

Функциональный и филогенетический анализ кассеты генов *Escherichia coli*, участвующей в деградации сульфоквиновозы и лактозы**Научный руководитель – Гельфанд Михаил Сергеевич*****Рыбина Анна Александровна****Студент (магистр)*

Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

E-mail: rybinaann@gmail.com

В геноме *Escherichia coli* есть кассета из десяти генов, кодирующих ферменты деградации сульфоквиновозы [1]. С помощью методов сравнительной геномики в нашей лаборатории было выдвинуто предположение, что эта кассета (далее - *yih*-кассета) участвует также в утилизации лактозы, так как ее состав у *E. coli* сходен с составом кассеты бактерий класса *Bacilli*, отвечающей за катаболизм этого дисахарида [2]. Удалось показать, что экспрессия четырех генов *yih*-кассеты, кодирующих альдолазу, изомеразу, киназу и фактор транскрипции, значительно возрастает во время роста культуры на лактозе. В межгенных областях кассеты имеется несколько мотивов связывания для глобального регулятора углеводного метаболизма CRP. Было показано участие CRP в регуляции экспрессии *yihV* (киназы), оперона *yihTS* (альдолазы и изомеразы) и *yihW* (локального регулятора). Однако до сих пор неясно, как именно влияет лактоза на связывание *YihW* с межгенными областями кассеты и каков мотив его узнавания [2,3]. Также *yih*-кассета не подвергалась ранее филогенетическому анализу. Цель настоящей работы - изучить эволюцию и регуляцию *yih*-кассеты с точки зрения возможной мультифункциональности соответствующих белков. Филогенетический анализ осуществляли с помощью поиска гомологичных белковых последовательностей (BLAST, HMMER), множественного выравнивания (MUSCLE), построения филогенетических деревьев методом максимального правдоподобия (PhyML). Мы выяснили, что *yih*-кассета, в основном, присутствует в геномах семейства *Enterobacteriaceae* и представлена в виде “короткой” (*yihTUVW*) или “длинных” форм (в основном, *ompLyihOPQRSTUVWXYZ*). При этом появление короткой и длинной формы скоррелировано, а разделение исходной предковой кассеты на два типа произошло один раз. Влияние лактозы на связывание *YihW* с регуляторными участками *yih*-кассеты мы исследовали с помощью электрофореза с задержкой в геле (EMSA). Мы показали, что *YihW* эффективно связывается с регуляторной областью собственного гена и *yihU/V*, при этом эффективность связывания не менялась в присутствия глюкозы и галактозы, но существенно падала в присутствии лактозы. Это подтверждает гипотезу о том, что лактоза влияет на регуляцию экспрессии генов *yih*-кассеты и, возможно, является одним из эффекторов *YihW*.

Источники и литература

- 1) Denger, K., Weiss, M., Felux, A. K., Schneider, A., Mayer, C., Spitteller, D., ... Schleheck, D. (2014). Sulphoglycolysis in *Escherichia coli* K-12 closes a gap in the biogeochemical sulphur cycle. *Nature*, 507(7490), 114–117.
- 2) Kaznadzey, A., Shelyakin, P., Belousova, E., & Eremina, A. (2018). The genes of the sulphoquinovose catabolism in *Escherichia coli* are also associated with a previously unknown pathway of lactose degradation. *Scientific Reports*, (February), 1–12.
- 3) Shimada, T., Yamamoto, K., Nakano, M., Watanabe, H., Schleheck, D., & Ishihama, A. (2019). Regulatory role of CsqR (*YihW*) in transcription of the genes for catabolism

of the anionic sugar sulfoquinovose (SQ) in escherichia coli K-12. Microbiology (United Kingdom), 165(1), 78–89.