

# Využitie ko-expresného systému pri štúdiu mechanizmu teluričitanovej rezistencie

Lenka Turkovičová, Jana Schubertová Aradská, Roman Šmidák,  
Dušan Blažkovič, Ján Turňa

Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Katedra molekulárnej biológie,  
Mlynská dolina, Bratislava  
*lturkovicova@gmail.com*

Baktérie môžu vykazovať rezistenciu voči širokej škále ťažkých kovov. Jedným z nich je aj telúr (Te), ktorý sa v prírodnom prostredí nachádza v stopových množstvách (0.002 ppm) [1]. Vo vyššej koncentrácii sa nachádza len v rámci znečistenej pôdy a vody [2], pričom práve toxické oxyaniónové formy  $\text{TeO}_3^{2-}$  a  $\text{TeO}_4^{2-}$  sú bežnejšie ako netoxická forma  $\text{Te}^0$ . Mikroorganizmy bojujú voči toxickým účinkom teluričitanov ( $\text{TeO}_3^{2-}$ ) rôznymi mechanizmami a to znížením jeho príjmu do buniek, zlepšením jeho vylučovania z buniek, alebo chemickou modifikáciou prostredníctvom metylácie alebo redukcie za tvorby menej toxickej elementárnej formy [3]. Avšak presný mechanizmus rezistencie zostáva stále neobjasnený.

Naša práca je zameraná na štúdium rezistencie sprostredkovanej *ter* génovou rodinou, konkrétne determinantom kódovanom na plazmide pTE53, ktorý bol pôvodne izolovaný z uropatogénneho kmeňa *Escherichia coli* KL53 [4]. Predchádzajúce analýzy predovšetkým na úrovni DNA potvrdili, že len gény *terB*, *terC*, *terD*, *terE* sú esenciálne pre zabezpečenie  $\text{Te}^R$  rezistencie [5]. Pri objasňovaní mechanizmu  $\text{Te}^R$  potrebujeme mať vhodný expresný systém, ktorý nám zabezpečí expresiu funkčných proteínov, ktoré budeme môcť využiť pri štúdiu proteín-proteínových interakcií. Všetky štyri esenciálne Ter proteíny sme úspešne exprimovali v jednotlivých vektoroch Duet expresného systému od firmy Novagen: pACYCDuet1, pCDFDuet1, pETDuet1 a pRSFDuet1. Exprimované proteíny sme následne izolovali pomocou Ni-NTA agarózy cez 6xHis prívesok, ktorý sa nachádza na N-konci nadprodukovaných proteínov. Použitie tohto systému nám umožňuje overiť aktivitu proteínov ko-expresiou v jednej bunke, pričom bunka získa charakteristický čierny fenotyp ako dôsledok redukcie teluričitanov na elementárny telúr, ktorý sa ukladá v bunkách vo forme kryštálov.

[1] Baesman, *App. Env. Microbiology*, **2007**, *73*, 2135–2143.

[2] Avazéri, *Microbiology*, **1997**, *143*, 1181–1189.

[3] Chasteen, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1–25.

[4] Burian, *Biologia*, **1990**, *12*, 1021–1026.

[5] Kormuťáková, *Biometals*, **2000**, *13*, 135–139.