

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Тестирование различных сигнальных пептидов для эффективной гетерологичной секреции бациллярных протеиназ

Тихонова А.О.¹, Тойменцева А.А.², Шарипова М.Р.³

*1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, 2 - Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Биолого-почвенный, 3 - Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Биолого-почвенный факультет, Казань, Россия
E-mail: tihonovaa093@gmail.com*

Понимание механизма транслокации белка через мембрану позволяет разработать эффективную стратегию производства отдельного фермента. Так, часто используют системы экспрессии в комбинации с реципиентными штаммами, которые лишены собственных протеиназ. В настоящей работе для получения промышленно важных ферментов – сериновых протеиназ бацилл, была использована LIKE–система экспрессии. Использование этой системы дало возможность получить высокий уровень внутриклеточного белка. Для повышения секреции рекомбинантных белков необходимым условием является наличие сильного сигнального пептида (SP). Анализ данных литературы позволил выявить три сигнальные последовательности (SP_{Pac}, SP_{Yngk}, SP_{Asp}) *Bacillus megaterium*, которые показали высокий уровень секреции внеклеточной гидролазы *Thermobifida fusca* – в 6 раз выше по сравнению с собственным сигнальным пептидом. Сравнительный анализ *in silico* рекомбинантных сигнальных пептидов с использованием on-line программы PrediSi (<http://www.predisi.de/>) позволил выявить индекс эффективности секреции для рекомбинантных сигнальных пептидов, который составил – 0,7 для SP_{Pac}, 0,99 для SP_{Yngk} и 0,81 для SP_{Asp}. Также оценивали сигнальные пептиды сериновых протеиназ AprBp и GseBp *B. pumilus*, индекс эффективности секреции которых составил – 0,6 и 0,67, соответственно. Таким образом, использование программного алгоритма PrediSi позволило оценить перспективность секреции целевого белка под контролем различных сигнальных пептидов. Разработанные с помощью биоинформационных подходов рекомбинантные конструкции в сочетании с беспротеазными штаммами *B. subtilis* показали увеличение выхода белка в 2-3 раза и могут быть рекомендованы в качестве технологической основой для получения целевого белка в промышленном масштабе.