



Биоинформатический и биохимический анализы специфичных сериновых пептидаз алкалофильных и алкалотолерантных грибов

магистрант 2 года **Алкин Н.А.**

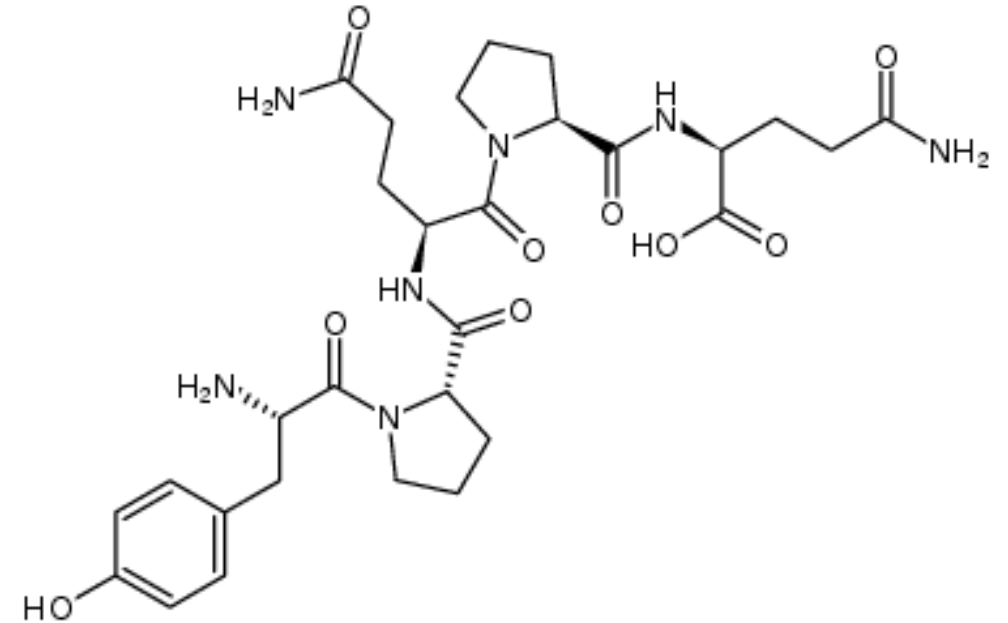
руководители:
гл.н.с., д.б.н. **Дунаевский Я.Е.**
доцент, к.б.н. **Белякова Г.А.**

Москва, 2021

Актуальность исследования



Экосистемы с высоким рН



Фрагмент глиадина

Цели и задачи

Цель работы

Биоинформатический и биохимический анализ пролин- (PSP) и глутамин-специфичных (SLP) сериновых пептидаз грибов щелочных местообитаний

Задачи

- Провести биоинформатический поиск PSP и SLP в геноме *Sodiomyces alkalinus* F11 и сравнить их с генами PSP и SLP в геномах других высших грибов
- Измерить активность PSP и SLP в жидких культурах грибов щелочных местообитаний
- Определить оптимальный pH работы грибных PSP и SLP
- Определить стабильность грибных PSP и SLP в условиях повышенной солёности и экстремальной кислотности
- Установить чувствительность грибных PSP и SLP к набору ингибиторов
- Детектировать активность сериновых пептидаз в отношении глиадинов и изучить влияние ингибиторов на данную активность

Используемые культуры

Вид	Штамм	Место сбора	Отношение к рН
<i>Acrostalagmus luteoalbus</i> (Link) Zare, W. Gams & Schroers	V205 (CBS 137625)	Кулундинская степь; озеро	Алкалотолерант
<i>Chordomyces antarcticus</i> Bilanenko, Georgieva & Grum-Grzhim.	M27 (CBS 120045)	Кулундинская степь; озеро	Алкалотолерант
<i>Sodiomyces alkalinus</i> Grum- Grzhim., Debets & Bilanenko	F11 (CBS 110278)	Монголия; озеро	Алкалофил
<i>Sodiomyces magadiensis</i> S.A. Bondarenko, Grum-Grzhim., Debets & Bilanenko	Mag5 (CBS 142933)	Кения, содовая почва на берегу оз. Магади	Алкалофил
	B39 (CBS 142937)	Россия; засоленная почва на берегу оз. Баскунчак	Алкалофил
<i>Sodiomyces tronii</i> S.A. Bondarenko, Grum-Grzhim., Debets & Bilanenko	Mag3 (CBS 137620)	Кения, озеро Магади; берег озера	Алкалофил
<i>Verticillium zaregamsianum</i> Inderb., Usami, Kanto, Bostock, R.M. Davis & K.V. Subbarao	V201 (CBS 137621)	Забайкалье; озеро	Алкалотолерант

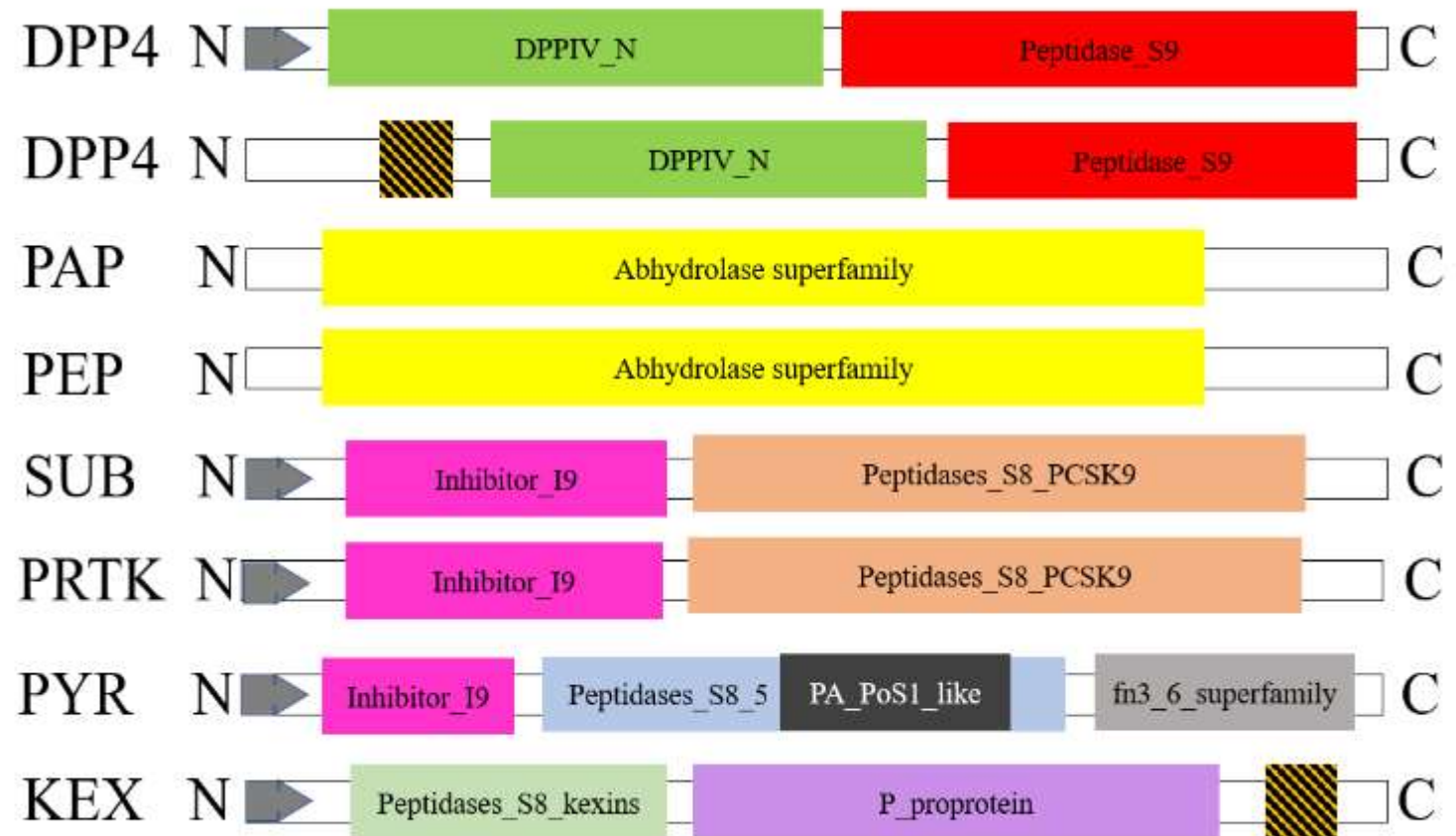
Биоинформатический анализ пептидаз

S. alkalinus F11

- 10 генов сериновых пептидаз

Выборка из 42 видов

- таксоноспецифичность
- экологическая специфичность



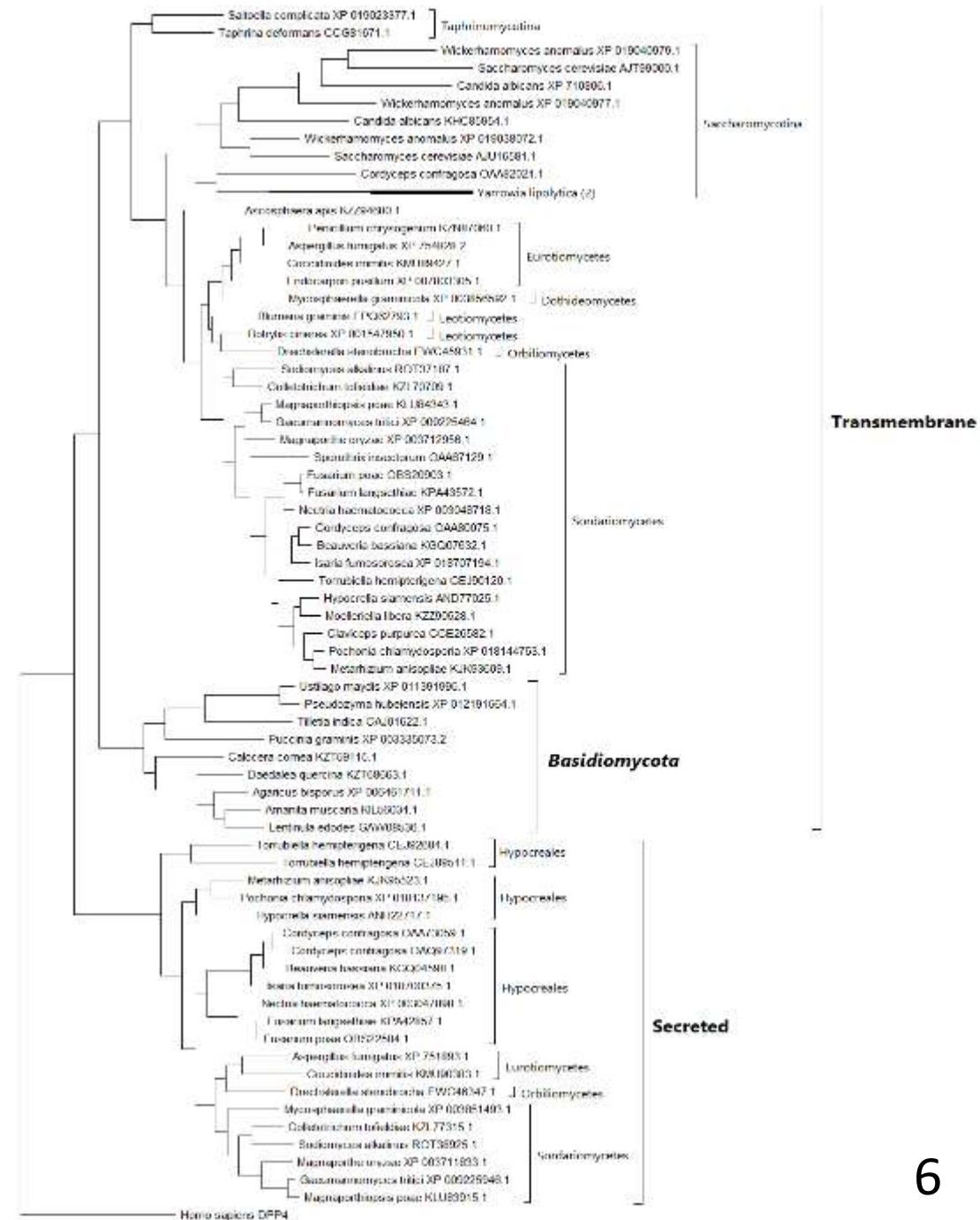
Сигнальный пептид



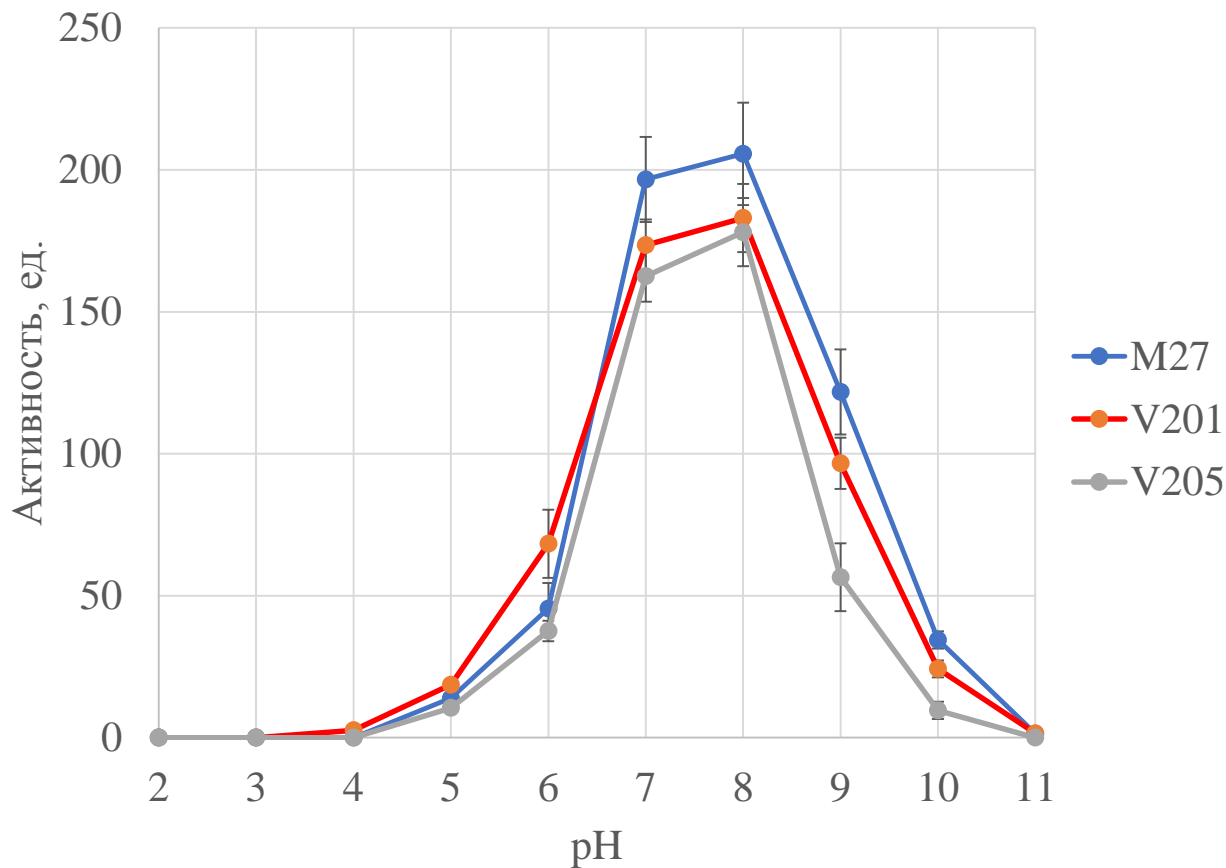
ТМ-участок

Кладограмма генов фермента DPP4

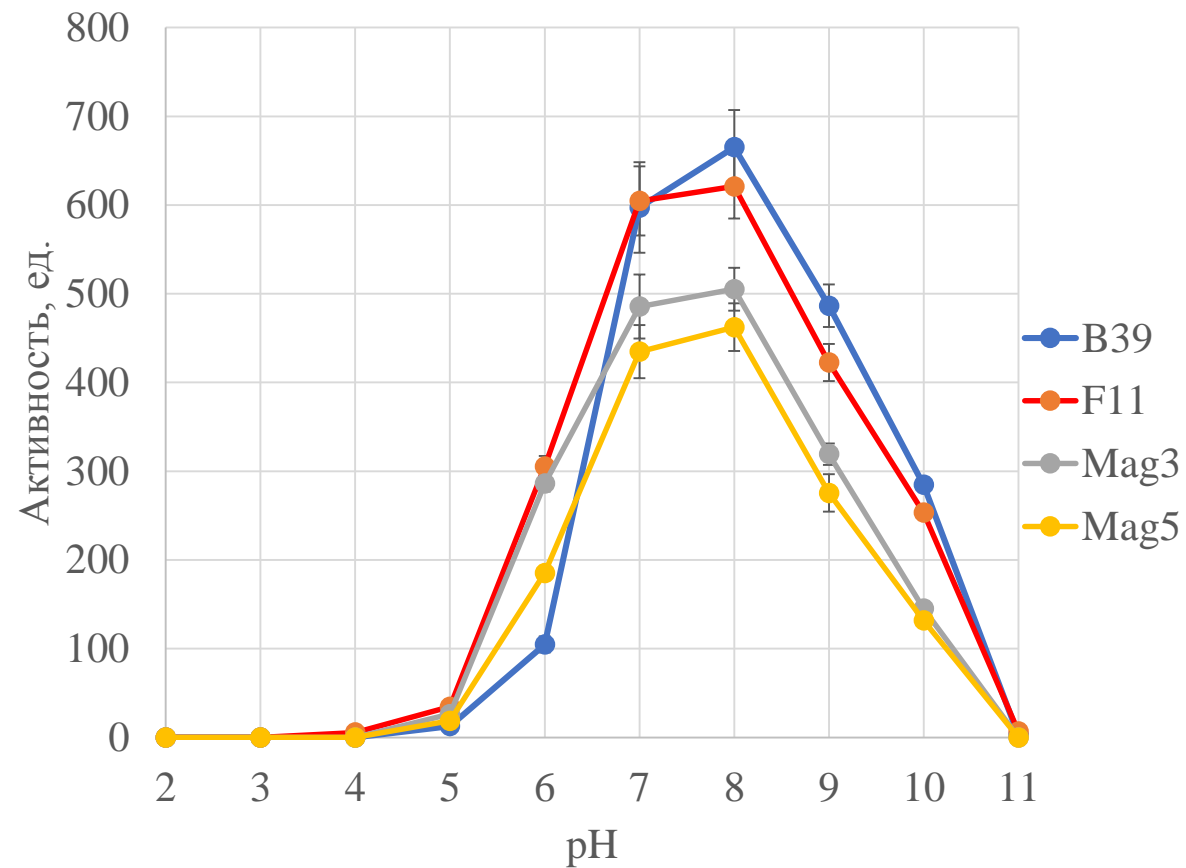
- секретируемые и мембранные изоформы
- 1-2 копии в геноме
- клады соответствуют порядкам и классам



Оптимумы pH работы ферментов

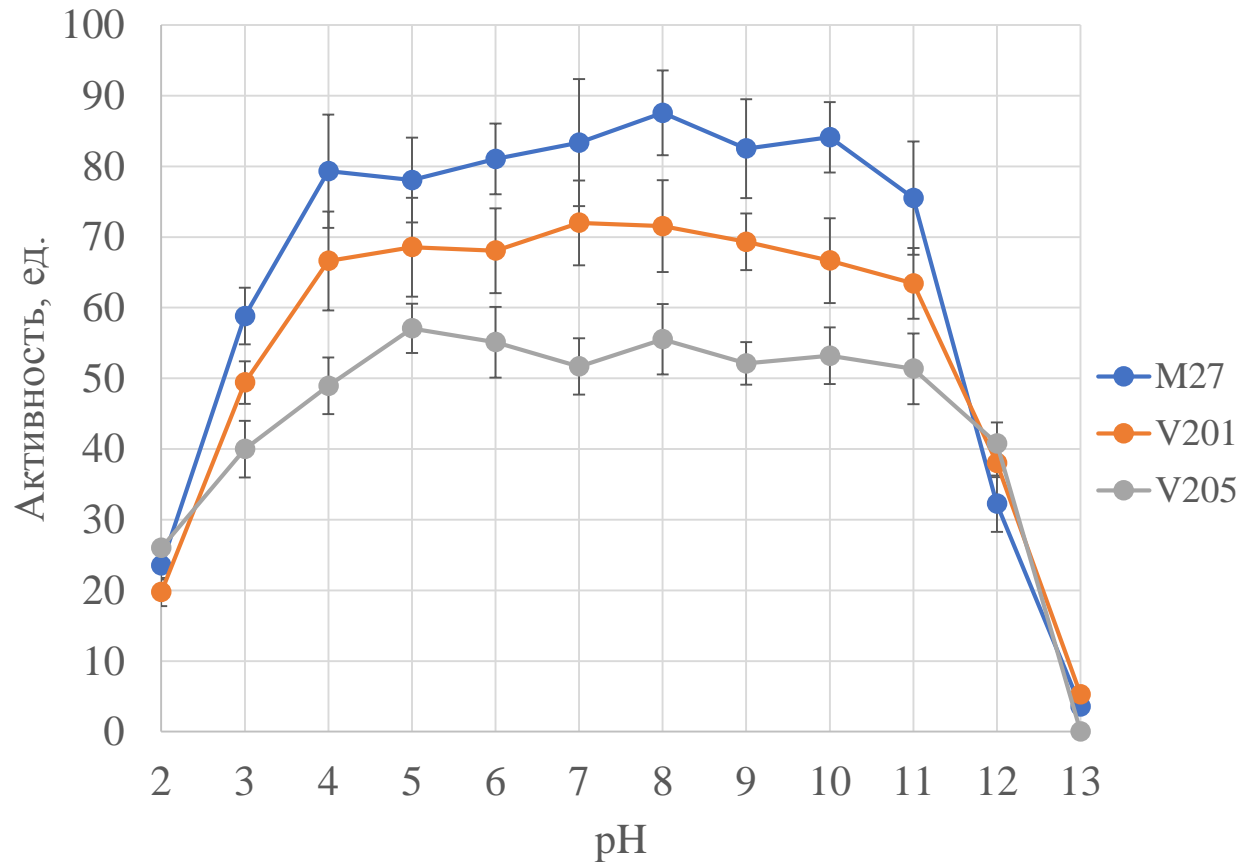


Алкалотолерантные штаммы
DPP4

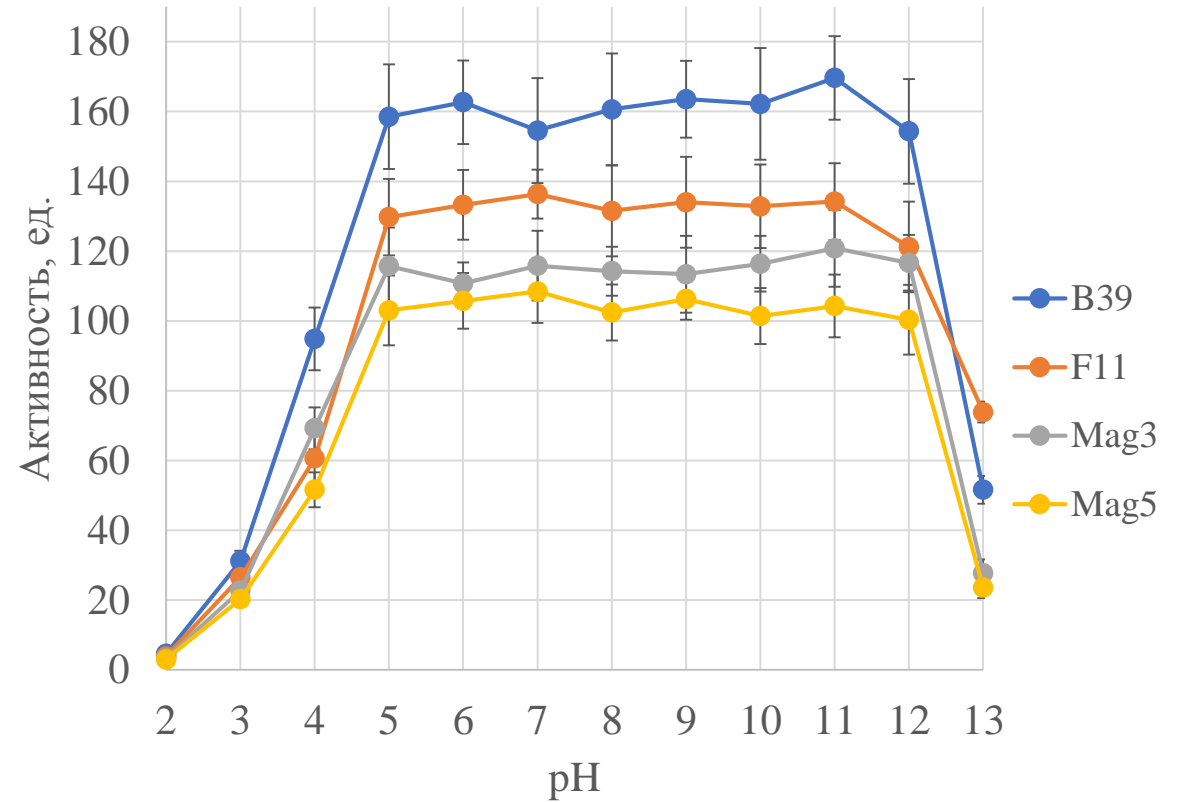


Алкалофильные штаммы
DPP4

pH-стабильность ферментов

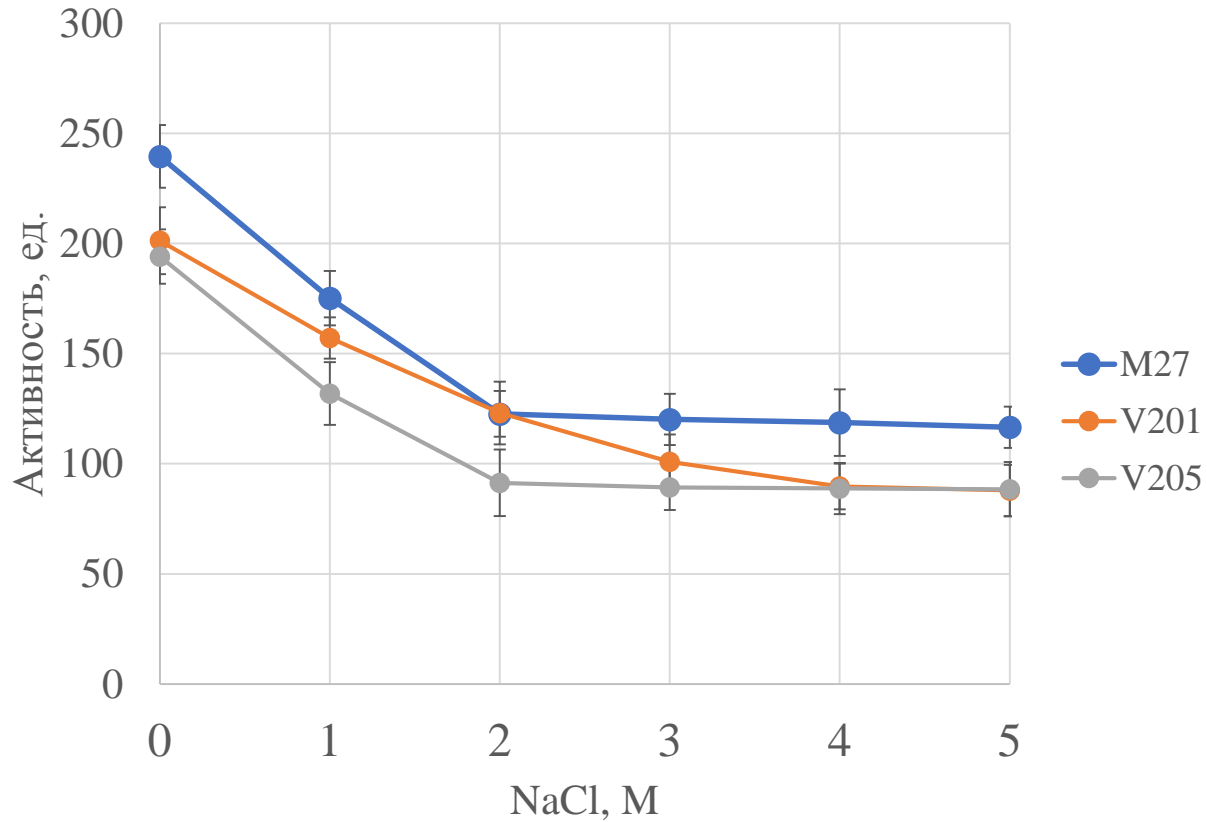


Алкалотолерантные штаммы
SLP

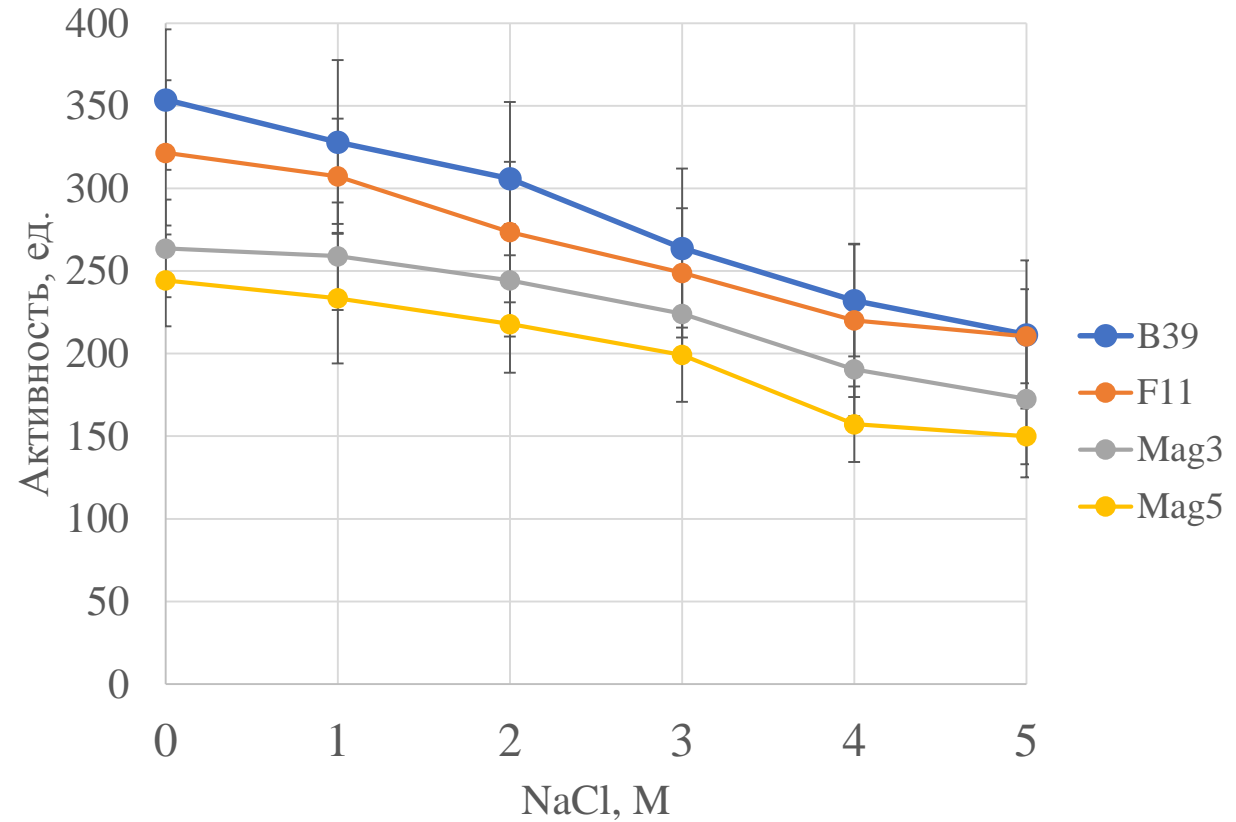


Алкалофильные штаммы
SLP

Солеустойчивость ферментов

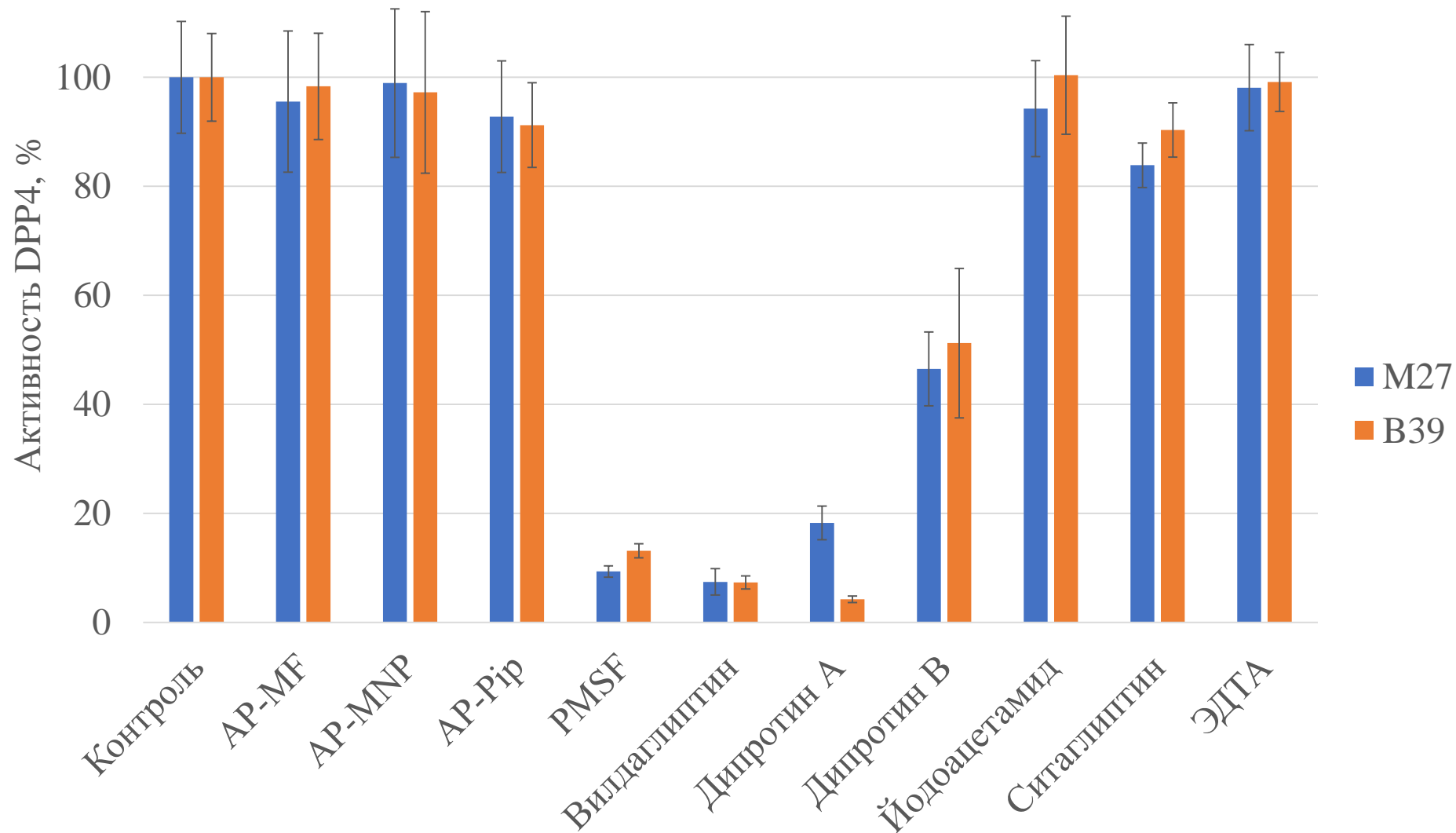


Алкалотолерантные штаммы
РАР

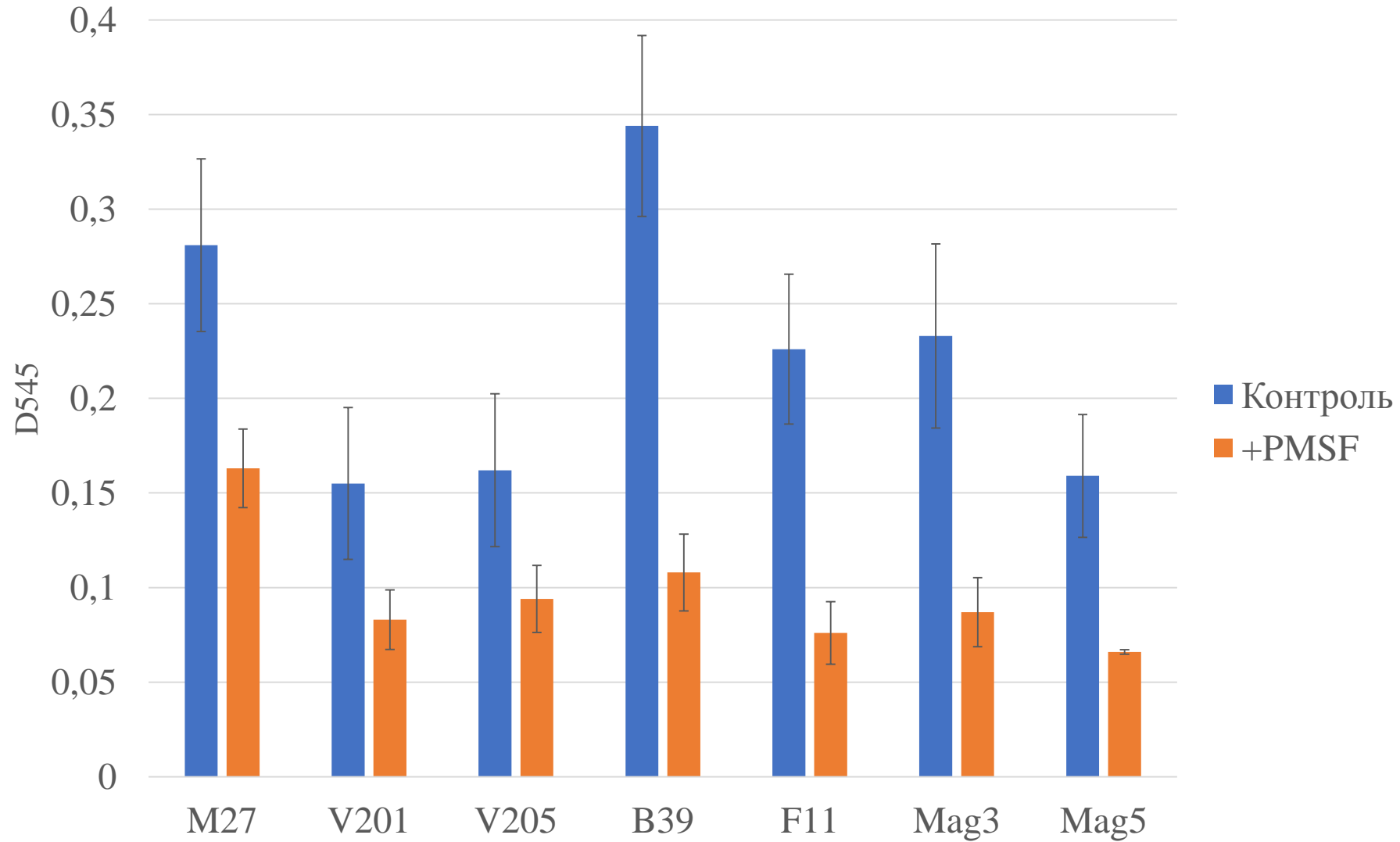


Алкалофильные штаммы
РАР

Воздействие ингибиторов



Гидролиз глиадинов



Выводы

1. Для исследованных сериновых пептидаз показана таксоноспецифичность и приуроченность к определённым эколого-трофическим группам. В геноме *S. alkalinus* F11 обнаружено 10 гомологов сериновых пептидаз из групп PSP и SLP, согласующихся с их систематическим положением и экологической нишей.
2. В культуральной жидкости 7 штаммов грибов щелочных местообитаний идентифицированы активности, соответствующие ферментам DPP4, PAP и SLP.
3. Оптимальный pH действия всех обнаруженных ферментов лежит в нейтральной и слабощелочной области (pH 7.0-8.0). Все обнаруженные ферменты стабильны в широком диапазоне pH (от 5,0-10,0 до 4,0-12,0) и сохраняют частичную активность в условиях экстремальной солёности (5M NaCl).

Выводы

4. Ингибиторный анализ подтверждает принадлежность обнаруженных DPP4, PAP и SLP штаммов *C. antarcticum* M27 и *S. magadiensis* B39 к классу сериновых пептидаз.
5. Показана способность исследованных пептидаз участвовать в расщеплении трудно-гидролизуемых глиадинов.
6. Исследованные алкалофильные и алкалотолерантные штаммы обладают одинаковым набором сериновых пептидаз из групп PSP и SLP, однако различаются по уровню активности ферментов и по их устойчивости при экстремальных значениях pH (pH 2-3 и pH 12-13).

An aerial photograph of a vast, flat, reddish-brown landscape, likely a salt flat or a dry lake bed. The surface is covered in a complex network of white, cracked lines, creating a mosaic-like pattern. In the background, a range of blue mountains stretches across the horizon under a bright blue sky with scattered white clouds. The foreground and middle ground are a deep, saturated red color, possibly due to mineral deposits or dried mud. The overall scene is desolate and expansive.

Спасибо за внимание!