

Клонирование tolC-подобных генов

Научный руководитель – Богомольная Лидия Михайловна

Низамов Ш.Р.¹, Хабибрахманова Л.Х.²

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия, *E-mail: nizamov.1999@gmail.com*; 2 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия, *E-mail: leysan92@gmail.com*

На сегодняшний день изучение эффлюкс-систем бактерий, вызывающих внутрибольничные инфекции, является актуальной задачей. Эффлюкс-системы грамотрицательных бактерий состоят из белков внутренней мембраны, белков внешней мембраны и белков периплазматического пространства. Одним из наиболее изученных белков внешней мембраны является белок TolC, играющий важную роль в физиологии грамотрицательных бактерий, например, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* [1-3]. TolC участвует в транспорте ферментов и токсинов, участвующих в развитии инфекционного процесса в организме млекопитающих. Отсутствие данного белка приводит к повышенной чувствительности бактерий к воздействию детергентов, желчных солей и органических растворителей [4]. В последние годы TolC приобрел широкую известность, поскольку было обнаружено, что субстраты TolC включают в себя широкий спектр антибактериальных препаратов, что приводит к развитию множественной лекарственной устойчивости клинически значимых бактерий.

Целью данной работы явилось получение конструкций, несущих на плаزمиды pBAD30 и pWSK29 гены, кодирующие TolC-подобные белки, в штамме *E. coli* DH5- α .

Наличие целевого гена в векторах было подтверждено методом ПЦР, после чего конструкции трансформировали в штамм *E. coli* DH5- α . Селекцию трансформантов проводили на агаризованной среде Лурия-Бертани с добавлением антибиотика - карбенициллина. Экспрессию TolC-подобных белков в клетках *E. coli* DH5- α подтвердили с помощью Western-blot анализа.

Таким образом, получены рекомбинантные штаммы *E. coli* DH5- α , экспрессирующие TolC-подобные белки. Планируется дальнейшее изучение взаимодействия TolC-подобных белков с эффлюкс-системами *Serratia marcescens*.

Источники и литература

- 1) Fralick, J. A., & Burns-Keliher, L. L. (1994). Additive effect of tolC and rfa mutations on the hydrophobic barrier of the outer membrane of *Escherichia coli* K-12. *Journal of bacteriology*, 176(20), 6404–6406.
- 2) Paulsen, Jane S et al. “Clinical and Biomarker Changes in Premanifest Huntington Disease Show Trial Feasibility: A Decade of the PREDICT-HD Study.” *Frontiers in aging neuroscience* vol. 6 78. 22 Apr. 2014.
- 3) Putman, M et al. “Molecular properties of bacterial multidrug transporters.” *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* vol. 64,4 (2000): 672-93.
- 4) Rosenberg, N. A., Li, L. M., Ward, R., & Pritchard, J. K. (2003). Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. *American journal of human genetics*, 73(6), 1402–1422.