

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Фитазы – микробные ферменты современной биотехнологии

Ахметова Алина Ильдусовна

Аспирант

Казанский (приволжский) федеральный университет, Биолого-почвенный, Казань, Россия

E-mail: akhmetova1987@rambler.ru

Фитазы – микробные ферменты современной биотехнологии

Революционным и прикладным открытием в кормлении за последние десять лет стало повышение его эффективности за счет использования кормовых ферментов. Фитаза микроорганизмов – это особая группа фосфатаз, обладающих способностью катализировать последовательный гидролиз фитата на менее фосфорилированные производные инозитола и неорганический фосфат [1]. Фитазы практически не вырабатываются в пищеварительном тракте свиней, птицы и других животных с однокамерным желудком. Из-за недостатка упомянутого фермента фитиновый фосфор проходит без изменений по пищеварительному тракту животных и выходит с пометом, который позднее в качестве органического удобрения вносится в почву. Добавление в животные корма фитазы микроорганизмов даст возможность усваивать фосфор непосредственно из ингредиентов кормов и сократит количество фосфатов в помете [2].

В ходе работы из образцов почв различных сельскохозяйственных предприятий Республики Татарстан были выделены микроорганизмы разрушающие фитат. Далее был проведен скрининг микроорганизмов на максимальную активность фитазы и определение видовой принадлежности изолятов на основании 16S рРНК. Было выяснено, что большинство фитат гидролизующих штаммов относится к роду энтеробактерий и лишь один является представителем рода *Bacillus*, а именно *B. ginsengihumi*.

Целью данной работы было секвенирование гена фитазы и получение амплификатов гена для дальнейшего клонирования.

Ген фитазы является консервативным геном и высоко гомологичен у представителей рода бацилл. В связи с тем, что ген фитазы *B. ginsengihumi* ранее секвенирован не был, в ходе работы была использована известная последовательность гена фитаза *B. subtilis* [3], на основе которой были смоделированы праймеры для амплификации. В ходе работы были сконструированы две пары праймеров для увеличения вероятности прохождения реакции амплификации. Праймеры были сконструированы так, чтобы репликация ДНК полимеразой начиналась со стартового кодона и заканчивалась стоп-кодоном гена, амплифицировав при этом всю рамку считывания гена. В результате ПЦР нами был получен фрагмент ДНК, размер которого соответствовал размеру гена *phy* в 1149 п.н. Были оптимизированы условия прохождения ПЦР, а именно подбор температуры отжига праймеров для наиболее эффективной амплификации гена. Нами были выбраны четыре температуры: 56°C, 58°C, 60°C, 62°C. В ходе работы было выяснено, что наиболее оптимальной является температура 60°C, т.к. именно при этой температуре увеличивается специфичность и возрастает эффективность отжига. Полученный пцр-амплификат гена *phy* был отсекувенирован. Выяснено, что молекулярная масса фитазы *B. ginsengihumi* соответствует 42 кДа.

Таким образом, нами был получен и отсекувенирован ген фитазы *B. ginsengihumi*.

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

Литература

1. Wyss, M. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties / M.Wyss, R.Brugger, A .Kronenberger, R.Remy, R.Fimbel, G.Oesterhelt, M.Lehmann, A.P. van Loon // Appl Environ Microbiol. – 1999. – V.65. – P.367–373.
2. Leesen, C. Efficacy new bacterial phytase among ration poultry / H. Namkung, M. Kottiril, C. Leesen, C. W. Forsberg // Anim. Sci. 2000. – V. 80. – P. 527-528.
3. Международный сервер <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>