

TEMPERATŪRAI JAUTRIŲ RegB ENDORIBONUKLEAZIŲ KONSTRAVIMAS IR JŲ AKTYVUMO TYRIMAS

Daugelio T-lyginių ir kai kurių kitų T4 tipo bakteriofagų genomuose yra koduojama unikali endoribonukleazė RegB, kol kas neturinti homologijos su jokiais žinomais baltymais ar kitomis nukleazėmis. Tai yra sekai specifinė endoribonukleazė, kuri atpažįsta mRNR GGAG (rečiau GGAU) sekos motyvą ir hidrolizuoja ją per patį sekos vidurį. Geriausiai ištirta yra fago T4 endoribonukleazė RegB, tuo tarpu kitų T4 tipo fagų koduojamos RegB, ypač tos, kurios turi žymiai pakitusią pirminę struktūrą, kol kas yra tik pradinių tyrimų stadijoje.

Šiame darbe buvo sukonstruoti 4 bakteriofagų RB69 ir RB49 temperatūrai jautrūs mutantai: MRB69RegB_M11, RB69RegB_M41, RB49_M97 ir RB49RegB_ts2. Šių RegB mutantų aktyvumo tyrimai buvo atliekami nustatant *regB* mRNR nukleotidų seką žymėto pradmens ilginimo metodu. Buvo nustatyta, kad RegB aktyvumas prie 30°C buvo žymiai ryškesnis nei prie 42°C temperatūros trijų mutantinių RegB atveju (M11, M41 ir ts2). Taip pat buvo pastebėta, jog šie mutantiniai RegB variantai yra mažiau toksiški *Escherichia coli* ląstelėms prie 42°C nei prie 30°C. *regB_ts2* genas koduoja ryškiausiu temperatūriniu jautrumu pasižymintį baltymą, todėl jis buvo panaudotas tolimesniems tyrimams. Minėtasis genas buvo klonuotas į vektorių pLT5₃₂, kuriame yra *lacZ* genas sulietas su RegB taikiniu (GGAG seka). Buvo nustatyta, kad RegB_ts2 skelia *lacZ* transkriptus indukuotus nuo plazmidės ir taip gali reguliuoti jo transliaciją.