

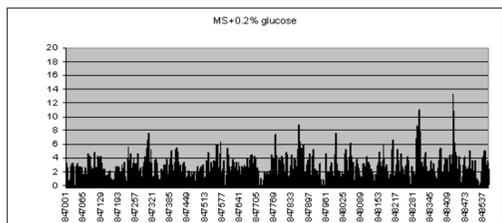
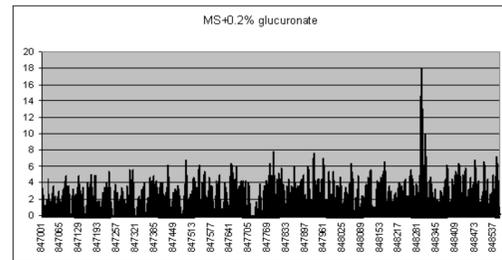
Dps ищет друзей

Dps is looking for friends

Елизавета Драпкина*, Татьяна Бессонова, Софья Гарушанц, Ольга Николаевна Озолинь, Мария Тутукина, Ульяна Швырева

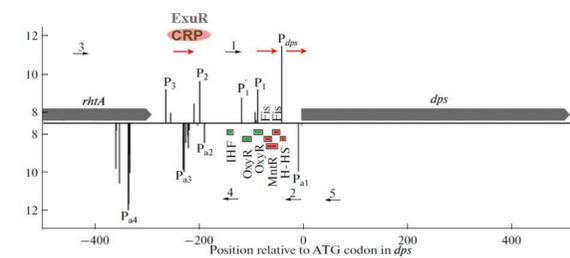


Введение. Dps (DNA binding protein from starved cells)- основной белок нуклеоида в клетках *E. coli* на стационарной фазе роста. Он выполняет защитную и архитектурную функции. Dps (MW= 18,9 кДа) формирует додекамер из 12 одинаковых субъединиц. В настоящее время считается, что он неспецифически связывает ДНК, обеспечивая упаковку нуклеоида. Транскрипция *dps* осуществляется с промотора P_{dps} распознаваемого sigma-70 и sigma-38 субъединицами РНК-полимеразы. Кроме этого, его регуляторная область содержит несколько дополнительных промоторов, необходимых для максимальной экспрессии гена. Ранее нами было показано определенная специфичность самого Dps в связывании именно с этой областью. Кроме того, в результате анализа данных ChIP-seq с антителами к ExuR в регуляторной области *dps* неожиданно были обнаружены потенциальные места связывания этого регулятора углеводного метаболизма кишечной палочки. Поэтому целью данного проекта являлась теоретическая и экспериментальная проверка возможности регуляции экспрессии гена *dps* регуляторами углеводного метаболизма, а также оценка вероятности наличия потенциальных партнеров, обеспечивающих его специфическое взаимодействие с ДНК.



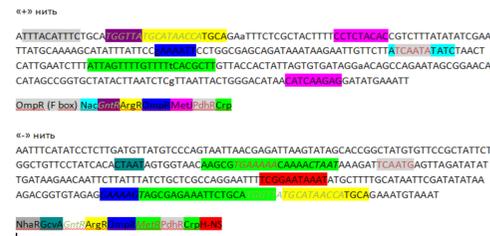
Promoter distribution and potential transcription factors within the *dps* regulatory region

Расположение промоторов и потенциальных факторов транскрипции в регуляторной области гена *dps*.



Расположение сайтов регуляторных белков на промоторах гена DPS, предсказанных с помощью программы virtual footprint

Finding sites of regulatory proteins predicted in regulatory region of the *dps* with Virtual Footprint software



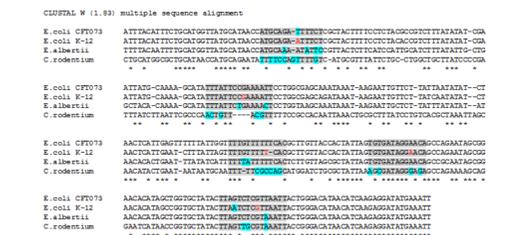
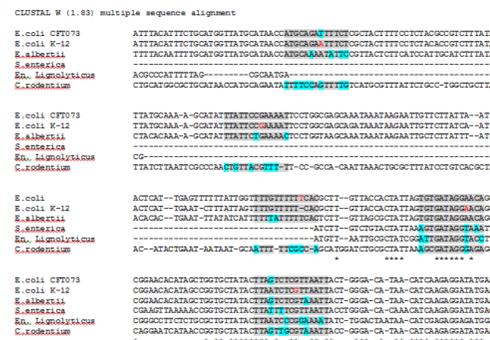
Были обнаружены сайты нескольких регуляторов углеводного метаболизма, в том числе CRP

Several binding sites of sugar metabolism regulatory proteins including CRP were found

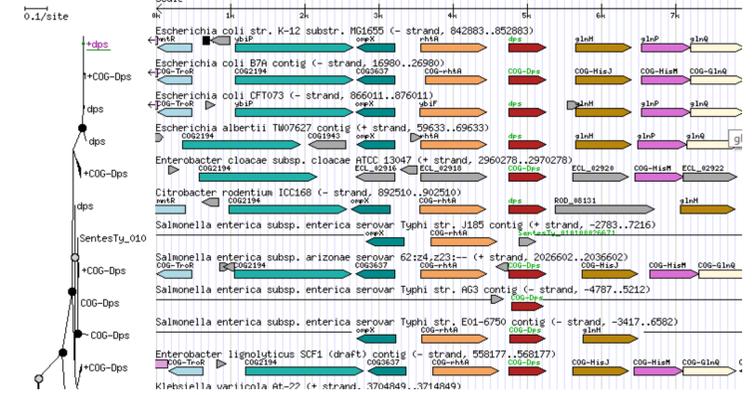
Выводы: В области дополнительных промоторов гена *dps* есть сайты связывания двух регуляторов сахарного метаболизма – CRP и ExuR. Также обнаружен специфический комплекс белка Dps с собственной регуляторной областью.

Conclusion: Binding sites of the two regulators of sugar metabolism – ExuR and CRP – are present in the upstream region of the *dps* gene. Specific complex of the Dps protein with its own regulatory region was detected.

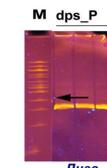
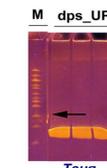
Выравнивание регуляторной области гена DPS в геномах бактерий близкородственных к *E. coli* и представителей других групп



Основной промотор гена DPS встречается в геномах всех проверенных нами бактерий и отличается высокой консервативностью. Однако, дополнительные промоторы присутствуют в геномах только у некоторых предков кишечной палочки, а так же у и сохраняется только у ее близких родственников. Но мы не смогли проследить происхождение этой группы промоторов

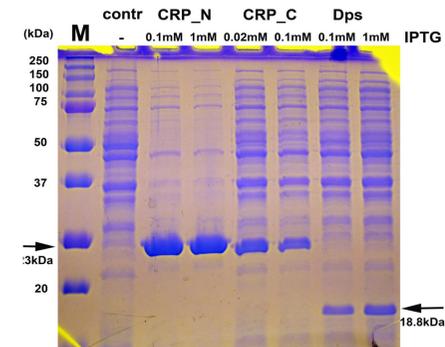


Филогенетическое дерево гена *dps* у ближайших родственников *Escherichia coli*



Амплификация фрагментов ДНК, содержащих основной промотор гена DPS (PDps) и дополнительные промоторы (Dps up)

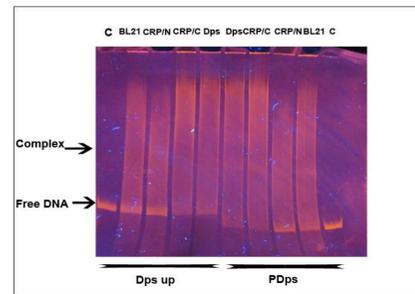
Для дальнейшей работы, учитывая особенности их возникновения, целесообразно было исследовать основную и дополнительные промоторы по-отдельности



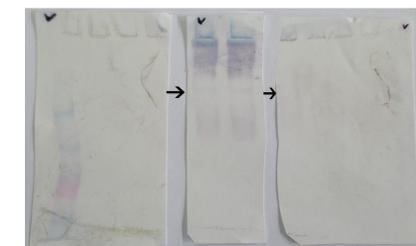
Суперпродукция белков CRP/N, CRP/C, DPS в клетках *E. coli* BL21(DE3)

Клетки с максимальной индукцией были использованы для получения максимальной фракции белков для поледующей работы

Western Blot белков, перенесенных после задержки комплексов с фрагментами исследованных фрагментов ДНК с антителами к CRP и DPS

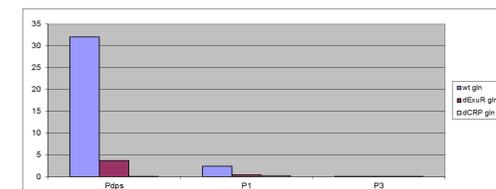
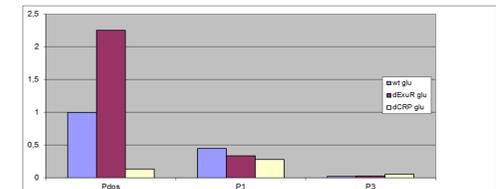


Результаты, полученные методом задержки в геле комплексов фрагментов ДНК PDps и Dps up с белками из клеточных лизатов



Белок DPps формирует комплексы как с обоими фрагментами (Pdpс и dps up), однако комплекс DPS up может формироваться с мономером DPS. Белок CRP образует комплекс только с фрагментом DPS up, что хорошо согласуется с данными virtual footprint

ExuR и CRP в клетках *E. coli* могут выступать в роли активатора экспрессии гена *dps* во время экспоненциального роста



Накопление мРНК, синтезируемой в разных промоторов регуляторной области гена *dps* в клетках *E. coli* дикого типа и мутантных по генам *exuR* и *crp* растущих на глюкозе и глюкуроане.

Abstract

Dps (DNA binding protein from starved cells) is a major nucleoid protein in *E. coli* cells at stationary growth phase. It plays both protective and architectural roles. Dps (MW= 18,9 kDa) forms dodecamer with 12 identical subunits. Up to date it is believed, that Dps binds DNA non specifically leading to chromosome compaction. Transcription of the *dps* gene is carried out by the two sigma factors (sigma 38 and sigma 70) of RNA polymerase. Moreover, there are several additional promoters in the *dps* upstream that are required for the maximal gene expression. We have previously shown that Dps has certain specificity in binding with its own regulatory region. Moreover analysis of ChIP-seq data with antibodies for ExuR unexpectedly revealed potential binding sites of this carbon metabolisms regulator in the regulatory region of *dps* gene in *E. coli* genome. Therefore the goal of our project is theoretical and experimental verification of possibility of carbon metabolism regulators control *dps* gene expression, and evaluation of probability for potential partners of Dps to be involved in its specific interaction with DNA.