

ПОИСК САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ С ДНК РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА СИСТЕМЫ КВОРУМА *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*

Миронычева А.А.¹, Шлыкова Л.В.², Гоголева Н.Е.², Гоголев Ю.В.²

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

mironichewa@yandex.ru

Система кворум сенсинга является одной из самых распространенных регуляторных систем бактерий. Ключевым компонентом этой системы выступают сенсорно-регуляторные белки R-семейства. R-белки проявляют ДНК-связывающие свойства в присутствии или отсутствии молекул аутоиндукторов *N*-ацил гомосеринлактонов. Поиск сайтов связывания этих белков на ДНК, так называемых lux-боксов, представляет интерес как для изучения механизмов регуляции системы кворума, так и общих принципов регуляции активности кворум-зависимых генов у бактерий.

Объектом нашего исследования является система *expI/expR* фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043. Ген *expR* кодирует регуляторный ДНК-связывающий белок ExpR, объединяемый по ряду характеристик в одну монофилетическую группу с аналогичными белками бактерий *Pectobacterium carotovorum*, *Pantoea stewartii*, *Erwinia chrysanthemi* (Tsai, Winans, 2010). Нами был проведен биоинформатический поиск сайтов связывания ExpR-белка в промоторных областях генов *expI* и *expR*. Для этого использовался алгоритм множественного выравнивания. В результате, в промоторной области гена *expR* удалось выделить высоко консервативные участки, один из которых обладает высокой гомологией с известными последовательностями lux-боксов и характерной для lux-боксов палиндромной структурой и длиной 20 п.н. Обнаруженный нами lux-бокс имеет область перекрытия с сайтом -10 промоторной области. Из этого можно сделать вывод об авторепрессорном механизме регуляции транскрипции гена *expR*. Проводится работа над экспериментальным подтверждением полученных результатов с использованием рекомбинантного белка ExpR и синтетических последовательностей обнаруженного lux-боксов.

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИЙ *BACILLUS PUMILUS* 3-19

Митрофанова О.С., Тойменцева А.А., Шарипова М.Р.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

mitrofaolga@gmail.com

Бактерии рода *Bacillus pumilus* известны как продуценты ценных ферментов, антибиотиков и витаминов. Широкое разнообразие протеолитических ферментов, синтезируемых представителями данного рода, имеет важный биотехнологический потенциал, что указывает на необходимость получения высокоэффективных продуцентов этих ферментов. Известно, что близкородственные виды могут сильно отличаться друг от друга на уровне секреции протеолитических ферментов. Различия в экспрессии генов протеаз помогают бациллам быстро и эффективно приспосабливаться к разным условиям окружающей среды. Экспрессия гена контролируется на уровне транскрипции, где основным рабочим элементом является промотор гена. В зависимости от структуры и длины промотора генная экспрессия может значительно отличаться.

Объектом исследования являются протеолитические ферменты – субтилизиноподобная протеиназа (AprBp), глутамилэндонептидаза (GseBp) и металлопротеиназа (MprBp), продуцируемые грамположительной бактерией *Bacillus pumilus* 3-19. Был проведен биоинформационный анализ промоторов генов протеаз *B. pumilus* 3-19 и сконструированы репортерные фьюжен конструкции, содержащие промоторы протеолитических генов. Для анализа транскрипции генов *aprBp*, *gseBp*, *mprBp* были выбраны вектора pAC6 и pGFPamyE, содержащие репортерные гены *lacZ* и *gfp*, соответственно. Амплифицированные промоторные области гена *aprBp* длиной 445, 360, 300, 270, 240, 200, 150, 100, 50 п.о. и гена *gseBp* длиной 200, 150, 100, 50 п.о. клонировали в вектор pAC6, а промоторы гена *mprBp* длиной 256, 200, 150 п.о. в вектор pGFPamyE. Полученные транскрипционные фьюжен конструкции секвенировали