

Связь N- и O-гликозилирования белков в секреторном пути с контролем клеточного цикла у дрожжей**Научный руководитель – Агафонов Михаил Олегович****Красовитов Кирилл Владимирович***Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

E-mail: kirillkrasovitov@yandex.ru

Клетки дрожжей способны регулировать свой рост и деление в зависимости от состояния окружающей среды. В условиях стресса (температурный или гиперосмотический шок) клетки должны обеспечить быструю остановку клеточного цикла для реализации комплексной программы адаптации к изменившимся условиям. У дрожжей адаптивный ответ на осмотический сдвиг определяется активацией сигнального пути HOG (high osmolarity glycerol), центральным элементом которого является митоген-активируемая протеинкиназа Hog1. Двойное фосфорилирование протеинкиназы Hog1 приводит к её активации, которая вызывает остановку клеточного цикла на разных его стадиях, в частности на стадии G2 за счет Hog1-зависимого снятия ингибирования протеинкиназы Wee1, подавляющей активность комплекса Clb2/Cdc28 [3].

Ранее было обнаружено, что инактивация вакуолярной кальциевой АТФазы Pmc1 у дрожжей *Hansenula polymorpha* приводит к ингибированию перехода G2-M, обусловленного протеинкиназами Hog1 и Wee1, что сопровождается появлением у клеток чувствительности к додецилсульфату натрия (SDS) [2]. Однако чувствительность клеток к детергентам характерна для мутантов с нарушениями гликозилирования белков в секреторном пути. Данный фенотип принято связывать с ослаблением клеточной стенки [1], тем не менее делеция *PMC1* не сопровождалась изменениями клеточной стенки, что позволяет предполагать о существовании иного механизма действия SDS.

Помимо компонентов клеточной стенки многие рецепторы плазматической мембраны содержат в своём составе гликозидные цепи, в том числе белки-осмосенсоры Msb2 и Hkr1, обеспечивающие активацию сигнального пути HOG [3]. Таким образом, можно предположить, что нарушения гликозилирования белков в секреторном пути способны вызывать чувствительность к SDS из-за влияния детергента на функцию рецепторов плазмалеммы или их лигандов в клеточной стенке, что способно приводить к Hog1-зависимой остановке клеточного цикла.

В ходе работы были получены мутантные штаммы *H. polymorpha* с делецией генов маннозилтрансфераз *PMT4* и *MNN2*, клетки которых характеризуются чувствительностью к SDS, обусловленной цитостатическим эффектом детергента. Инактивация гена *HOG1*, а также двойная мутация, приводящая к синтезу мутантного белка Hog1 (замены в сайтах фосфорилирования: T172A, Y174F), подавляли чувствительность к детергенту у штаммов с нарушением гликозилирования белков. Полученные результаты свидетельствуют о том, что чувствительность к SDS у мутантов *pmt4-Δ* и *mnn2-Δ* обусловлена по меньшей мере протеинкиназной активностью Hog1 и связана с остановкой клеточного цикла.

Источники и литература

- 1) Cullen P.J. et al. Defects in protein glycosylation cause SHO1-dependent activation of a STE12 signaling pathway in yeast // Genetics. 2000. No. 155(3). p. 1005-1018.

- 2) Fokina A.V. et al. Inactivation of Pmc1 vacuolar Ca²⁺ ATPase causes G2 cell cycle delay in *Hansenula polymorpha* // Cell Cycle. 2012. No. 15(4). p. 778-784.
- 3) Saito H., Posas F. Response to hyperosmotic stress // Genetics. 2012. No. 192(2). p. 289-318.