

показано, что эти повторы могут экспрессироваться, в то время как для остальных оперонов такой информации нет.

В нашей работе мы пытаемся выяснить функциональную роль этих генетических элементов. С помощью двумерного белкового гель-электрофореза мы обнаружили, что в зависимости от наличия или отсутствия TRAR'ов в геноме наблюдается разный уровень экспрессии белка *agn43*. *Agn43* – это мембранный белок, расположенный на внешней стороне бактериальной мембраны, и отвечающий за автоагрегацию клеток. В свою очередь, экспрессия *agn43* регулируется посредством конкурентного связывания двух белков: *dam*-метилазы и *oxyR*. *Dam*-метилаза метилирует аденин в последовательности 5'-GATC-3', которая расположена в регуляторном участке гена *agn43*. Этот же участок является сайтом связывания *oxyR*. Когда 5'-GATC-3' не метилирован, *oxyR* может свободно связываться с этим участком, таким образом, подавляя экспрессию *agn43*. Однако, если данная последовательность будет метилирована, то *oxyR* теряет аффинность к этому участку, что приводит к экспрессии *agn43*. Для того чтобы понять, как наличие TRAR'ов может влиять на уровень экспрессии *agn43* мы сделали репортерную конструкцию, в которой промотор репортерного белка был заменен на промотор *agn43*. С другой стороны, мы использовали метод ПЦР в реальном времени, для оценки уровня представленности транскриптов как *agn43*, так и его регуляторов – *oxyR* и *dam*. Также мы оценили общее влияние TRAR'ов на работу *dam*-метилазы и, как следствие, на уровень метилирования ДНК.

ГИПЕРПРОДУКЦИЯ ПРОТЕИНАЗЫ HtrA ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК *BACILLUS SUBTILIS* К СТРЕССАМ

Нуреева А.А., Шарафутдинов И.С., Чернова Л.С., Каюмов А.Р.

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

aliusha2306@mail.ru

Накопление денатурированных и поврежденных белков препятствует нормальному метаболизму клетки и приводит к нарушению функций и гибели клеток. Для удаления токсичных агрегатов белков все клетки используют молекулярные шапероны для осуществления повторного фолдинга и протеолитические системы для деградации полипептидов. HtrA, фермент семейства сериновых протеаз, широко распространена в одноклеточных и многоклеточных организмах. Основной функцией представителей семейства HtrA является качественный белковый контроль и удаление денатурированных и поврежденных белков. Некоторые протеиназы HtrA могут стабилизировать дефектные белки, проявляя, таким образом, функции шаперонов.

Задачей исследования было установить возможность повышения устойчивости клеток *B.subtilis* 168, характеризующихся гиперпродукцией протеазы HtrA.

Были получены штамм *B.subtilis* с нокаутированным геном HtrA в клетках, конструкция на основе вектора pDG148, обеспечивающая гиперпродукцию белка HtrA в клетках бацилл в условиях индукции IPTG. Также была получена генетическая конструкция на основе вектора pGP382, несущего конститутивный промотор DegQ. Рост штаммов с нокаутированным геном HtrA, штаммов с гиперпродукцией фермента и контрольные клетки исследовали при температурном, этанольном, солевом и оксидативном стрессах. Клетки с гиперпродукцией белка HtrA характеризовались более высокой скоростью роста по сравнению с контрольными клетками дикого типа при всех видах стресса. Клетки с нокаут мутацией гена HtrA показывали значительное замедление роста. Это позволяет заключить что белок HtrA у бацилл вовлечен в общий ответ на стресс и его повышенная продукция позволяет повысить выживаемость клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.