

РОЛЬ РОМБОИДНОЙ ПРОТЕАЗЫ В СЕКРЕЦИИ БЕЛКОВ «ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА» *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Чаленко Я.М.¹, Никифорова А.Л.¹, Сурин А.К.², Ермолаева С.А.¹

¹ФГБУ Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва;

²ФГБУН Институт белка РАН, Пушкино, Россия

yaroslavazaka@yandex.ru

Грамположительная бактерия *Listeria monocytogenes* относится к числу факультативных внутриклеточных паразитов. Развитие инфекционного процесса требует от бактерий не только продукции факторов патогенности, влияющих на структуры и функции макроорганизма, но и существенных перестроек общего метаболизма. Изучение механизмов адаптации в ходе инфекционного процесса, связанных с изменениями общего метаболизма бактерий, имеет существенный фундаментальный интерес для понимания механизмов становления патогенности как явления. Предыдущие работы и «in silico» анализ показали, что освобождение ряда факторов патогенности листерий в окружающую среду связано с процессингом трансмембранных доменов и в геноме листерий есть только три класса протеаз с внутримембранным типом активности: сигнальные протеазы I и II типа, ранее не изучавшиеся ромбоидная и S2P протеазы. Ромбоидная протеаза относится к семейству интегральных сериновых протеаз, играющих ключевую роль в сигналинге событий в мембранном бислое. Роль ромбоидной протеазы более детально изучена у *Drosophila melanogaster*, однако, для остальных эукариотических организмов и бактерий роль протеазы изучена недостаточно.

1) Получены инсерционный мутант в гене *lmo1337*, кодирующем ромбоидную протеазу, и ревертант для доказательства отсутствия полярного эффекта в нижележащем гене.

2) Сопоставлены профили секретируемых, внутримембранных и внутриклеточных белков *inslmo1337*, штамма дикого типа (wt) и ревертанта с помощью SDS-PAGE электрофореза. Мутация в гене ромбоидной протеазы приводит к изменению в профилях мембран-ассоциированных и секретируемых белков *L. monocytogenes*.

3) Идентифицированы белковые полосы, которые отличались в профилях у *inslmo1337*, wt и ревертанта с помощью MALDI-TOF масс спектрометрии: факторы элонгации Tu и G, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GapA) и дигидролипоамидацетилтрансфераза.

4) Получен очищенный рекомбинантный белок GapA и антитела к нему. Методом иммуноблота определено снижение концентрации GapA в секретируемой и внутримембранной фракции для *inslmo1337* по сравнению с wt и ревертантом.

5) Показано снижение экспрессии факторов патогенности (лецитиназа, листериолизин O, фосфолипаза C): зона лецитиназной активности для *inslmo1337* – 11мм, для wt – 16 мм; гемолитическая активность для *inslmo1337* – 10^{-5} , для wt – 10^{-6} . Эффективность инвазии в клетки эпителия почки Hek293 для *inslmo1337* в два раза меньше, чем для wt (0,06% и 0,11% соответственно).

МОДЕЛЬ АКТИВАЦИИ PH ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РЕЦЕПТОРА IRR (INSULIN RECEPTOR-RELATED RECEPTOR)

Чачина Н.А.^{1,2}, Серова О.В.¹, Деев И.Е.¹, Петренко А.Г.¹

¹ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ²ФГАОУ ВПО Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

Natali.chachina@gmail.com

Тирозинкиназные рецепторы играют ключевую роль в функционировании организма: регуляция пролиферации и дифференцировки клеток, клеточная миграция и метаболизм, а также участие в контроле клеточного цикла. В настоящее время известно порядка 20ти семейств данных рецепторов, в том числе инсулиновое, в состав которых входят рецепторы инсулина и инсулино-подобного фактора роста, а также инсулин рецептор-подобный рецептор (IRR). В нашей лаборатории показано, что в отличие от своих гомологов по семейству