

## Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

### Поиск оптимального сигнального пептида для гетерологичной секреции бациллярных протеиназ

*Тихонова А.О.<sup>1</sup>, Нямсүрэн Ч.<sup>2</sup>, Тойменцева А.А.<sup>3</sup>*

*1 - Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (ФГАОУВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет Биолого-почвенный факультет, 2 - Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Биолого-почвенный факультет, 3 - Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Биолого-почвенный, Казань, Россия  
E-mail: annatoymentseva@gmail.com*

Эффективность секреции - важный биотехнологический параметр, поскольку позволяет получить стабильные белки в активном состоянии. Поиск и оптимизация фермент-продуцирующих штаммов бактерий является важной задачей современной биотехнологии. В настоящей работе для получения промышленно важных ферментов – аналога субтилизина (ArgVp) и глутамилэндопептидазы (GseVp) – были использованы грам-положительные бактерии *Bacillus subtilis*, обладающие способностью выделять белки в среду культивирования (благодаря развитому Sec-зависимому пути секреции). Гены данных белков были амплифицированы с геномной ДНК клеток *Bacillus pumilus* и клонированы в состав новой LIKE экспрессионной системы под контроль антибиотико-индуцируемого промотора. Поскольку уровень экспрессии репортерных внутриклеточных генов (*lacZ*, *gfp*) намного превышал уровень экспрессии внеклеточных протеолитических генов (*argVp*, *gseVp*) возникла необходимость оптимизации используемой нами экспрессионной системы. С этой целью была использована стратегия оптимизации LIKE системы путем подбора оптимального сигнального пептида. Были выбраны три сигнальных пептида *Bacillus megaterium* (SPAsp, SPYngK, SPPac), эффективность которых была показана в отношении рекомбинантной внеклеточной гидролазы *Thermobifida fusca* (Tfh). Результат корректной интеграции сигнальных пептидов в LIKE-экспрессионные вектора и генов протеаз был подтвержден методом секвенирования. Разработанные конструкции в сочетании с использованием беспротеазных штаммов *Bacillus subtilis* позволят улучшить выход белков для производства промышленно-важных ферментов.

Работа поддержана федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы ГК № 16.740.11.0741.