

**Новая экспрессионная система на основе оптимизированного гена фитазы
Pantoea agglomerans.**

Хабирова Наиля Наилевна

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

E-mail: khabirova@list.ru

Фосфор - один из важнейших элементов минерального питания, необходимый для роста и развития живых организмов. Однако содержание доступных форм неорганического фосфора в природных источниках снижается, что обуславливает растущую проблему дефицита фосфорного питания растений и животных. В связи с этим одним из перспективных направлений в решении данной проблемы является использование бактериальных ферментов - фитаз, способных гидролизовать труднодоступную форму органического фосфора - фитат с высвобождением неорганического фосфата.

Фитаза бактерии *Pantoea agglomerans* (*paPhyc*) обладает высокой активностью по отношению к фитату, причем свойства фермента хорошо соответствуют условиям кислых почв умеренных широт. Эти характеристики позволяют открыть большие перспективы использования фитазы в сельском хозяйстве, в частности для улучшения роста и урожайности сельскохозяйственных культур. Кодон-оптимизация бактериального гена фитазы для последующего клонирования в растительный геном обуславливает необходимость исследования ферментативных и биохимических свойств рекомбинантного белка и его сравнения с нативной фитазой.

Цель работы - получение новой экспрессионной системы в рекомбинантном штамме *E.coli* BL21 pLysS, на основе оптимизированного гена фитазы *P.agglomerans* и изучение свойств рекомбинантного белка.

Химически синтезированный ген фитазы *Pantoea agglomerans* клонировали в молекулярный вектор pET 28 b. Полученную конструкцию pET 28 b *paPhyc* трансформировали в штамм *E.coli* DH 5 α . Наличие целевого гена в полученных трансформантах показано ПЦР и использованием праймеров к гену фитазы *Pantoea agglomerans*. Для получения экспрессионной системы с высокой экспрессией белка рекомбинантную плазмиду трансформировали в клетки *E.coli* BL 21 pLysS. Селекцию трансформантов проводили на среде LA с добавлением селективных антибиотиков - канамицина и хлорамфеникола. Трансформация подтверждена ПЦР и секвенированием. Экспрессия фитазы в клетках *E.coli* BL 21 pLysS показана с помощью Western-blot анализа. Активность фитазы составила 0,09 Ед/мг.

Таким образом, нами получен рекомбинантный штамм *E.coli* BL21 pLysS, экспрессирующий синтетический ген фитазы *P.agglomerans*. Изучение экспрессии и свойств данного фермента станет одним из этапов в решении фундаментальных проблем, связанных с регулированием фосфорного обмена.

Работа поддержана Грантом РФФИ 16-08-00583 А

Слова благодарности

Хочу выразить благодарность своему научному руководителю - Валеевой Лие Рашитовне