

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Мониторинг регуляторных путей в *Escherichia coli*

Попков Василий Андреевич

Студент

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

E-mail: popkov-v@mail.ru

Вся жизнедеятельность клетки: от реакции на внешние воздействия, до поддержания внутриклеточных процессов в конечном счете определяется уровнем экспрессии различных генов. Измерение уровня экспрессии генов – крайне важная задача, позволяющая получать большое количество информации об изучаемых объектах.

Целью данной работы являлось создание простого и удобного метода регистрации экспрессии генов с использованием флуоресцентных белков. Для создания генно-инженерной конструкции использовались стандартные молекулярно-биологические методы: работа с клеточными культурами, выделение плазмид, полимеразная цепная реакция, электрофорез фрагментов ДНК в агарозном геле, базовые манипуляции с ДНК (фосфорилирование, рестрикция, легирование и т.д.).

С использованием перечисленных выше методов, стандартных для любой лаборатории, была создана генно-инженерная конструкция, позволяющая определить факторы, влияющие на экспрессию генов, как на транскрипционном уровне, так и на трансляционном.

Особенности данной конструкции:

- Возможность определения уровня экспрессии *in vivo*, без разрушения клеток, детектируя флуоресценцию по мере роста клеток. Так же не требуется использование специфических субстратов как для большинства репортерных белков (бета-галактозидазы, люциферазы и т.д.).
- Промоторная или 5'-нетранслируемая область у одного из флуоресцентных белков (голубого) легко (в одну стадию) может быть заменена на исследуемую, что позволяет создать серию конструкций, детектирующих регуляция экспрессии гена на всех уровнях.
- Наличие внутреннего стандарта – промоторная или 5'-нетранслируемая область второго флуоресцентного белка (красного) во всех конструкциях будет оставаться неизменной и его экспрессия не будет зависеть от внесенных в плазмиду изменений. Отношения уровня флуоресценции голубого и красного белков будет отражать реальное влияние особенностей изучаемого в данном случае промотера или 5'-нетранслируемой области.

В данной работе описан процесс создания и механизм работы созданной конструкции, а так же предложена возможность ознакомиться с ее использованием на нескольких примерах.