

Изучение целлюлазы из новой натронофильной археи *Natronobiforma cellulositropha* AArce15

Научный руководитель – Кубланов Илья Валерьевич

Угольников Ярослав Александрович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: ugolkov911@mail.ru

Способность галоархей гидролизовать целлюлозу в последнее время вызвала значительный интерес, поскольку гидролазы, которые катализируют этот процесс, должны быть чрезвычайно устойчивы к высоким концентрациям соли, а в некоторых случаях - и к высоким значениям pH. Одним из конкретных применений таких ферментов является получение биотоплива из отходов сельского хозяйства [1] - лигноцеллюлозы, поскольку этот процесс включает в себя стадию предварительной обработки щелочными или ионными жидкостями для уменьшения количества кристаллических участков в фибриллах целлюлозы. При этом работ, посвященных изучению свойств гликозидаз из галофильных архей достаточно мало.

Natronobiforma cellulositropha AArce15 является облигатными аэробными гетеротрофами с узким спектром субстратов, в который входят нерастворимая целлюлоза, целлобиоза, несколько растворимых глюкоанов и ксилан. При анализе генома штамма AArce15 и протеома клеток этого же организма, выращенных на целлюлозе, был выявлен ряд генов, кодирующих различные гликозидазы, в том числе и эндоглюканазы. Одним из них был исследуемый нами в данной работе (условное обозначение белка в данной работе - 7-2-1). Белок имеет теоретическую массу 60,04 кДа и содержит домен, относящийся к семейству гликозидаз GH5 согласно классификации CAZy. С помощью поиска гомологов этого белка с использованием BLAST было предположено, что данный белок имеет эндоглюканазную активность.

Для высокой экспрессии целевого белка применялся штамм *E.coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL, несущий вектор pET46/LIC с геном 7-2-1. Выращенные клетки лизировали при помощи сонификации. Фракция растворимых белков была использована для очистки белка с использованием Ni-аффинной хроматографии.

Результаты, полученные при помощи спектрофотометрического метода определения концентрации редуцирующих сахаров (моно- и дисахаридов) в пересчете на глюкозу, показали, что для изучаемого белка характерна эндоглюканазная активность по отношению к карбоксиметилцеллюлозе. На данный момент, наилучшие показатели активности были достигнуты при высокой концентрации NaCl (4M) и нейтральном pH(7,5). Так же был определен молекулярный вес белка, который почти в два раза превышает его гипотетический вес, с чем именно связано такое отличие еще предстоит изучить.

Автор выражает особую благодарность Кубланову Илье Валерьевичу, Александру Ельченинову Геннадьевичу за помощь в проведении исследования и оформлении курсовой работы

Источники и литература

- 1) Taha M, Foda M, Shahsavari E, Aburto-Medina A, Adetutu E, et al. Commercial feasibility of lignocellulose biodegradation: Possibilities and challenges. *Curr Opin Biotechnol* 2016;38:190–197.