

**Булатовский А. Б.¹, Биричевская Л. Л.², Рымко А. Н.², Рудак Е. В.³,
Михальчук А. Л.³, Кисель М. А.³, Зинченко А. И.^{1,2}**

¹Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова,

²Институт микробиологии НАН Беларуси,

³Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

СОЗДАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

5-аминолевулиновая кислота (5АЛК) – предшественник биосинтеза протопорфирина IX, является физиологически активным компонентом средств для применения в медицине (фотодинамическая диагностика и терапия многих типов злокачественных новообразований), косметологии и агропромышленном производстве (адаптогенные и ростстимулирующие средства для растений).

Ранее в Институте биоорганической химии НАН Беларуси был разработан и запатентован (патент № 10019, РБ) оригинальный химический способ получения 5-АЛК. Практическая реализация химического способа получения 5-АЛК выявила ряд неблагоприятных аспектов экологического и экономического характера, что указывает на целесообразность разработки более прогрессивного, менее загрязняющего для окружающей среды и более безопасного способа ее производства, например, посредством генно-инженерных микроорганизмов. Учитывая изложенное выше, целью настоящего исследования явилось создание бактериального штамма-суперпродуцента 5-АЛК. Основанием для постановки такой задачи явилась информация о том, что у бактерий т.н. C₄-путь синтеза 5-АЛК протекает в одну ферментативную стадию с участием 5-АЛК-синтетазы, которая для этого использует глицин и сукцинил-КоА, поступающий из цикла трикарбоновых кислот.

Ген *hemA*, кодирующий 5-АЛК-синтетазу, был выделен методом ПЦР с использованием в качестве матрицы геномной ДНК *Bradyrhizobium japonicum* и встроен в вектор pET42a(+). Созданной конструкцией были трансформированы клетки *Escherichia coli* BL21 (DE3).

В результате проведенного исследования получен новый генно-инженерный штамм *E. coli* p5ala – продуцент 5АЛК-синтетазы. Согласно электрофоретическому анализу в полиакриламидном геле, содержание 5-АЛК-синтетазы в клетках штамма-продуцента составило около 7% от суммарного количества клеточных белков, что превышает содержание этого фермента в исходном штамме в 20 раз. При этом концентрация 5-АЛК в культуральной жидкости увеличилась с 0,13 до 3,80 мМ. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования рекомбинантного штамма *E. coli* p5ala в качестве элемента биологической технологии получения 5АЛК.

Bulatovskij A. B., Birichevskaya L. L., Rymko A. N., Rudak E. V., Mikhail'chuk A. L., Kisel M. A., Zinchenko A. I.

ENGINEERING OF BACTERIAL STRAIN SUPERPRODUCING 5-AMINOLEVULINIC ACID

The gene *hemA* encoding 5-aminolevulinic acid synthase (5-ALAS) was isolated from genomic DNA of *B. japonicum* by the polymerase chain reaction method. The gene was cloned in pET42a(+) vector. A recombinant strain named *E. coli* p5ala superproducing bacterial 5-ALAS was constructed. 5-ALAS contents in cells of the strain-producer accounted for about 7% of overall amount of cellular proteins which exceeded the ratio of this enzyme in a stock strain by 20 times. As a result, concentration of 5-aminolevulinic acid rose from 0,13 to 3,80 мМ.