

Клонирование и экспрессия гена *rsfS* в гомологичном и гетерологичном окружении

Научный руководитель – Валидов Шамиль Завдатович

Губанова Елизавета Михайловна

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: elizabetsigma@gmail.com

На процесс синтеза белка затрачивается до 40% общей энергии клетки, поэтому для оптимизации работы организма требуется его регуляция. В клетках для этого существуют белки гибернации, которые блокируют активность рибосом в условиях голодания или других стрессовых ситуациях, не давая субъединицам рибосомы объединиться в димеры. Такие белки оперативно прекращают действие при возвращении в благоприятную среду. Одним из таких белков является RsfS (ribosome silencing factor), который связывается со структурным белком L14 50S субъединицы рибосомы, тем самым препятствуя ее взаимодействию с инициаторным комплексом. Активность этого белка значительно замедляет или вовсе блокирует инициацию трансляции в клетках *E.coli*, но не влияет на фазу элонгации[1].

Гомологи белка RsfS встречаются у всех бактерий, а также в митохондриальном геноме эукариот. Показано, что они могут участвовать в сборке рибосом и регуляции трансляции, а также манифестации патогенных свойств микроорганизмов [2].

Целью данной работы было клонирование гена *rsfS* в составе плазмиды pJeM2 [3] под контролем рамнозного промотора, его экспрессия в гомологичном и гетерологичном окружении, а также изучение влияния RsfS на рост клеток бактерий.

Экспрессия клонированного RsfS комплементировала мутацию $\Delta rsfS$ в штамме *P. putida* SB9 до уровня дикого типа в условиях перехода с богатой на минимальную питательную среду, что свидетельствует о корректном функционировании экспрессируемого белка. Конститутивная экспрессия RsfS приводила к замедлению роста всех тестируемых штаммов *Pseudomonas putida* PCL1760, *P. putida* SB9 (PCL1760 $\Delta rsfS$) и *E.coli* S17-1 (1 pir). Таким образом, можно утверждать, что белок RsfS из штамма *Pseudomonas putida* PCL1760 активен в гетерологичном окружении, по крайней мере в штамме *E.coli*.

Источники и литература

- 1) Häuser R., Pech M., Kijek J., Yamamoto H., Titz B., Naeve F., et al. RsfA (YbeB) Proteins Are Conserved Ribosomal Silencing Factors. // PLoS Genet. 2012. № 8(7). e1002815.
- 2) Wanschers B.F, Szklarczyk R., Pajak A., et al C7orf30 specifically associates with the large subunit of the mitochondrial ribosome and is involved in translation. // Nucleic Acids Res.2012. 40(9). С. 4040-51.
- 3) Marcel J., Itenbuchner J. The Escherichia coli rhamnose promoter rhaP(BAD) is in Pseudomonas putida KT2440 independent of Crp-cAMP activation. // Applied Microbiology and Biotechnology. 2009. № 85(6). С. 1923-33.