

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики**

НОВОСАДОВА
Екатерина Владимировна

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
rpeA ГЕНА БАКТЕРИЙ
PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS SSP. *AURANTIACA***

Аннотация
К дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е.Г. Веремеенко

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 42 с., 14 рис., 8 табл., 44 источника.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *rpeA* ГЕНА БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SSP. *AURANTIACA*

Объект исследования: штамм *P. chlororaphis ssp. aurantiaca* ВКМВ-162, также штамм В-162/17, способный к сверхсинтезу феназиновых антибиотиков на минимальных средах.

Цель была: структурно-функциональная характеристика *rpeA*-гена, принимающего участие в регуляции синтеза феназиновых антибиотиков на минимальной среде у бактерий *P. chlororaphis ssp. aurantiaca*

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), спектрофотометрические, молекулярно-генетические (выделение плазмидной ДНК, электрофоретический анализ, секвенирование, клонирование).

Продукция феназинов бактериями осуществляется только на богатых питательными веществами полноценных средах, что значительно усложняет их последующее выделение и очистку от примесей при промышленном получении. Актуальным является получение штаммов-продуцентов феназиновых антибиотиков, способных к их синтезу на минимальных средах. Единственным известным геном, продукт которого принимает участие в контроле синтеза феназинов на минеральных средах, описанным в литературе, является *rpeA*, кодирующие синтез гистидиновой сенсорной киназой

При сравнении аминокислотных последовательностей соответствующего белка штаммов дикого типа и В-162/17 было выявлено наличие одной значимой аминокислотной замены в гистидинкиназном домене фермента.

Поскольку данная замена не затрагивает реакционный центр фермента, можно сделать предположение, что она не повлекла за собой изменения свойств белка. Способность штамма В-162/17 к синтезу феназиновых антибиотиков на минеральных средах обусловлена мутациями в неких иных генах, что свидетельствует о наличии дополнительных регуляторных путей, контролирующие синтез феназинов на минеральных средах, где RpeA белок участия не принимает.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа с., 42 мал., 8 табл., 44 крыніцы.

СТРУКТУРНА-ФУНКЦЫЯНАЛЬНАЯ ХАРАКТЫРЫСТЫКА *rpeA*-Гена
Ў БАКТЭРЫЙ *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS SSP. AURANTIACA* НА
МІНІМАЛЬНЫХ АСЯРОДДЯХ.

Аб'ект даследвання: штаб бактэрыі *Pseudomonas chlororaphis ssp. aurantiaca* В-162, таксама штаб В-162/17 здольны да свэрхсінтэзу феназіновых антыбіётыкаў на мінімальных асяроддзях.

Мэта: структурна-функцыянальная характарыстыка *rpeA*-гена, які прымае ўдзел ў рэгуляцыі сінтэзу феназіновых антыбіётыкаў на мінімальнай асяроддзі ў бактэрыі *P. chlororaphis ssp. aurantiaca*.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), спектрафотаметрычныя, малекулярна-генетычныя (вылучэнне плазмідной ДНК, электрофоретычны аналіз, секвеніраванне, кланаванне).

Прадукцыя феназінаў бактэрыямі ажыццяўляецца толькі на багатых пажыўнымі рэчывамі паўнаўартасных асяроддзях, што значна ўскладняе іх наступнае вылучэнне і ачыстку ад прымешак пры прамысловай атрымання. Актуальным з'яўляецца атрыманне штамаў-прадцэнтаў феназінавых антыбіётыкаў, здольных да іх сінтэзу на мінімальных асяроддзях. Адзіным генам, прадукт якога прымае ўдзел у кантролі сінтэзу феназінаў на мінеральных асяроддзях, апісаным у літаратуры, з'яўляецца *rpeA*, кадууючы сінтэз гісцідзінавай сэнсарнай кіназы.

Пры параўнанні амінакіслотных паслядоўнасцяў адпаведнага бялку штамаў дзікага тыпу і В-162/17 было выяўлена наяўнасць адзінай значнай амінакіслотны змены ў гістідінкіназам дамене фермента.

Паколькі дадзеная замена не закранае рэакцыйны цэнтр фермента, можна зрабіць здагадку, што яна не пацягнула за сабой змены уласцівасцяў бялку. Здольнасць штаму В-162/17 да сінтэзу феназіновых антыбіётыкаў на мінеральных асяроддзях абумоўлена мутацыямі ў нейкіх іншых генах, што сведчыць аб наяўнасці дадатковых рэгуляторных шляхоў, якія кантралююць сінтэз феназінаў на мінеральных асяроддзях, дзе *RpeA* бялок удзелу не прымае.

ABSTRACT

Diploma work 42 p., 14 fig., 8 tables., 44 sources.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION *rpeA*-GENE BACTERIA *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SSP. *AURANTIACA* ON MINIMAL MEDIUM.

Object of research: strains *Pseudomonas chlororaphis* ssp. *aurantiaca* B-162 also a strain of B-162/17 capable of supersynthesis phenazine antibiotics on minimal media.

Objective: structural and functional characterization of *rpeA*-gene taking part in regulating the synthesis of phenazine antibiotics in bacteria *P. chlororaphis* ssp. *aurantiaca* on minimal medium.

Research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), spectrophotometric, molecular genetics (isolation of plasmid DNA, electrophoretic analysis, sequencing, cloning).

Phenazine production in bacteria is carried out only at full nutrient-rich media, which greatly complicates their subsequent isolation and purification from impurities in industrial production. Urgent is to obtain strains of phenazine antibiotics capable of their synthesis on minimal media. The only gene whose product is involved in controlling the synthesis of phenazine on mineral media described in the literature, is *rpeA*, coding for the synthesis of histidine sensor kinase

When comparing the amino acid sequences of the corresponding protein of wild-type strains and B-162/17 was found to have a significant amino acid substitutions in the enzyme histidine kinases domain.

Since this change does not affect the reaction center of the enzyme, it can be assumed that it did not entail changes in the protein properties. The ability of the strain B-162/17 to the synthesis of phenazine antibiotics on mineral media is caused by mutations in some other genes, which suggests the presence of additional regulatory pathways that control the synthesis of phenazine in mineral environments where RpeA protein does not participate.