

**Особенности разложения целлюлозы у гипертермофильной археи
Thermofilum “adornatus” 1910b.**

Научный руководитель – Кубланов Илья Валерьевич

Пиунова Ульяна Евгеньевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: ulya.ulichka@gmail.com

Домен Археи (Archaea) является третьим доменом живых организмов наряду с доменами Bacteria и Eukarya и включает множество глубоких филогенетических групп, из которых наиболее хорошо изучены *Euryarchaeota* и *Crenarchaeota*, для представителей которых характерны уникальные места обитания, отличный от бактерий и эукариот метаболизм и особенности адаптации к условиям окружающей среды [1].

Представители рода *Thermofilum* из филума *Crenarchaeota* являются анаэробными, гипертермофильными сахаралитическими археями и способны к гидролизу сложных полисахаридов, в том числе целлюлозы. Для одного из представителей данного рода, *T. “adornatus”* str. 1910b, была показана способность разлагать целлюлозу. Однако в его геноме не было обнаружено гомологов ранее охарактеризованных целлюлаз, что позволяет предположить наличие уникальных семейств гидролаз либо вовлечение в этот процесс семейств ферментов, для которых такой функции ранее показано не было.

Данная работа посвящена идентификации и характеристике ферментов штамма 1910b, вовлеченных в расщепление целлюлозы.

Для поиска неизвестных целлюлаз был проведен протеомный анализ штамма, выращенного на целлюлозе (опыт) и на пирувате (контроль). С помощью статистического анализа были показаны достоверные различия в экспрессии белков в опыте и контроле. Для выявления потенциальных целлюлаз принимались во внимание: гомология белка с известными биохимически охарактеризованными белками других организмов, их филогенетические отношения, наличие каталитических доменов, локализация белка в клетке, а также геномное окружение. Были отобраны 4 белка (N186_RS00225, N186_RS00230, N186_RS00340 и N186_RS00345), потенциально участвующие в разложении целлюлозы.

Для получения рекомбинантных белков последовательности ДНК, кодирующие вышеперечисленные белки, были заклонированы в вектор pLate51 и трансформированы в экспрессионный штамм *E. coli* BL21 (DE3). После индукции целевого белка была произведена первичная качественная оценка неочищенных препаратов рекомбинантных белков с помощью тонкослойной хроматографии и визуализации зон на агарозных чашках с субстратом.

Для рекомбинантного белка N186_RS00345) была показана целлюлазная (эндоглюкканазная) активность после инкубации 16 ч при 80С. Для остальных белков были показаны экзоглюкканазные активности.

Следующим этапом будет количественная и качественная оценка гидролитической активности очищенных препаратов ферментов, а также их дальнейшая характеристика в случае положительного результата.

Источники и литература

- 1) Christopher Bräsen, Dominik Esser, Bernadette Rauch, Bettina Siebers. Carbohydrate Metabolism in Archaea: Current Insights into Unusual Enzymes and Pathways and Their

Regulation. Microbiol Mol Biol Rev. 2014 Mar; 78(1): 89–175. doi: 10.1128/MMBR.00041-13