

НОВЫЙ ПОДХОД СОЗДАНИЯ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕАЗИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

А. А. КОРОЛЬ (студ. 4 к.), Е. Г. ВЕРЕМЕЕНКО (к. биол. н.), БГУ

Проблематика. Данная работа направлена на разработку новых более эффективных подходов создания штаммов-продуцентов феназиновых антибиотиков на основе бактерий *Pseudomonas aurantiaca*.

Цель работы. Получение и характеристика мутантных штаммов бактерий *P. aurantiaca*, устойчивых к веществам, вызывающим развитие окислительного стресса.

Объект исследования. Штаммы *P. aurantiaca* В-162 и В-162/255, а также полученные на их основе мутанты.

Использованные методики. Химический мутагенез, стандартные микробиологические методы, выделение и спектрофотометрический анализ феназинов.

Научная новизна. Создание продуцентов феназиновых антибиотиков, устойчивых к окислителям ранее никем не проводилось. Данный подход был разработан нами впервые на основании ранее полученных данных о механизме действия собственных феназинов на продуцентов.

Полученные результаты и выводы. Использование нового подхода позволило получить высокоактивные штаммы-продуценты, как на основе бактерий дикого типа, так и ранее полученного мутанта В-162/255. Так показано, что штамм В-162/2, полученный на основе бактерий дикого типа и устойчивый H_2O_2 в концентрации 1,5 мМ, синтезирует до 2 г/л феназинов, а штамм В-162/6, полученный таким же образом, – до 1,5 г/л, что в 20-27 раз превышает аналогичные показатели бактерий дикого типа. На основе мутанта В-162/255 были созданы штаммы В-162/255/16 и В-162/255/15, устойчивые к H_2O_2 в концентрации 3 мМ, уровень продукции феназинов у которых составлял 2 г/л – 2,5 г/л, соответственно, что в 4,5-6 раз превышает продуктивность штамма В-162/255.

Необходимо отметить тот факт, что продуценты, устойчивые к более высоким концентрациям пероксида водорода были получены только на основе бактерий мутантного штамма В-162/255, который, как было показано ранее, характеризуется повышенным уровнем активности фермента каталазы, что, по-видимому, и обеспечивает ему способность не только расти в присутствии относительно высоких концентраций данного соединения, но также синтезировать повышенные концентрации феназинов.

Практическое применение полученных результатов. Данный подход позволяет значительно увеличить уровень продукции феназинов у штаммов-продуцентов, а следовательно, удешевить их производство.

КЛОНИРОВАНИЕ ГЛЮКОЗОРЕГУЛИРУЕМОГО ПРОМОТОРА EGR1

Е. Э. КОСТОГЛАДОВА (студ. 3 к.), Т. В. РОМАНОВСКАЯ, В. В. ГРИНЕВ (к. биол. н.), БГУ

Проблематика. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются перспективными для применения в клеточной заместительной терапии сахарного диабета 1 типа. Инсулиновая генная терапия предполагает создание генно-модифицированных МСК с эктопической экспрессией гена инсулина. Одним из требований для применения таких клеток в терапии диабета является глюкозорегулируемый синтез и секреция инсулина. Для этого ген инсулина должен находиться под контролем промотора, активность которого зависит от концентрации глюкозы в среде.

Цель работы. Клонировать нуклеотидную последовательность глюкозорегулируемого промотора.

Объект исследований. Глюкозорегулируемый промотор Egr1, МСК костного мозга человека.

Использованные методики. Полимеразная цепная реакция, выделение, лигирование, секвенирование и электрофорез нуклеиновых кислот, трансформация бактерий.

Научная новизна, в чем особенность проведенных исследований. В более ранних исследованиях была показана возможность использования промотора гена Egr1 для создания системы глюкозорегулируемого синтеза и секреции инсулина в МСК [1]. Авторы проводили перенос генетической конструкции методом электропорации, обеспечивающей эпизодическое поддержание ее в модифицированных клетках. В данной работе планируется создание лентивирусного вектора, который позволит провести перенос экспрессионной кассеты в МСК методом трансдукции, обеспечивая встраивание ее в геномную ДНК и стабильную модификацию клеток.

Полученные научные результаты и выводы. Синтезирована и клонирована нуклеотидная последовательность промотора гена Egr1.

Практическое применение результатов. Клонированная нуклеотидная последовательность промотора будет использована для создания глюкозорегулируемой экспрессионной кассеты в составе лентивирусной системы доставки гена проинсулина в МСК.

1 Chen N. K. F., Tan S. Y., Udolf G., Kon O. Insulin expressed from endogenously active glucose-responsive EGR1 promoter in bone marrow mesenchymal stromal cells as diabetes therapy. // Gene Therapy. – 2010. – Vol. 17 – P. 592-605.