

Исследование активности экспрессии промотора гена VDAC в клетках *Yarrowia lipolytica* при продолжительном культивировании на в различных условиях на сбраживаемом и несбраживаемом субстратах

Научный руководитель – Дерябина Юлия Ивановна

Красникова А.М.¹, Секова В.Ю.², Боброва Е.А.³

1 - Московский политехнический университет, Москва, Россия, *E-mail: aalinek@icloud.com*; 2 - Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия, *E-mail: beauveria606@gmail.com*; 3 - Московский политехнический университет, Москва, Россия, *E-mail: eckaterina.bobrova@icloud.com*

Полиэкстремофильные дрожжи *Yarrowia lipolytica* нашли широкое применение в качестве штамма продуцента различных биологически активных веществ, таких как жирные кислоты, липазы, протеазы. Особый интерес представляют технологии синтеза рекомбинантных белков с использованием данного биообъекта [1]. Ранее в протеоме *Y. lipolytica* Pofl нами было выявлено два щелочеиндуцибельных белка, одним из которых оказался митохондриальный порин (VDAC, Voltage Dependent Anion Channels) [2]. Промотор гена, кодирующего этот белок, был предложен в качестве перспективного индуцибельного промотора для синтеза рекомбинантных белков в щелочных условиях [3].

В данной работе мы изучали экспрессию промотора гена POR1 в ходе продолжительного культивирования в оптимальных (рН 5,5) и экстремальных (рН 9,0) условиях на сбраживаемом (1% глюкоза) и несбраживаемом (7,5% глицерин) субстратах. С этой целью была создана генетическая конструкция pUVLT2, содержащая модифицированный ген β -галактозидазы *E. coli* под контролем промотора гена POR1.

Было показано, что при росте на глицерине культура в обоих случаях имеет более высокую скорость роста и более высокую оптическую плотность культуры в стационарной стадии роста (ОП595=5 против ОП595=2.5).

Измерение активности β -галактозидазы в экспоненциальной (40ч), переходной (70ч) и стационарной (120ч и 140ч) стадиях роста показало, что в оптимальных условиях активность фермента (U/ μ г белка) почти одинакова в экспоненциальной стадии (28 и 23) достигает минимума как на глицерине так и на глюкозе (9 и 7 соответственно). При этом, культивирование на глицерине приводит к более резкому падению активности. Через 140ч роста активность снова возрастает, достигая значения 17-18.

Щелочной стресс приводит к заметному повышению активности β -галактозидазы на поздних стадиях роста, при этом при культивировании на глицерине максимум (43) достигается через 120 ч роста, после чего происходит резкое падение активности до 9. В случае культивирования на глюкозе в щелочных условиях активность фермента проходит минимум (14) на 70 ч роста, а максимальное значение (33) достигается через 40 часов роста.

Таким образом, максимальная экспрессия промотора щелочеиндуцибельного гена POR1 происходит при культивировании на несбраживаемом субстрате, при этом на 120 ч культивирования имеет максимальное значение, после чего резко снижается.

Источники и литература

- 1) Bankar A.V., Kumar A.R., Zinjarde S.S. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009. V. 84. № 5. P. 847-865 Ерова Е., Гусева М., Ковалыов Л., Исакова Е., Дерябина Ю., Белякова А., Зылкова М., Шеверев А. // Proteomic Applications in Biology. Croatia: InTech., 2012. P. 209–224 Куланбаева Ф. Ф., Секова В. Ю., Исакова Е. П., ДерябинаЮ. И., член-

корреспондент РАН. Николаев А. В. // Доклады академии наук. 2016. Т. 470, № 4,
С. 475–478