

## Применение метода SERF для поиска регуляторных участков в стрептомициновом опероне *E. coli*.

***Сурдина Анастасия Владимировна, Головин Андрей Викторович***

*соискатель*

*Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва,*

*(Российская Федерация)*

[\*asya\\_surdina@mail.ru\*](mailto:asya_surdina@mail.ru)

Прокариотический рибосомный белок S7 является ключевым в регуляции биогенеза малой субчастицы рибосом. Он является одним из двух белков (кроме S4), который инициирует её сборку и стимулирует взаимодействие других рибосомных белков с 16S рРНК. Кроме того, он является регуляторным белком т.н. стрептомицинового (*str*) оперона, в состав которого входят гены рибосомных белков S12 и S7, а также двух факторов трансляции EF-G и EF-Tu. Выполняя регуляторную функцию, белок EcoS7 связывается с межцистронным участком S12-S7 длиной 100 нуклеотидов и ингибирует трансляцию своего цистрона. Это определяет либо участие белка S7 в сборке малой субчастицы рибосом, либо в репрессии собственной трансляции.

Однако *str* опероны большинства видов бактерий не обладают аналогичным межцистронным участком, поэтому общий механизм регуляции работы *str* оперона остается неизвестным. В связи с этим, нами был проведен поиск возможных участков связывания белка S7 со *str* мРНК *E. coli* с использованием комбинаторного метода SERF (Selection of Random RNA Fragments).

Фрагмент ДНК, содержащий участок *str* оперона *E. coli* длиной 2000 п.н., гидролизовали ДНКазой I; полученные фрагменты длиной 50 - 1000 п.н. клонировали в плазмиду pGEM-3Z под контроль промотора фага T7. После амплификации фрагментов методом ПЦР и транскрипции с использованием T7 РНК-полимеразы, проводили комплексообразование фрагментов *str* мРНК с белком S7. Комплексы сорбировали на нитроцеллюлозных мембранах, связавшиеся фрагменты мРНК экстрагировали, и вводили в следующий цикл селекции. После 10 циклов селектированные фрагменты лигировали в плазмиду PBR322 и трансформировали штамм *E. coli* JM-109 для получения отдельных колоний, каждая из которых содержала плазмиды только с одним фрагментом *str* оперона. Была проанализирована первичная структура более чем 30 селектированных фрагментов РНК. Комплексообразованием с белком S7 показано, что только один из фрагментов связывался с белком S7 специфически. Этот фрагмент, длиной в 109 нуклеотидов, содержал межцистронный участок S12-S7. Таким образом, в данной работе мы показали, что метод SERF можно использовать для изучения регуляции работы *str* оперона *E. coli*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-ГФЕН – 04-04-39014.