Экспрессия гена глутамилэндопептидазы Bacillus intermedius, модифицированного в области промотора в клетках Bacillus subtilis.

Тойменцева Анна Александровна, Каримова Мадина Рафаэлевна, Шагимарданова Елена Ильясовна, Шарипова Маргарита Рашидовна

Студент, студент, аспирант, профессор

Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, биолого-почвенный факультет, Казань Россия

E–mail: tojmencevaaa@mail.ru

В стационарной фазе роста бациллы секретируют большое количество протеолитических белков. Протеиназы участвуют во всех основных метаболических процессах клетки. Биосинтез этих ферментов находится под контролем различных систем регуляции, которые активируются в клетке при неблагоприятных условиях среды, включая экстремальные. *Bacillus intermedius* 3-19 в стационарной фазе роста секретируют сериновые протеиназы, среди которых продукт гена gseBi - глутамилэндопептидаза, секретируемая клетками в среду. На долю этого фермента приходится около 10% от общего протеиназного пула *B.intermedius*. Ген фермента клонирован на плазмиде Δ58.21, известна его последовательность нуклеотидов (EMBL, Y15136). Плазмиду любезно предоставил для работы проф. С.В. Костров (ИМГ РАН, Москва). Регуляторную область гена анализировали при помощи программы BLAST network (Altschulet.al,1997), представленной на сервере NCBI http://www.ncbi.nlm.nih.gov. В работе получали генетически модифицированный ген gseBi с изменённой областью регуляции. В промоторной области гена gseBi идентифицированы потенциальные сайты для взаимодействия с регуляторным белком DegU ($AGAA_{11\text{-}13}TTCAG$) – ответным регулятором системы трансдукции сигнала DegS–DegU, а также консервативные последовательности для связывания с регуляторным белком SpoOA (TGNCGAA), участвующим в инициации споруляции. Сайты регуляции имеют тандемное расположение. Получены модифицированные гены gseBi с делециями различной длины в области промотора, которые обеспечивают поочерёдное исключение DegU- и SpoOA- сайтов регуляции. С этой целью с матрицы плазмиды Δ58.21 амплифицирована последовательность нуклеотидов, включающая регуляторную область гена gseBi. Полученный амплификат клонирован в экспрессионный вектор pUC19, перенесен на плазмиду pUP110 и трансформирован в лабораторный штамм *B.subtilis AJ73*, дефектный по собственным внеклеточным протеиназам. Исследованы особенности гетерологичной экспрессии модифицированных генов.

Работа поддержана грантом РФФИ 05-04-48182-а.