

УДК 579.22:577.21

**ВЫДЕЛЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ,
АКТИВИРУЮЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ
ОГРАНИЧЕННОГО РОСТА БАЦИЛЛ**

*А.М. Черёмин, А. Тойменцева, А.Р. Сабирова, А.Р. Каюмов,
А.Б. Маргулис, М.Р. Шарипова*

Аннотация

Регуляторные белки бацилл DegU, Spo0A и TnrA выделены и очищены из клеточных экстрактов рекомбинантных штаммов-продуцентов *E. coli* аффинной хроматографией на колонке с сефарозой, содержащей никель-нитрилотриуксусную кислоту (Ni-NTA). Проведена идентификация соответствующих регуляторных белков с помощью иммуноблоттинга с использованием специфических кроличьих антител против His-tag-последовательностей.

Ключевые слова: регуляторные белки, TnrA, DegU, Spo0A, экспрессионные векторы.

Введение

Для активации экспрессии многих генов, участвующих в адаптационных процессах, кроме σ -факторов РНК-полимеразы необходимы также факторы транскрипции. Белок DegU – мастер-регулятор системы сигнальной трансдукции DegS-DegU в клетках *B. subtilis* – в фосфорилированной форме активирует экспрессию генов внеклеточных ферментов деградации: протеиназ, амилаз, липаз и др. [1]. Нефосфорилированная форма DegU необходима для достижения клетками состояния компетентности [2]. Фактор транскрипции Spo0A регулирует комплексный процесс перехода бацилл к споруляции – финальный ответ микроорганизмов на голодание [3]. Фосфорилирование фактора Spo0A происходит по N-концевому домену белка, а C-концевой домен взаимодействует с консенсусной последовательностью нуклеотидов в промоторной области [4]. C-концевой домен белка Spo0A способен также связываться со Spo0A-боксом в промоторах генов, будучи в нефосфорилированной форме [5]. Фактор транскрипции TnrA в условиях азотного голодания активирует или подавляет экспрессию большого числа генов и оперонов [6].

Бактерии *Bacillus intermedius* в стационарной фазе роста активно секретируют сериновые протеиназы: субтилизиноподобную протеиназу AprVi и глутамилэндопептидазу GseVi [7, 8]. Уровень синтеза ферментов снижается в Deg-регуляторных мутантах *B. subtilis*, полностью подавлен в Spo0A-штаммах и отзывается на TnrA-регуляцию, что может служить косвенным доказательством участия этих систем в регуляции экспрессии генов [9–11].