

Изучение лактоназной активности штамма *Rhodococcus* sp. 108

Научный руководитель – Зайцева Юлия Владимировна

Соколов Максим Николаевич

Студент (бакалавр)

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия

E-mail: melsudbi@yandex.ru

Quorum Sensing (QS) - это особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, зависящей от плотности их популяции. QS системы включают низкомолекулярные сигнальные молекулы, названные аутоиндукторами, легко диффундирующие через клеточную стенку, и регуляторные рецепторные белки, с которыми связываются аутоиндукторы. У грамотрицательных бактерий лучше всего изучены QS системы, функционирующие с участием аутоиндукторов N-ацил-гомосеринлактонов (АГЛ).

Дегградация аутоиндукторов QS систем - один из перспективных путей борьбы с бактериальными инфекциями, регулируемые этими системами. В настоящее время проводится активный скрининг ферментов, деградирующих АГЛ, в первую очередь, лактоназ, разрушающих гомосеринлактонное кольцо. Впервые лактоназы, гидролизующие АГЛ, были найдены у бацилл; соответствующий белок был назван AiiA (*Dong Y. H.*, 2000). Было показано, что присутствие этого фермента в клетках бактерий определяет в значительной степени их способность к подавлению фитопатогенных бактерий, у которых вирулентность регулируется QS системами с участием АГЛ (*Kusari P.*, 2015).

Целью нашей работы было исследование лактоназной активности штамма *Rhodococcus* sp. 108. Штамм *Rhodococcus* sp. 108 был выделен из ризосферы растений сотрудниками Института физиологии и биохимия растений СО РАН, является активным нефтедеструктором.

Определение лактоназной активности проводили с использованием репортерного штамма *Chromobacterium violaceum* CV026, который продуцирует фиолетовый пигмент виолацеин в ответ на присутствие в среде АГЛ. Исследуемые культуры выращивали на среде LB с добавлением 15 мМ С6-АГЛ в течении ночи. Далее культуры центрифугировали (13 тыс. об/мин, 5 мин), отбирали 100 мкл супернатанта и смешивали его с равным объемом ночной культуры тестерного штамма *C. violaceum* CV026. Смесь инкубировали при 30°C в течении 48 часов. Интенсивность окраски оценивали визуально.

В случае *Rhodococcus* sp. 108 наблюдали отсутствие окрашивания биосенсора *C. violaceum* CV026 в фиолетовый цвет, что свидетельствует о проявлении лактоназной активности и дегградации АГЛ исследуемым штаммом.

Ген лактоназы *qsdA* у штамма *Rhodococcus* sp. 108 был идентифицирован, клонирован и секвенирован. Нуклеотидная последовательность гена *qsdA* была определена на протяжении 849 п.н. Провели сравнение полученной нуклеотидной последовательности с последовательностями, депонированными в международной базе данных GeneBank.

Источники и литература

- 1) Dong Y. H., Xu J. L., Li X. Z., Zhang L. H. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora* // Proc Natl Acad Sci U S A. 2000. V. 97. №7. P. 3526-31.
- 2) Kusari P., Kusari S., Spitteller M., Kayser O. Implications of endophyte-plant crosstalk in light of quorum responses for plant biotechnology // Appl Microbiol Biotechnol. 2015. V. 99. №13. P. 5383-90.