

Характеристика бактериоцинных оперонов из штаммов *Arthrobacter sp* ATCC 21022 и *Bacillus gottheilii* FJAT 2394

Научный руководитель – Дубилей Светлана Алексеевна

Гусева Екатерина Алексеевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: eguseva98@mail.ru

В связи с распространением устойчивых к антибиотикам патогенов растет актуальность поиска новых антибиотических соединений. Большим потенциалом в этой области обладают рибосомно синтезируемые посттрансляционно модифицируемые пептиды (RiPP). Синтез RiPP начинается с рибосомального продукта - пептида-предшественника (ПП), состоящего из N-концевого лидерного пептида (ЛП) и C-концевого корового участка. ЛП служит сайтом узнавания ферментов, вносящих посттрансляционные модификации в коровую часть, после чего отрезается пептидазами. В данный момент выделяют около 20 классов RiPP, основываясь на особенностях их структуры и биосинтеза.

Среди белков биосинтеза RiPP большая доля доменов - с уникальной или неизвестной функцией. Одним из распространенных представителей является суперсемейство белков YcaO, для которых на данный момент известно 4 различные активности и предполагается наличие не выявленных функций [1].

Наша работа посвящена изучению YcaO-содержащих кластеров RiPP из микроорганизмов *Arthrobacter sp.* ATCC 21022 и *Bacillus gottheilii* FJAT 2394.

В кластере *Arthrobacter sp.* кодируется 3 ПП, при этом их аминокислотная последовательность и гены кластера не характерны для известных классов RiPP.

Ряд генов кластера из *B. gottheilii* и последовательность коровой части ПП позволяют отнести кодируемый RiPP к лантибиотикам. При этом несколько генов этого кластера гомологичны генам кластера *Arthrobacter sp.*, а последовательности лидерных частей в ПП обоих кластеров сильно похожи.

Для исследования токсичности RiPP из *Arthrobacter sp.* мы брали клетки *Arthrobacter sp* и *E. coli* со сконструированной нами плазмидой для гетерологической экспрессии кластера и наносили на чашки с газоном тестовых клеток: а) лизат клеток, б) среду, на которой росли клетки, в) клетки. В рамках проведенных экспериментов антибиотической активности не выявлено.

Мы создали контрольные плазмиды, несущие производные RiPP кластера из *Arthrobacter sp* с одним геном ПП или без таких генов. Для идентификации продуктов экспрессии кластера мы проводили гетерологическую экспрессию плазмид в клетках *E. coli*. Сравнительный ВЭЖХ-анализ жидкой среды, в которой инкубировались клетки, не выявил значимых отличий. МС-анализ колоний клеток, выращенных на твердой среде, позволил обнаружить модификацию C-концевого треонина ПП, приводящую к уменьшению его массы на 50 дальтон.

Для определения функций мы выделили 6 белков оперона *Arthrobacter sp.*, включая YcaO-домен, а также PQQ домен, опосредующий связывание ЛП с модифицирующими ферментами. Нами планируется проведение *in vitro* реакций полученных ферментов с химически синтезированным ПП и их ВЭЖХ и МС-анализ.

В дальнейшем мы также планируем создание конструкций для гетерологической экспрессии кластера из *B. gottheilii* и идентификацию продуктов экспрессии.

Источники и литература

- 1) Burkhardt, et al. YcaO-Dependent Posttranslational Amide Activation: Biosynthesis, Structure, and Function // Chem Rev. 2017. No. 117. P. 5389 – 5456.