических наук³

Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеев, Москва, Россия¹,

*ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биохимии им. А.Н. Баха, Москва, Россия²,
Московский физико-технического институт, Центр живых систем и биофармин-
жиниринга, Москва, Россия³*

E-mail: grosfelde@mail.ru¹, alexvir@gmail.com², netochin@gmail.com³

Правильное структурно-функциональное состояние внутриклеточных белков чрезвычайно важно для живых клеток. Осмотический шок - это воздействие с которым неизбежно приходится сталкиваться различным организмам, в том числе и дрожжам. Механизмы клеточного ответа на гиперосмос изучены довольно подробно, но его роль в агрегации белков исследована недостаточно. Целью работы был анализ структуры и свойств белковых скоплений, возникающих в клетках дрожжей в ответ на гиперосмотический шок. Скопления были обнаружены с помощью микроскопии клеток, содержащих шапероны, помеченные зеленым флуоресцентным белком (GFP). Наблюдаемые комплексы высоколабильны и возникают за несколько секунд в ходе наступления гиперосмотического шока. Подобные комплексы мы называли осмоточки. Исчезновение комплексов происходит так же быстро при удалении шокового воздействия. Такое поведение не даёт возможности установить их состав стандартными биохимическими методами.

Для изучения белкового состава осмоточек, нами был проведен скрининг белков, меняющих свою локализацию в ответ на гиперосмотический шок. Для этого мы визуализировали локализацию белков, помеченных GFP в ~4500 штаммах дрожжей с помощью автоматизированной флуоресцентной микроскопии. После анализа изображений, кандидатные штаммы были перепроверены индивидуально, что позволило обнаружить 10 белков, способных образовывать скопления в ответ на гиперосмос. Это различные шапероны, нешаперонные белки участвующие в ответе на стресс, некоторые метаболические белки, а также один белок с неизвестными функциями. При изучении осмоточек, образованных шапероном Hsp70 (Ssa1) было показано, что осмотические точки не формируются при высоких концентрациях соли, начиная с 2,5 М KCl, причем, если клетки сначала подвергались воздействию 1М KCl, а затем концентрация повышалась до 3 М, то скопления возникали. Также осмокомплексы возникали при изменении содержания KCl в окружающей среде от 3 до 1 М. Это позволяет сделать вывод, что наблюдаемые скопления не являются неким аналогом процесса высаливания, так как в этом случае, с увеличением концентрации KCl они бы продолжали возникать.

Ранее в ходе исследования условий возникновения осмоточек было показано, что рост на несбраживаемом источнике углерода является необходимым условием для формирования скоплений. Это позволило предположить, что другие виды стресса так же могут

повлиять на способность клеток образовывать осмоточки. Было обнаружено, что клетки, выращенные на среде с глюкозой при температуре в 37°C приобретают способность формировать осмоточки, в то время как при 30°C осмоточки не возникают.

Полученные в данной работе данные, а также другие эксперименты, связанные с этим проектом, позволяют предположить, что осмоточки скорее всего не являются классическими агрегатами, а могут быть связаны со особенностями структуры цитоплазмы. Мы предполагаем, что осмоточки - это области жидкой цитоплазмы, которая заключена между более твердыми областями, которые сблизились вследствие уменьшения количества воды в клетке. При этом белки, которые образуют осмоточки, не могут свободно перемещаться между «жидкой» и «твердой» фазой.

Работа была поддержана грантом Российского Научного Фонда № 17-14-01092