

**Направленная инактивация детерминант потенциальных факторов  
патогенности *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica***

**Скобляков С.А., Дементей А.Ю., Мямин В.Е., Песнякевич А.Г.**

*Белорусский Государственный Университет, биологический ф-т, г. Минск,  
Беларусь*

*E-mail: skobliakovsergey@mail.ru*

*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Eca*) – фитопатоген, поражающий побеги и клубни картофеля, что приводит к развитию заболевания “черная ножка” и мягкой гнили клубней, соответственно. Основными факторами патогенности *Eca* являются экзоферменты, разрушающих компоненты клеточной стенки растительной клетки (пектиназы, целлюлазы, протеазы). Спектр продуцируемых *Eca* экзоферментов в настоящее время изучен недостаточно.

Проведенный нами анализ генома *Eca* SCRI1043, выявил ряд кодирующих последовательностей (КП), гомологичных генам неохарактеризованных у *Eca* экзоферментов. Среди них: ECA0804 (гомологична гену рамногалактуронатлиазы *Erwinia chrysanthemi*), ECA0852 (гомологична гену арабиногалактан эндо-1,4-β-галактозидазы *Pseudomonas fluorescens*) и ECA1873 (гомологична гену ксиланазы *Shigella flexneri*).

С целью изучения роли перечисленных КП в патологическом процессе, нами созданы генетические конструкции для их направленной инактивации. Для этого осуществлена амплификация соответствующих фрагментов хромосомной ДНК *Eca* SCRI1043, и клонирование ПЦР-продуктов в векторе pUC18 (в результате получены плазмиды pRG1, pAG1, pGH1, соответственно). После инсерции в последовательность клонированных фрагментов кассеты антибиотикорезистентности “омега” (плазмиды pRG2, pAG2, pGH2), полученные конструкции переклонировали в мобилизуемый суицидный вектор pJQ200SK (pRG3, pAG3, pGH3, соответственно). Эти плазмиды были введены в клетки *E. coli* BW19851, которые затем были использованы в качестве доноров в конъюгационных скрещиваниях с бактериями *Eca* SP234 (спонтанный мутант *Eca* SCRI1043 устойчивый к рифампицину). В настоящее время проводится рекомбинационная замена интактных КП на мутантные.

**Литература**

1. Barras F., Gijsegem F., Chatterjee A. (1994) Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia* // *Annu. Rev. Phytopathol.*, Vol.32, p.201-234.
2. Quandt J., Hynes M. (1993) Versatile suicide vectors which allow direct selection for gene replacement in Gram-negative bacteria // *Gene*, Vol.127, p.15-21.
3. Toth I.K., Bell K.S., Holeva M.C., Birch P.R. (2003) Soft rot erwiniae: from genes to genomes // *Molecular Plant Pathology*, Vol.4, p. 17-30.