

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-242

ИЗУЧЕНИЕ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ BLICHA ИЗ *BACILLUS LICHENIFORMIS*

STUDY OF THE RESTRICTION-MODIFICATION SYSTEM BLICHA FROM *BACILLUS LICHENIFORMIS*

Р. В. Березов, А. А. Кудрявцева, И. В. Манухов

Московский физико-технический институт, Долгопрудный

R. V. Berezov, A. A. Kudryavtseva, I. V. Manukhov

Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

✉ berezov.rodion.2001@gmail.com

Аннотация

Система рестрикции-модификации I типа BlichA из *Bacillus licheniformis* была клонирована, экспрессирована и очищена. Подтверждена эндонуклеазная активность комплекса *in vitro*.

Abstract

The type I restriction-modification system BlichA from *Bacillus licheniformis* was cloned, expressed and purified. Endonuclease activity of the complex was confirmed *in vitro*.

Системы рестрикции-модификации I типа (RMI) широко распространены в бактериальных клетках и помогают им защищаться от чужеродной ДНК, такой как ДНК бактериофагов. Обычно такие системы представляют собой комплекс из пяти белков: двух R-субъединиц, определяющих эндонуклеазную активность, двух M-субъединиц, обеспечивающих метилазную активность, и S-субъединицы, отвечающей за узнавание неметилированного сайта на ДНК [1].

В настоящей работе изучалась система BlichA из термофильных бактерий *Bacillus licheniformis*. Набор генов, кодирующих функциональный комплекс, был клонирован в экспрессионный вектор pIR-DPA1. Помимо трех генов *hsdR1*, *hsdM1* и *hsdS1B*, в опероне присутствует дополнительный ген *hsdIA* с неизвестной функцией. Для очистки комплекса к С-концу R-субъединицы была добавлена 6×His-метка.

Проверка работы системы рестрикции-модификации *in vivo* проводилась в штамме с отключенной собственной системой RMI, а именно в *Escherichia coli* TG1. Экспрессию комплекса для выделения проводили в штамме *E. coli* NiCo21(DE3). Эффективность работы комплекса оценивали методом посева фага [2]. Для двух клонов была подтверждена активность RMI. Очистку комплекса BlichA осуществляли с использованием никелевой аффинной хроматографии.

Эндонуклеазную активность комплекса подтвердили *in vitro* на плазмиде, содержащей единичный сайт узнавания. Таким образом, система рестрикции-модификации I типа BlichA была успешно клонирована, экспрессирована, очищена, а также проверена ее эндонуклеазная активность *in vitro*.

Литература

1. Murray N. E. Type I restriction systems: sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle) // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000. Vol. 64. P. 412–434.
2. Zavil'gel'skii G. B. et al. Weakening of bacteriophage lambda EcoK DNA restriction in the presence of plasmid pKM101 ard+. I. General characteristics and genetic localization // Molekuliarnaya Biologiya. 1984. Vol. 18, No. 6. P. 1590–1596.