

Сравнительное изучение экспрессии нативных и гибридных генов
 $\Delta 9$, $\Delta 12$ -десатураз *Synechocystis* sp. PCC 6803 в клетках *E. coli*
Х.Р.Шимшилашвили, Маали Реза, И.В.Голденкова-Павлова
Аспирант
Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН (ИОГен РАН).
E-mail:simpsomania@mail.ru

Введение.

Последние десятилетия огромное внимание уделяется молекулярным механизмам холодоустойчивости растений. В 1973 году была предложена гипотеза, согласно которой первичная роль в способности растений к перенесению холода отводилась мембранным липидам, в частности, их свойству фазовых переходов в зависимости от температуры окружающей среды. При воздействии низких температур мембраны становятся не способны поддерживать ионные градиенты. В результате чего клеточный метаболизм становится разобщенным, что в конце концов приводит к гибели клеток и всего организма. Способность растительных клеток к адаптации в таких условиях связывают с их способностью изменять текучесть мембран за счет изменения количества ненасыщенных жирных кислот в мембранных липидах, которое контролируется белками десатуразами. Знания биохимии и молекулярной биологии десатураз жирных кислот открывает широкие перспективы в области биотехнологии и сельского хозяйства, поскольку позволяет создание сортов и видов растений, способных переносить ограничения той или иной климатической зоны

Поскольку *desC* и *desA* гены кодируют белки, для определения ферментативной активности которых требуются значительные временные и материальные затраты, мы решили применить стратегию создания гибридных генов, состоящих из последовательности целевого гена и последовательности репортерного гена слитых в одной рамке считывания. В качестве репортерного гена был использован ген *licVM3* кодирующий термостабильную лихеназу. Эта репортерная система имеет ряд преимуществ, она обеспечивает использование более простых и чувствительных методов для анализа экспрессии гибридного гена, что позволяет проводить быстрый отбор трансгенных организмов, определять уровень экспрессии гибридных генов и молекулярные массы белковых продуктов гибридных генов.

Результаты и обсуждения.

Были сконструированы гибридные гены, содержащие репортерный ген термостабильной лихеназы и гены *desC* и *desA*, которые кодируют $\Delta 9$ - и $\Delta 12$ -десатуразы соответственно. далее, была изучена экспрессия этих генов в клетках модельных организмов про- и эукариот. Продемонстрировано, что в составе гибридных белков DesC-LicVM2 и DesA-LicVM2 десатуразы сохраняют способность катализировать введение двойной связи в соответствующие жирные кислоты, при этом активность гибридных белков не отличается от активности белков в нативном состоянии. Следует отметить, что в составе гибридных белков DesC-LicVM2 и DesA-LicVM2 лихеназа сохраняет свои основные свойства (термостабильность и активность) .

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (06-04-81009-Бел_a, 05-04-49186-a).