

**Радевич Д. С.¹, Щеколова А. С.¹, Рымко А. Н.¹,
Казловский И. С.², Квач С. В.¹, Зинченко А. И.^{1,2}**

¹Институт микробиологии НАН Беларуси,

*²Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова,
г. Минск, Республика Беларусь*

СОЗДАНИЕ НАБОРА РЕКОМБИНАНТНЫХ ВЕКТОРОВ, КОДИРУЮЩИХ ГЕН ДИАДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ В СЛИЯНИИ С ГЕНАМИ БЕЛКОВ-ПАРТНЕРОВ

Сравнительно недавно установлено, что некоторые циклические динуклеозидмонофосфаты обладают мощными иммуностимулирующими свойствами. Одним из таких соединений является циклический 3',5'-диадено-

зинмонофосфат (цикло-диАМФ), который может служить вакцинным адьювантом и противовирусным агентом. Известно, что в клетке синтез цикло-диАМФ происходит в одну стадию путем конденсации двух молекул АТФ под действием бактериального фермента – диаденилатциклазы.

Продукция бактериальной диаденилатциклазы в клетках рекомбинантных штаммов *Escherichia coli* является основным этапом биотехнологического получения цикло-диАМФ. Несмотря на удобства работы с клетками *E. coli*, многие белки продуцируются в них в форме неактивных водонерастворимых белковых агрегатов. Повышать растворимость целевых белков можно путем клонирования кодирующих их генов в различные плазмидные векторы, несущие гены белков-партнеров. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось создание набора генетических конструкций, содержащих ген диаденилатциклазы *Bacillus thuringiensis*, слитый с генами, кодирующими различные белки-партнеры.

На первом этапе работы методом ПЦР амплифицировали гены белков-партнеров: *dsbC* (кодирует дисульфидизомеразу *E. coli*), *dsbA* (кодирует дисульфидоксидоредуктазу *E. coli*), *nusA* (кодирует N-утилизирующую субстанцию А *E. coli*), *trx* (кодирует белок тиоредоксин *E. coli*) и *sumo* (кодирует небольшой убиквитин-подобный белок *Saccharomyces cerevisiae*); а также нуклеотидные последовательности *azuLid* и *pelB* (кодирующие лидерные пептиды белков азурин и пектат лиазы *Pseudomonas aeruginosa*, соответственно). На втором этапе исследования амплифицировали ген *disA*, кодирующий целевой белок диаденилатциклазы *B. thuringiensis*. На следующем этапе работы методом ПЦР получена линейная форма вектора рЕТ42а(+). На заключительном этапе работы методом ПП-ПЦР собирали конструкции на основе вектора рЕТ42а(+), несущие ген целевого белка в слиянии с геном белка-партнера.

Таким образом, в результате выполненной работы, сконструирован набор генно-инженерных конструкций, содержащих ген диаденилатциклазы *B. thuringiensis*, слитый с генами, кодирующими различные белки-партнеры.

Radevich D. S., Shchokolova A. S., Rymko A. N., Kazlovskij I. S., Kvach S. V., Zinchenko A. I.

CONSTRUCTING A SET OF RECOMBINANT VECTORS CARRYING DIADENYLATE CYCLASE GENE FUSED WITH GENES OF PARTNER PROTEINS

Performed experiments resulted in a kit of genetically engineered vectors encoding the gene of *B. thuringiensis* diadenylate cyclase fused with genes of various protein partners: *dsbC* (encoding disulfide isomerase of *E. coli*), *dsbA* (encoding disulfide oxidoreductase of *E. coli*), *nusA* (encoding N-utilizing substance A of *E. coli*), *trx* (encoding thioredoxin protein of *E. coli*) and *sumo* (encoding the small ubiquitin-like protein of *S. cerevisiae*); and leader nucleotide sequences *azuLid* and *pelB* (encoding the leader peptides of azurine and pectate lyase from *P. aeruginosa*, respectively).