

NdeI-BamHI в вектор pUC18 для удобства дальнейших манипуляций. В дальнейшем планируется подробно изучить роль этих ферментов при поражении растений бактериями *P. atrosepticum*.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАЛЫМИ НЕКОДИРУЮЩИМИ 6S-1 И 6S-2 РНК *BACILLUS SUBTILIS*

Буренина О.Ю.¹, Елкина Д.А.¹, Толкен К.², Логачёва М.Д.¹, Хартманн Р.К.², Кубарева Е.А.¹

¹ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, химический факультет, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия; ²Институт фармацевтической химии, Марбургский университет им. Филиппа, Марбург, Германия

alunit@inbox.ru

Прокариотические 6S РНК – это малые регуляторные РНК, обнаруженные более чем в 1600 видах бактерий. Вторичная структура их молекул имитирует промотор ДНК в открытом комплексе с РНК-полимеразой (РНКП), что позволяет 6S РНК связываться в активном центре холофермента. Глобальное ингибирование транскрипции, вызванное экспрессией 6S РНК, как правило, приходится на стационарную фазу роста клеток. При этом холоферменты РНКП, содержащие минорные сигма-факторы, не взаимодействуют с 6S РНК. Большинство бактерий содержит одну 6S РНК, но в некоторых видах, в том числе *Bacillus subtilis*, обнаружена дополнительная 6S РНК (6S-2), которая экспрессируется в логарифмической фазе роста клеток. Таким образом, часть холофермента РНКП, содержащего основной сигма-фактор, связываясь с 6S-2 РНК, теряет активность и не способна к транскрипции. Причины, обуславливающие необходимость экспрессии 6S-2 РНК в *B. subtilis* и механизмы, контролируемые равновесие между активной РНКП и её комплексами с 6S-1 и 6S-2 РНК на сегодняшний день неизвестны.

Целью данной работы являлось установление функциональной роли обеих 6S РНК *B. subtilis* и идентификация генов, экспрессия которых зависит от этих РНК. Для этого были получены мутантные клеточные линии *B. subtilis* с делециями генов 6S-1 и/или 6S-2 РНК. Для оценки влияния каждой 6S РНК на транскрипцию выделение общей РНК проводили в ранней стационарной фазе роста клеток, когда экспрессируются обе 6S РНК. После удаления рРНК и получения библиотек кДНК проводили секвенирование и последующий дифференциальный транскриптомный анализ. Уровень транскрипции более 170 генов существенно возрастал в отсутствие обеих 6S РНК, однако многие опероны ингибировались или активировались только 6S-1 или 6S-2 РНК. Отсутствие 6S РНК также оказывало влияние на синтез некоторых некодирующих РНК, в том числе РНКазы II, малой цитоплазматической 4.5S РНК и рибозима *glmS*. Влияние обеих 6S РНК на экспрессию генов было также продемонстрировано с помощью сравнительного протеомного анализа нокаутных штаммов. Многие идентифицированные методом масс-спектрометрии белки, экспрессия которых возрастала в отсутствие 6S-1 и/или 6S-2 РНК, являются факторами стресса и участвуют в различных метаболических процессах. Кроме того, экспрессия ряда белков регулируется основным фактором катаболитной репрессии СсрА. Таким образом, впервые *in vivo* была доказана роль обеих 6S РНК как регуляторов экспрессии генов в *B. subtilis*.

Работа проводилась в рамках совместной программы ННИО-РФФИ «Международные исследовательские группы с участием молодых ученых» (гранты IRTG 1384, 14-04-91336).