

**Функциональный анализ гена *znuR*, регулирующего транспорт ионов цинка
в клетки *Synechocystis* sp. PCC 6803**

Женавчук Оксана Федоровна, Кряжов Сергей Васильевич

научный сотрудник, аспирант

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва

E-mail: yennifer.v@gmail.com

Цинк – необходимый элемент для всех организмов и широко распространен в биосфере. Фотосинтезирующим организмам он необходим для функционирования целого ряда ключевых ферментов, но при достижении концентраций выше критических цинк является токсичным, и поэтому у бактерий его внутриклеточная концентрация поддерживается на определенном уровне с помощью процессов поглощения и выведения.

В геноме цианобактерии *Synechocystis* 6803 идентифицирован оперон *znuABC*, кодирующий компоненты ABC-транспортной системы цинка. Инактивация генов этого оперона приводит к Zn-зависимому росту мутантов, что указывает на их участие в поглощении ионов цинка. Перед опероном *znuABC* расположен ген *sll1937 (znuR)*, кодирующий транскрипционный регулятор семейства Fur. В нашей лаборатории был получен мутант $\Delta znuR$ с инсерционной инактивацией этого гена. Анализ экспрессии генов в клетках дикого типа и мутанта $\Delta znuR$ в стандартных условиях роста был проведен в лаборатории Н.Мураты (Япония) с помощью микроэррей-анализа. Установлено, у мутанта $\Delta znuR$ изменена экспрессия ряда генов: увеличена экспрессия генов оперона *znuABC* и гена *sll1550*, кодирующего мембранный белок порин. Эти данные свидетельствуют о том, что белок ZnuR репрессирует оперон *znuABC* и ген *sll1550*. Также в клетках мутанта снижена экспрессия гена *sigE*, кодирующего сигма-фактор E.

Нами были исследованы уровни экспрессии оперона *znuABC* и генов *sll1550* и *sigE* с помощью Нозерн-гибридизации в клетках дикого типа и мутанта $\Delta znuR$ в стандартных условиях роста и в условиях голодания по цинку. Полученные данные полностью подтверждают результаты микроэррей-анализа. Показано, что в клетках дикого типа, выращенных как в стандартной среде роста, так и в среде без цинка экспрессия оперона *znuABC* и гена *sll1550* с помощью Нозерн-блот анализа не выявляется. Очевидно в клетках дикого типа экспрессия этих генов осуществляется на очень низком уровне и, если оперон и регулируется ионами Zn^{2+} , то незначительно. В клетках мутанта $\Delta znuR$ гены *znuABC* и *sll1550* экспрессировались на высоком уровне независимо от наличия цинка в среде роста. Эти данные подтверждают то, что белок ZnuR негативно регулирует оперон *znuABC*, кодирующий белки системы транспорта цинка в клетки *Synechocystis* 6803, а также ген *sll1550*, кодирующий белок, формирующий неспецифические транспортные каналы во внешней клеточной мембране. Впервые установлено, что в клетках *Synechocystis* экспрессия гена *sigE* регулируется ионами цинка. Возможно, фактор SigE необходим для выживания клеток не только в условиях азотного голодания, но и в других стрессовых условиях. Полученные нами результаты указывают на то, что белок ZnuR не является активатором гена *sigE*, а принимает не прямое участие в его активации.