

**НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки
Института биоорганической химии
им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова
Российской академии наук**

**XXVI Зимняя молодежная научная школа
«ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»**

Москва, 10-14 февраля 2014 г.



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**Под редакцией
д.х.н. Т.В. Овчинниковой, к.б.н. Л.И. Петровой**

**НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки
Института биоорганической химии
им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова
Российской академии наук**

**XXVI зимняя молодежная научная школа
«ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»**

Москва, 10-14 февраля 2014 г.

**Председатель Организационного комитета
д.х.н. Т.В. Овчинникова**

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**Школа проводится при поддержке
Фонда некоммерческих программ Дмитрия Зимина
“Династия”**

**ТЕЗИСЫ
СТЕНДОВЫХ СООБЩЕНИЙ**

9.14. НОКАУТИРОВАНИЕ ГЕНОВ ЭФФЛЮКС-СИСТЕМЫ *SERRATIA MARCESCENS* ПРИ ПОМОЩИ СИСТЕМЫ РЕКОМБИНАЦИИ ФАГА λ -РЕД И ТРАНСДУКЦИИ

Ширшикова Т.В.^{1*}, Камалетдинова Л.Х.^{1*}, Марданова А.М.¹, Шарипова М.Р.¹, Богомольная Л.М.² (* - равное авторство)

¹ Казанский федеральный университет, ИФМиБ, Казань

² Техасский аграрно-технический университет, Колледж Стэйшн, Техас, США
Электронный адрес: tatyana-shirshikova@yandex.ru

Множественная антибиотикоустойчивость бактерий является одной из самых актуальных проблем в современном мире. Так, причиной повышенной антибиотикоустойчивости *Serratia marcescens* является присутствие в мембранах клеточных насосов (эффлюкс-систем) – белковых комплексов, отвечающих за активное удаление антибиотиков из бактериальных клеток. Таким образом, актуальной задачей современной микробиологии является изучение молекулярных основ антибиотикоустойчивости *S. marcescens* для создания новых эффективных способов борьбы с этим патогеном.

Наиболее продуктивным методом анализа микробных генов с неизвестной функцией обычно является их нокаутирование (инактивация) с последующим изучением фенотипов мутантных клеток. Эффективный способ инактивации генов при помощи метода ПЦР (и системы рекомбинации фага λ -ред разработан для *Escherichia coli* [Datsenko, Wanner, 2000]. Целью нашей работы стала оптимизация условий для инактивации генов *macAB* при помощи системы гомологичной рекомбинации бактериофага λ -ред, с последующим переносом полученной мутации при помощи бактериофага, специфичного для *S. marcescens*, в новый штамм. Используя праймеры, гомологичные к прилегающему участку оперона *macAB*, был амплифицирован ПЦР-продукт, содержащий ген устойчивости к хлорамфениколу. С помощью плазмиды, кодирующей гены фага λ -ред, провели гомологичную рекомбинацию в штамме *S. marcescens* ТТ392.

Для получения штаммов с мутацией строго по одному гену используется метод трансдукции. Нами была подобрана эффективная система фаг-хозяин для использования трансдукции при получении мутантов по генам *macAB*. Чувствительность бактериальных штаммов к бактериофагам тестировали по методу, предложенному N.K. Petty [Petty et al., 2006].

Перенос мутации производился в штамм *S. marcescens* SM6, обладающем нуклеазной и рестриктазной активностью, при помощи бактериофага ФОТ8 [Evans et al., 2010]. Используемая культура бактериофага ФОТ8 была получена путем заражения клеток штамма *S. marcescens* ТТ392, в которых были нокаутированы гены *macAB*. Таким образом, нами была успешно проведена инактивация генов эффлюкс системы *macAB* в *Serratia marcescens* при помощи системы λ -red и получен стабильный трансдуктант.