

РАЗДЕЛ II

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 606

DOI: 10.18384/2310-7189-2018-1-86-94

ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ ХОЛОДОВОГО ШОКА В БИОТЕХНОЛОГИИ

Злобин Н.Е., Таранов В.В.

*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии Российской академии наук
127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42, Российская Федерация*

Аннотация. Большая часть достижений современной биотехнологии так или иначе связана с микроорганизмами, что объясняется их разнообразием, относительной простотой их изучения и культивирования. Обзорная статья посвящена применению бактериальных белков холодового шока в биотехнологии. Эти белки являются РНК- и ДНК-связывающими и приводят к плавлению вторичных структур, образующихся в нуклеиновых кислотах, что является значимым для адаптации микроорганизмов к различным неблагоприятным условиям среды. Гены, кодирующие белки холодового шока, были путем трансгеноза перенесены в геномы как бактерий, так и высших растений, приводя к повышению их стрессоустойчивости. Также очищенные бактериальные белки холодового шока применялись для повышения эффективности прохождения различных молекулярно-биологических реакций *in vitro*. В обзоре описаны подходы, применявшиеся в соответствующих исследованиях, и обобщены полученные с их помощью результаты.

Ключевые слова: биотехнология, микроорганизмы, белки холодового шока, вторичные структуры в нуклеиновых кислотах, генетическая инженерия растений.

APPLICATION OF BACTERIAL COLD SHOCK PROTEINS IN BIOTECHNOLOGY

N. Zlobin, V. Taranov

*All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Russia
Timiryazevskaya ul. 42, 127550 Moscow, Russia*

Abstract. Most of the achievements of modern biotechnology are related to microorganisms, which is explained by their diversity, the relative simplicity of their study and cultivation. This review is dedicated to the application of bacterial cold shock proteins in biotechnology. These

© Злобин Н.Е., Таранов В.В., 2018.

proteins bind DNA and RNA and melt secondary structures formed in nucleic acids, which is important in bacteria adaptation to different kinds of stresses. Genes coding bacterial cold shock proteins are used for transformation of bacteria and higher plants, which lead to an increase in stress tolerance. Also, purified recombinant bacterial cold shock proteins are used to increase efficiency of different molecular biology reactions *in vitro*. In this review, the approaches applied in relevant studies are described in detail and their results are summarized.

Keywords: biotechnology, microorganisms, cold shock proteins, secondary structures in nucleic acids, plant genetic engineering.

К настоящему времени обнаружено значительное количество белков, которые способны с низкой специфичностью взаимодействовать с РНК, и также приводить к дестабилизации (плавлению) находящихся в РНК вторичных структур [4]. Образование молекулами клеточных мРНК протяженных и устойчивых вторичных структур может препятствовать работе белоксинтезирующего аппарата, затрудняя трансляцию мРНК. Этот эффект проявляется особенно сильно при действии различных стрессовых факторов окружающей среды, в особенности при понижении температуры, которое приводит к стабилизации вторичных структур в РНК. Белки, дестабилизирующие вторичные структуры в РНК, способствуют возобновлению нормального функционирования белоксинтезирующего аппарата, активации синтеза различных стресс-ассоциированных белков и, в конечном счете, акклиматизации организма [15;18].

Примером белков с такой функцией являются белки холодового шока. Эти белки были обнаружены в бактериях. В частности, геном кишечной палочки *Escherichia coli* содержит 9 генов (*CspA-CspI*), кодирующих белки холодового шока [8]. При резком снижении температуры среды деление клеток *Escherichia coli* останавливается и синтез большинства клеточных белков прак-

тически прекращается. Напротив, синтез некоторых белков холодового шока активизируется, что приводит к накоплению в ходе акклиматизации больших количеств этих белков [6]. Так, белок *CspA* может накапливаться в количестве, достигающем 13% от суммарного белка в бактериальной клетке [7]. Было показано, что делеция генов, кодирующих белки холодового шока, приводит к возникновению у *Escherichia coli* холодочувствительного фенотипа, выражающегося в неспособности бактерий делиться при температуре ниже 20°C, в то время как минимальная температура роста бактерии *Escherichia coli* в норме составляет около 8°C [9; 23; 25].

Структура бактериальных белков холодового шока, в том числе в комплексе с нуклеиновыми кислотами, подробно изучена [12; 14; 21]. Бактериальные белки холодового шока фактически состоят из домена холодового шока – компактной структуры из пяти антипараллельных β -тяжей аминокислотных остатков, образующих укладку типа « β -бочонок». Положительно заряженные и ароматические аминокислотные радикалы, образующие компактный кластер на поверхности домена холодового шока, образованной β -тяжами $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 3$, способствуют связыванию с нуклеиновыми кислотами за счет ионных вза-

имодельствий, и интеркалируют между азотистыми основаниями, дестабилизируют вторичные структуры в нуклеиновых кислотах [17].

Для белков холодового шока из *Escherichia coli*, а также ряда других микроорганизмов показана способность взаимодействовать с молекулами РНК *in vitro* и *in vivo*, не проявляя существенной специфичности, и приводить к плавлению находящихся в них вторичных структур [19]. Это указывает на функционирование этих белков в качестве положительных регуляторов трансляции, дестабилизирующих вторичные структуры в клеточных мРНК [6]. Продемонстрировано и взаимодействие бактериальных белков холодового шока с ДНК; так, белок CspA *E. coli* связывался с промоторной областью гена *hns* и способствовал взаимодействию с ней РНК-полимеразы, предположительно за счет поддержания этой области в одноцепочечном состоянии [2].

Вышеперечисленные свойства бактериальных белков холодового шока обусловили их применение в биотехнологии. Сверхэкспрессия белков холодового шока в коммерческих штаммах *Lactobacillus* повышала выживаемость бактерий, находящихся в стационарной фазе, а также подвергнутых холодовому шоку или нескольким циклам замораживания-оттаивания [5]. Белки холодового шока прокариот были задействованы в геномной инженерии не только бактерий, но и высших растений. Исследования, направленные на изучение возможности использования белков холодового шока для трансформации сельскохозяйственных растений с целью придания им устойчивости к абиотическим стрес-

совым факторам, были проведены на нескольких растениях, включая такие важные сельскохозяйственные культуры, как рис, кукуруза и пшеница.

Экспрессия белков холодового шока CspA из *Escherichia coli* или CspB из бактерии *Bacillus subtilis* приводила к ускорению роста проростков *Arabidopsis thaliana* при пониженной температуре (8°C) [3]. Растения риса, экспрессирующие эти белки, характеризовались повышенной устойчивостью к нескольким абиотическим стрессовым факторам, включая повышенную и пониженную температуру выращивания, а также дефицит влаги (для CspB). Подвергнутые действию вышеперечисленных стрессоров трансгенные растения после периода восстановления росли существенно быстрее и достигали большего размера, чем нетрансгенные растения [3].

Растения кукурузы, трансформированные генами CspA из *Escherichia coli* или CspB из *Bacillus subtilis*, демонстрировали повышенную устойчивость к дефициту влаги в многолетних полевых испытаниях. Трансгенные растения кукурузы характеризовались ускоренным ростом листовых пластинок, повышенным содержанием хлорофилла и большей скоростью фотосинтеза. Эти показатели являются ключевыми в контексте продуктивности растений. Наблюдались увеличение озеренности початков, а также количества початков на одном растении кукурузы и рост урожайности в среднем на 4,6% у растений, экспрессирующих CspA, и на 7,5% у растений, экспрессирующих CspB. Для отдельных трансгенных линий, в которых было зафиксировано наибольшее повышение показателей роста листовых пластинок, содержа-

ния хлорофилла и скорости фотосинтеза, повышение урожайности достигало 20–30%. При этом, положительный эффект трансгена сохранялся вне зависимости от генетического окружения, то есть гибрида кукурузы, который использовался для трансформации. Для того чтобы проверить, в какой степени повышение устойчивости кукурузы к дефициту влаги связано с взаимодействием с нуклеиновыми кислотами, в ген белка CspV из *Bacillus subtilis* была введена точковая мутация, которая приводила к потере белком способности связываться с нуклеиновыми кислотами. Растения кукурузы, экспрессирующие мутантный вариант гена, не демонстрировали повышенной устойчивости к дефициту влаги [3].

Одним из распространенных приемов повышения уровня экспрессии бактериальных генов в растениях является оптимизация нуклеотидного (коонного) состава гена [10; 11]. Аминокислотная последовательность белка при этом не меняется, однако для кодирования аминокислотных остатков выбираются кодоны, которые наиболее часто кодируют эти остатки в генах растения. В одной из работ для трансформации арабидопсиса и мягкой пшеницы использовались гены белков холодового шока CspA и CspV из *Escherichia coli*, кодонный состав которых был оптимизирован для экспрессии в высших растениях. Гены получили обозначения *SeCspA* и *SeCspB* [26].

Трехнедельные растения арабидопсиса демонстрировали существенно более высокую выживаемость после холодной обработки при -5°C в течение 12 часов (40% против 5% для контрольных растений), а также были

намного менее чувствительны к недельному дефициту влаги, который пережили 92% линий, экспрессирующих *SeCspA*, 80% линий, экспрессирующих *SeCspB*, и лишь 8% контрольных растений. Экспрессия белков *SeCspA* и *SeCspB* в 9-дневных проростках арабидопсиса приводила также и к повышению их солеустойчивости, что выражалось в отсутствии хлороза листьев, а также более быстром росте главного корня в трансгенных растениях по сравнению с контрольными [26].

Трансгенные растения пшеницы, экспрессирующие *SeCspA* и *SeCspB*, также характеризовались более высокой солеустойчивостью, поскольку после двухнедельной обработки 200 мМоль хлорида натрия, которая привела к полному увяданию нетрансгенных растений, трансгенная пшеница в значительной степени сохраняла тургор. Это было особенно заметно для линий, экспрессирующих *SeCspA*. Большая солеустойчивость достигалась благодаря сниженному содержанию ионов Na^+ внутри клеток трансгенных растений [26].

Экспрессия *SeCspA* повышала также устойчивость растений пшеницы к засухе. Выживаемость недельных проростков трансгенных линий пшеницы в условиях сильного дефицита влаги была в 3 раза выше, чем у контрольных растений (97,6% и 93,3% для *SeCspA* и *SeCspB* соответственно, против 29,2% в контроле). Линии пшеницы, трансформированные *SeCspA*, при недостаточном увлажнении в полевых условиях демонстрировали существенно (до 24,5%) более высокую урожайность по сравнению с нетрансгенными растениями [26].

При этом экспрессия *SeCspA* или *SeCspB* не приводила к увеличению

скорости роста пшеницы при пониженной температуре [26]. Эти экспериментальные данные могут объясняться и условиями постановки опыта, в ходе которого рост растений пшеницы измерялся при температуре -4°C , в то время как минимальной температурой роста этой культуры является $+3-4^{\circ}\text{C}$ даже для морозоустойчивых сортов [1].

Изучение молекулярных механизмов повышения устойчивости пшеницы, экспрессирующей бактериальные белки холодового шока, показало, что увеличение устойчивости может объясняться вовлеченностью этих белков в активацию экспрессии ряда генов, белковые продукты которых ответственны за развитие устойчивости растения к различным стрессовым факторам абиотической природы. Среди них – регуляторные белки TaCDPK3, TaRAB, TaERF3 и TaWRKY2, а также белки неспецифического стрессового ответа TaWD40D, GST, DHN и LEA. Вероятно, бактериальные белки холодового шока способствуют более активной трансляции мРНК этих белков, способствуя их накоплению в клетке и более выраженному защитному ответу [26].

Образование молекулами нуклеиновых кислот прочных вторичных структур может иметь неблагоприятные последствия не только для клеточного метаболизма, но и при проведении всевозможных реакций *in vitro*, приводя к снижению их эффективности и специфичности. Было показано, что белок холодового шока CspA *Escherichia coli* способствует повышению как специфичности, так и эффективности реакции ОТ-ПЦР при амплификации гена «dystrophin 2» человека, длина которого составляет порядка 8 т.п.н. [16]. Кроме того, наличие CspA в реакционной

смеси позволяло снизить температуру проведения реакций, что имеет значение в контексте снижения РНКазной активности в отношении РНК-матриц. CspA также повышал эффективность расщепления молекул РНК специфическими эндорибонуклеазами, действие которых обычно затруднено ввиду наличия в молекулах РНК вторичных структур, скрывающих сайты для этих рибонуклеаз. Во всех случаях присутствие белка с доменом холодового шока позволяло избавиться, по крайней мере частично, от вторичных структур на РНК, сделав их доступными для ферментов. При этом, каких-либо нежелательных взаимодействий между белками холодового шока и ферментами, катализирующими соответствующие реакции, обнаружено не было [16].

Свойство некоторых белков холодового шока накапливаться в клетках при понижении температуры также нашло применение в биотехнологии в целях наработки рекомбинантных белков в бактериях, поскольку синтез целевых белков при низкой температуре может способствовать улучшению их растворимости и стабильности. Разработаны векторы для экспрессии белка в бактериальных клетках на основе промоторной последовательности гена *CspA Escherichia coli* [24]. С использованием нетранслируемых областей мРНК *CspA Escherichia coli* была получена серия экспрессионных векторов pCold, позволяющих получить высокие количества белкового продукта в бактерии *Escherichia coli*. Накопление рекомбинантного белка в бактериальных клетках, которого удавалось добиваться с применением этих векторов, было сопоставимо с таковым для широко применяемого семейства векторов pET [20].

Таким образом, бактериальные белки холодового шока нашли применение в различных сферах научной и производственной деятельности. Особенно перспективным представляется их широкое применение для получения сельскохозяйственных культур, устойчивых к абиотическим стрессам. Бактериальные белки холодового шока являются хорошим примером того, каким образом фундаментальные исследования, начатые два-три десятилетия назад, к настоящему времени приводят к получению практически значимых результатов. Белки, содержащие домен холодового шока, были обнаружены и в высших организмах – как растениях, так и животных [13].

Помимо доменов холодового шока, эти белки, как правило, содержат разнообразные дополнительные аминокислотные последовательности, обычно находящиеся в С-концевой части белковой молекулы. В частности, белки

с доменом холодового шока растений в С-концевой части содержат мотивы «цинковые пальцы» СНСС-типа, разделенные глицин-богатыми участками. Как и их бактериальные аналоги, белки с доменом холодового шока растений взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами и принимают участие в повышении устойчивости растений к различным факторам абиотического стресса [22]. Экспрессия некоторых белков с доменом холодового шока приводила к повышению устойчивости модельных растений к неблагоприятным абиотическим факторам, однако требуются более масштабные испытания на сельскохозяйственных культурах, чтобы установить, могут ли белки с доменом холодового шока растений представлять собой перспективный объект сельскохозяйственной биотехнологии.

Статья поступила в редакцию 27.12.2017 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов П.П., Гриценко В.В., Кузнецов В.С. Растениеводство / 5-е изд. М.: Агропромиздат. 1986. 512 с.
2. Brandi A., Pon C.L., Gualerzi C.O. Interaction of the main cold shock protein CS7. 4 (CspA) of *Escherichia coli* with the promoter region of *hns* // *Biochimie*. 1994. Vol. 76. no 10–11. Pp. 1090–1098.
3. Castiglioni P. et al. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions // *Plant physiology*. 2008. Vol. 147. no. 2. Pp. 446–455.
4. Cristofari G., Darlix J.L. The ubiquitous nature of RNA chaperone proteins // *Progress in nucleic acid research and molecular biology*. 2002. Vol. 72. Pp. 223–268.
5. Derzelle S. et al. Improved adaptation to cold-shock, stationary-phase, and freezing stresses in *Lactobacillus plantarum* overproducing cold-shock proteins // *Applied and environmental microbiology*. 2003. Vol. 69. no 7. Pp. 4285–4290.
6. Ermolenko D.N., Makhatadze G.I. Bacterial cold-shock proteins // *Cellular and molecular life sciences*. 2002. Vol. 59. no 11. Pp. 1902–1913.
7. Goldstein J., Pollitt N.S., Inouye M. Major cold shock protein of *Escherichia coli* // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1990. Vol. 87. no 1. Pp. 283–287.
8. Golovlev E.L. Bacterial cold shock response at the level of DNA transcription, translation, and chromosome dynamics // *Microbiology*. 2003. Vol. 72. no 1. Pp. 1–7.
9. Gualerzi C.O., Giuliadori A.M., Pon C.L. Transcriptional and post-transcriptional control of cold-shock genes // *Journal of molecular biology*. 2003. Vol. 331. no 3. Pp. 527–539.

10. Koziel M.G., Carozzi N.B., Desai N. Optimizing expression of transgenes with an emphasis on post-transcriptional events // *Plant molecular biology*. 1996. Vol. 32. no 1. Pp. 393–405.
11. Lessard P.A. et al. Manipulating gene expression for the metabolic engineering of plants // *Metabolic Engineering*. 2002. Vol. 4. no 1. Pp. 67–79.
12. Max K.E.A. et al. T-rich DNA single strands bind to a preformed site on the bacterial cold shock protein Bs-CspB // *Journal of molecular biology*. 2006. Vol. 360. no 3. Pp. 702–714.
13. Mihailovich M. et al. Eukaryotic cold shock domain proteins: highly versatile regulators of gene expression // *Bioessays*. 2010. Vol. 32. no 2. Pp. 109–118.
14. Newkirk K. et al. Solution NMR structure of the major cold shock protein (CspA) from *Escherichia coli*: identification of a binding epitope for DNA // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994. Vol. 91. no 11. Pp. 5114–5118.
15. Panoff J.M. et al. Cold stress responses in mesophilic bacteria // *Cryobiology*. 1998. Vol. 36. no 2. Pp. 75–83.
16. Phadtare S. et al. Applications of nucleic acid chaperone activity of CspA and its homologues // *Journal of molecular microbiology and biotechnology*. 2009. Vol. 17. no 3. Pp. 110–117.
17. Phadtare S., Inouye M., Severinov K. The mechanism of nucleic acid melting by a CspA family protein // *Journal of molecular biology*. 2004. Vol. 337. no 1. Pp. 147–155.
18. Phadtare S., Inouye M. The Cold Shock Response // *EcoSal Plus*. 2008. Vol. 3. Iss. 1. doi:10.1128/ecosalplus.5.4.2
19. Phadtare S., Severinov K. RNA remodeling and gene regulation by cold shock proteins // *RNA biology*. 2010. Vol. 7. no 6. Pp. 788–795.
20. Qing G. et al. Cold-shock induced high-yield protein production in *Escherichia coli* // *Nature biotechnology*. 2004. Vol. 22. no 7. Pp. 877–882.
21. Schindelin H., Marahiel M.A., Heinemann U. Universal nucleic acid-binding domain revealed by crystal structure of the *B. subtilis* major cold-shock protein // *Nature*. 1993. Vol. 364. no 6433. Pp. 164.
22. Sasaki K., Imai R. Pleiotropic roles of cold shock domain proteins in plants // *Frontiers in plant science*. 2012. Vol. 2. Pp. 116.
23. Shaw M.K., Marr A.G., Ingraham J.L. Determination of the minimal temperature for growth of *Escherichia coli* // *Journal of Bacteriology*. 1971. Vol. 105. no 2. Pp. 683–684.
24. Vasina J.A., Baneyx F. Recombinant protein expression at low temperatures under the transcriptional control of the major *Escherichia coli* cold shock promoter *cspA* // *Applied and environmental microbiology*. 1996. Vol. 62. no 4. Pp. 1444–1447.
25. Xia B., Ke H., Inouye M. Acquirement of cold sensitivity by quadruple deletion of the *cspA* family and its suppression by PNPase S1 domain in *Escherichia coli* // *Molecular microbiology*. 2001. Vol. 40. no 1. Pp. 179–188.
26. Yu T.F. et al. Improved drought tolerance in wheat plants overexpressing a synthetic bacterial cold shock protein gene *SeCspA* // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. doi:10.1038/srep44050

REFERENCES

1. Vavilov P.P., Gritsenko V.V., Kuznetsov V.S. *Rasteniievodstvo, 5-e izd [Crop production/ 5th ed]*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1986. 512 p.
2. Brandi A., Pon C.L., Gualerzi C.O. Interaction of the main cold shock protein CS7. 4 (CspA) of *Escherichia coli* with the promoter region of *hns*. In: *Biochimie*. 1994. Vol. 76. no 10-11. pp. 1090-1098.
3. Castiglioni P. et al. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions. In: *Plant physiology*. 2008. Vol. 147. no. 2. pp. 446-455.

4. Cristofari G., Darlix J.L. The ubiquitous nature of RNA chaperone proteins. In: Progress in nucleic acid research and molecular biology. 2002. Vol. 72. pp. 223-268.
5. Derzelle S. et al. Improved adaptation to cold-shock, stationary-phase, and freezing stresses in *Lactobacillus plantarum* overproducing cold-shock proteins. In: Applied and environmental microbiology. 2003. Vol. 69. no 7. pp. 4285-4290.
6. Ermolenko D.N., Makhatadze G.I. Bacterial cold-shock proteins. In: Cellular and molecular life sciences. 2002. Vol. 59. no 11. pp. 1902-1913.
7. Goldstein J., Pollitt N.S., Inouye M. Major cold shock protein of *Escherichia coli*. In: Proceedings of the National Academy of Sciences. 1990. Vol. 87. no 1. pp. 283-287.
8. Golovlev E.L. Bacterial cold shock response at the level of DNA transcription, translation, and chromosome dynamics. In: Microbiology. 2003. Vol. 72. no 1. pp. 1-7.
9. Gualerzi C.O., Giuliodori A.M., Pon C.L. Transcriptional and post-transcriptional control of cold-shock genes. In: Journal of molecular biology. 2003. Vol. 331. no 3. pp. 527-539.
10. Koziel M.G., Carozzi N.B., Desai N. Optimizing expression of transgenes with an emphasis on post-transcriptional events. In: Plant molecular biology. 1996. Vol. 32. no 1. pp. 393-405.
11. Lessard P.A. et al. Manipulating gene expression for the metabolic engineering of plants. In: Metabolic Engineering. 2002. Vol. 4. no 1. pp. 67-79.
12. Max K.E.A. et al. T-rich DNA single strands bind to a preformed site on the bacterial cold shock protein Bs-CspB. In: Journal of molecular biology. 2006. Vol. 360. no 3. pp. 702-714.
13. Mihailovich M. et al. Eukaryotic cold shock domain proteins: highly versatile regulators of gene expression. In: Bioessays. 2010. Vol. 32. no 2. pp. 109-118.
14. Newkirk K. et al. Solution NMR structure of the major cold shock protein (CspA) from *Escherichia coli*: identification of a binding epitope for DNA. In: Proceedings of the National Academy of Sciences. 1994. Vol. 91. no 11. pp. 5114-5118.
15. Panoff J.M. et al. Cold stress responses in mesophilic bacteria. In: Cryobiology. 1998. Vol. 36. no 2. pp. 75-83.
16. Phadtare S. et al. Applications of nucleic acid chaperone activity of CspA and its homologues. In: Journal of molecular microbiology and biotechnology. 2009. Vol. 17. no 3. pp. 110-117.
17. Phadtare S., Inouye M., Severinov K. The mechanism of nucleic acid melting by a CspA family protein. In: Journal of molecular biology. 2004. Vol. 337. no 1. pp. 147-155.
18. Phadtare S., Inouye M. The Cold Shock Response. In: EcoSal Plus. 2008. Vol. 3. Iss. 1. DOI::10.1128/ecosalplus.5.4.2
19. Phadtare S., Severinov K. RNA remodeling and gene regulation by cold shock proteins. In: RNA biology. 2010. Vol. 7. no 6. pp. 788-795.
20. Qing G. et al. Cold-shock induced high-yield protein production in *Escherichia coli*. In: Nature biotechnology. 2004. Vol. 22. no 7. pp. 877-882.
21. Schindelin H., Marahiel M.A., Heinemann U. Universal nucleic acid-binding domain revealed by crystal structure of the *B. subtilis* major cold-shock protein. In: Nature. 1993. Vol. 364. no 6433. pp. 164.
22. Sasaki K., Imai R. Pleiotropic roles of cold shock domain proteins in plants. In: Frontiers in plant science. 2012. Vol. 2. pp. 116.
23. Shaw M.K., Marr A.G., Ingraham J.L. Determination of the minimal temperature for growth of *Escherichia coli*. In: Journal of Bacteriology. 1971. Vol. 105. no 2. pp. 683-684.
24. Vasina J.A., Baneyx F. Recombinant protein expression at low temperatures under the transcriptional control of the major *Escherichia coli* cold shock promoter *cspA*. In: Applied and environmental microbiology. 1996. Vol. 62. no 4. pp. 1444-1447.
25. Xia B., Ke H., Inouye M. Acquirement of cold sensitivity by quadruple deletion of the *cspA* family and its suppression by PNPase S1 domain in *Escherichia coli*. In: Molecular microbiology. 2001. Vol. 40. no 1. pp. 179-188.

26. Yu T.F. et al. Improved drought tolerance in wheat plants overexpressing a synthetic bacterial cold shock protein gene SeCspA. In: Scientific Reports. 2017. Vol. 7. DOI::10.1038/srep44050
-

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Государственного Задания ФАНО России (№ 0574-2014-0017).

ACKNOWLEDGMENTS

The work was carried out within the framework of the State Task of the Federal Agency for Scientific Organizations of the Russian Federation (No. 0574-2014-0017).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Злобин Николай Евгеньевич – научный сотрудник Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Российской академии наук;
e-mail: stresslab@yandex.ru

Таранов Василий Васильевич – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Российской академии наук;
e-mail: v.taranov1@gmail.com

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikolai E. Zlobin – researcher, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Sciences;
e-mail: stresslab@yandex.ru

Vasilij V. Taranov – PhD in biological sciences, head of laboratory, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Sciences;
e-mail: v.taranov1@gmail.com

ПРАВИЛЬНАЯ ССЫЛКА НА СТАТЬЮ

Злобин Н.Е., Таранов В.В. Применение бактериальных белков холодового шока в биотехнологии // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2018. № 1. С. 86-94
DOI: 10.18384/2310-7189-2018-1-86-94

FOR CITATION

Zlobin N. E., Taranov V. V. Application of bacterial cold shock proteins in biotechnology. In: *Bulletin of Moscow Region State University. Series: Natural sciences*, 2018, no. 1, pp. 86-94
DOI: 10.18384/2310-7189-2018-1-86-94