

**Экспрессия внеклеточных галофильных гликозил-гидролаз в археях  
семейства Halobacteriaceae**

**Научный руководитель – Шевченко Маргарита Андреевна**

**Скрипская Виктория Валерьевна**

*Студент (специалист)*

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

*E-mail: visknot@gmail.com*

Галофильные микроорганизмы населяют местообитания с высоким уровнем солености, приближенном к пределу существования жизни. Для того чтобы поддерживать метаболическую активность в экстремальных условиях, сопряженных с низкой активностью воды, осмотическим стрессом и снижением содержания кислорода, галофильные микроорганизмы обладают уникальными молекулярными механизмами осморегуляции, а также набором внутри- и внеклеточных ферментов. Наибольший интерес представляют галофильные гликозил-гидролазы, способные к деградации сложных нерастворимых природных полисахаридов в насыщенных растворах солей [1]. Получение данных ферментов в лабораторных условиях сопряжено с рядом сложностей, связанных с неправильным фолдингом в классических экспрессионных системах и необходимостью осуществления протеолитических пост-трансляционных модификаций для транспорта фермента через мембрану. В данном исследовании была предпринята попытка экспрессии внеклеточных галофильных гликозил-гидролаз с помощью системы экспрессии *Haloferax volcanii* [2].

Из эндоэвапоритовых отложений, отобранных в начале сентября 2017 года на соляных озерах о. Моция, Италия, с соленостью 170-270 ПЕС, были получены накопительные культуры, которые культивировались на минеральной среде (240 ПЕС) с добавлением хитина в качестве единственного источника углерода. В ходе исследований была выделена чистая культура галоархеи *Halomicrobium sp. LC1Hm*, обладающей хитинолитической активностью. Анализ генома *Halomicrobium sp. LC1Hm*, произведенный с помощью базы данных CAZy, программ HMMER и локальных алгоритмов BLAST показал наличие 26 гликозил-гидролаз (Ghs). В качестве объекта исследования были выбраны четыре из семи найденных гликозил-гидролаз III класса семейства GH18 (EC 3.2.1.14), входящие в состав одного оперона. Гены-кандидаты были клонированы в челночный плазмидный вектор pTA 1392, после чего была произведена PEG 600-опосредованная трансформация *Haloferax volcanii* и осуществлена триптофан-зависимая экспрессия рекомбинантных ферментов. Оценка эффективности экспрессии внеклеточных ферментов осуществлялась методом диффузии концентрированного супернатанта в агар на питательной среде HV-YPC с добавлением аморфного хитина. На следующих этапах работы планируется произвести оптимизацию экспрессии, а также исследовать возможность синергии изучаемых ферментов.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 18-34-00802). Автор выражает благодарность научному руководителю М.А. Шевченко и директору Института прибрежных морских экосистем (Италия) М.М. Якимову.

**Источники и литература**

- 1) De Lourdes Moreno M. et al. Halophilic bacteria as a source of novel hydrolytic enzymes //Life. 2013. Т. 3. №. 1. С. 38-51.

- 2) Allers T. et al. Improved strains and plasmid vectors for conditional overexpression of His-tagged proteins in *Haloferax volcanii* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. Т. 76. №. 6. С. 1759-1769.