

Анализ влияния нарушений работы авто- и гетеротрофных механизмов ассимиляции углерода и энергии на метаболизм *Chlamydomonas reinhardtii*

Р.К. Пузанский^{1*}, А.А. Кирпичникова², Д.А. Романюк³, А.Л. Шаварда^{1,2}, М.Ф. Шишова²

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

* puzansky@yandex.ru

Цель: Микроводоросли способны расти как фотоавтотрофно, используя для получения энергии и углерода только свет и углекислый газ, так и усваивать экзогенные органические соединения. Вклад каждого из этих источников в энергетический и углеродный бюджет клетки и механизмы настройки метаболизма, обеспечивающие трофическую адаптацию, остаются предметом исследований. Зеленая одноклеточная водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* является модельным организмом, широко используемым в биологических исследованиях. Она способна использовать ацетат в качестве единственного источника углерода и энергии. Целью данной работы было изучение метаболических особенностей линий *C. reinhardtii* в различных трофических режимах, определяемых способностью к автотрофному и гетеротрофному питанию.

Материалы и методы: Был проведен сравнительный анализ линий дикого типа (сс-124) и линий с дефектами механизмов гетеротрофного и фотоавтотрофного питания: сс-3400 (дефект митохондриальной цитохром-с-оксидазы, COX1), сс-440 (дефект пластидной АТФ-синтазы), LMJ.RY0402.085001 (дефект изоцитратлиазы, ICL), сс-4666 (дефект рубиско-активазы, RCA), сс-4141 (нарушение функционирования фотосистемы II). Клетки поддерживались на средах TAP (+ ацетат) и TM (– ацетат) при постоянном освещении или в темноте. Метаболические эффекты этих нарушений выявляли с помощью профилирования метаболитов методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Дополнительно методом ОТ-ПЦР в реальном времени исследовали экспрессию генов, кодирующих ключевые ферменты первичного метаболизма и пластидные транспортеры.

Результаты: Результаты показали, что потеря RCA, ведущая к падению фиксации углерода, а также нарушение митохондриального дыхания вследствие дефекта COX1 не оказывали значительного влияния на рост культур. В то же время дефекты ICL, пластидной АТФ-синтазы и ФСII приводили к значительному снижению скорости роста и максимальной плотности при миксотрофных условиях.

Дифференциальное накопление метаболитов и изменения в экспрессии генов показали, что трофическая адаптация тесно связана с регуляцией гликолиза/глюконеогенеза и цикла Кребса. Анализ экспрессии генов пластидных транспортеров выявил различия в перераспределении энергии между клеточными компартментами в зависимости от активности авто- и гетеротрофных путей. Кроме того, различия в накоплении сахаров указывают на важную роль перестройки углеводного обмена при трофической адаптации. При автотрофном питании наблюдались повышенные уровни сахаров, что, вероятно, связано с усиленной фиксацией углерода в процессе фотосинтеза и активным обменом углеводов.

Липиды выполняют ключевые функции в резервировании ресурсов и формировании мембран. В зависимости от физиологического состояния клетки мембраны могут синтезироваться, разрушаться или изменять свой состав. Установлено, что нарушение фотосинтетических функций приводило к снижению накопления ненасыщенных жирных кислот. Кроме того, у большинства мутантных линий наблюдалось уменьшение уровня основного стерина – эргостерина. Эти данные подтверждают связь между метаболической активностью и липидным составом мембран.

Выводы: Таким образом, при миксотрофном росте ацетат является важнейшим источником углерода, а свет – главным источником энергии. Различия в трофическом состоянии, в первую очередь, связаны с режимом работы ЦТК, перераспределением энергии между пластидой и цитозолем, а также балансом депонирования/мобилизации резервов и составом мембран.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-14-00490.