

Влияние различных источников азота на биосинтез субтилизиноподобной протеиназы, секретируемой *Bacillus pumilus* КММ 62

Фрузенкова Елена Игоревна, Мовчан Ольга Александровна, Маликова Лилия Александровна, Марданова Айслу Миркасымовна
Студент, студент, аспирант, научный сотрудник

Казанский государственный университет, Казань, Россия

E-mail: frlena@rambler.ru

Внеклеточные протеиназы бацилл представляют собой важную индустриальную группу ферментов. Исследование механизмов регуляции синтеза протеиназ позволит разработать новые стратегии получения штаммов-суперпродуцентов ферментов. С другой стороны, внеклеточные протеиназы являются удобной моделью для изучения функционирования глобальных регуляторных клеточных систем. Одной из жизненно важных функций внеклеточных протеиназ является их участие в процессах азотного метаболизма. Это позволяет предположить, что экспрессия генов протеиназ находится под контролем глобальной регуляции азотного обмена клетки. Целью данной работы явилось исследование влияния различных источников азота на уровень синтеза субтилизиноподобной протеиназы *Bacillus pumilus* КММ 62.

Исследована динамика роста культуры и синтеза протеиназ. Показано, что бактерии *B. pumilus* секретируют в среду субтилизиноподобную протеиназу с двумя максимумами накопления на 34 (протеиназа 1) и 50 ч роста (протеиназа 2), соответствующих ранней и поздней стационарной фазе роста культуры.

Одним из механизмов контроля экспрессии генов ферментов, участвующих в азотном метаболизме, является азотная катаболитная репрессия. Соли аммония являются наиболее легкодоступным источником азота для бактерий. Мы исследовали влияние хлорида аммония (20 мМ), внесенного в виде единственного источника азота, на накопление субтилизиноподобных протеиназ *B. pumilus*. В качестве контроля использовалась среда SMM, содержащая 20 мМ NaNO₃. Показано, что на среде с хлоридом аммония наблюдалось значительное снижение синтеза протеиназы 1 (55%), в то время как уровень продукции протеиназы 2 не изменялся. По-видимому, в раннюю стационарную фазу роста синтез фермента регулируется по механизму катаболитной азотной репрессии.

Известно, что синтез протеиназ индуцируется в присутствии белковых субстратов в среде. Мы исследовали влияние альбумина и казеина на продукцию протеиназ 1 и 2 *B. pumilus*. В присутствии 0,5% казеина наблюдается значительное увеличение синтеза протеиназы 1 (до 500%). Продуктивность культуры увеличивалась при этом в 2 раза. Синтез протеиназы 2, в тех же условиях увеличивался в меньшей степени (до 200%). 0,5% альбумин увеличивал синтез обеих протеиназ на 140 – 240%.

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что влияние аминокислот на накопление протеиназ неоднозначно и может приводить как к индукции, так и репрессии синтеза ферментов. Интересно, что внесение валина и лейцина в среду культивирования приводило к репрессии роста бактерий *B. pumilus*, однако уровень синтеза протеиназ в некоторых случаях повышался. Так, 0,1% валин и 0,1 – 0,5% лейцин интенсифицировали синтез протеиназы 1 в 2-3 раза, однако синтез протеиназы 2 оставался на уровне контроля, или даже снижался на 50% в присутствии 1% валина.

Таким образом, выявлены различия во влиянии источников азота на продукцию протеиназ *B. pumilus*, секретируемых на разные стадии развития культуры. Синтез протеиназы 1, по-видимому, регулируется по механизму азотной катаболитной репрессии в отличие от протеиназы 2. Наблюдается индукция синтеза обеих протеиназ белковыми субстратами – казеином и альбумином в различных концентрациях. Валин и лейцин индуцируют синтез протеиназы 1.

Работа поддержана грантом РФФИ 05-04-48182-а.

