

УДК 577.21:579.23

СТАРТОВЫЙ КОДОН В ГЕНЕ СЕРИНОВОЙ ПРОТЕИНАЗЫ *Bacillus intermedius*

© 2008 г. А. Р. Каюмов^{1*}, А. Р. Сабирова¹, Н. П. Балабан¹, А. М. Марданова¹,
О. Н. Ильинская¹, С. В. Костров², М. Р. Шарипова¹

¹Биолого-почвенный факультет Казанского государственного университета, Казань 420008

²Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва 119991

Поступила в редакцию 11.04.2007 г.

Принята к печати 03.05.2007 г.

Определен участок инициации трансляции в гене внеклеточной субтилизиноподобной сериновой протеиназы *Bacillus intermedius* (*aprBi*) (AN AY754946), секретируемой в стационарной фазе роста бактерий. В открытой рамке считывания *aprBi* найдены три потенциальных участка инициации

пяти функциональной активности каждого из них. Сконструированы модифицированные гены субтилизиноподобной протеиназы с заменами нуклеотидов в предполагаемых стартовых кодонах. Изучена экспрессия мутантных генов в клетках беспротеазного штамма *B. subtilis* AJ73. Сделан вывод, что синтез протеиназы *AprBi* начинается с нестандартного кодона GTG.

Ключевые слова: субтилизиноподобная сериновая протеиназа, стартовый кодон, мутантные гены, *Bacillus intermedius*.

START CODON IN THE SERINE PROTEINASE GENE FROM *Bacillus intermedius*, by A. R. Kayumov^{1*}, A. R. Sabirova¹, N. P. Balaban¹, A. M. Mardanova¹, O. N. Ilinskaja¹, S. V. Kostrov², M. R. Sharipova¹ (Kazan State University, Kazan, 420008 Russia, *e-mail: airat_kayumov@rambler.ru; ²Institute for Molecular Genetic, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia). The translation initiation site in the extracellular serine subtilisin-like proteinase gene from *Bacillus intermedius* (*aprBi*) (AN AY754946) secreting at the stationary growth phase was established. The analysis of *aprBi* open reading frame revealed three putative translation start sites (TTG, GTG и ATG). Using SignalP online freeware program we have determined the functional activity probability of each of them. To identify the translation start point the modified subtilisin-like protease genes carrying nucleotide replacements in supposed start codons were developed using oligonucleotide-directed mutagenesis. We have investigated the expression of these genetic constructions in protease-deficient strain *B. subtilis* AJ73. According our results it was concluded that the translation in *aprBi* gene starts from GTG kodon.

Key words: subtilisin-like protease, start codon, mutant genes, *Bacillus intermedius*.

Протеолитические ферменты составляют важную часть метаболизма клеток бактерий. Они не только выполняют трофические функции, но и участвуют в клеточной дифференцировке, посттрансляционном процессинге белков и других регуляторных процессах. Хорошо изучен класс сериновых протеаз, к которому относится семейство субтилизи-

видами бацилл [1]. Первым из культуральной жидкости *Bacillus subtilis* выделили и детально охарактеризовали субтилизин Е, кодируемый геном *aprE* [2]. Позднее показали, что подобные ферменты синтезируются многими видами бацилл [1]. В настоящее время описано более 200

субтилизиноподобных протеиназ, и с помощью кристаллографии установлена трехмерная структура многих из них [3]. Гены большинства субтилизиноподобных протеаз клонированы и секвенированы. Однако сведения о регуляции их экспрессии малочисленны.

Из культуральной жидкости *B. intermedius* выделена субтилизиноподобная сериновая протеиназа [4]. Фермент появляется в среде в фазе замедления роста (“ранний” фермент) и достигает максимального уровня в стационарной фазе (“поздний” фермент) [5]. Ген этой протеиназы (*aprBi*) клонирован, определена его нуклеотидная последовательность [6]. Кодирующая область гена *aprBi* характеризуется высоким уровнем сходства (96% идентичности) с геном субтилизиноподобной

*Эл. почта: airat_kayumov@rambler.ru