

Анализ мутаций в генах системы контроля активности сигма-фактора RpoE бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/2**Научный руководитель – Веремеенко Екатерина Геннадьевна*****Бондарева Кристина Савельевна****Аспирант*

Белорусский государственный университет, Биологический факультет, Кафедра генетики, Минск, Беларусь
E-mail: BKristinaSav@yandex.ru

Сигма-фактор RpoE относится к семейству ECF (от англ. «extracytoplasmic function») сигма-факторов, участвующих в ответе бактериальной клетки на изменения окружающей среды. Регуляция активности RpoE обеспечивается работой белков RseB и RseA. У патогенных штаммов *P. aeruginosa* данная система белков играет важную роль в поражении легких при муковисцидозе, так как стимулирует образование биопленок, что, в свою очередь, делает патогена более устойчивым к действию иммунной системы и лекарственным препаратам. У непатогенных видов рода *Pseudomonas* образование биопленок ассоциировано с увеличением продукции ряда ценных вторичных метаболитов, в том числе, феназинов [2]. Изучение изменений в генах *rpoE*, *rseA* и *rseB* позволит выявить возможную связь данных белков с продукцией феназиновых соединений у мутантного штамма B-162/2.

Целью данного исследования являлся анализ мутаций в генах системы регуляции активности сигма-фактора RpoE бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162/2.

Известно, что RpoE образует комплекс с двумя негативными регуляторами – RseA и RseB. RseA локализован так, что его N-терминальный конец расположен в цитоплазме и может взаимодействовать с -фактором RpoE, а C-терминальный конец расположен в периплазме и связан с RseB [3].

Диссоциация RseB или удаление C-терминального конца RseA способствует выходу RpoE в цитоплазму, что изменяет экспрессию генов, ответственных за окислительное фосфорилирование, гликолиз/глюконеогенез и метаболизм пропаноата, а также формирование биопленок [5].

Геномный анализ мутантного штамма-сверхпродуцента феназинов B-162/2 выявил у него мутации в генах *rseA* и *rseB*. Прямой связи с продукцией феназинов для данных белков ранее показано не было.

На основе данных онлайн-ресурса I-TASSER для белка RseA были выбраны референсные белки 6IN7 бактерий *P. aeruginosa* PAO1 и 1OR7 *E. coli*. Замена Ser162Asn в белке RpoE мутантного штамма B-162/2 изучаемых бактерий, локализована в пределах четвертого спирального домена. У 1OR7 четвертый и второй домены распознают промоторный участок ДНК (-35 и -10 регионы). Связываясь с ДНК в области промотора, RpoE инициирует присоединение РНК-полимеразы к ДНК [4]. В белке 6IN7 референсного штамма *P. aeruginosa* PAO1 в пределах координат мутации у локализован Ser156, участвующий в связывании с негативным регулятором MucA (гомолог RseA). [1]. Таким образом, мутация в пределах четвертого спирального домена сигма-фактора у штамма B-162/2 потенциально способна влиять на сродство фактора к РНК-полимеразе и образование биопленок. Еще одна аминокислотная замена в мутантном белке RseA – Val33Met – затрагивает третий спиральный домен, расположенный в пределах N-терминального конца. У гомолога 1OR7 в пределах замены расположены аминокислоты Leu38 и Ile39, которые принимают участие в связывании сигма-фактора. У белка 6IN7 в пределах мутации находятся Val27, Leu28 и Ala29, которые также участвуют в связывании AlgU (гомолог RpoE) [1].

Радикальная замена Gly147Ser в регуляторном белке RseB у мутантного штамма В-162/2 локализована в начале бетта-8-антипараллельной цепи. Эта мутация не захватывает значимых областей RseB [6].

Таким образом, мутация в RseA, захватывающая область связывания с RpoE, может влиять на уровень активности транскрипционного фактора и соответственно на образование биопленок, что в свою очередь определяет устойчивость к собственным феназинам у клеток-продуцентов. Мутация в белке-регуляторе RseB не захватывает область связывания с RseA и, по-видимому, не влияет на приобретение способности к сверхпродукции феназиновых соединений штаммом В-162/2.

Источники и литература

- 1) Crystal structure of Escherichia coli σ E with the cytoplasmic domain of its anti- σ RseA / E.A. Campbell [et al.] // Molecular Cell. – 2003. – Vol. 11, № 4. – P. 1067–1078.
- 2) Mavrodi, D.V. Phenazines and Bacterial Biofilms / D.V. Mavrodi, J.A. Parejko // Springer. – 2013. – № 4. – P. 71–87.
- 3) Missiakas, D. Signal transduction pathways in response to protein misfolding in the extracytoplasmic compartments of E. coli: role of two new phosphoprotein phosphatases PrpA and PrpB / D. Missiakas, S. Raina // EMBO J. – 1997. – Vol. 16. – P. 1670-1685.
- 4) Nelmann, J. D. RNA Polymerase and Sigma Factors / J. D. Nelmann, C.P. Morgan, Jr. Moran // Bacillus subtilis and its closest relatives. – 2001. – № 21. – P. 289–312.
- 5) Pandey, S. Posttranslational regulation of antisigma factors of RpoE: a comparison between the Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa systems / S. Pandey, K. L. Martins, K. Mathee // Stress and environmental regulation of gene expression and adaptation in bacteria. – 2016. – № 4.7. – P. 361–367.
- 6) Structural basis for the recognition of MucA by MucB and AlgU in Pseudomonas aeruginosa / S. Li [et al.] // The FEBS Journal. – 2019. – Vol. 286, № 24. – P. 4982–4994.