

**ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ АМТВ, GLNK И ГЛУТАМИНСИНТЕЗАЫ
НА АКТИВНОСТЬ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ TNRA
В КЛЕТКАХ *BACILLUS SUBTILIS***

© К. П. Федорова, Н. В. Тарасов, А. В. Халикова, О. Н. Ильинская,
Б. И. Барабанчиков, А. Р. Каюмов¹

Казанский (Приволжский) федеральный университет;
¹ электронный адрес: kairatr@yandex.ru

Азот является макроэлементом для всех живых клеток — от бактерий до животных. Хотя ионы аммония ($\text{NH}_3^+/\text{NH}_4^+$) токсичны для животных, они являются наиболее предпочтительным источником азота для большинства бактерий и ассимилируются глутаминсингтазой (ГС) в так называемом цикле GO-GAT. Недостаток азота для клетки запускает каскад регуляторных процессов и активацию большой группы генов, призванных утилизировать азот из других соединений. Так, у *Bacillus subtilis* гены белков, участвующих в азотном метаболизме, регулирует фактор транскрипции TnrA. В клетках он связан с белками GlnK и AmtB, взаимодействие с ингибиционной формой ГС подавляет его ДНК-связывающую активность. Показано, что делеция белка AmtB, осуществляющего АТФ-зависимый транспорт ионов аммония в клетку из окружающей среды, приводит к дефициту азота в клетке и как следствие — повышенному уровню экспрессии генов TnrA-регулона. При дефекте белка GlnK фактор TnrA конститутивно связан с ГС и его активность снижена в условиях недостатка источника азота. Активность фактора TnrA в клетках, видимо, подвержена постоянной репрессии со стороны ГС: отсутствие ГС происходит значительное увеличение активности TnrA по сравнению с контролем даже в условиях азотного голодаания, когда ГС высокоактивна. Эти факты позволяют предположить, что активность фактора TnrA регулируется конкурентным связыванием с ГС и белком GlnK.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, фактор транскрипции TnrA, глутаминсингтаза, азотный метаболизм.

Принятые сокращения: ГС — глутаминсингтаза, СТАВ — цетилtrimетиламмоний-бромуид, ONPG — орто-нитрофенил-β-галактозид.

В природных экосистемах азот редко встречается в форме, легко доступной для усвоения живыми организмами. Как правило, он представлен в виде нитратов и сложных органических соединений, требующих дополнительных затрат энергии для ассимиляции. Наиболее предпочтительным источником азота для любой клетки является глутамин или ионы аммония, которые транспортируются в клетку белками AmtB (Khademi, Stroud, 2006; Tremblay, Hallenbeck, 2009). Затем глутаминсингтаза (ГС) синтезирует глутамин путем присоединения иона аммония к остатку глутаминовой кислоты. Этот путь усвоения азота универсален для всех живых клеток — от бактерий до животных. В условиях недостатка восстановленного азота в клетке активируются гены, продукты которых участвуют в ассимиляции трудноусваиваемых источников азота. В клетках бацилл ключевую роль в регуляции азотного метаболизма играют фактор транскрипции TnrA и ГС. Избыток доступного азота приводит к наложению внутриклеточного глутамина, который подавляет активность ГС по принципу обратной репрессии. Эта форма ГС связывает TnrA и, видимо, подавляет его ДНК-связывающую активность (Wray et al., 2001). Недавно было показано, что комплекс с TnrA может формиро-

вать также и активная форма ГС, однако вопрос о том, активен ли в этом случае белок, остается открытым (Kaumov et al., 2011). При недостатке азота фактор TnrA активирует гены, ответственные за ассимиляцию альтернативных источников азота (Wray et al., 1996).

Ранее было показано, что фактор транскрипции TnrA связан с мембранным комплексом белков GlnK—AmtB (Detsch, Stulke, 2003; Heinrich et al., 2006). Трансмембранный белок AmtB осуществляет транспорт ионов аммония в клетку из окружающей среды (Detsch, Stulke, 2003). Гомологи белка GlnK во многих клетках регулируют активность AmtB в зависимости от доступности азота в среде (Javelle et al., 2004), однако роль этого белка для клеток бацилл остается неизвестной (Detsch, Stulke, 2003). Показано, что фактор транскрипции TnrA связан с мембранным комплексом белков GlnK—AmtB (Heinrich et al., 2006). Удаление источника азота приводит к диссоциации мембранных комплексов AmtB—GlnK—TnrA и протеолитическому расщеплению TnrA (Kaumov et al., 2008). В отсутствие белка AmtB фактор TnrA конститутивно связан с белком GlnK и находится в цитоплазме. В отсутствие самого белка GlnK фактор TnrA связан с ГС независимо от доступности азота (Kaumov et al., 2011).