

**Клонирование и гетерологичная экспрессия гена дезоксигипузингидролазы  
*Candida albicans* SC5314 в *E.coli*.**

**Научный руководитель – Валидов Шамиль Завдатович**

***Agboigba Esperant Elvis***

*Аспирант*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной  
медицины и биологии, Казань, Россия

*E-mail: kouranelvis@gmail.com*

*Candida albicans* (*C. albicans*) представляет собой условно-патогенный грибковый патоген, вызывающий широкий спектр слизистых и системных инфекций у лиц с ослабленным иммунитетом. Необходимо найти как селективное, так и менее токсичное лечение против *C. albicans*, и это можно было бы достичь путем нацеливания на регуляцию транскрипции и трансляции. Гипузинирование представляет собой посттрансляционную модификацию эукариотического трансляционного фактора 5а (eIF5A), при которой необычная аминокислота гипузин образуется из специфического остатка лизина. В этой модификации участвуют два фермента: дезоксигипузинсинтаза (DHS) и дезоксигипузингидроксилаза (ДОНН). На первой стадии гипузинирования аминобутильный фрагмент спермидина с помощью НАД переносится на epsilon;-аминогруппу лизина и образует дезоксигипузин, который затем гидроксيليруется дезоксигипузингидроксилазой (ДОНН) до гипузина. Сравнение генов ДОНН человека и *C.albicans* выявило различия в аминокислотных последовательностях, которые могут быть точечными мишенями для разработки противомикробных препаратов. Ген ДОНН (Genbank KNC88093.1) амплифицировали из геномной ДНК штамма *C. albicans* SC5314. Полученный фрагмент клонировали в плазмидный вектор pETGB1a. Экспрессию гена ДОНН в штамме *E. coli* BL21 при индукции изопропил-beta;-D-1-тиогалактопиранозидом позволила выделить растворимый белок 6xHis-GB1-CaДОНН. Дальнейшая обработка TEV протеазой и очистка привели к выделению чистого CaДОНН. Полученная конструкция и разработанный протокол выделения CaДОНН из *E. coli* позволяют получить очищенный белок для структурных исследований.

**Источники и литература**

- 1) Турпаев К.Т. Фактор трансляции eIF5A, модификация гипузином и роль в регуляции экспрессии генов. eIF5A как объект для фармакологических воздействий // Биохимия. 2018. Том 83. Выпуск 8. С. 1099-1110.
- 2) Kadosh D. Regulatory Mechanisms Controlling Morphology and Pathogenesis in *Candida albicans* // Microbiol. 2019 December; 52: 27–34.
- 3) Wator E. Half Way to Hypusine—Structural Basis for Substrate Recognition by Human Deoxyhypusine Synthase // Biomolecule. 2020. 10. 522.