

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-278

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКА WHiA У МОЛЛИКУТ В КОНТЕКСТЕ МИНИМАЛЬНОГО ГЕНОМА^{*}

INVESTIGATION OF WHiA PROTEIN FUNCTION IN MOLLICUTES IN THE MINIMAL GENOME CONTEXT

Е. А. Цой, Д. В. Евсютина, Г. Ю. Фисунов, В. М. Говорун

НИИ системной биологии и медицины, Москва

E. A. Tsoy, D. V. Evsytina, G. Y. Fisunov, V. M. Govorun

Scientific Research Institute of Systems Biology and Medicine, Moscow

✉ eatsoy2012@gmail.com

Аннотация

WhiA — консервативный белок, присутствующий у многих групп бактерий. Его функции в разных группах существенно различаются и плохо изучены за пределами стрептомицетов. У последних WhiA является регулятором споруляции. Мы показали, что у микоплазм (молликут) WhiA является регулятором экспрессии оперона рибосомных белков и сенсором АТФ. Нокадаун гена *whiA* у *Mycoplasma gallisepticum* приводит к снижению скорости роста, что говорит о важности.

Abstract

WhiA is a conserved protein that is widespread in several groups of bacteria. Its function significantly differs across bacterial taxons and is poorly understood except for its activity in sporulation control in Streptomyces. We demonstrated that in mycoplasmas (Mollicutes) WhiA is a transcriptional regulator of the ribosomal proteins operon and is an ATP sensor. Knockdown of *whiA* gene results in the significant growth retardation which indicates its importance.

Микоплазмы (*Mollicutes*) — бактерии с редуцированным геномом, минимальный размер которого составляет 580 тыс. п. о. (*Mycoplasma genitalium*). Как следствие, все микроорганизмы данного класса обладают рядом особенностей, отличающих их от классических модельных объектов (*E. coli*, *B. subtilis*). Приспособление микоплазм к паразитарному образу жизни привело к редукции клеточной стенки, метаболизма, генома и систем регуляции его экспрессии. В связи с общим упрощением своей организации бактерии класса *Mollicutes* с начала 1980-х гг. стали использоваться в качестве моделей для понимания основных принципов устройства клеток. В 2016 г. была опубликована работа по получению бактерии с редуцированным синтетическим геномом *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn3.0. Его размер равен 531 тыс. пар оснований и состоит из 473 генов, включая ген кодирующий белок WhiA [1]. Таким образом, этот белок является жизненно необходимым. Несмотря на то что WhiA присутствует во многих бактериях и вызывает интерес ученых уже на протяжении 50 лет, роль его в жизни бактериальных клеток пока неясна. Согласно опубликованным данным, в разных бактериях он задействован в разных процессах: регуляция экспрессии генов при споруляции, поддержание структуры и целостности хроматина [2, 3].

В данной работе мы исследовали белок WhiA из *Mycoplasma gallisepticum*. Мы показали, что у микоплазм данный белок является регулятором транскрипции оперона *rplJ*, кодирующего гены рибосомных и некоторых других белков домашнего хозяйства. Мы показали, что WhiA является сенсором нуклеозид-трифосфатов, т. е. состояния энергизации клетки. Полученные нами мутанты с нокадауном гена WhiA (методом CRISPR-интерференции) демонстрируют сниженную скорость роста и увеличенную экспрессию шаперонов, что может говорить о системном нарушении организации протеома. Мы синтезировали ген рН-сенсора *SyrHcr3s* с кодонным составом, оптимальным для микоплазм. Далее были получены двойные трансформанты — с нокадауном WhiA и экспрессией *SyrHcr3s*. Далее было проведено исследование способности клеток с нокадауном WhiA удерживать внутриклеточный рН в определенных рамках относительно среды.

Литература

1. Fisunov G. Y. et al. Reconstruction of Transcription Control Networks in Mollicutes by High-Throughput Identification of Promoters // Front. Microbiol. 2016. Vol. 7. P. 1–15.
2. Bohorquez L. C. et al. Metabolic and chromosomal changes in a Bacillus subtilis whiA mutant // Microbiol. Spectr. 2023. Vol. 11 (6). P. e0179523
3. Lee J. H. et al. Corynebacterium glutamicum whiA plays roles in cell division, cell envelope formation, and general cell physiology // Antonie Van Leeuwenhoek. 2020. Vol. 113 (5). P. 629–641.

^{*} Работа финансировалась по заданию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в рамках темы «Создание искусственных клеточных систем» (рег. № 1022040800170-3-1.6.23).