

ВЫЖИВАЕМОСТЬ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЗМОВ ПОСЛЕ ТРАНСФОРМАЦИИ ПЛАЗМИДОЙ, НЕСУЩЕЙ ГЕН СЕЛЕНОФOSFATCИНТЕТАЗЫ

А.И. Стенько, Ю.В. Преображенская

УО «Гродненский государственный университет им. Я. Купалы», Гродно, Беларусь
Yuliya.Preabrazh@gmail.com

Селенофосфатсинтетаза (СФС), один из ключевых ферментов селенового метаболического пути, является продуктом гена SelD у бактерий [1]. У эукариот данный ген представлен двумя гомологичными последовательностями, СФС I и СФС II, продуктами которых являются два разных белка, из которых только СФС II является селенопротеином. Биологическая функция продукта гена SelD заключается в синтезе селенофосфата, универсального донора селена в клеточных процессах. Селенофосфат необходим как для биосинтеза селеноцистеина в селенозависимых ферментах, так и для конверсии остатков 2-тиоуридина в 2-селеноуридин в т-РНК [2]. Однако, попытка заменить ген SelD на СФС II не увенчалась успехом – при вставке гена СФС II, выделенного из млекопитающих, в культуру *E. coli*, дефицитную по SelD, рост культуры заметно угнетался, что свидетельствовало о летальности замены бактериального гена на гомолог из млекопитающих [3]. Для получения организма – продуцента селенофосфатсинтетазы нами был использован для экстрагирования ДНК и клонирования СФС штамм *E. coli* DH5 α . Однако, после успешного ПЦР и вставки гена в плазмиду было выявлено, что гомолог СФС у штамма *E. coli* DH5 α содержит в 14-м положении не Gly, как было показано для штамма MB08 [4, 5], использовавшегося для создания генного продукта СФС ранее, а Met. Как и предполагалось, полученный продуцент не показал роста на обычной среде МПА с ампициллином, т.е. замена гена SelD на гомологичный оказалась летальной для штамма.

Ген СФС был экстрагирован из штамма *E. coli* BL21 Gold (Stratagene), любезно предоставленного нашими американскими коллегами д-ром Альтерманом и группой (FDA, Бетесда, США).

При вставке в плазмиду pET11a гена СФС, выделенного из *E. coli* BL21 Gold, получили генный продукт длиной 6691 пар оснований. Плазмида pET11a, содержащая вставленный ген СФС, была трансформирована в штамм *E. coli* DH5 α .

Наблюдался усиленный рост микроорганизмов *E. coli* DH5 α после посева в среду с ампициллином. КОЕ было равно 520 - 540 колоний на чашку, эффективность трансформации составила 1x125 КОЕ/мкг плазмидной ДНК, что составляет 115 % от нормы. Как видно, клонирование гена селенофосфатсинтетазы бактериального происхождения в штамм *E. coli* DH5 α повышает жизнеспособность культуры за счет повышенной способности утилизировать селен.

1. X.-M. Xu, B.A. Carlson, R. Irons, N. Zhong, V.N. Gladyshev, D.L.Hatfield (2007) *Biochem J.*, 404, pp. 115-120.
2. M.Hirosava-Takamori, H/Jaeckle, G.Vorbruggen (2000) The class 2 selenophosphate synthetase gene of *Drosophila* contains a functional mammalian-type SECIS. *EMBO reports*, 1 (5), pp. 441-446.
3. T.Tamura, S.Yamamoto, M.Takahata et al. (2004) *PNAS*, 101 (46), 16162-16167.
4. I.-Y. Kim, T.C. Stadtman (1994) *PNAS*, 91, pp. 7326-7329.
5. Y. Preabrazhenskaya., T. Stadtman. (2006) Stoichiometric relations between ATP- and its fluorescent derivative TNP-ATP- binding to selenophosphate synthetase from *E.coli*. 4th Annual Fellows Retreat, Abs.- NHLBI, Bethesda, USA.- P.24.