**Получение и изучение цистеинсинтазы А из *Limosilactobacillus reuteri* LR1.**

***Лесь Е.К., Шапошников Л.А., Тишков В.И., Пометун А.А.***

*Студент 2-ого курса магистратуры, биотехнологический факультет*

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

*Биотехнологический факультет, Химический факультет, Москва, Россия*

*Email:* [*evglesk2001@gmail.com*](mailto:evglesk2001@gmail.com)

Внутрибольничные (госпитальные, нозокомиальные) инфекции — это все клинически выраженные заболевания, вызываемые патогенными микроорганизмами, которые поражают человека во время его пребывания в лечебном учреждении либо после выписки из него. Лечение внутрибольничных инфекций остаётся не решённой проблемой. Одной из основных причин проблематичности лечения данных заболеваний является то, что их возбудители — штаммы со множественной лекарственной устойчивостью, в том числе к широкому спектру антибиотиков. Среди данных штаммов-возбудителей инфекций, чаще всего, встречаются представители родов *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Klebsiella* и *Escherichia*.

Было обнаружено, что при культивировании штаммов *Limosilactobacillus* *reuteri* LR1 и *Lacticaseibacillus* *rhamnosus* F на биопленках патогенов рода *Klebsiella,* происходит ингибирование роста и гибель последних. Протеомный анализ выявил, что при совместном культивировании с патогенами лактобактерии вырабатывают ряд новых ферментов, отсутствующих в обычных условиях. Одним из этих ферментов является цистеинсинтаза A (CysK, EC: 2.5.1.47), отвечающая за синтез аминокислоты цистеина из O-ацетил-L-серина.

Целью работы является получение рекомбинантной цистеинсинтазы A в активной и растворимой форме и её характеристика.

Ген CysK из *L.reuteri* (штамм был любезно предоставлен ВНИИ молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»)) клонировали в плазмиду pET24aс добавлением последовательности, кодирующей 6 аминокислотных остатков гистидина (гистаг) на N‑конец фермента (CysK\_HisN). Ген CysK\_HisN был экспрессирован в клетках *E.coli* BL-21(DE3)CodonPlus/pLysS и фермент был получен в активной и растворимой форме.

Фермент CysK\_HisN очищали методом метал-хелатной хроматографии до практически гомогенного состояния. Активность белка была определена по накоплению продукта Cys с помощью гидрофильной ВЭЖХ. В результате был получен рекомбинантный фермент CysK\_HisN из *L. reuteri,* обладающий активностью, а также было начато систематическое изучение физико-химических и кинетических свойств этого фермента.

*Данное исследование проводится с финансовой поддержкой РНФ по гранту № 23-64-10029.*