

УДК 577.21+579.258+57.044

ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИЙ В ПРОМОТОРЕ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА ГЛУТАМИЛЭНДОПЕПТИДАЗЫ *BACILLUS INTERMEDIUS*

А. Тойменцева, Е.И. Шагимарданова, А.Р. Каюмов, М.Р. Шарипова

Аннотация

Исследована экспрессия гена глутамилэндопептидазы *Bacillus intermedius* с различной длиной 5'-нетранслируемой области. Установлено, что изменение длины промотора приводит к снижению уровня экспрессии гена *gseBi* и сдвигу максимумов накопления фермента в среде относительно контроля. Обнаружено, что общие закономерности биосинтеза фермента в условиях солевого стресса не зависят от длины промотора гена, однако при полноценном промоторе продуктивность штамма в 1.5 раза выше. Установлено, что делеции в регуляторной области гена на расстоянии более 300 п.о. от точки инициации транскрипции, содержащие потенциальные сайты взаимодействия с регуляторными белками Sro0A, DegU, CsrA, приводят к потере чувствительности экспрессии гена *gseBi* в отношении глюкозо-катаболитной репрессии.

Ключевые слова: глутамилэндопептидаза, *Bacillus intermedius*, модификация промотора, регуляция экспрессии, сайты регуляции, солевой стресс, катаболитная репрессия.

Введение

Большинство протеолитических ферментов, используемых в мировой промышленности, производится на основе микроорганизмов, принадлежащих к роду *Bacillus* [1, р. 3]. Эта практика обоснована непатогенностью бацилл и простотой выделения внеклеточных гидролаз. Кроме того, протеазы занимают центральное положение в физиологии микробной клетки. Они выполняют трофическую функцию, участвуют в споруляции, прорастании спор, расщеплении и круговороте белков, что является основанием для исследования регуляторных механизмов экспрессии и секреции этих стратегически важных клеточных ферментов, клонирования их генов и скрининга и модификаций целевых продуктов практического назначения [2].

Bacillus intermedius 3-19 в постэкспоненциальной фазе роста секретируют различные внеклеточные протеазы, среди которых менее 10% приходится на глутамилэндопептидазу (GseBi) [3]. Глутамилэндопептидаза *B. intermedius* – химотрипсинподобная сериновая протеаза, с высокой специфичностью гидролизующая пептидные связи, образованные α -карбоксильными группами глутаминовой и аспарагиновой аминокислот [4]. Фермент выделен из культуральной жидкости до гомогенного состояния [12], ген белка клонирован и секвенирован (AN Y15136) [5]. Изучены условия накопления глутамилэндопептидазы в рекомбинантных штаммах: фермент появляется в культуральной жидкости на стадии замедления роста культуры, его активность достигает максимума в стационарной фазе [6]. В этот период на синтез глутамилэндопептидазы не оказывает