

УДК 579.22

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ РЕГУЛЯЦИИ АЗОТНОГО ОБМЕНА НА БИОСИНТЕЗ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ *BACILLUS INTERMEDIUS*

© 2009 г. А. Р. Каюмов¹, Т. Р. Шамсутдинов, А. Р. Сабирова, М. Р. Шарипова

Казанский государственный университет

Поступила в редакцию 04.12.2008 г.

Установлена зависимость биосинтеза субтилизиноподобной сериновой протеиназы *Bacillus intermedius* от азотного метаболизма клетки. На среде с ионами аммония уровень биосинтеза фермента рекомбинантным штаммом *Bacillus subtilis* в 3–5 раз ниже, чем на среде с трудно усваиваемым нитратом натрия. Накопление глутамилэндопептидазы этого же микроорганизма не зависело от источника азота в среде. Показано, что в рекомбинантном штамме *B. subtilis*, мутантном по белку-сенсору NrgB, при росте на богатой среде продуктивность субтилизиноподобной протеиназы возрастает в 3 раза по сравнению с контрольным штаммом. При культивировании на минимальной среде дефект гена *nrgB* нивелирует влияние источника азота на уровень экспрессии гена фермента. В то же время эта мутация не влияет на синтез глутамилэндопептидазы. Сделано заключение, что экспрессия гена субтилизиноподобной протеиназы *B. intermedius* позитивно регулируется системой регуляции азотного обмена.

Ключевые слова: *Bacillus intermedius*, субтилизиноподобная протеиназа, глутамилэндопептидаза, азотная катаболитная репрессия.

Протеолитические ферменты являются стратегическими ферментами микроорганизмов. В клетке бактерий они выполняют трофическую функцию, участвуют в клеточной дифференцировке и регуляторных процессах. Обширным классом являются сериновые протеиназы [1]. Большинство внеклеточных протеиназ чувствительно к углеродной катаболитной репрессии. В присутствии легко метаболизируемого источника углерода, глюкозы, регуляторный белок CsrA подавляет экспрессию генов, чьи продукты участвуют в утилизации альтернативных источников углерода, например, цитрата [2, 3]. С другой стороны, установлена связь между углеродной и азотной катаболитной репрессией: гены утилизации аминокислот контролируются обеими этими системами [4], а недостаток азота может частично снимать катаболитную репрессию, вызываемую глюкозой [5]. Предпочтительным источником азота для бактерий являются соли аммония и глутамин. В их отсутствие активируются гены ферментов, которые позволяют извлечь азот из различных органических и неорганических соединений – нитрата, нитрита, мочевины, пуриновых и пиримидиновых оснований, аминокислот и пр. В этих условиях ионы аммония, образуемые нитратредуктазным комплексом на клеточной мембране, направляются внутрь клетки белком-транспортером NrgA [6]. В комплексе с ним функционирует белок NrgB, который является близким гомологом сенсорных белков

группы РII, и, вероятно, осуществляет мониторинг доступности азота для клетки [6, 7].

Бактерии *Bacillus intermedius* 3-19 активно секретируют протеолитические ферменты – субтилизиноподобную протеиназу и глутамилэндопептидазу. Ферменты выделены в гомогенном состоянии, изучены свойства белков [8, 9], установлены закономерности биосинтеза ферментов [10, 11], гены протеиназ клонированы и секвенированы [12, 13]. Показано, что синтез ферментов регулируется по типу катаболитной репрессии [10, 11, 13]. На оптимальной среде ионы аммония стимулируют синтез глутамилэндопептидазы [14], но подавляют накопление субтилизиноподобной протеиназы [9]. Представляло интерес исследовать влияние источника азота на экспрессию генов протеиназ ArgVi и GseVi при росте бактерий на синтетической среде, не содержащей органического азота.

Цель работы – выяснить влияние азотной катаболитной репрессии, а также белков NrgA и NrgB на экспрессию генов сериновых протеиназ *B. intermedius*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Штаммы и плазмиды. В работе использовали плазмиду pCS9, несущую полный ген субтилизиноподобной протеиназы *B. intermedius* 3-19 в составе 6.0-кб участка хромосомы этого микроорганизма и ген устойчивости к эритромицину [13]. Ген другой сериновой протеиназы – глутамилэндопептидазы

¹ Адресат для корреспонденции (e-mail: kairatr@yandex.ru).