

АССОЦИАЦИЯ СТРЕССОВЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СВЕТОИНДУЦИРУЕМЫХ БЕЛКОВ С КОМПЛЕКСАМИ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН

Л.С. Шаранова, Н.П. Юрина

ФГБУН Институт биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, e-mail: lubasha1707@mail.ru, nyurina@inbi.ras.ru

Свет необходим для процесса фотосинтеза, однако избыточное освещение приводит к повреждению фотосинтетического аппарата. У растений, водорослей и цианобактерий существуют различные механизмы защиты от светового стресса. Одним из таких механизмов является синтез светоиндуцируемых низкомолекулярных белков тилакоидов, содержащих одну трансмембранную спираль (One-helix protein; ОНР). Эти консервативные белки обнаружены у всех изученных фотосинтезирующих эукариот (оксигенных фототрофов). Показано, что данные белки играют существенную роль в сборке и стабилизации фотосинтетических пигмент-белковых комплексов тилакоидных мембран и, особенно, в реакционных центрах (Beck et al., 2017). У цианобактерий, считающихся эволюционными предшественниками хлоропластов, они называются Hlips (high light-inducible proteins) или SCP (small Cab-like proteins). У *Synechocystis* sp. PCC 6803 идентифицированы пять белков Hli, четыре из которых представляют собой низкомолекулярные белки HliA/HliB, HliC/HliD; пятый белок является C-концевым фрагментом феррохелатазы. Предполагают, что Hlip/Scp белки цианобактерий имеют большое число функций, такие как фотопротекция, сборка и репарация фотосистемы 2 (ФС2), регуляция биосинтеза тетрапирролов и содействие, в качестве вспомогательного фактора, интеграции хлорофилла с хлорофилл-связывающими белками (Юрина и др., 2013; Wang et al., 2008). Таким образом, низкомолекулярные светоиндуцируемые белки играют важную роль в защите фотосинтетического аппарата от фотодеструкции и рассматриваются как одна из защитных систем клетки. Однако вопрос об основной функции Hlip/Scp и их локализации в мембранах тилакоидов остаётся недостаточно исследованным. Данная работа посвящена изучению ассоциации низкомолекулярных светоиндуцируемых белков с комплексами тилакоидных мембран. В качестве объекта исследований были выбраны два вида цианобактерий – *Synechocystis* sp. PCC 6803 (клетки дикого типа и мутанты) и *Arthrospira platensis*. Исследование проводилось с помощью двумерного электрофореза и масс-спектрометрии MALDI-TOF. Для решения поставленных задач тилакоидные мембраны, выделенные из клеток цианобактерий, лизировали мягким неионным детергентом (n-додecil- β -D-мальтозидом). Мембранные белковые комплексы, выделенные из клеток цианобактерий, фракционировали с помощью нативного неокрашенного электрофореза в ПААГ (Clear Native PAGE), затем во втором направлении проводили электрофорез в SDS-PAGE (Акулиникова и др., 2015). На электрофореграмме, полученной в результате фракционирования лизата тилакоидных мембран *Synechocystis* sp., выявлены следующие комплексы: тримеры и мономеры комплекса ФС1, димеры и мономеры комплекса ФС2, цитохромный комплекс, АТФ-азный комплекс, комплекс NAD(P)H-хинон-оксидоредуктазы, а также зона свободных белков. HliA/HliB белки были идентифицированы с помощью иммуноблоттинга. Масс-спектрометрический анализ показал, что Hlips ассоциированы с тримерами фотосистемы 1 (ФС1), комплексами ФС2 и мономерами ФС1. Кроме того, они были обнаружены в зоне свободных белков. Фракционирование лизата тилакоидных мембран *Synechocystis* sp. и *Arthrospira platensis* позволило выявить сходство профилей распределения хлорофилл-белковых комплексов этих цианобактерий. Проведённые исследования ассоциации HliA/HliB белков с фотосистемами *Synechocystis* sp. с использовани-

ем мутантов, дефицитных по ФС2 показали, что HliA/HliB белки ассоциированы не только с тримерами, но и с мономерами ФС1. Ассоциация HliA/HliB белков как с ФС1, так и с комплексом ФС2 указывает на универсальную роль этих белков в защите хлорофилл-белковых комплексов от светового стресса. Белки HliA/HliB обнаружены в тилакоидных мембранах клеток мутантов, не содержащих ФС1 и ФС2. Из полученных данных следует, что белки HliA/HliB синтезируются в клетках цианобактерий даже в отсутствие фотосистем, что указывает на их участие в других клеточных процессах, например, в регуляции биосинтеза хлорофилла.

Работа подготовлена при поддержке программы президиума РАН № 18 «Молекулярная и клеточная биология и постгеномные технологии» и гранта РФФИ № 16-04-01626А.

Литература

Акулинка Д.В., Большевцева Ю.В., Еланская И.В., Карапетян Н.В., Юрина Н.П. // Биохимия. – 2015. – Т. 80. – С. 1522–1531.

Юрина Н.П., Мокерова Д.В., Одинцова М.С. Светоиндуцируемые стрессовые белки пластид фототрофов // Физиол. растений. – 2013. – Т. 60. – С. 611–624.

Beck J., Lohscheider J.N., Albert S., Andersson U., Mendgen K.W., Rojas-Stütz M.C., Adamska I., Funck D. Small One-Helix Proteins Are Essential for Photosynthesis in Arabidopsis // Frontiers in Plant Sci. – 2017. – V. 8. – P. 1–14.

Wang, Q., Jantaro, S., Lu, B., Majeed, W., Bailey, M., and He, Q. The high light-inducible polypeptides stabilize trimeric photosystem I complex under high light conditions in Synechocystis PCC 6803 // Plant Physiol. – 2008. – V. 147. – P. 1239–1250.