



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.152.314

© 1993 В. Е. Репин, Г. Д. Серов,
Л. И. Пучкова, Т. А. Терещенко, Л. Р. Лебедев, В. Е. Чижиков

НОВЫЕ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ РЕСТРИКЦИИ ТИПА II И ISs
ИЗ ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *Bacillus*

*НИКТИ биологически активных веществ НПО «Вектор», г. Бердск
Новосибирской обл.;*
Акционерное общество «ВАППЭК, Лтд», Новосибирск

Поиск новых эндонуклеаз рестрикции по-прежнему привлекает внимание ученых ряда лабораторий мира. Он ведется для обнаружения новых прототипов или же более технологичных изошизомеров.

В своей работе мы исследовали около 200 штаммов, выделенных рутинными методами [1] из почвы различных районов России. Условием отбора штаммов были следующие факторы:

- 1) термофильность бактерий,
- 2) способность формировать эндоспоры,
- 3) возможность использовать для культивирования микроорганизмов обычные легкодоступные питательные среды (РПА, РПБ).

Индивидуальные колонии рассеивали на секторы и инкубировали в течение суток на агаризованных средах. Далее проводили скрининг на наличие эндонуклеаз рестрикции модифицированным тритоновым методом без осаждения клеточного лизата [2]. Штаммы, дававшие картины специфического расщепления субстратных ДНК фагов лямбда и T7 (НИКТИ БАВ НПО «Вектор») на 0,7–1,2% агарозных пластинках, отбирали для таксономической идентификации [3] и определения субстратной специфичности эндонуклеаз рестрикции [4].

Следует отметить, что высокая продуктивность некоторых штаммов позволяла устанавливать узнаваемую последовательность нуклеотидов в грубых лизатах, не применяя традиционных схем выделения [5].

В процессе работы было изолировано 26 технологичных продуктов эндонуклеаз рестрикции. Для всех рестриктаз, выделенных из вышеописанных штаммов, определены сайты узнавания, а для 15 из них — и точка расщепления.

Результаты исследования представлены в таблице.

Полученные нами данные позволяют утверждать, что термофильные бактерии рода *Bacillus* являются перспективными источниками эндонуклеаз рестрикции.

Субстратная специфичность исследуемых рестриктаз рода *Bacillus*

№ п. п.	Название фермента	Прототип	Сайт узнавания *	Номер плазма	Вид
1	<i>Bst</i> 11	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	1	<i>B. stearothermophilus</i>
2	<i>Bst</i> 21	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	2	»
3	<i>Bsc</i> 41	<i>Bsi</i> YI	CCN ₇ GG	4	<i>B. schlegelii</i>
4	<i>Bco</i> 51	<i>Ea</i> rI	CTCTTC(1/4)	5	<i>B. coagulans</i>
5	<i>Bco</i> 61	<i>Fsp</i> I	TGCGCA	6	»
6	<i>Bse</i> 81	<i>Bsa</i> BI	GATN ₄ ATC	8	<i>Bacillus</i> sp.
7	<i>Bst</i> 111	<i>Bsr</i> I	ATCGG(1/—1)	11	<i>B. stearothermophilus</i>
8	<i>Bst</i> 121	<i>Bbv</i> А	GCAGC	12	»
9	<i>Bse</i> 161	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	16	<i>Bacillus</i> sp.
10	<i>Bse</i> 171	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	17	»
11	<i>Bse</i> 231	<i>Bsi</i> YI	CCN ₇ GG	23	»
12	<i>Bse</i> 241	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	24	»
13	<i>Bco</i> 271	<i>Hpa</i> II	C [↓] CGG	27	<i>B. coagulans</i>
14	<i>Bci</i> 291	<i>Cla</i> I	AT [↓] CGAT	29	<i>B. circulans</i>
15	<i>Bst</i> 381	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	38	<i>B. stearothermophilus</i>
16	<i>Bse</i> 591	<i>Bst</i> EII	GGTNACC	59	<i>Bacillus</i> sp.
17	<i>Bco</i> 631	<i>Bsa</i> BI	GATN ₄ ATC	63	<i>B. coagulans</i>
18	<i>Bse</i> 641	<i>Bst</i> EII	GGTNACC	64	<i>Bacillus</i> sp.
19	<i>Bst</i> 1001	<i>Bst</i> NI	CC [↓] (A/T)GG	100	<i>B. stearothermophilus</i>
20	<i>Bco</i> 1021	<i>Bcl</i> I	TGATCA	102	<i>B. coagulans</i>
21	<i>Bco</i> 102II	<i>Bdv</i> А	GAAGAC	102	»
22	<i>Bsc</i> 1071	<i>Bsi</i> YI	CCN ₇ GG	107	<i>B. schlegelii</i>
23	<i>Bco</i> 1161	<i>Ea</i> rI	CTCTTC(1/4)	116	<i>B. coagulans</i>
24	<i>Bse</i> 1181	<i>Cfr</i> 101	(A/G) [↓] CCGG(T/C)	118	<i>Bacillus</i> sp.
25	<i>Bco</i> 1631	<i>Sfe</i> I	CT(A/G)(T/C)AG	163	<i>B. coagulans</i>
26	<i>Bse</i> Q1	<i>Hae</i> III	GG [↓] CC	Q	<i>Bacillus</i> sp.
27	<i>Bse</i> Z1	<i>Ea</i> rI	CTCTTC(1/4)	Z	»

* Точки расщепления указаны стрелками: или цифрами в скобках.

Авторы выражают благодарность Т. Ушаковой, С. Синичкиной и В. Михайловой за помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Звягинцев Д. Г., Асеева И. В., Бабьева И. П. и др. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Мос. ун-та, 1980.
2. Репин В. Е., Дегтярев С. Х.//Прикл. биохимия и микробиология. 1992. Т. 28. Вып. 1. С. 152—156.
3. Краткий определитель бактерий/Ред. Дж. Хоулт. М.: Мир, 1980. 496 с.
4. Приходько Г. Г., Петров Н. А., Чижиков В. Е. и др.//Биотехнология. 1988. Т. 4. № 5. С. 618—620.
5. Sharp P. A., Sugden B., Sambrook J.//Biochemistry. 1973. V. 12. № 16. P. 3055—3063.

Поступила в редакцию
13.XI.1992

После доработки
14.I.1993

V. E. Repin, G. D. Serov, L. I. Puchkova, T. A. Tereshenko,
L. R. Lebedev, V. E. Chigikov

NEW RESTRICTION ENDONUCLEASES FROM THERMOPHILIC
BACTERIA OF THE GENUS *Bacillus*

*Research and Technology Institute of Biologically Active Substances «Vektor»
NFO, Berdsk, Novosibirsk Region;
VALPEC Ltd, Novosibirsk*

Restriction endonucleases have been isolated from 26 strains of thermophilic strains of the *Bacillus* genus, their recognition sequences were determined, and for 15 of them cleavage sites identified. The enzymes proved to be isoschizomers of known endonucleases *Bst*NI, *Eae*I, *Hae*III, *Hpa*II, *Cfr*10I, *Bst*YI, *Bcl*II, *Bbv*II, *Bbv*I, *Bst*EII, *Bsa*BI, *Bsr*I, *Fsp*I, *Clal*, *Sfe*I.