

Биохимическая характеристика механизмов регуляции АТФазной активности АТФ-синтазы *Saccharomyces cerevisiae*

Научный руководитель – Фенюк Борис Александрович

Тимошкова Александра Михайловна

Студент (специалист)

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

E-mail: timoshkova.aleksandra@gmail.com

H^+ -АТФ-синтазы F_0F_1 -типа катализируют синтез или гидролиз АТФ, сопряженный с трансмембранным переносом протонов. При высокой трансмембранной разности электрохимического потенциала протонов фермент синтезирует АТФ, а при ее снижении катализирует гидролиз, сопровождающийся обратным транспортом протонов через мембрану. Предполагается, что такая активность важна в условиях энергетического стресса, однако требует регуляции, поскольку чрезмерный гидролиз АТФ может истощать энергетические ресурсы клетки [2].

У дрожжей АТФазная активность фермента контролируется двумя независимыми механизмами: Mg-АДФ-зависимым ингибированием и действием ингибиторных белков *Inh1p* и *Stf1p*.

Mg-АДФ-ингибирование — консервативный механизм регуляции, выявленный у АТФ-синтаз митохондрий, хлоропластов и бактерий. В отсутствие неорганического фосфата АДФ стабилизируется в каталитическом центре F_1 -комплекса, переводя фермент в неактивное состояние и подавляя гидролиз. Показано, что у дрожжей мутация $\beta Q263L$ ослабляет Mg-АДФ-ингибирование, вследствие чего фермент сохраняет высокую АТФазную активность в условиях, ингибирующих дикий тип [2]. Делеция генов белков *Inh1p* и *Stf1p* также сопровождается увеличением скорости гидролиза АТФ, особенно при деэнергизации митохондрий [1]. Эти механизмы работают параллельно и обеспечивают переход фермента в неактивное состояние при снижении трансмембранного потенциала.

Остается неясным, как изменяется регуляция АТФазной активности при избирательном и одновременном нарушении Mg-АДФ-зависимого и белкового ингибирования. Для анализа изменений регуляторного ответа были выделены митохондрии из штаммов дикого типа, штамма $atp2Q263L$ с ослабленным Mg-АДФ-ингибированием, $\Delta inh1\Delta stf1$ с делецией генов ингибиторных белков и $atp2Q263L \Delta inh1\Delta stf1$ с комбинацией обеих мутаций.

Мы анализировали АТФазную активность в присутствии соединений, усиливающих или снимающих ингибирование, а также при деэнергизации митохондрий. По сравнению с диким типом мутант с одновременным нарушением обоих механизмов ингибирования демонстрирует двукратное снижение степени ингибирования при добавлении АДФ, снижение активации веществами, снимающими Mg-АДФ-ингибирование (активация LDAO снижена в 5 раз, сульфитом — в 3 раза), а также трехкратное снижение чувствительности к азиду, специфическому ингибитору F_0F_1 -АТФ-синтазы, усиливающему АДФ-ингибирование.

Полученные данные указывают, что подавление обоих механизмов торможения существенно ослабляет способность фермента переходить в ингибированное состояние в ответ на регуляторные сигналы, тогда как у дикого типа те же воздействия вызывают выраженную стимуляцию или подавление активности.

Источники и литература

- 1) Galkina K.V., Zubareva V.M., Kashko N.D. et al. Heterogeneity of starved yeast cells in IF1 levels suggests the role of this protein in vivo. *Front. Microbiol.* 2022;13:816622.
- 2) Lapashina A.S., Kashko N.D., Zubareva V.M. et al. Attenuated ADP-inhibition of FOF1 ATPase mitigates manifestations of mitochondrial dysfunction in yeast. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 2022.