**Разработка нового ферментного препарата глюкоамилазы на основе рекомбинантного штамма Penicillium verruculosum MtGLA**

***Комарова М.И.***

*Студент, 5 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail:* *komarova.maria.iv@gmail.com*

Глюкоза, получаемая при ферментативном гидролизе крахмал-содержащего сырья (КСС), используется в пищевой и алкогольной промышленности, для получения продуктов микробиологического синтеза, а также для производства биотоплива первого поколения.

Ферментативный гидролиз КСС проходит под действием фермента глюкоамилазы (ГА). ГА катализируют последовательное удаление 1,4-связанных остатков α-D-глюкозы из нередуцирующих концов полимерных α-D-глюканов или мальтоолигосахаридов с высвобождением β-D-глюкозы по инвертирующему механизму. Крахмал, амилоза, амилопектин, пуллулан и мальтоолигосахариды являются естественными субстратами для глюкоамилаз [1].

Одним из источников ГА может стать мицелиальный гриб *Penicillium verruculosum*, на базе которого разработана современная экспрессионная платформа для получения технических ферментов. В собственном ферментном комплексе, секретируемом P. verruculosum, содержатся также ксилан- и β-глюкан-деградирующие ферменты, что может стать преимуществом при биоконверсии растительного сырья.

Глюкоамилаза *Myceliophthora thermophila* (MtГА) обладает рядом уникальных свойств, по сравнению с глюкоамилазой *Penicillium verruculosum* (PvГА). Гомогенная MtГА проявляет в 2-5 раз более высокую специфическую активность, чем гомогенная PvГА в отношении растворимого крахмала, амилозы, амилопектина и мальтозы. MtГА также обеспечивает более высокий выход глюкозы при длительном гидролизе полимерного субстрата. Оптимум активности MtГА наблюдается в менее кислой области pH 5,5, по сравнению с PvGla pH 4,0, что может быть значительным преимуществом для использования в промышленных целях [2]. Поэтому разработка нового ферментного препарата ФП глюкоамилазы из *M. thermophila* на основе экспрессионной системы *P. verruculosum* обладает актуальностью и потенциалом в практическом применении при гидролизе КСС из пшеницы или кукурузы.

С помощью методов генетической инженерии, ген *gla1*, кодирующий MtГА, был клонирован и экспрессирован в штамме-реципиенте *P. verruculosum* 537. Полученные траснсформанты были отобраны по критерию наибольшей глюкоамилазной активности. Проведено культивирование наиболее активных рекомбинантных штаммов серии *P. verruculosum* MtГА и получены сухие формы ФП. Описаны биохимические свойства новых ФП, такие как термостабильность и pH-стабильность, а также определены специфические ферментативные активности.

**Литература**

1. Horvathova V., Janecek S., Sturdik E. Amylolytic enzymes: their specificities, origins and properties // Biologia. 2000. Vol. 55. P. 605-615.

2. Volkov P. V., Rozhkova A. M., Gusakov A. V.et al. Glucoamylases from Penicillium verruculosum and Myceliophthora thermophila: Analysis of differences in activity against polymeric substrates based on 3D model structures of the intact enzymes // Biochimie. 2015. Vol. 110. P. 45-51.