



Сахарная вата Cotton candy

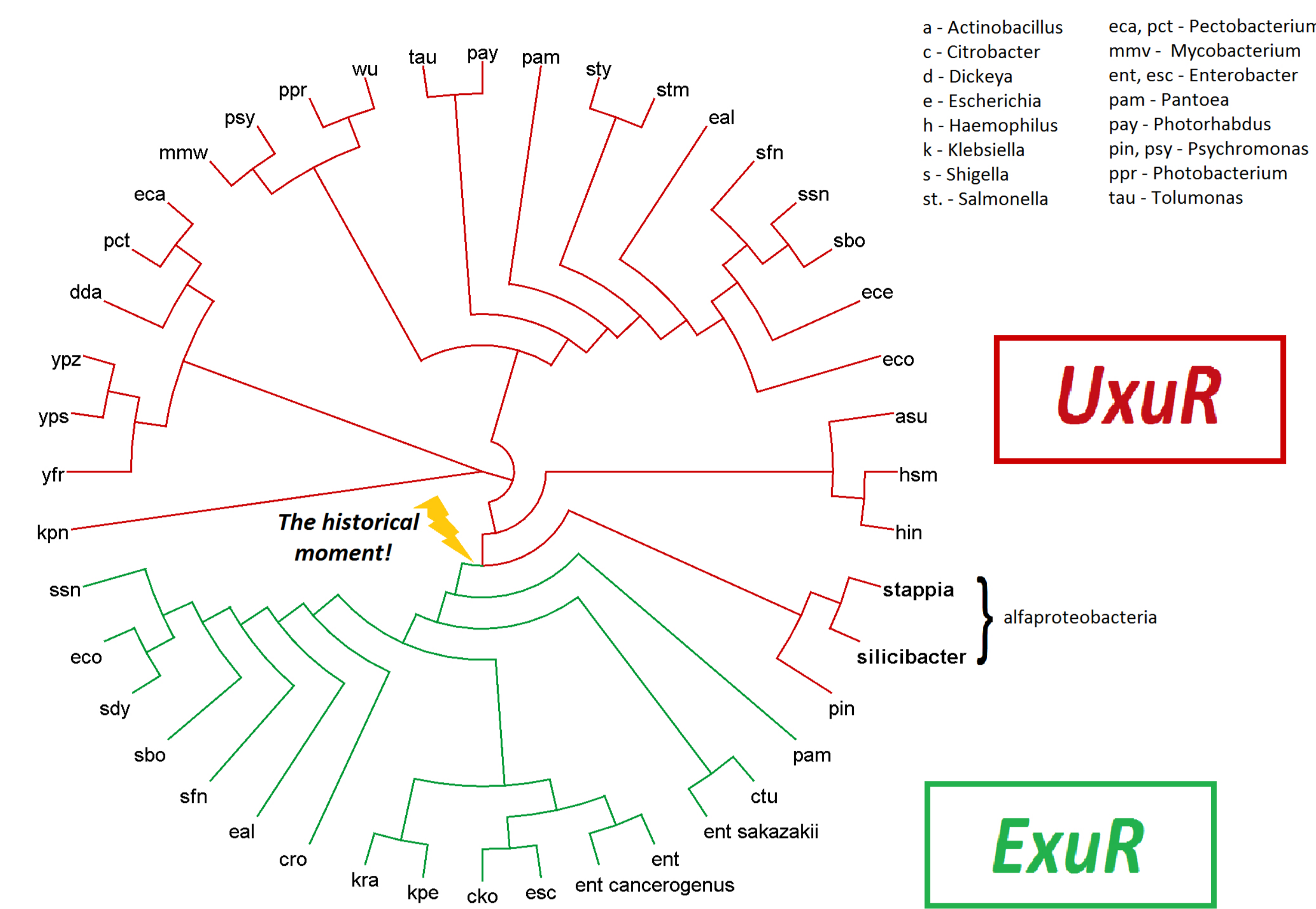
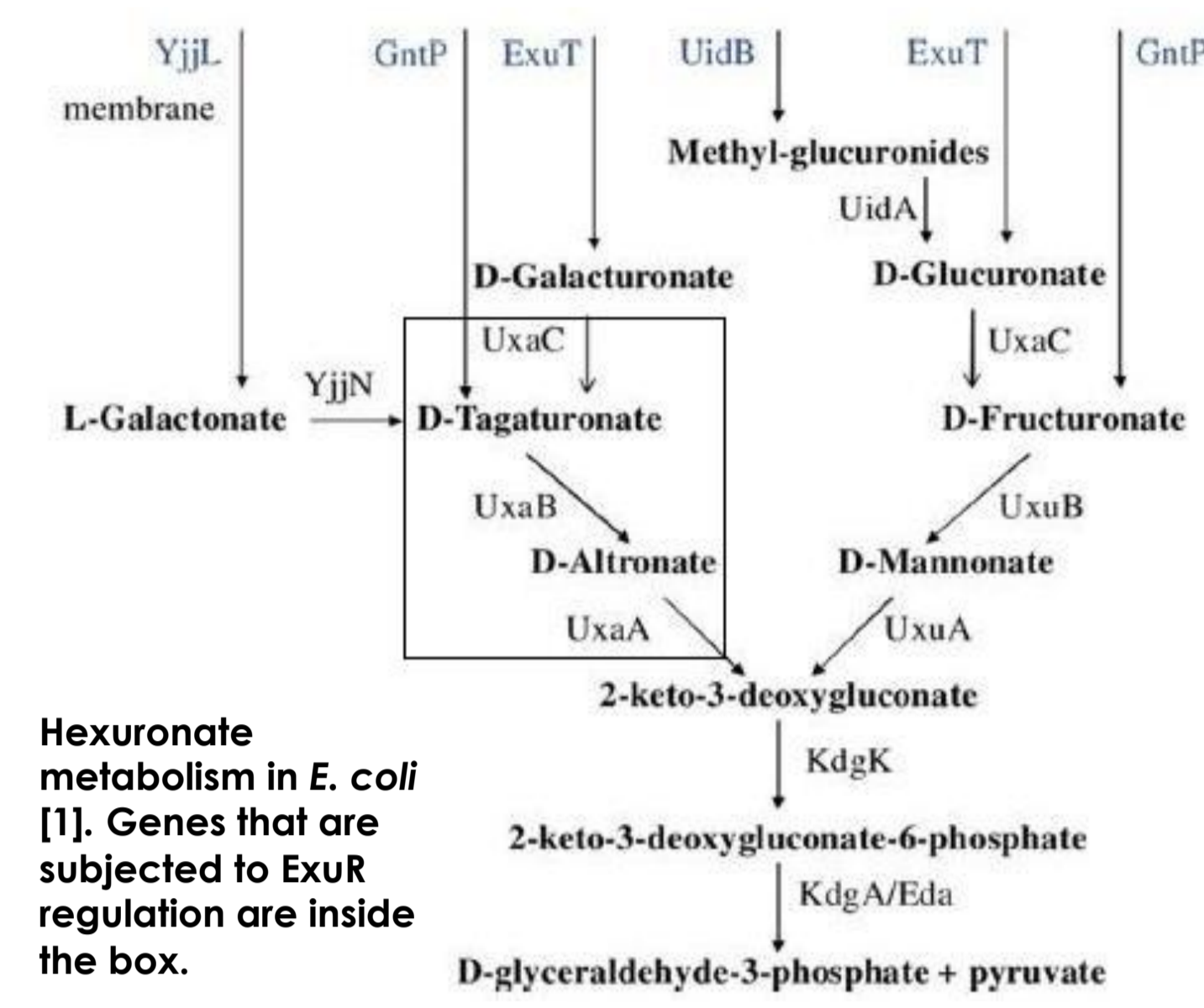
Алена Потапенко, Мария Селифанова,
Инна Суворова, Мария Тутукина



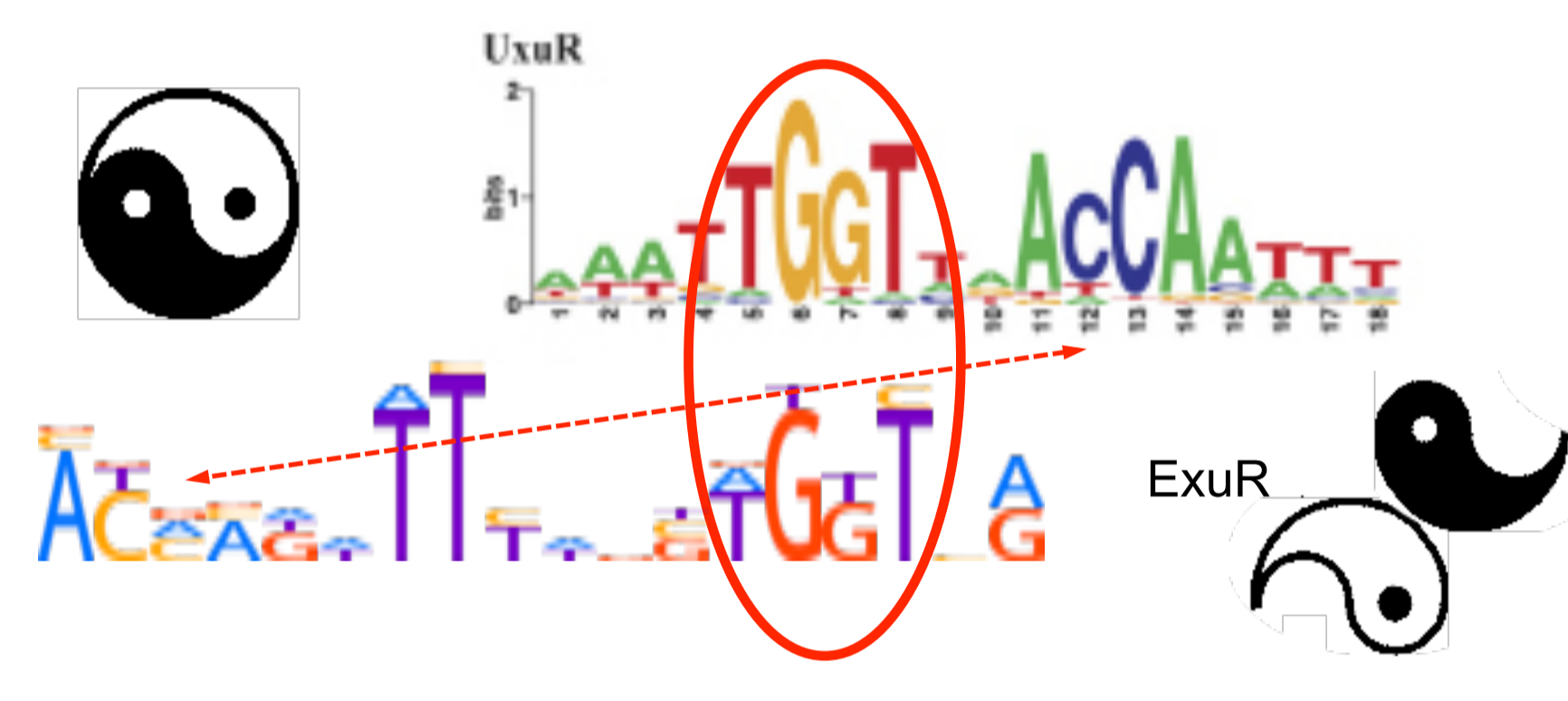
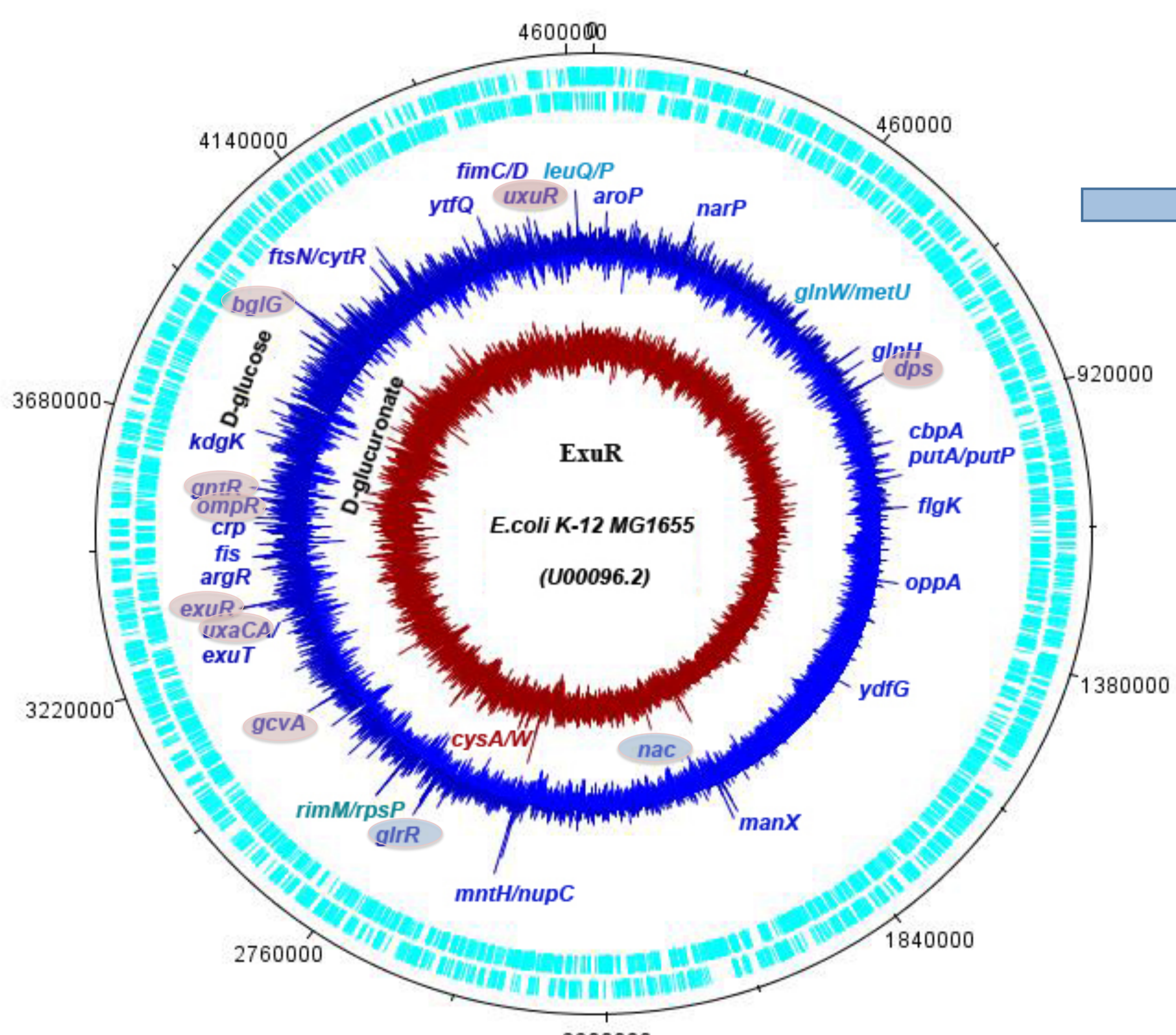
Abstract

Метаболизм гексуроновых кислот по пути Эшвелла играет важную роль в колонизации и подвижности *E. coli* [Peekhaus and Conway, 1998]. Синтез ферментов этого шунта находится под контролем двух гомологичных факторов транскрипции - UxuR и ExuR, относящихся к семейству GntR [Rodionov et al., 2000]. Ранее было показано, что UxuR является репрессором генов *uxuR*, *gntP*, *uxuAB*, *uidABC*, *yjjN* и *yjjM* [Suvorova et al., 2011], а ExuR предсказан как регулятор *exuT*, *uxaB* и *uxaCA* [Mata-Gilsinger, 1983]. Методами сравнительной геномики было показано, что UxuR и ExuR могут иметь похожие сайты связывания с ДНК, но до настоящего времени экспериментально это проверено не было. Целью данного исследования было выявление полного регулона белка ExuR на основе данных ChIP-seq, экспериментальная проверка его влияния на гены-мишени и уточнение мотива его узнавания.

Hexuronic acids' catabolism via the Ashwell pathway is important for *E. coli* colonization and motility [Peekhaus and Conway, 1998]. Two homologous proteins, UxuR and ExuR, were predicted to repress synthesis of enzymes of this pathway, but little is known about their relative roles in gene regulation [Rodionov et al., 2000]. They are both members of the GntR family of transcription factors, and UxuR was suggested to be a repressor for *uxuR*, *gntP*, *uxuAB*, *uidABC*, and the *yjjN* and *yjjM* genes [Suvorova et al., 2011]. ExuR has been confirmed as a repressor for *exuT*, *uxaB*, and the *uxaCA* [Mata-Gilsinger, 1983]. Bioinformatic analysis suggested that UxuR and ExuR recognize similar target sequences but no experimental evidence of this interplay was available. The purpose of this study was to reveal ExuR regulon based on ChIP-seq analysis.



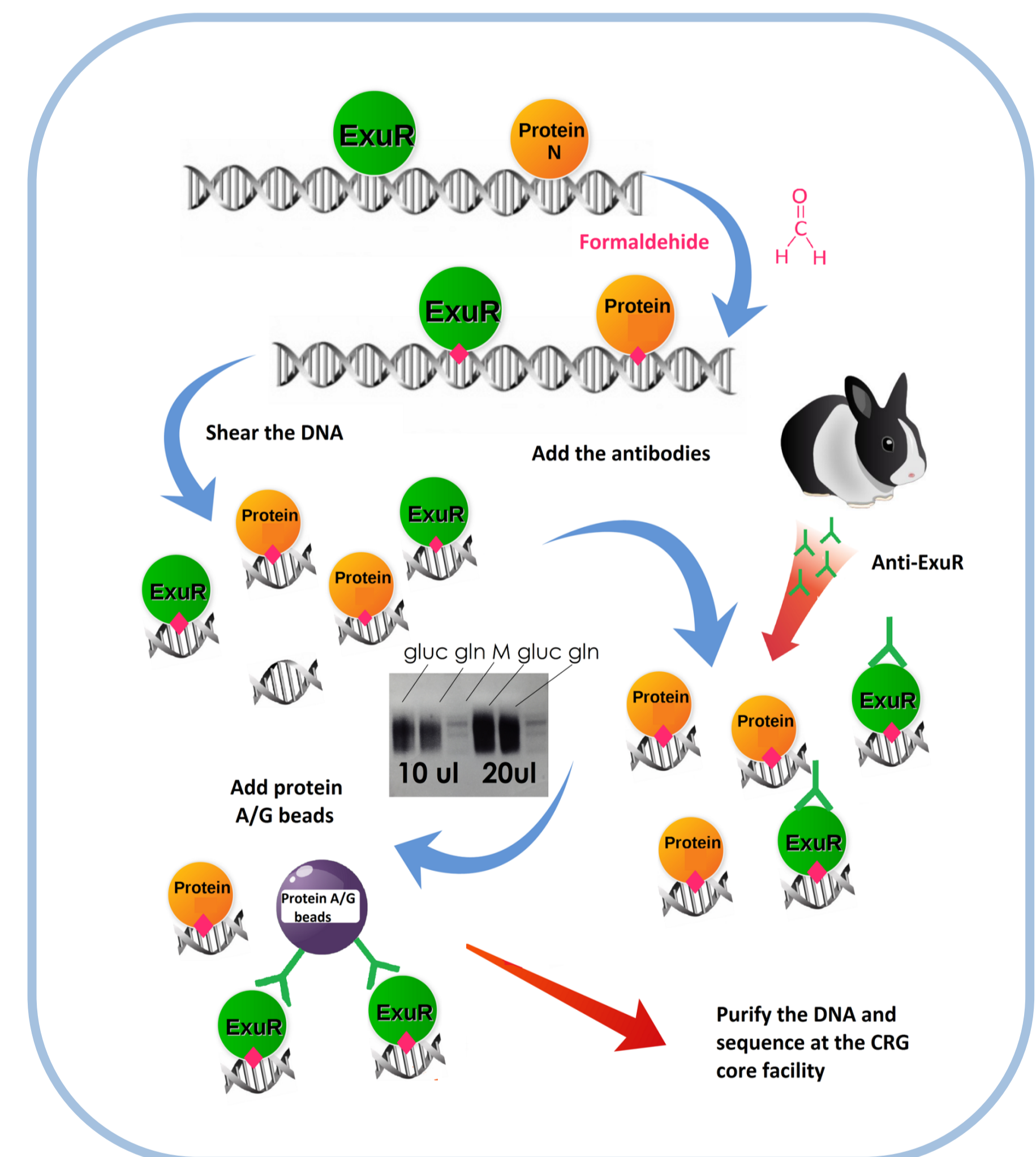
Филогенетический анализ показал, что UxuR есть не только у гаммапротеобактерий, а ExuR возник в результате дупликации UxuR. **Phylogenetic analysis** revealed that UxuR is present not only in gamma-proteobacteria, while ExuR resulted from its duplication.



Для того, чтобы **найти мотив связывания ExuR**, мы использовали нуклеотидные последовательности подтвержденных мишеней и алгоритм ChIPMunk [Kulakovskiy, et al., 2013].

To search for the ExuR binding motif, we used the nucleotide sequences of the confirmed targets and ChIPMunk algorithm [Kulakovskiy et al., 2013].

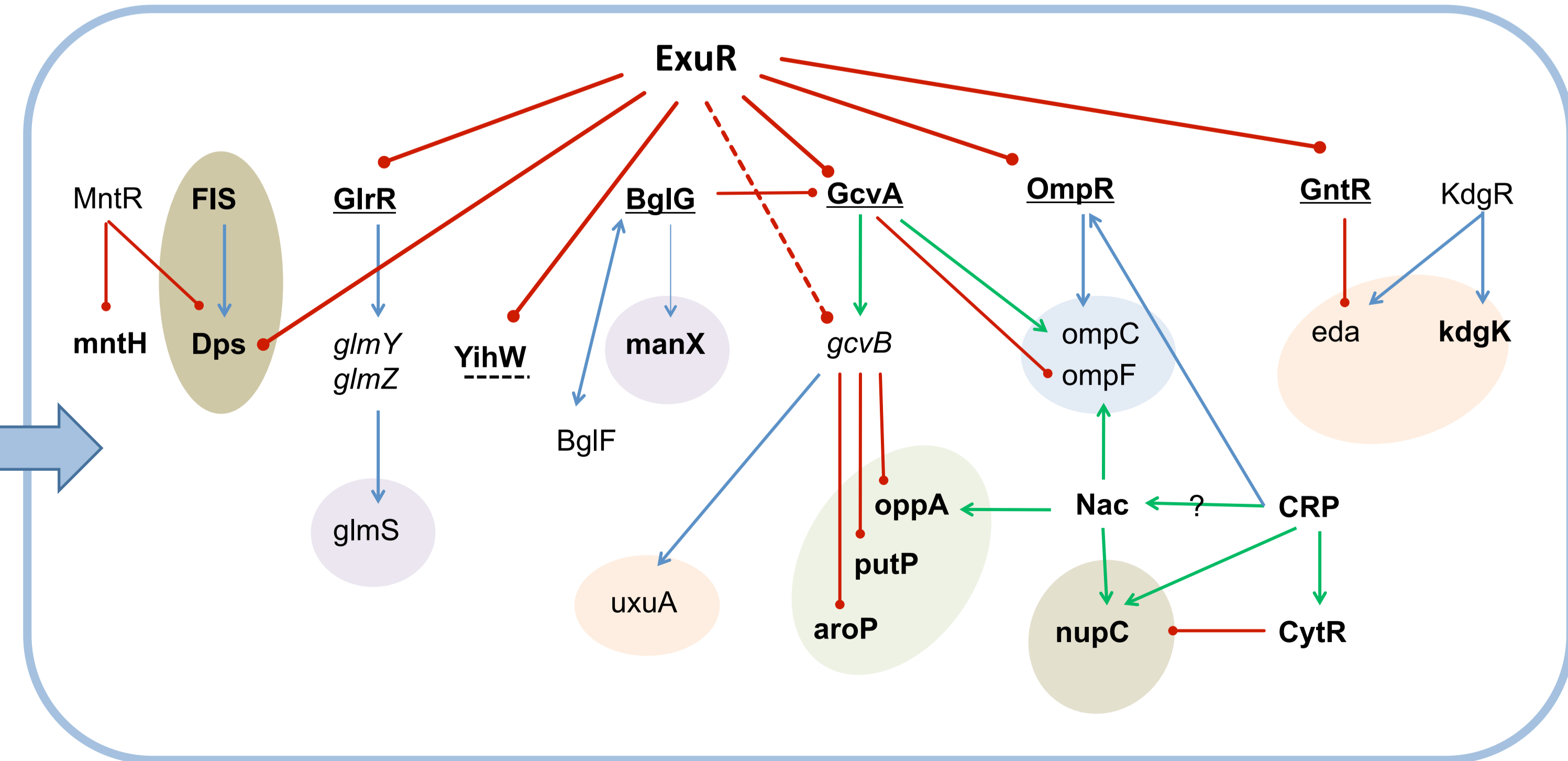
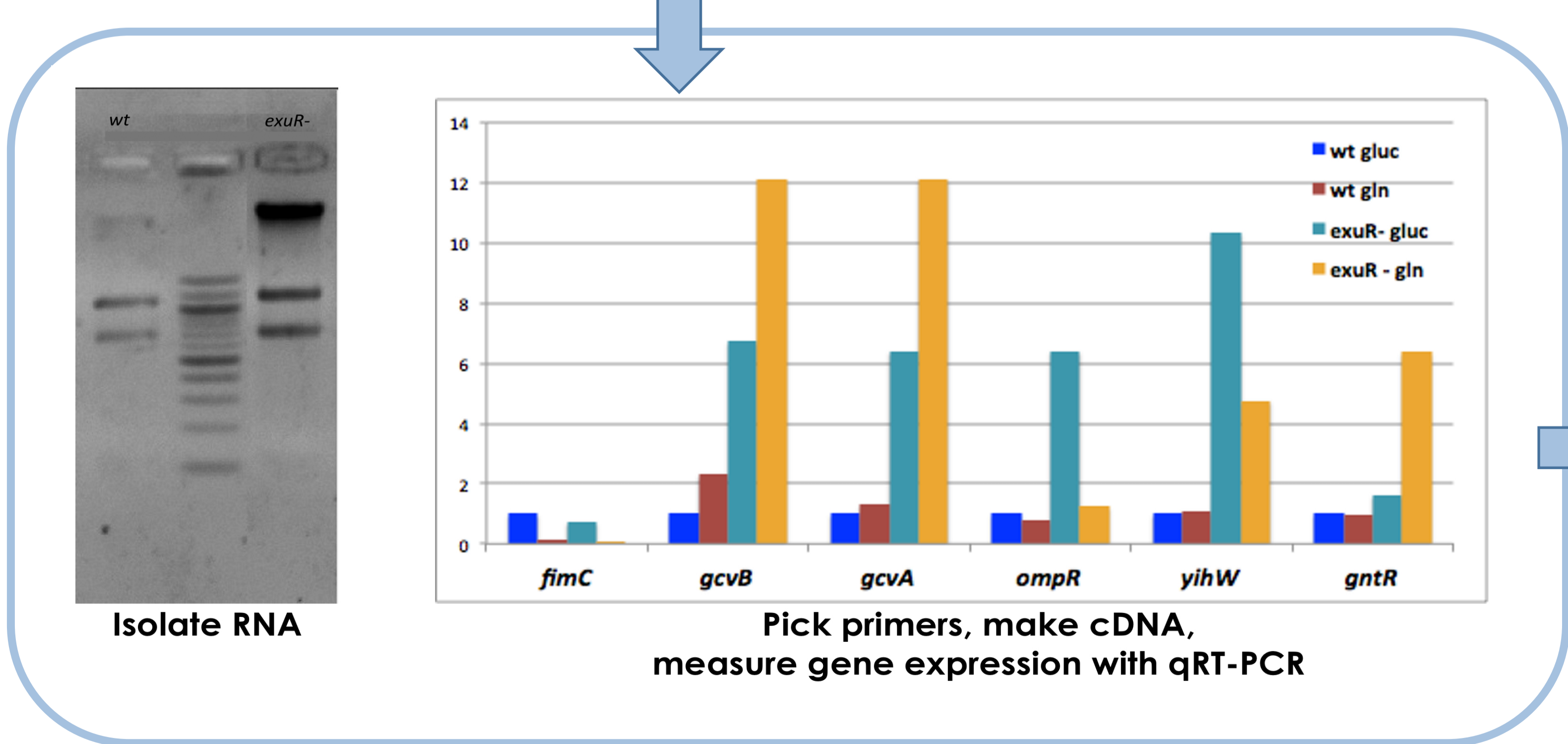
У нас получилось, что консервативные плечи палиндромного сайта связывания ExuR изменили свое расположение друг относительно друга. Мы предполагаем, что это связано с перестройкой конформации димера белка, что встречается в семействе GntR. Для дальнейшего уточнения мотива связывания мы повторили эксперимент ChIP и подготовили ДНК для секвенирования.



Conserved boxes of the palindromic ExuR binding site are flipped. We suggest that it could be due to changes in conformation of the ExuR dimer that may occur among the GntR family of transcriptional regulators. To reveal the motif more precisely, we repeated the ChIP experiment and prepared the DNA for sequencing.

Основываясь на высоте пика (эффективности связывания ExuR), консервативности сайтов и функциональной значимости кодируемого белка, мы выбрали несколько потенциальных генов-мишеней для экспериментального анализа зависимости их экспрессии от наличия ExuR в клетке.

Based on peak intensity (efficiency of ExuR binding), site conservation and functionality of protein, coding by the gene of interest, we selected several potential targets to test their expression dynamics in response to the *exuR* deletion.



По данным qRT-PCR, ExuR действительно контролирует экспрессию всех, кроме *fimC*, отобранных генов-мишеней, являясь их репрессором. Поскольку они кодируют регуляторные белки, то ExuR может влиять и на их регулоны.

According to the qRT-PCR data, ExuR, indeed, controls expression of all selected genes, but *fimC*, acting as a repressor. All these genes code for another transcription factors. Thus, ExuR may be also involved in control of their regulons.