

Механизмы регуляции MUT-генов у метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris***Научный руководитель – Румянцев Андрей Михайлович***Сидорин А.В.¹, Волков А.А.², Шараев Н.И.³*

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: byanshon@gmail.com*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: spacerocketpilot@gmail.com*; 3 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: rumyantsev-am@mail.ru*

Дрожжи *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*) относятся к уникальной группе эукариотических микроорганизмов, способных использовать метанол в качестве единственного источника углерода и энергии. Путь утилизации метанола сходен у всех видов метилотрофных дрожжей. На первом этапе происходит окисление метанола до формальдегида. Эта реакция осуществляется специальным ферментом - алкогольоксидазой. Часть формальдегида, образующегося в ходе первых реакций окисления метанола, используется клетками для получения энергии. Другая часть формальдегида включается в цепь реакций ассимиляции [1].

Дрожжи *P. pastoris* широко применяются в современной биотехнологии для синтеза рекомбинантных белков [2]. Этому способствует наличие сильных промоторов генов ферментов метаболизма метанола (*MUT*-генов), в частности промотора гена алкогольоксидазы 1 (*AOX1*). Известные схемы культивирования *P. pastoris* чаще всего основываются на смене источника углерода в среде. Рост биомассы проводят на среде с глицерином, где наблюдается репрессия промоторов *MUT*-генов, используемых для гетерологичной экспрессии. Индукция синтеза рекомбинантного белка осуществляется за счёт смены источника углерода на метанол.

В связи с огромной практической значимостью механизмы регуляции *MUT*-генов у дрожжей *P. pastoris* в активно изучаются. Проведённые ранее в нашей лаборатории исследования показали, что дрожжи *P. pastoris* обладают сигнальной системой, которая координированно регулирует экспрессию генов ферментов метаболизма метанола и генов, кодирующих белки пероксисом (*PEX*-генов). Эта система реагирует на изменение типа источника азота в среде, а также обеспечивает оптимальные уровни экспрессии *MUT*- и *PEX*- генов в средах с различными концентрациями ортофосфата [3,4]. Было показано, что ключевую роль в обеспечении обнаруженной регуляции играет киназа Tor.

В ходе данной работы была изучена роль белков, участвующих в Tor-зависимом и ретроградном (RTG) сигналинге, а так же сенсоров аминокислот, в обеспечении регуляции *MUT*-генов у дрожжей *P. pastoris*. Впервые было показано участие белка Rtg1 в регуляции промотора гена *AOX1*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00750.

Источники и литература

- 1) Hartner F.S., Glieder A. Regulation of methanol utilisation pathway genes in yeasts // Microbial Cell. Factories. 2006. №5. P. 39–67.
- 2) Baghban R., Farajnia S., Ghasemi Y., Mortazavi M., Zarghami N., Samadi N. New Developments in *Pichia pastoris* Expression System, Review and Update // Current Pharmaceutical Biotechnology. 2018. №19(6). P. 451-467.

- 3) Румянцев А.М., Падкина М.В., Самбук Е.В. Влияние источника азота на экспрессию генов, контролирующих первые этапы утилизации метанола у дрожжей *Pichia pastoris* // Генетика. 2013. №49(4). С. 454-460.
- 4) Rumjantsev A. M., Bondareva O. V., Padkina M. V., Sambuk E.V. Effect of Nitrogen Source and Inorganic Phosphate Concentration on Methanol Utilization and PEX Genes Expression in *Pichia pastoris* // The Scientific World Journal. 2014. №2014. P. 1-9.