

ЛОКАЛИЗАЦИЯ АРГ-Х ПРОТЕАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЗОН В БЛОКАХ «КИСЛЫХ» И «ГРАДИЕНТА ОСНОВНЫХ БЕЛКОВ» СУПРАСТРУКТУР ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА *E. COLI*

В настоящее время вопросы механизмов реализации биохимии генетической клеточной информации переходят в разряд рассмотрения супрамолекулярной химии, то есть «химии запрограммированных, несущих информацию, молекул». Как известно, прокариотический нуклеоид это центр управления развитием клетки. Именно во власти центра управления сосредоточены запрограммированные супрамолекулярные системы ответственные за молекулярный и супрамолекулярный онто- и морфогенез жизнедеятельности клеток и их популяции. Одной из древних и быстро реагирующей на воздействия окружающей среды является система протео-процессинга. В этой связи, наш интерес был сфокусирован на зоны локализации аргинина. По некоторым данным, только эта аминокислота обладает способностью узнавать любой гуанин и тимин и непосредственно связываться с ДНК. Эти данные необходимы для системного анализа генных сетей при регуляции сложных биопроцессов.

Удобной моделью-образцом для этой цели было представление клетки в виде гетерополимерной: бактериоплазмы, непрочно и прочносвязанной с клеточным остатком (КО), и собственно КО; супраструктурной организации, где самым длинным и гибким полимером является ДНК, на которой нуклеоидная протеомика реализует подпрограммы развития при участии Арг-Х процессинга.

Выявлено соотношение «кислых» и «градиента основных белков», выделены из них трипсиноподобные протеиназы, а также указаны зоны локализации Арг-Х процессинга в супрагетерополимерной организации, пространственно-временных фаз роста популяции клеток жизненного цикла *E. coli*.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, супраструктуры, аргинин, протеолиз.

В настоящее время накопилось достаточно данных, позволяющих утверждать, что нуклеоидные белки играют роль как в регуляции активности отдельных генов, так и других процессов, связанных с ДНК [1]. У бактерий транскрипция и трансляция тесно сопряжены во времени и пространстве, но механизм такого сопряжения до последнего времени не был известен. Лишь совсем недавно получены прямые свидетельства, что эти два процесса связаны физически [2].

Впечатляющий прогресс в молекулярной биологии в течение последних лет не должен заслонять тот факт, что к проблеме структурной устойчивости пространственной структуры живых существ, которую с полным основанием можно рассматривать как важнейшую проблему биологии, только начинают подступаться [1], [3], [4].

Особенности механизма динамики процессинга протеома, в частности в связи с реализацией фаз онтогенетической программы развития на уровне нуклеоида, находятся в центре внимания исследователей. Как известно, уникальность клеточной организации составляет целостность формы хранения онтогенетиче-

ской информации, способной к авторегуляции и регламентированию генетической активности составляющих её элементов. По аналогии с эукариотическими гистонами у прокариот выделена группа так называемых гистоноподобных белков. Это основные, ассоциированные с ДНК белки, которые характеризуются невысокой молекулярной массой (16–20 кДа) с относительно высоким содержанием в клетке [5]. В настоящее время накопилось достаточно данных, позволяющих утверждать, что белки этого семейства играют роль, как в регуляции активности отдельных генов, так и других процессов, связанных с рекомбинацией и репликацией ДНК.

Важную роль, как для сохранения целостности структуры, так и для функционирования генома бактерий играет прикрепление нуклеоида к цитоплазматической мембране. За последнее время многочисленные исследования посвящены анализу изучения динамики пространственной организации генома, поскольку очевидно, что она тесно связана с его функционированием. О том, что пространственный аспект биохимических реакций находится полностью вне поля зрения биохимиков в своё время указывал Рене

Тома [6]. Вопросы самоорганизации биологических систем также, находятся в центре внимания специалистов по высокомолекулярным соединениям, а именно биополимерам. В 2010 г. появился термин «умные полимеры» [7]. По терминологии Хохлова [7], самые умные из них те, которые создала путём механизмов самоорганизации молекулярная эволюция живых систем. Что значит «умные полимеры?». Это значит, что в одних условиях окружающей среды они выполняют одну функцию, а в других условиях – другую [7]. Самая длинная из биополимерных структур – ДНК, которая имеет «цепное» строение с гибкой структурой [7]. Бактериальную хромосому можно считать, несколько условно, «размотанным до нитки нуклеоидом» [8], представляющим собой гетерополимер, в котором взаимодействуют различные полимерные молекулы: ДНК, РНК, белки и полисахариды. Как известно, взаимодействующие в клетке молекулы иммобилизованы на биополимерных структурах. То есть, они входят в определенные надмолекулярные комплексы, где уже интегрированы взаимодействия многих макромолекул. Таким образом, вопросы биохимии переходят в ряд рассмотрения супрамолекулярной химии, то есть «химии запрограммированных несущих информацию молекул» [9]. С этой позиции мы специально сфокусировали своё внимание на выявлении *Arg-X* протеазочувствительных сайтов, исходя из роли аргинина, участвующего в эволюционной стабильности гистона H4, как у растений, так и у животных.

Как известно, протеом генетических структур про- и эукариот обогащен белками, богатыми аргинином. Аргининбогатые гистоны по аминокислотной последовательности эволюционно стабильные белки, что свидетельствует об их важной роли в сохранении и реализации генетической информации. Известно, что аргинин в составе белков активно участвует в процессах структурирующих упаковку ДНК, особенно при модификации гуанидиновой группы. Сжатие или растяжение нуклеопротеидных супраструктур нуклеоида способно экранировать гидрофобные или гидрофильные поверхности белка для межмолекулярных взаимодействий и тем самым влиять на плотность упаковки ДНК и ее транскрипционную активность.

Удобной моделью для анализа динамики Арг-Х протеолитического процессинга в над-

молекулярных структурах клетки является жизненный цикл популяции *E. coli*. Жизненный цикл бактерий включает периоды активного роста клеток, чередующиеся с периодами замедления и прекращения роста. Изучение особенностей биохимических процессов, происходящих на уровне генетических структур нуклеопротеида в разных фазах роста периодической культуры бактерий, позволяет раскрывать регуляторные пути у микроорганизмов, что дает потенциальную возможность для управления бактериальными сообществами.

Предполагают, что протеолитический процессинг является одним из способов необратимой посттрансляционной модификации, осуществляемой в процессе ремоделирования хроматина [10]. Кроме того, одним из важных свойств протеолитической системы является и то, что это форма биологического контроля, которая дает быстрый физиологический ответ на изменяющиеся условия внешней среды. Длинные боковые гуанидиновые группы аргинина, по-видимому, выполняют роль восприятия как внутренних, так и внешних сигнальных систем, поступающих из окружающей среды. Считают, что наиболее чувствительны к протеолизу N-терминальные/C-терминальные хвосты гистонов, в то время как глобулярные домены относительно устойчивы к этой модификации, при условии, что гистоны находятся в составе хроматиновой матрицы [10].

Целью данной работы было выявление локализации *Arg-X* процессинга в «кислых» и основных белках надмолекулярных структур популяции клеток жизненного цикла *E. coli*.

Материалы и методы

Для характеристики динамики протеазо-процессинга в пространственно-временной реорганизации надмолекулярных - гетерополимерных супраструктур, мы использовали жизненные фазы – циклы *Escherichia coli*, подробный анализ которых представлен в работе [15]. В нашей работе использовался штамм *E. coli* JC-158 (Hfr PO1, thi1, serA6, lacI22, relA1), любезно предоставленный нашими коллегами Ступак И.В. и Ступак Е.Э.

Клетки трижды пересеивались и культивировались в жидкой среде LB (Лурия-Бертани) при 370С 160 об/мин на установке (УВМТ-12-250, Россия) в течение 16 часов. Для эксперимента

были взяты клетки находящиеся в экспоненциальной фазе роста. Инокулят высевался в свежую жидкую среду LB и культивировался в течение 7ч 10 мин (430 мин) до стационарной фазы включительно. Первая проба была взята через 50 мин, затем каждые 20 мин отбирались клетки, осаждались центрифугированием, надосадочная жидкость удалялась, клетки промывались трис-буфером (0,01М трис-НСl буфер, рН 6,8), фиксировались в гицериновом буфере (80-90% стерильный глицерин на 0,01М трис-НСl буфере, рН 6,8, с добавлением 0,005 М MgCl₂; 0,025 М KCl; 0,003 М CaCl₂; 0,005 М NaCl) и хранились при минус 250С. Далее зафиксированные бактериальные клетки размораживали в водяной бане при комнатной температуре (200С). Клетки промывали 3% тритоном X-100 в среде следующего состава: 0,02 М триэтиламин (ТЭА) НСl, рН 6,8; 0,005 М MgCl₂; 0,025 М KCl; 0,003 М CaCl₂; 0,005 М NaCl, рН 6,8; встряхивали в течение 30 мин на микрешейкере (Micro-shaker type 326 m, Польша), с последующим центрифугированием при 4000 об/мин (К-23, ГДР) в течение 20 мин для снятия клеточной оболочки, после чего осадок дважды промывали в среде следующего состава: 0,005 М MgCl₂; 0,025 М KCl; 0,003 М CaCl₂; 0,005 М NaCl; 0,01 М трис-НСl, рН 6,8, с последующим центрифугированием при вышеуказанных условиях. Концентрация ниже 3% тритона X-100 не снимали оболочки клеток *E. coli*.

Протеом *E. coli* фракционировали на основе разрыва слабых и сильных взаимодействий надмолекулярных структур с использованием ступенчатого повышения солевого градиента: 0,14 М NaCl; 0,35 М NaCl; 2 М NaCl; 13% гуанидин гидрохлорида с 0,004% β-меркаптоэтанолом на 0,01 М трис-НСl буфере при рН 6,8 [11]. Экстракции белков с помощью повышения ионной силы солевых градиентов, приводящих к ослаблению электростатического взаимодействия между белками и адсорбентом, это обычные методы белковой химии для эукариот. Обычно фракция, выходящая при низкой ионной силе 0,14 М NaCl известна в биохимии клеточного ядра под названием: ядерный сок, нуклеоплазма или глобулиновая фракция, лабильный хроматин; остальные фракции известны как соответственно непрочно (0,35 М NaCl), прочносвязанные (2 М NaCl) с ядерным матриксом и собственно ядерный матрикс (6 М гуанидин гидрохлорида с

0,004% β-меркаптоэтанолом). По аналогии белковые фракции, выделенные из протеома *E. coli*, можно представить соответственно как: клеточный сок (цитоплазма или бактериоплазма – БП), белки непрочно (НС) и прочносвязанные (ПС) с клеточным остатком и собственно клеточный остаток (КО) с жесткой клеточной оболочкой. У растений ядерный матрикс экстрагируется 40% гуанидин гидрохлоридом), у *E. coli* весь КО растворяется в 13% Gu HCl [12].

Для выхода субфракций надмолекулярных структур *E. coli* использовалось встряхивание проб на Micro-shaker (type 326m; Warszawy) в течение 2–3 ч при ±4 °С. Фракции хранили в жидком азоте. Количество белка в надмолекулярных структурах определяли методом Бредфорд в нашей модификации. Содержание гексоз оценивали по методу [13]. Выделение трипсиноподобных протеиназ проводили методом аффинной хроматографии соответственно на одной колонке с иммобилизованным ингибитором трипсина [11]. Не задержавшиеся на колонках субфракции надмолекулярных, вышеперечисленных супраструктур объединили, сконцентрировали и нанесли на ионообменную колонку ИРЦ-50 с целью отделения «кислой» белковой фракции 6% Gu HCl от «градиентного блока основных белков»: 8,9%, 10,6%, 13% Gu HCl [12]. *Arg-X* активность оценивали по расщеплению *Arg-X* связей в аргининбогатом белке – протамине («Merk») во всех вышеперечисленных супраструктурах [12], [14]. Протамин – *Salmine-A-I*, молекула которого состоит из 33 аминокислот: 22-х молекул Арг; 4-х молекул Сер; 3-х молекул Про; по 2 молекулы Гли и Вал. Активность выражали в нмоль аргинина·с⁻¹·мкг белка. Числа и точки на графиках представляют среднеарифметическое трех-пяти химических и двух-трех биологических повторов.

Результаты и их обсуждение

Для характеристики динамики протеазо-процессинга в пространственно-временной реорганизации надмолекулярных гетерополимерных супраструктур, регулируемых по базовым регуляторным механизмам, мы в своей работе использовали жизненные фазы – циклы *Escherichia coli*, подробный анализ которых представлен в работе [15].

На рисунке 1 представлена типичная кривая роста клеток, построенная по принципу их

физиологического состояния в периодической культуре *Escherichia coli*. На основании предложенной И.А. Хмель [15], классификации физиологического состояния клеток в растущей популяции, выделены фазы. Для эксперимента инокулят был взят в экспоненциальной фазе роста при одинаковом составе сред, поэтому первоначальная лаг-фаза или фаза «задержки роста» до 50 мин на данном рисунке не представлена.

После очистки, методом аффинной хроматографии, супраструктур (рис. 2) растущей популяции клеток периодической культуры от супраструктурно-связанных трипсиноподобных протеиназ и их ингибиторов, мы из всех выше перечисленных супраструктур (рис. 2) отделили «кислые» белки от основных белков (рис. 3) с помощью метода ионообменной хроматографии на колонках с амберлитом ИРЦ-50, имеющей кислые свойства.

Фракция 6% гуанидин гидрохлорида (GuHCl) характеризуется тем, что эти белки, имеющие кислые свойства, не задерживаются на колонках ИРЦ-50. Мы эту фракцию белков назвали «кислые белки». Последующие задержавшиеся на колонке другие белковые блоки, выделенные с помощью повышения ионообменной силы ступенчатого градиента, характеризуются следующими особенностями связи с амберлитом ИРЦ-50: 10,6% > 8,9%; 13% > 10,6%. Эти дан-

ные свидетельствуют о том, что в супраструктурах растущей популяции клеток *E. coli* имеются, как «кислые» белки, так и градиент основных белков, которые характеризуются различной силой связи с амберлитом ИРЦ-50, в зависимости от основности белковых молекул.

Данные рисунка 3 также показывают, что происходит медленное снижение в содержании всех «кислых» и основных белков в зависимости от фазы роста растущей популяции клеток периодической культуры *E. coli*.

На рисунке 4 представлена локализация Арг-Х протеолитической активности в трипсиноподобных протеиназах, выделенных целенаправленно методом аффинной хроматографии из «кислых» и градиента основных блоков белков (после ионной хроматографии ИРЦ-50) в фазах роста клеток периодической культуры *E. coli*.

Протеолитический процессинг, происходящий в геномных структурах клетки, четко отражает одну из особенностей динамической организации живой системы. Следует отметить, что протеолитическая система это сложная, высокоупорядоченная система со своей строго закономерной спецификой, где первоначальное расщепление белка несет в себе определенную специфичность. Ограниченный регуляторный протеолиз можно связать не только с конформационным процессингом внутриклеточной топо-

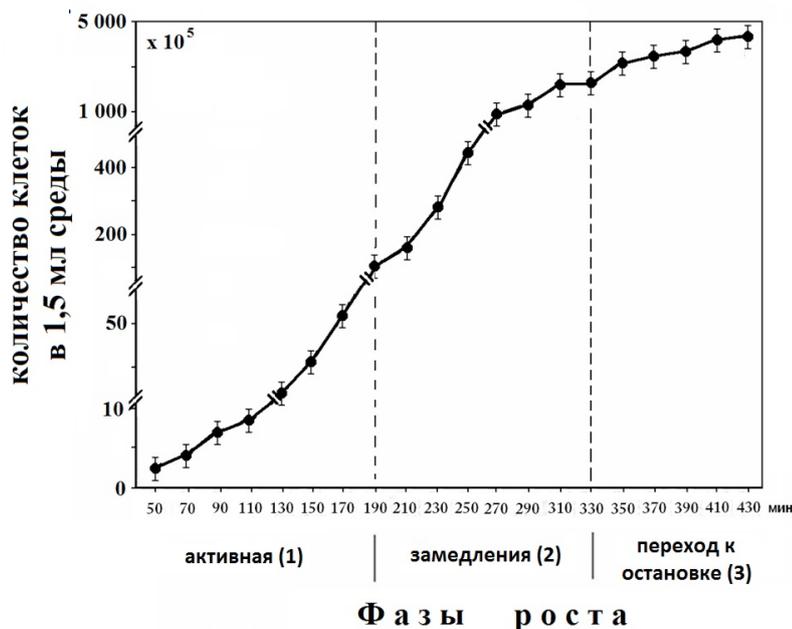


Рисунок 1 – Кривая роста популяции клеток периодической культуры *Escherichia coli*. (1, 2, 3 – условное обозначение фаз роста)

логической архитектуры, но и с образованием активных пептидов на определенных этапах онтогенеза клетки. Мы выделили протеиназы из надмолекулярных гетерополимерных супраструктур, в которых помимо ДНК, РНК, про-

теома имеются и гексозные компоненты [13]. Понимание механизмов регуляции экспрессии соответствующих генов чрезвычайно важно для биотехнологии. Молекулярные механизмы, контролирующие «молчание» генов в экспоненци-

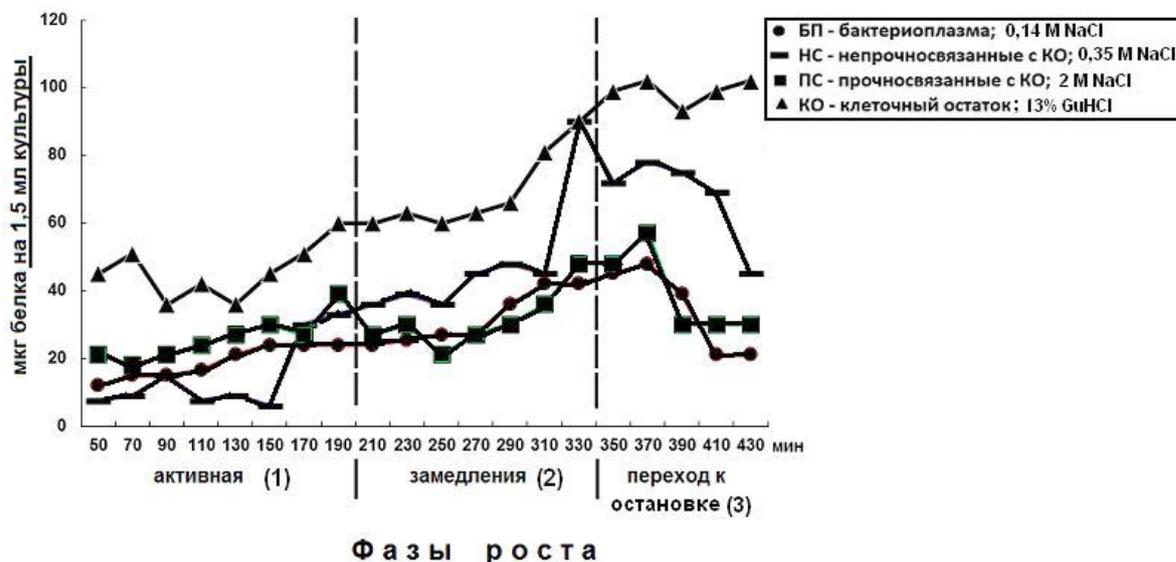
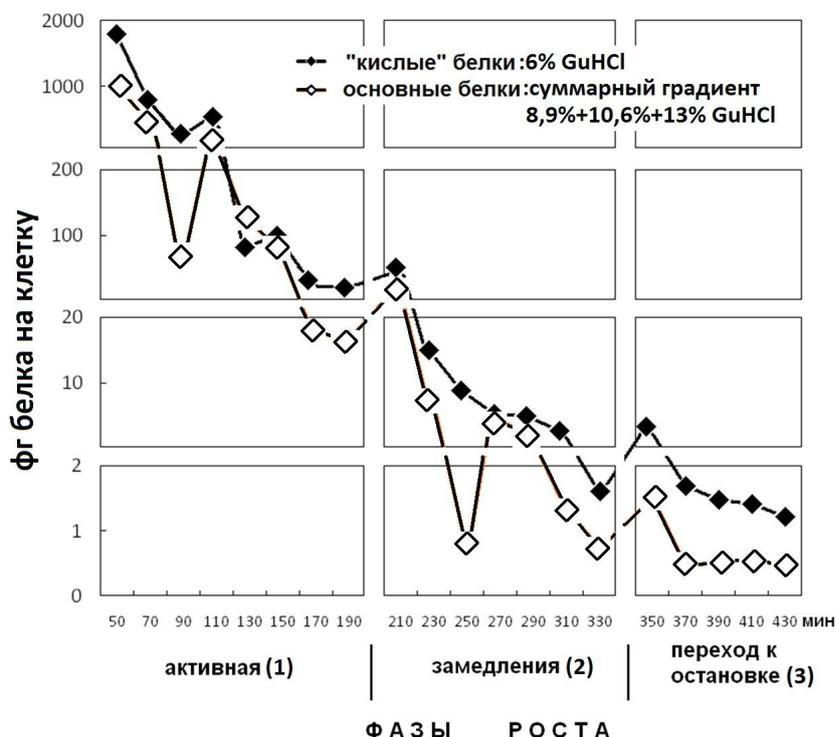


Рисунок 2 – Содержание белка в отдельных надмолекулярных супраструктурах, выделенных ступенчато из растущей популяции клеток периодической культуры *E. coli* с помощью увеличения ионной силы раствора в расчете на объем культуральной жидкости (1,5 мл). (1, 2, 3 – условное обозначение фаз роста)



альной фазе, в период активного роста клеток, и индукцию их экспрессии при замедлении и прекращении роста бактерий (рис. 1–4), остаются недостаточно понятыми, хотя их изучению уделяется большое внимание [16].

В нашем эксперименте при переходе клеток в стационарную фазу (рис. 4) отмечается невысокая активность *Arg-X* процессинга в составе БП. Однако, в работе [17] показано, что в супраструктурах БП, не подвергшихся аффинной хроматографии, при переходе в стационарную фазу, то есть активную фазу стресса, отмечается нарастающий всплеск *Arg-X* протеазо-процессинга. В последнее десятилетие аргинин

стал одной из самых обсуждаемых аминокислот, как возможный источник метаболических сигналов. Популярность аргинина возникла после открытия его уникальной роли в синтезе оксида азота. Рассматриваются также метаболические аспекты связанные с биотехнологическими программами внутриклеточной бактериальной организации при участии аргинина [18]. Однако аргинин, помимо участия в синтезе оксида азота, обладает и другими важными функциями. Как известно, остатки аргинина наряду с таковыми лизина и гистидина являются основными носителями положительного заряда белковых молекул. Гуанидиновая груп-

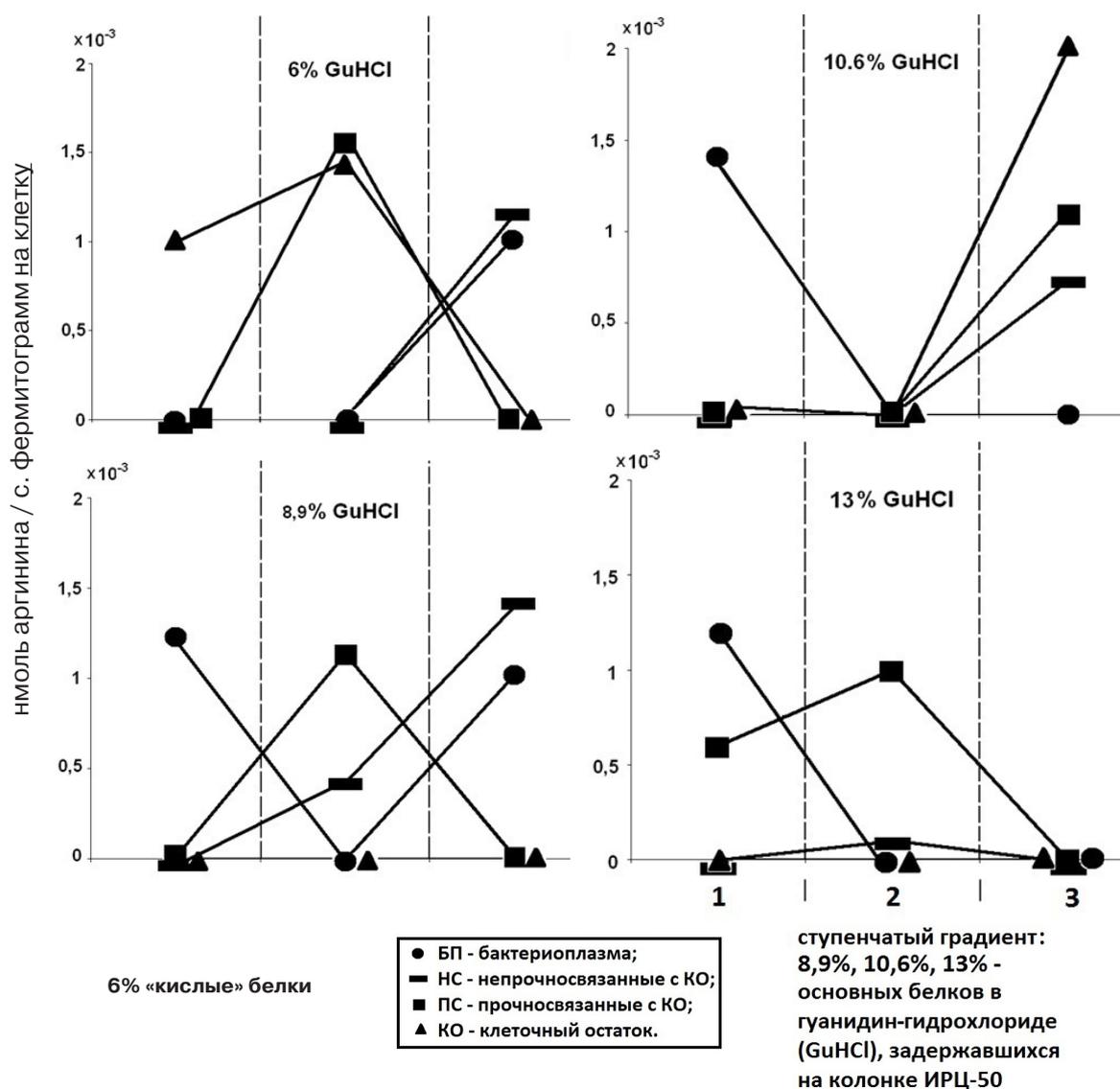


Рисунок 4 – Локализация Арг-Х протеолитического процессинга в трипсиноподобных комплексах, выделенных методом аффинной хроматографии из «кислых» и «градиента основных блоков белков» в фазах роста: 1 – «активная», 2 – «замедления», 3 – «переход к остановке»; периодической культуры *E. coli*.

пировка аргинина обладает значительно более сильными основными свойствами, чем аминная группа лизина. Декарбоксилированный аргинин по химической структуре представляет собой «агматин» – первичный биогенный амин. Следует всегда иметь в виду, что остаток аргинина с гуанидиновой группой характеризуется относительно длинной боковой цепью, что также может иметь определенное функциональное значение в биологически активных белковых структурах. Наше внимание к гуанидиновым группам аргинина связано с тем, что протеом генетических структур про- и эукариот обогащен белками богатыми аргинином. Известно, что характерной особенностью в организации генетических структур эукариотов является эволюционная стабильность аргининбогатых гистонов. По-видимому, такая конструкция обеспечивает векторную стабильность в онто- и филогенезе эукариотов. Что касается прокариотов, то в конструкции их нуклеоида также выделены гистонподобные белки. На примере эукариот показано, что гуанидиновые группы аргинина в нуклеосомной конструкции располагаются на её поверхности и подвергаются различного рода модификациям. По всей вероятности, гуанидиновая группа аргинина выполняет роль динамической направленности и устойчивости в супрамолекулярной конструкции определенных зон протеома хроматина клеточного ядра и, возможно, в бактериальной клетке. Однако у *Escherichia coli* остаются неясными: способы «укладки» нитей ДНК в нуклеоиде, молекулярный механизм процесса цитокинеза или септации, функции 60% генов. По сути дела, клеточный уровень организации жизнедеятельности можно рассматривать с позиции хорошо организованного «сообщества» молекул, надмолекулярных структур, постоянно взаимодействующих друг с другом и окружающей средой. Возможно аргинин выступает как резонирующий фактор. Кроме того, отмечается высокая консервативность его боковой цепи и участие в механизме распознавания ДНК [19]. На V съезде биофизиков России, который состоялся в 2015 году в Ростове-на-Дону, М.С. Гельфанд в сообщении белок/ДНК узнавании и их взаимодействии, сказал, что есть утверждение: из всех аминокислот только аргинин узнает любой гуанин, тимин [20].

В представленной работе, мы протеом из всех идентифицированных супраструктур раз-

делили на «кислые» и «градиент основных» белков (рис. 3). Показано четкое соотношение «кислых» и суммарного градиента основных белков в течение жизненного цикла фаз роста клеток популяции *Escherichia coli*. Из блока «кислых» и «градиентного блока основных белков», методом аффинной хроматографии, выделены суммарные фазовые трипсиноподобные протеиназы, в которых выявлена локализация *Arg-X* процессинга (рис. 4).

Фазы роста. Активная. Данные представленные на рисунке 4, показывают, что в активной фазе в трипсиноподобных комплексах активно функционирует Арг-Х протеолиз в супраструктурах БП (рис. 4: «активная фаза»; градиент основных белков: 8,6%, 10,6%, 13%; БП) во взаимосвязи с «кислым» блоком КО (рис. 4: «активная фаза», «кислые»; КО). Возможно, эту роль выполняют шапероны, участвующие в формировании структурирования зон ПС с КО (рис. 4: «активная фаза»; основные белки: 13%; ПС).

Замедления. В фазе замедления, *Arg-X* – процессинг локализуется в «кислом» блоке на уровне супраструктур ПС с КО и в самом КО (рис. 4: «фаза замедления»: 6%: ПС, КО), а также в блоке основных белков ПС с КО (рис. 4: «фаза замедления»; 8,9%, 13%: ПС). Аминокислоты, освобождаемые в результате протеолиза белков, используются для синтеза новых белков.

Переход к остановке (стационарная). Глобальные изменения в экспрессии генов при переходе клеток в стационарную фазу роста происходят на каждой стадии экспрессии генов и включают изменения конформации нуклеоида, аппарата транскрипции и трансляции. Модуляция нуклеоида играет существенную роль в сохранении ДНК в клетках, находящихся в условиях голодания и истощения источника энергии, а также в репрессии большинства бактериальных генов в этих условиях.

Таким образом, в представленной работе указаны зоны локализации трипсиноподобных белков, с выявленной в них *Arg-X* активностью, в блоках «кислого» и «градиента основного» протеома при пространственно-временной реорганизации супраструктур популяции клеток в течение фаз жизненного цикла *Escherichia coli*.

06.09.2016

Список литературы:

1. Bridged filaments of histone-like nucleoid structuring protein pause RNA polymerase and aid termination in bacteria / M.V. Kotlajich et al. // eLife. – 2015. – 4:e04970. DOI: 10.7554/eLife.04970.
2. NusE:NusG complex links transcription and translation / B.M. Burmann et al. // Science. – 2010. – V. 328. – P. 501–504.
3. Bakshi, S. The spatial biology of transcription and translation in rapidly growing *Escherichia coli* / S. Bakshi, H. Choi, J.C. Weisshaar // *Frontiers in Microbiology*. – 2015. – Doi: 10.3389/fmicb.2015.00636.
4. Segregation of chromosome arms in growing and non-growing *Escherichia coli* cells / C.L. Woldringh et al. // *Frontiers in Microbiology*. – 2015. – V. 6. – Doi: 10.3389/fmicb.2015.00448.
5. Thanbichler, M. The Bacterial Nucleoid: A Highly Organized and Dynamic Structure / M. Thanbichler, S.C. Wang, L. Shapiro // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2005. – V. 96. – P. 506–521.
6. Том, Р. Структурная устойчивость морфогенеза / Р. Том. – М.: Логос, 2002. – 280 с.
7. Хохлов, А.Р. Умные полимеры (лекция 1) [Электронный ресурс] / А.Р. Хохлов. – 2011. Режим доступа: www.vesti.ru/videos.2vid=3282548cid=1.
8. Прозоров, А.А. Геном бактерий: нуклеоид, хромосома, нуклеоидная карта / А.А. Прозоров // *Микробиология*. – 1998. – Т. 67. – №4. – С. 437–451.
9. Лен, З-М. Супрамолекулярная химия: Концепции и перспективы: пер. с англ. / З-М. Лен. – Новосибирск: Наука, 1998. – 334 с.
10. Purohit, J.S. Histone Proteases: The tale of tail clippers / J.S. Purohit, M.M. Chaturvedi, P. Panda // *Int. J. Int sci. Inn. Tech. Sec. B*. – 2012. – V. 1. – №1. – P. 51–60.
11. Иванова, Э.А. Способ получения фракций из клеток *E. coli*, обладающих протеолитической активностью / Э.А. Иванова, Г.Х. Вафина, Т.С. Тропынина // Патент №2410428. МПК C12N 9/16; C12P 1/04. Опубл. 27.01.2011. Бюл. №3.
12. Иванова, Э.А. Способ препаративного выделения основных белков из надмолекулярных структур растущей популяции *Escherichia coli* / Э.А. Иванова, Г.Х. Вафина, Т.С. Тропынина // Патент №2471873. 2013 а.
13. Иванова, Э.А. Способ определения гексоз в супрамолекулярных структурах клеток *Escherichia coli* / Э.А. Иванова, Г.Х. Вафина, Т.С. Тропынина // Патент №2510846. МПК C12Q 1/06; G01N 30/34; C12R 1/19. Опубл. 10.04.2014. Бюл. №10.
14. Иванова, Э.А. Способ анализа процесса Арг-Х протеолиза в положительно заряженных фракциях белков супрамолекулярных структур в растущей популяции *Escherichia coli* / Э.А. Иванова, Г.Х. Вафина, Т.С. Тропынина // Патент №2480523. 2013 б.
15. Хмель, И.А. Регуляция экспрессии бактериальных генов в отсутствие активного роста клеток / И.А. Хмель // *Генетика*. – 2005. – Т. 41. – №9. – С. 1183–1202.
16. Ishihama, A. Functional modulation of *Escherichia coli* RNA polymerase / A. Ishihama // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2000. – V. 54. – P. 499–518.
17. Особенности организации ремоделирования геномов в условиях факторов экспериментальной эволюции организмов / Р.С. Иванов и др. // *Известия Уфимского научного центра РАН*. – 2011. – №2. – С. 36–42.
18. High Throughput Screen for *Escherichia coli* Twin Arginine Translocation (Tat) Inhibitors / U.K. Bageshwar et al. // *PLOS ONE*. – 2016. – DOI:10.1371/journal.pone.0149659.
19. DNA recognition by *Escherichia coli* CbpA protein requires a conserved arginine-minor-groove interaction / K. Chintakayala et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2015. – V. 43. – №4. – P. 2282–92. – Doi: 10.1093/nar/gkv012.
20. Гельфанд, М.С. Эволюция регуляторных систем / М.С. Гельфанд // *Материалы докладов V съезда биофизиков России*. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета. – 2015. – Т. 1. – 389 с. – С. 19.

Сведения об авторах:

Тропынина Татьяна Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории математической и молекулярной генетики Уфимского Института биологии Российской академии наук
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69, тел. (347) 2355362

Иванова Эвилина Алексеевна, главный научный сотрудник лаборатории математической и молекулярной генетики Уфимского Института биологии Российской академии наук, доктор биологических наук
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69, тел. (347) 2355362, e-mail: evilina@anrb.ru

Вафина Гюльнар Хамидовна, старший научный сотрудник лаборатории математической и молекулярной генетики Уфимского Института биологии Российской академии наук, кандидат биологических наук
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69, тел. (347) 2355362

Иванов Руслан Сергеевич, научный сотрудник лаборатории математической и молекулярной генетики Уфимского Института биологии Российской академии наук, кандидат биологических наук
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69, тел. (347) 2355362