

КЛОНИРОВАНИЕ *hrpA*-*hrpY* ОБЛАСТИ *hrp/hrc* КЛАСТЕРА БАКТЕРИЙ *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP. *ATROSEPTICA*

Н. Е. Кремко, А. Л. Лагоненко, Е. А. Николайчик, А. Н. Евтушенков

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь, lagonenkoal@mail.ru

Бактерии *Erwinia carotovora* - фитопатогенные микроорганизмы, вызывающие заболевания, приводящие к значительным потерям урожая овощных культур. За последние годы получено много информации об основных факторах вирулентности этих бактерий – деполимеризующих ферментах. Часть из них (протеазы) транспортируется через систему секреции I типа, другие (пектацеллюлазы, целлюлазы, полигалактуроназы) – через секреторный аппарат II типа. Система секреции III типа (ССТТ) обнаружена у многих патогенов растений и животных и служит для доставки белков нескольких классов – харпинов, Avr-белков или токсинов из бактериальной клетки в хозяйскую эукариотическую. Гены *hrp/hrc*, кодирующие компоненты ССТТ, обычно локализованы в большом кластере, состоящем из нескольких оперонов, которые находятся под контролем нескольких регуляторных белков. Целью данной работы было клонирование фрагмента *hrp/hrc* кластера бактерий *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* включающего гены *hrpS* и *hrpY*, кодирующие регуляторы экспрессии генов ССТТ и ген *hrpA*, кодирующий один из компонентов этого секреторного аппарата.

Методом ПЦР была осуществлена амплификация участка *hrp/hrc* кластера *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* JN42 с праймерами *hrpY* 5'cgagagctcaccsaagataaagaccggaagc3' и *hrpA2* 5' cgcgtcgacgaactggatggcttcgccgc3' размером около 4 т.п.н. и последующее клонирование по сайтам рестрикции *SacI* и *Sall* в векторе pUC19. Секвенирование полученной плазмиды pSP4 подтвердило наличие генов *hrpY* и *hrpA* в клонированном фрагменте.

В дальнейшем планируется изучение роли генов *hrpS*, *hrpY* и *hrpA* в работе секреторного аппарата третьего типа и вирулентности бактерий *Erwinia carotovora subsp. atroseptica*.