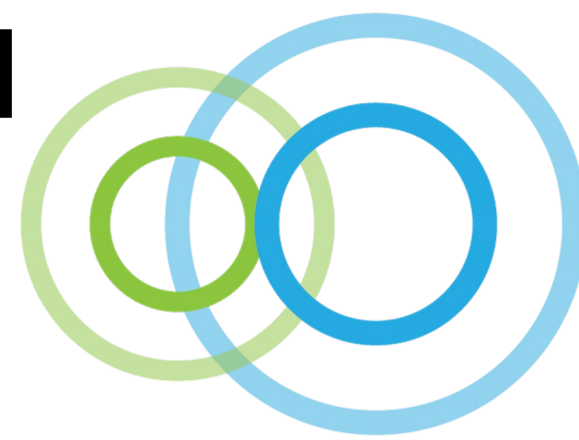




# Многофункциональные сладкоежки Multifunctional sweet-teeth



SMTB  
hhmi  
Howard Hughes  
Medical Institute

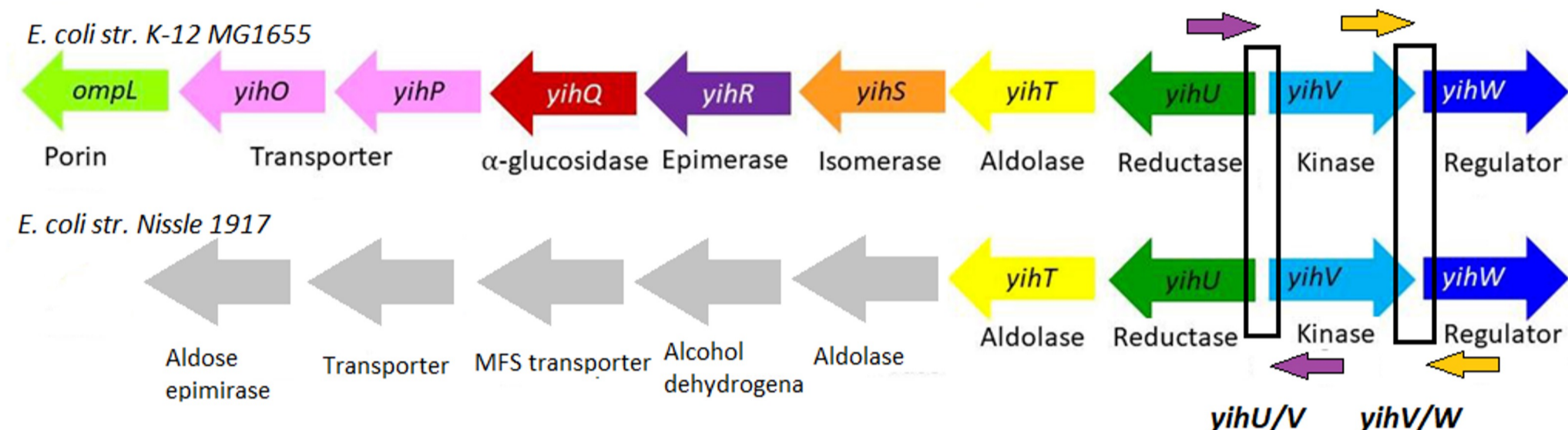


Лаборатория молекулярной и вычислительной микробиологии  
Lab of Molecular and Computational Microbiology

## Введение/Abstract

Метаболизм углеводов у бактерий очень разнообразен. Известно, что кассета *yih*-генов у *Escherichia coli* многофункциональна - она участвует в метаболизме как лактозы, так и сульфоквиновозы. При этом у разных штаммов эта кассета различается по составу генов. Например, *E. coli* K-12 MG1655 (лабораторный штамм) имеет длинный ее вариант, а *E. coli* Nissle 1917 (единственный пробиотический штамм *E. coli*) - более короткий.

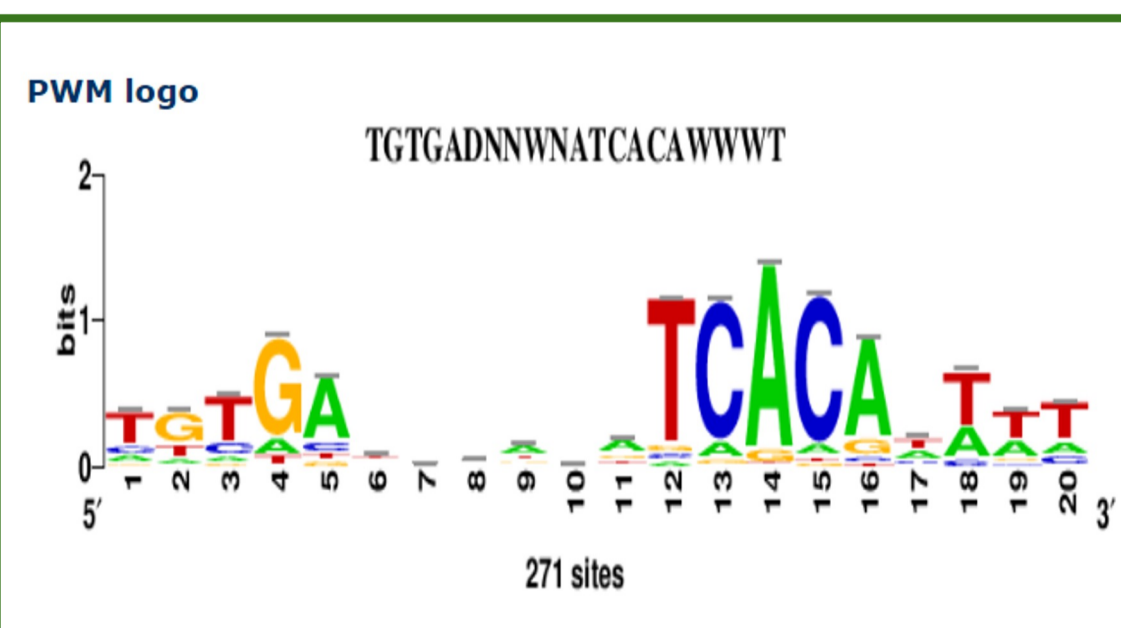
Carbohydrate metabolism in bacteria is very diverse. It is known that the *yih*-gene cassette in *Escherichia coli* is multifunctional: it is involved in the metabolism of both lactose and sulfoquinovose. At the same time, composition of genes in this cassette differs in different *E. coli* strains. For example, *E. coli* K-12 MG1655 (laboratory strain) has a long variant, while *E. coli* Nissle 1917 (the only probiotic strain of *E. coli*) has a short variant.



Мы изучали транскрипционные факторы CRP и YihW: как они регулируют работу двух вариантов кассеты, как их связывание с межгенными областями *yihU/V* и *yihV/W* зависит от присутствия в среде глюкозы, лактозы, галактозы и сульфоквиновозы. С помощью методов сравнительной геномики мы искали наиболее вероятные сайты связывания в двух межгенных участках, общих у обоих вариантов кассет. / We studied the CRP and YihW transcription factors: how they regulate the two variants of the cassette, and how their binding to the predicted DNA targets (*yihU/V* and *yihV/W* intergenic regions) depends on the presence of glucose, lactose, galactose, and sulfoquinovose. Using the methods of comparative genomics, we searched for the most prominent sites of their binding in these two intergenic regions in both cassette variants.

## Результаты/Results

Выравнивание межгенов *yihV/W* и *yihU/V* штаммов Nissle 1917 и K-12 MG1655 и множественные выравнивания этих же межгенов с родственными организмами. Предполагаемые сайты связывания CRP с ДНК, найденные с помощью Virtual Footprint, отмечены синим и зеленым. Наиболее консервативные выделены зеленым, менее консервативные - синим. / The alignment of intergenic loci *yihV/W* and *yihU/V* in Nissle 1917 and K-12 MG1655, along with multiple alignments of these intergenic loci with closely related organisms. Predicted binding sites of CRP with DNA were discovered using the Virtual footprint method. The most conservative sites, highlighted in green, are the best candidates to bind CRP.

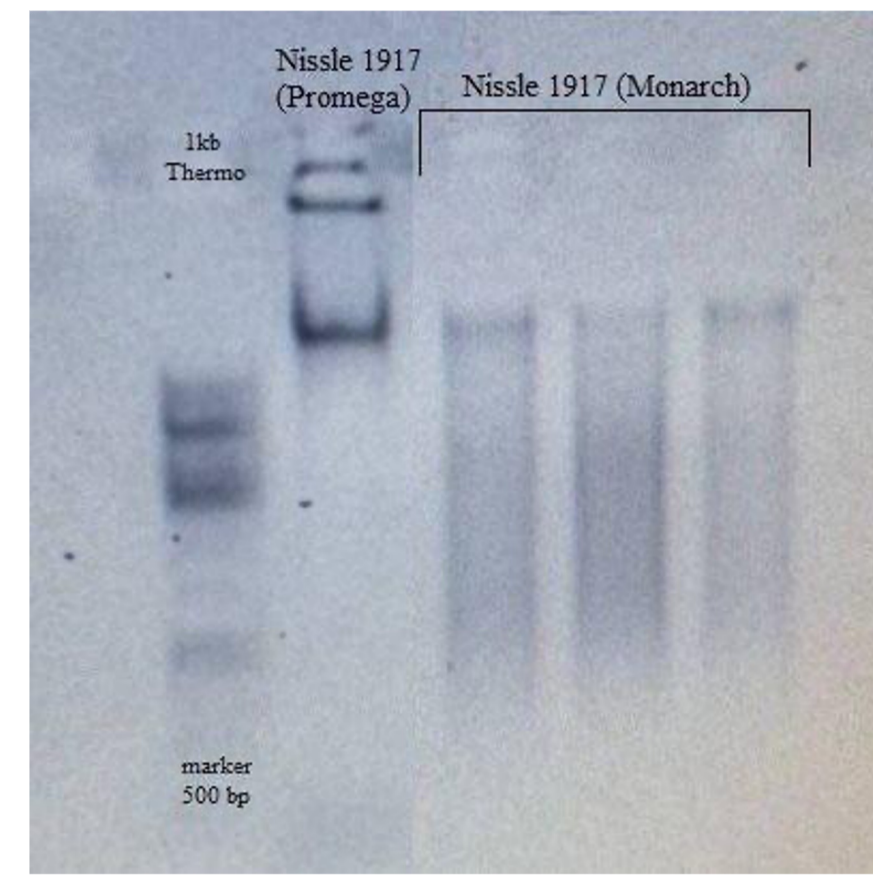


Консервативный сайт связывания белка CRP, (RegulonDB) / Conservative binding site for CRP (from RegulonDB)

## Методы/Methods

Bioinformatics tools and Databases: Sequence search: GeneBank, MicrobesOnline Molecular biology methods: Agarose and Polyacrylamide (PAAG) gels electrophoresis Multiple sequence alignment: BLAST, T-coffee Genomic DNA extraction DNA extraction from agarose gel, NanoDrop spectrometry Binding site search: RegulonDB, Virtual Footprint Polymerase Chain Reaction (PCR) Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA)

## Выделение ДНК/DNA extraction

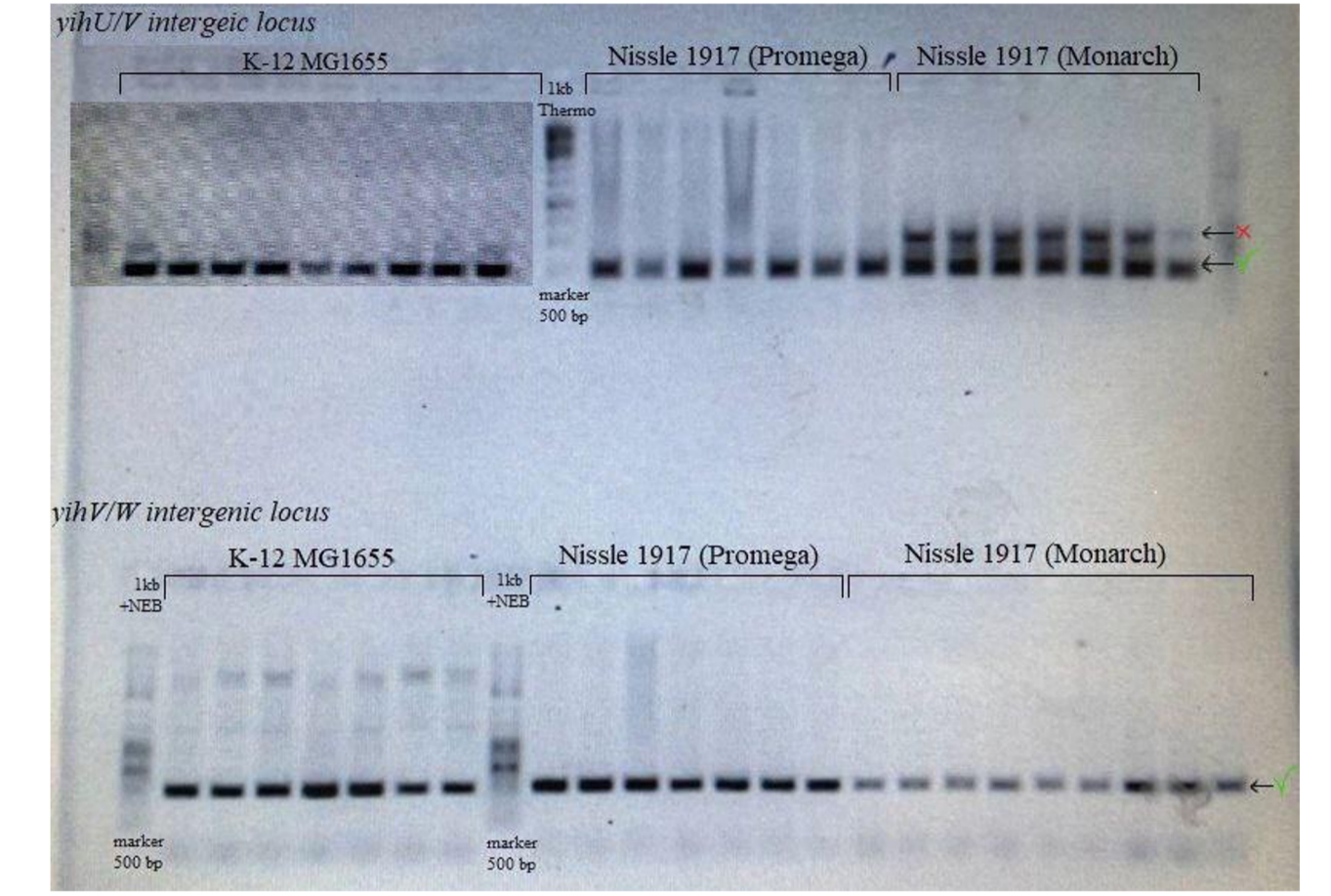


Набор Promega больше подходит для данных культур, чем набор Monarch / The Promega kit is better for DNA isolation from these cultures than the Monarch kit

Измерение концентрации ДНК с помощью спектрофотометра 'NanoDrop' / Measuring DNA concentration with 'Nanodrop'

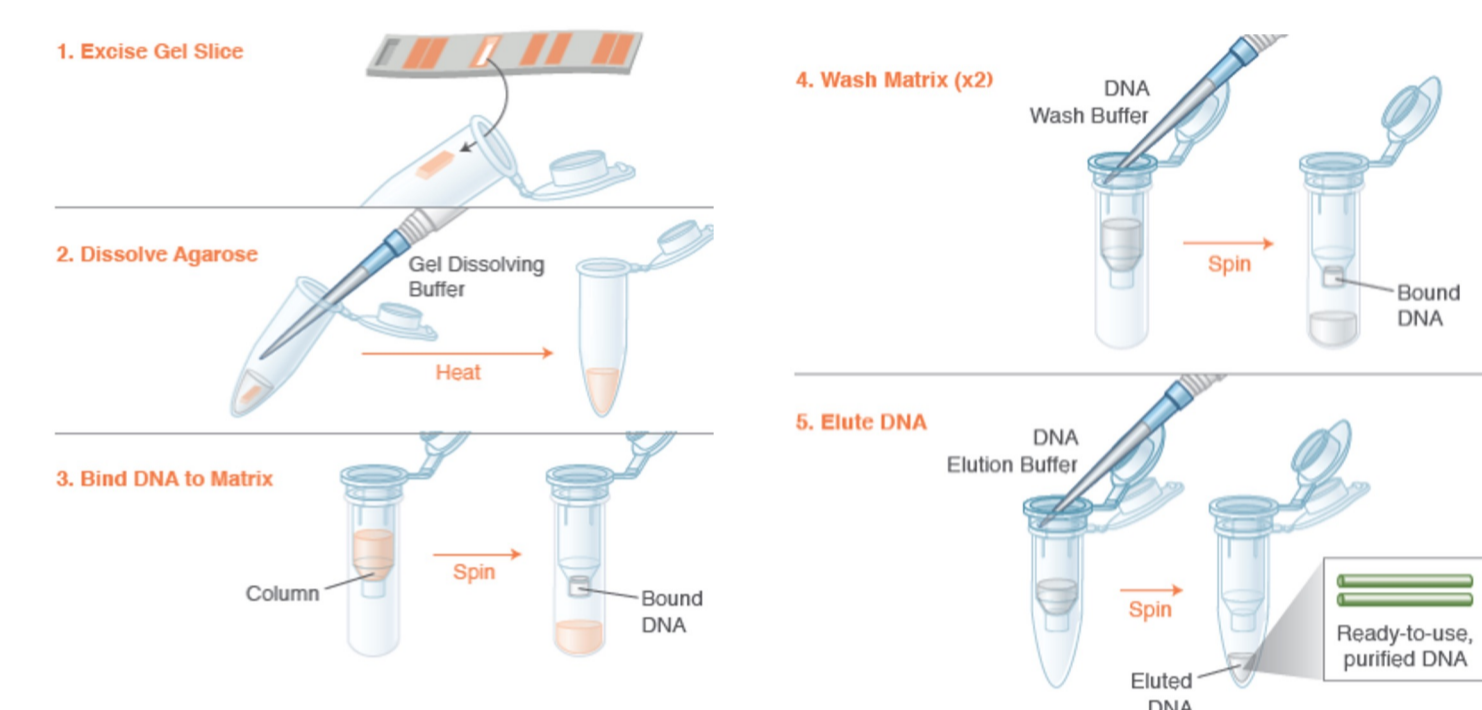


## Амплификация фрагментов ДНК / Amplification of DNA fragments

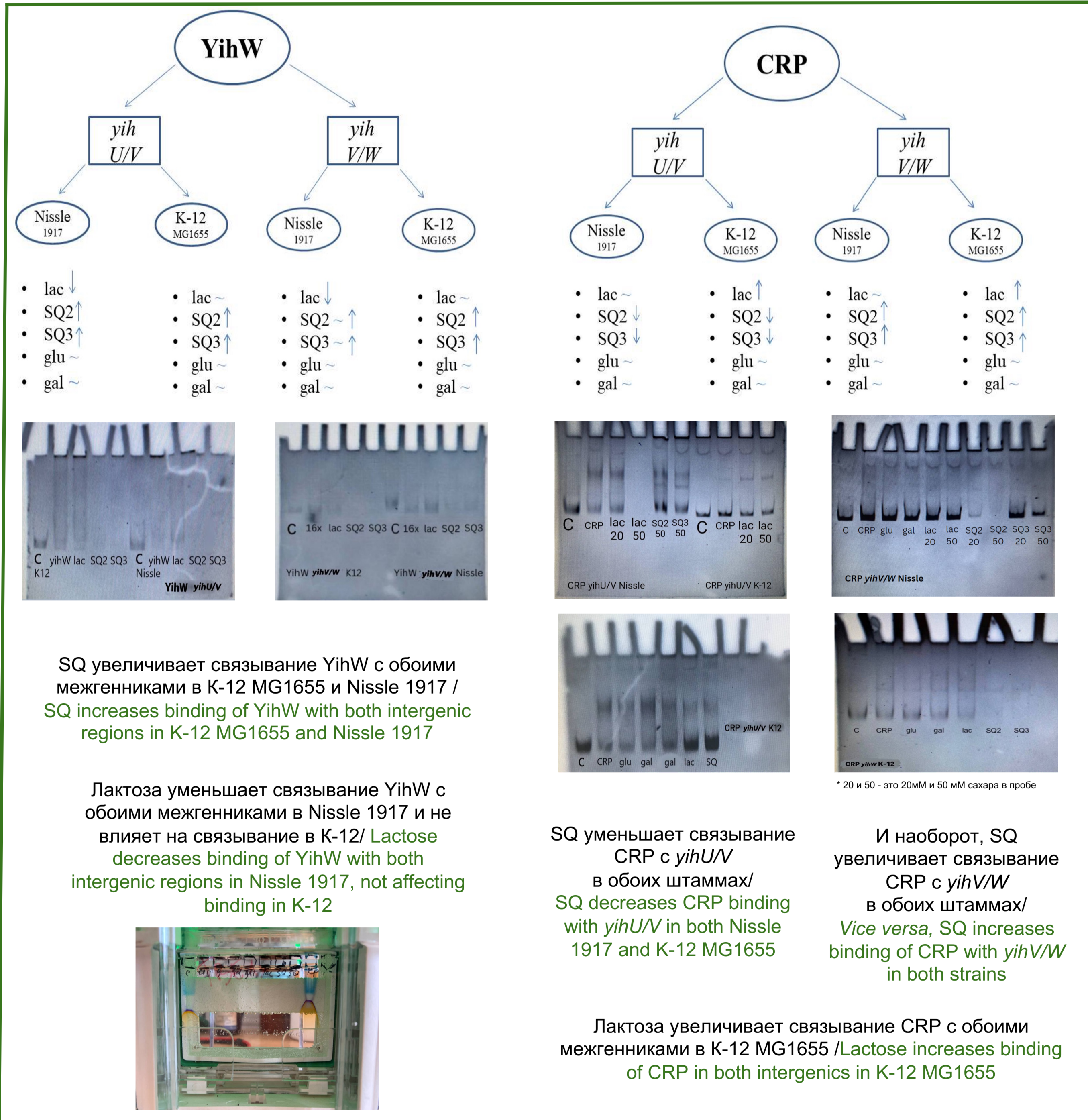


Галочкой показан правильный фрагмент, красным крестиком - неправильный / Correct DNA fragment is shown by an arrow, non-specific - by the red cross

## Выделение ДНК из геля / Extraction of DNA from gel (Monarch Gel extraction kit)



## Результаты электрофореза с задержкой в геле / Results of EMSA



## Выводы/Conclusions

- Транскрипционные факторы YihW и CRP оба участвуют в регуляции транскрипции генов *yih*-кассеты -, как в длинном, так и в коротком варианте.
- Лактоза и сульфоглюкоза влияют на связывание этих белков с межгенными участками *yih*-кассеты, причем по-разному.
- Межгенные участки *yihV/W* и *yihU/V* штаммов *E. coli* K-12 MG1655 и Nissle 1917 довольно существенно отличаются (*yihV/W* более сходны, чем *yihU/V*). При этом они обладают высокой мерой консервативности среди штаммов только с длинной кассетой или только с короткой.
- Один из предсказанных сайтов CRP обладает высокой консервативностью как у штаммов у *E. coli*, так и у близкородственных видов.
- YihW and CRP transcription factors participate in transcriptional regulation of genes of *yih*-cassette - in both its long and short variants,
- Lactose and sulfoquinovose affect the binding of these proteins with the *yih*-cassette intergenic regions, and the modes of their effects are different.
- The *yihV/W* and *yihU/V* intergenic regions in *E. coli* K-12 MG1655 and Nissle 1917 are quite different (*yihV/W* are more similar than *yihU/V*). At that, they are highly conservative between strains with long or short cassettes only.
- One of the predicted CRP binding sites is conservative in the *E. coli* strains and their close relatives.