

антисенс-транскрипт этого гена кодирует ген *DBH-AS1*, участвуя, таким образом, в регуляции экспрессии гена *DBH* с помощью РНК-интерференции.

В нашей работе проводился анализ двух однонуклеотидных замен, rs2067629, rs6271 в гене *DBH-AS1*, для этого использовали такие методы, как ПЦР-ПДРФ и аллель специфичная ПЦР в реальном времени. В анализе участвовали три выборки: пациенты с мигренью (146 пациентов), паническими расстройствами (124 пациента), контрольная выборка (373 необследованных жителя Москвы и Московского региона).

В результате для указанных SNP не было обнаружено ассоциации с заболеваниями ($p > 0,3$ во всех случаях). Проведенный анализ комплексных гаплотипов показал, что сочетание аллелей rs2097629:T+rs6271:C повышает риск развития мигрени в 1,95 раз.

Таким образом, нами не было выявлено ассоциации с мигренью или паническим расстройством для каждого полиморфизма в отдельности. Однако имеет место совместное влияние замен rs2067629, rs6271 в гене *DBH-AS1* на развитие мигрени.

КОНСТРУИРОВАНИЕ LUX-БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI* И ГИБРИДНЫХ ПЛАЗМИД С ГЕНАМИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮЦИФЕРАЗ ПОД КОНТРОЛЕМ ИНДУЦИРУЕМЫХ ПРОМОТОРОВ

Баженов С.В.¹, Манухов В.И.^{1,2}, Коноплёва М.Н.¹

¹ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный; ²Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия

sergei.v.bazhenov@phystech.edu

Лух-биосенсоры широко используются в работах по биотехнологии и генетической инженерии, при тестировании новых лекарственных препаратов и мониторинге окружающей среды (в качестве детекторов токсических агентов). Лух-биосенсор – это бактериальная клетка, содержащая гибридную плазмиду, в состав которой входят регуляторный участок (индуцируемый промотор или оператор) и ген(ы)-репортер(ы). Целью данной работы является создание лух-биосенсора с промотором оперона *iscRSUA* *E.coli* K12 MG1655. *iscRSUA* кодирует белки, участвующие в биосинтезе Fe-S кластеров. В качестве репортеров используются гены *luxCDABE* *Photobacterium luminescens*, кодирующие бактериальные люциферазы и редуктазу, а в качестве регуляторного элемента – индуцируемый промотор, изолированный из оперона *iscRSUA*. Белок IscR кодируется первым геном *iscR* оперона *iscRSUA* и является репрессором транскрипции с промотора оперона *iscRSUA*. Индукторами данного промотора являются перекись водорода и паракват.

В ходе работы были получены фрагмент ДНК, содержащий промотор оперона *iscRSUA*, и фрагмент ДНК, содержащий промотор, транскрипционно слитый с геном *iscR*, методом ПЦР-амплификации из генома *E.coli* K12 MG1655. ПЦР-продукты встраивали в вектор pTZ57R (Т-вектор). Далее проводился отбор гибридных плазмид по ориентации вставки. После чего регуляторный участок ДНК вырезался из Т-вектора по сайтам рестрикции EcoRI-BamHI и встраивался в беспромоторную плазмиду pDeW201. В результате была получена гибридная плазмида pA, в которой гены *luxCDABE* *P.luminescens* расположены под контролем индуцируемого промотора оперона *iscRSUA*. По этой же методике будет получена плазмида pB, содержащая лух-оперон под контролем промотора транскрипционно слитого с геном белка-репрессора.

Были проведены измерения биолюминесценции клеток *E.coli* штаммов MC1061 и MG1655, трансформированных плазмидой pA, при различном содержании индуктора в среде. После получения гибридной плазмиды pB будут проведены измерения биолюминесценции клеток *E.coli*, трансформированных ею.

Результаты измерения биолюминесценции клеток, трансформированных плазмидой pA, показали, что в отсутствие белка IscR промотор открыт и не реагирует на присутствие в среде индукторов.