

## СОДЕРЖАНИЕ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ TNRA И GLNK В КЛЕТКАХ *Bacillus subtilis* В УСЛОВИЯХ АЗОТНОГО ГОЛОДАНИЯ

© 2010 г. А. Р. Каюмов<sup>1\*</sup>, К. П. Федорова<sup>2</sup>, О. Н. Ильинская<sup>2</sup>, М. Р. Шарипова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный архитектурно-строительный университет, Казань, 420043

<sup>2</sup>Казанский государственный университет, Казань, 420008

Поступила в редакцию 23.12.2009 г.

Принята к печати 16.02.2010 г.

**Ключевые слова:** *Bacillus subtilis*, фактор транскрипции TnrA, внутриклеточный протеолиз, адаптация к стрессу.

THE AMOUNT AND LOCALIZATION OF REGULATORY PROTEINS TNRA AND GLNK IN *Bacillus subtilis* CELLS UNDER NITROGEN STARVATION CONDITIONS, by A. R. Kayumov<sup>1\*</sup>, K. P. Fedorova<sup>2</sup>, O. N. Iljinskaja<sup>2</sup>, M. R. Sharipova<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Kazan State University of Building and Engineering, Kazan, Tatarstan, 420043 Russia, \*e-mail: kairatr@yandex.ru; <sup>2</sup>Kazan State University, Kazan, Tatarstan, 420008 Russia).

**Key words:** *Bacillus subtilis*, transcription factor TnrA, intracellular proteolysis, stress adaptation.

Фактор транскрипции TnrA регулирует экспрессию большого числа генов и оперонов в клетках *Bacillus subtilis* в условиях недостатка восстановленного азота [1]. При культивировании штаммов, дефектных по гену *tnrA*, в среде культивирования должен присутствовать глутамин или ионы аммония [1, 2]. В условиях азотного голодания фактор транскрипции TnrA находится в мембраносвязанной форме, образуя комплекс с белками транспорта аммония AmtB-GlnK, кодируемыми опероном *amtBglnK* (*nrgAB*) [3–5]. Трансмембранный белок AmtB (NrgA) осуществляет транспорт ионов аммония в клетку, а белок GlnK (NrgB), роль которого до конца не установлена, относится к се-

к доступного азота. TnrA образует комплекс с глутаминсинтетазой, активность которой в этих условиях репрессирована, в результате чего способность TnrA взаимодействовать с ДНК снижается [1].

Ранее нами показано, что удаление источника азота из среды культивирования приводит к быстрой элиминации фактора транскрипции TnrA из клеток, что обусловлено высвобождением TnrA из мембранного комплекса в цитоплазму клетки и его последующим протеолизом [5]. Внутриклеточная протеаза (протеазы), задействованная в этом процессе, пока не идентифицирована [5]. Остается открытым и вопрос о физиологической роли, которую играет для клетки протеолитическое расщепление этого фактора транскрипции.

Цель данной работы — исследовать необходимость фактора транскрипции TnrA для выживания клеток в условиях азотного голодания.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Штаммы и условия роста.** В работе использован штамм *Bacillus subtilis* 168, предоставленный для работы профессором Й. Штульке, Гёттингенский университет (Georg-August University of Göttingen, Германия). При культивировании использовали синтетическую среду SMM [6], 100 мл которой содержит 95.75 мл солевой основы, 1 мл раствора L-триптофана, 1 мл раствора микроэлементов, 1.25 мл раствора глюкозы и 1 мл раствора нитрат калия. В 1 л солевой основы содержится 18.34 г  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , 6.0 г безводного  $KH_2PO_4$ , 0.2 г  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1.0 г цитрата натрия ( $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 3H_2O$ ). Исходные растворы других компонентов среды: L-триптофан — 5 мг/мл,  $KNO_3$  — 202 г/л, D-глюкоза — 40%; 1 л раствора микроэлементов содержал 0.55 г  $CaCl_2$ , 1.35 г  $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.1 г  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ , 0.17 г  $ZnCl_2$ , 0.043 г  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0.06 г  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.06 г  $Na_2MnO_4 \cdot 2H_2O$ . Клетки выращивали в условиях принудительной аэрации при 37°C на среде SMM с нитратом калия в качестве единственного источника азота. На поздней экспоненциальной фазе роста (20 ч роста) клетки отмывали, переносили в среду SMM, не содержащую источника азота, и продолжали культивирование. Контрольные клетки в течение всего времени культивирования выращивали в присутствии нитрата калия.

\* Эл. почта: kairatr@yandex.ru