

Влияние L-лизина на биосинтез L-треонина клетками *Escherichia coli*.

Научный руководитель – Нетрусов Александр Иванович

Хозов Андрей Александрович

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия

E-mail: khozov@me.com

Ключевой добавкой к рациону человека и сельскохозяйственных животных являются незаменимые аминокислоты, поскольку они не синтезируются самим организмом и должны потребляться с пищей или кормом [3]. Существует множество методов производства незаменимых аминокислот, однако среди них процесс ферментации с помощью микроорганизмов является наиболее перспективным и экономически выгодным способом, который напрямую зависит от качества штамма-продуцента. Модификация метаболизма *Escherichia coli*, направленная на увеличение синтеза целевого продукта, является одной из наиболее изученных и применяемых систем в производстве аминокислот [2].

Важной мишенью в пути биосинтеза L-треонина является аспартаткиназа. В *E. coli* аспартаткиназа присутствует в виде трех изоферментов ThrA, MetL и LysC, каждый из которых регулируется L-треонином, L-метионином и L-лизинем. Известно, что экспрессия гена *lysC* репрессируется L-лизинем [1, 4], в результате чего избыточное накопление L-лизина в клетках *E. coli* резко уменьшает уровень продукции L-треонина. Более того, было показано, что инактивация основного переносчика L-лизина из культуральной среды в клетки *E. coli* увеличивает продукцию L-треонина в результате уменьшения внутриклеточной концентрации L-лизина.

В ходе настоящего исследования было изучено влияние усиления оттока L-лизина из цитоплазматической мембраны *E. coli* на продукцию L-треонина, путем оверэкспрессии его основного экспортера *LysO* на среднекопийном векторе pBR322, мультикопийном векторе pUC19, а также путем замены нативного промотора *LysO* на pRM промотор фага λ с рандомизированной парой нуклеотидов в положении 57-58. В результате сконструированные штаммы, несущие хромосомные копии гена *lysO* под pRM промотором, а также оверэкспрессированным геном *lysO* на плазмиде pBR322 демонстрировали увеличение продукции L-треонина.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу теории о репрессии аспартаткиназы (*LysC*) его конечным продуктом - L-лизинем, а также открывают новый способ увеличения продукции L-треонина путем усиления оттока L-лизина и уменьшения его внутриклеточной концентрации.

Источники и литература

- 1) Cassan M., Parsot C., Cohen G.N., Patte J.C. Nucleotide sequence of *lysC* gene encoding the lysine-sensitive aspartokinase III of *Escherichia coli* K12. Evolutionary pathway leading to three isofunctional enzymes // *Journal of Biological Chemistry*. 1986, №261(3). p. 1052.
- 2) Lee K.H., Park J.H., Kim T.Y., Kim H.U., Lee S.Y. Systems metabolic engineering of *Escherichia coli* for L-threonine production // *Molecular Systems Biology*. 2007, №3. p. 149.

- 3) Tang Q, Tan P., Ma N., Ma X. Physiological Functions of Threonine in Animals: Beyond Nutrition Metabolism // Nutrients. 2021.
- 4) Thèze J., Margarita D., Cohen G.N., Borne F., Patte J.C. Mapping of the structural genes of the three aspartokinases and of the two homoserine dehydrogenases of Escherichia coli K-12 // Journal of Bacteriology. 1974, №117. p. 133-43.