

ПОЛУЧЕНИЕ НОВОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ФИТАЗНОГО ГЕНА *PANTOEA AGGLOMERANS*

Хабирова Наиля Наилевна

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

E-mail: khabirova@list.ru

Получение новой экспрессионной системы на основе фитазного гена *Pantoea agglomerans*

Хабирова Н. а, Зайнуллина А. а, Частухина И.Б . а, Шакиров Е.В. в

а ИФМуБ КФУ, Казань, Россия

в University of Texas at Austin, Austin, TX, 78712 USA

khabirova@list.ru

Фосфор - один из наиболее значимых элементов, необходимый для поддержания целостности и функционирования клетки. В связи с этим, нарастающая с каждым годом проблема дефицита фосфора в питании живых организмов становится все более острой. Одним из развивающихся направлений в решении проблемы дефицита фосфора, в частности в питании сельскохозяйственных растений и животных, является использование фитаз - специфических фосфатаз, гидролизующих труднодоступные формы органического фосфора (фитата).

Фитаза бактерии *Pantoea agglomerans* обладает высокой специфической активностью, широкими диапазонами температурного оптимума и рН-оптимума, делая перспективным использование фермента в различных направлениях биотехнологии. Кодон-оптимизация и химический синтез 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 рLysS, на основе синтетического гена фитазы *P.agglomerans*.

Химически синтезированный ген фитазы *P.agglomerans paPhyC* клонировали в молекулярный вектор экспрессии - рЕТ28b. Далее полученная конструкция была трансформирована в штамм *E.coli* DH5 α ; ПЦР-анализ полученных трансформантов подтвердил наличие гена фитазы в рекомбинантных штаммах. Полное соответствие гена *paPhyC* на плазмиде рЕТ28b рекомбинантного штамма гену фитазы *P. agglomerans* подтверждено результатами секвенирования. Рекомбинантную плазмиду трансформировали в штамм *E.coli* BL21 рLysS. Отбор трансформантов проводили на агаризованной среде с добавлением маркерных антибиотиков - канамицина (Km) и хлорамфеникола (Cm). Клонирование подтверждено анализом ПЦР и секвенированием с использованием специфических праймеров к гену фитазы.

Таким образом, нами получен рекомбинантный штамм *E.coli* BL21 рLysS с интегрированным синтетическим геном фитазы *P.agglomerans* . Изучение экспрессии данного фермента и его ферментативных свойств станет решающим этапом как в решении фундаментальных проблем, связанных с регулированием фосфорного обмена на клеточном уровне, так и в применении гена фитазы в биотехнологии растений.

Слова благодарности

Хочу выразить огромную благодарность своему научному руководителю Шариповой М.Р.