

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРОИДОВ У
NOCARDIOIDES SIMPLEX VKM AC-2033Д ПРИ ИНДУКЦИИ АЦЕТАТОМ КОРТИЗОНА**

В.В. Фокина¹, Е.Ю. Брагин¹, В.Ю. Штратникова², М.В. Донова¹

¹ ООО Фарминс, г. Пушино, Россия

² МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Актинобактерии *Nocardioide simplex* VKM Ac-2033Д способны осуществлять 1-дегидрирование 3-кетостероидов с высокой эффективностью, что определяет практическое применение штамма в качестве промышленного биокатализатора для получения фармацевтически ценных 1(2)-дегидрокортикостероидов. Штамм конвертирует различные стероиды и холаты, а также проводит другие реакции трансформации стероидов (гидролиз стероидных эфиров, окисление / восстановление гидроксильных групп, и др.). Для генной инженерии штамма и улучшения его биокаталитических свойств необходима идентификация ключевых генов, вовлеченных в катаболизм стероидов.

Ранее нами секвенирован и собран полный геном штамма, определены гены, предположительно вовлеченные в метаболизм стероидов, их организация и возможная регуляция [1]. В данной работе проводили исследование дифференциальной экспрессии генов в условиях индукции ацетатом кортизона. Ацетат кортизона является известным индуктором бактериальных 3-кетостероид- Δ^1 -дегидрогеназ.

Штамм *N. simplex* выращивали в присутствии ацетата кортизона и без него (контроль). Очищенные препараты мРНК получали известными методами, высокопроизводительное секвенирование осуществляли на HiSeq 2000 (Illumina). В присутствии ацетата кортизона увеличивалась экспрессия 82 генов, в том числе – 3 ортологов известных генов стероидного катаболизма из кластера, не имеющего сайтов связывания с транскрипционными регуляторами KstR и KstR2; значимого повышения уровня экспрессии генов, участвующих в катаболизме стероидов, в ответ на ацетат кортизона не наблюдалось. Выраженной кластеризации генов также не выявлено: усиливающие экспрессию опероны равномерно распределены по геному. Ряд генов, увеличивших экспрессию в ответ на ацетат кортизона, можно объединить в 4 кластера: F KR76_RS09390 – KR76_RS09460; G KR76_RS16215 – KR76_RS16555; H KR76_RS24345 – KR76_RS24405; I KR76_RS24685 – KR76_RS24800. Повысившие экспрессию в ответ на ацетат кортизона гены кодируют различные транспортные белки, ферменты метаболизма аминокислот и органических кислот, цитохромы, транскрипционные регуляторы, альдегид-дегидрогеназы, металл-содержащие ферменты, ферменты синтеза молибдоптерина. Из пяти генов 3-кетостероид- Δ^1 -дегидрогеназ значимо увеличивал экспрессию на ацетате кортизона один ген (KR76_RS27125), кодирующий 3-кетостероид- Δ^1 -дегидрогеназу KstD2, усиление экспрессии составило 1207 раз.

Полученные результаты согласуются с высоким уровнем 3-кетостероид- Δ^1 -дегидрогеназной активности штамма.

Результаты расширяют представления об особенностях генетического контроля катаболизма стероидов у актинобактерий и могут быть использованы при создании штаммов – продуцентов важных стероидов с улучшенными биокаталитическими возможностями.

Данная работа выполнена в рамках международного проекта ЭРА КоБиоТех: Синтетическая биология для промышленного производства стероидов (акроним Syntheroids) при исключительной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (уникальный идентификатор проекта RFMEFI58818X0008).

ЛИТЕРАТУРА

[1]. Shtratnikova V.Y., Schelkunov M.I., Fokina V.V., Pekov Y.A., Ivashina T., Donova M.V., Genome-wide bioinformatics analysis of steroid metabolism-associated genes in *Nocardioide simplex* VKM Ac-2033D. // 2016, Curr. Genet., V.62(3), P.643–656. DOI 10.1007/s00294-016-0568-4