

**Биотехнология получения дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*,
экспрессирующих кДНК-ген лактазы человека и разработка процесса
производства рекомбинантной лактазы**

Якименко Ольга Андреевна

Студент (бакалавр)

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

E-mail: olga77794@mail.ru

Лактоза (молочный сахар) является ключевой составляющей молока млекопитающих и важнейшим источником углеводов на протяжении неонатального периода.

Лактаза-флоризингидролаза, более известная как лактаза - фермент тонкой кишки из семейства бета-галактозидаз, ответственна за расщепление лактозы на absorbируемые моносахариды, глюкозу и галактозу [4]. Данный фермент является ключевым в питании новорожденных, так как основным источником питания у них является молоко, а лактоза является его главным углеводным компонентом [2].

Лактазная недостаточность (ЛН) является широко распространенной патологией желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) во всем мире. Частота встречаемости ее чрезвычайно разнообразна, зависит от этнической принадлежности пациента и варьирует от 5% в северо-западной Европе до 100% среди некоторых народов Азии [5].

По данным различных авторов, от 10 до 50% населения Казахстана (в зависимости от национальности) имеют признаки пищевой непереносимости, обусловленной частичным или полным отсутствием фермента лактазы в тонкой кишке [1]. Дефицит лактазы может носить как врожденный (наследственная алактазия, гиполактазия), так и приобретенный, вторичный, характер (вторичная лактазная недостаточность) [3].

Целью исследования: являлось разработать биотехнологию получения дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, экспрессирующих кДНК-ген лактазы человека и разработка процесса производства рекомбинантной лактазы.

Для решения поставленных задач проекта были использованы методы молекулярной биологии, биохимии, иммунологии и генетической инженерии. Для компьютерного анализа нуклеотидных последовательностей рекомбинантных генов, регуляторных последовательностей, продуктов трансляции генов, а также для дизайна праймеров использовались программы Gene Runner, RNA-structure, Vector NTI, NetGene2.

Методы генетической инженерии были использованы для создания конструкций, позволяющих экспрессировать рекомбинантный ген *hLCT*, содержащие по 6 гистидиновых кодонов на 5'- или 3'-фланге открытой рамки считывания (ОРС). Данное исследование было обеспечено лабораторной инфраструктурой, приборами, реагентами, плазмидами для молекулярного клонирования, созданными на основе векторов pBluescript KS(II)+, pET23b, штаммами *E. coli* как для клонирования так и для экспрессии рекомбинантных генов BL21 и Lys-star. Получение всех ДНК-конструкций будет осуществляться согласно стандартным протоколам клонирования [6].

Белки были анализированы электрофорезом в полиакриламидном (ПАА) геле с додецилсульфатом натрия (SDS) и идентифицированы иммуноблотингом с использованием коммерческих антител. Белки, содержащие последовательность 6His-tag, были выделены хроматографией ИМАС (immobilized metal ion affinity chromatography) с использованием Ni-NTA агарозы.

