

Увеличение экспрессии lux-генов *Photorhabdus luminescens* в клетках *Escherichia coli* при возрастании температуры.**Научный руководитель – Манухов Илья Владимирович****Фомин Вадим Валерьевич**

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: fomin.vv@phystech.edu

Бактерии вида *Photorhabdus luminescens* (ранее *Xenorhabdus luminescens*) - единственные представители люминесцентной микрофлоры на суше, все прочие известные светящиеся бактерии встречаются только в морях и устьях рек. Обитает в кишечнике энтомопатогенных нематод семейства *Heterorhabditidae*. Роль их люминесценции на сегодняшний день до конца не изучена. В данной работе изучалась температурная зависимость экспрессивности промотора *lux*-оперона, отвечающего за светимость клеток *P. luminescens*.

Для исследования использовались клетки *Escherichia coli* MG1655, трансформированные гибридными плазмидами *pXen7*, *pXenP* и *pDlac*. *pXen7* - вектор pUC19 с встроенным *lux*-опероном *P. luminescens* под контролем собственного промотора. Для проведения работы была сконструирована на основе вектора *pDEW201* [1] плазмида *pXenP*, содержащая промотор *lux*-оперона, взятый из *pXen7* и контролирующей экспрессию *luxCDABE*. Данная плазмида позволяет получить более точные результаты, так как *pDEW201* имеет 4 терминатора транскрипции перед встроенной промоторной областью, что позволяет исключить влияние других факторов на экспрессию генов *luxCDABE*. В качестве контроля сконструирована плазмида *pDlac* на основе *pDEW201* с вставкой не зависящего от температуры P_{lac} промотора для оценки увеличения уровня экспрессии *lux*-генов под контролем промотора *P. luminescens*.

Для исследования температурной зависимости люминесценции, клетки, несущие перечисленные плазмиды, были засеяны в пробирки с жидкой средой Luria Bertani и инкубировались при различных температурах (25°C, 30°C, 37°C и 42°C) без перемешивания. После 14 часов инкубации измерялась люминесценция и оптическая плотность культуры клеток. Светимость клеток нормировалась относительно их оптической плотности. Чтобы исключить термодинамический эффект увеличения интенсивности работы люциферазы с ростом температуры, перед измерением все культуры остужались до комнатной температуры.

В результате, люминесценция клеток *E. coli* MG1655 *pXenP* с ростом температуры увеличивается по сравнению с клетками, несущими плазмиду *pDlac*. Таким образом, наблюдается термоактивация промотора *lux*-оперона *P. luminescens*. Механизмы регуляции, определяющие данный эффект, еще предстоит изучить.

Источники и литература

- 1) Van Dyk T.K., Rosson R.A. *Photorhabdus luminescens luxCDABE promoter probe vectors* // *Methods Mol. Biol.* 1998. V. 102 P. 85–95.