

**Исследование локализации рекомбинантной люциферазы гриба
*Neonothopanus nambi***

Научный руководитель – Чепурных Татьяна Владимировна

Шахова Екатерина Сергеевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия

E-mail: ekashakhova31@gmail.com

Люциферазы - специфические ферменты, инициирующие биохимическую реакцию окисления низкомолекулярного органического субстрата - люциферина с образованием оксилуциферина, который в дальнейшем испускает квант видимого света. В нашей лаборатории была расшифрована структура люциферина высших биолуминесцентных грибов [1], а впоследствии была найдена люцифераза гриба *Neonothopanus nambi*, которая не обладает значительной гомологией с уже описанными белками. Перед нами стоит задача исследовать внутриклеточную локализацию рекомбинантной люциферазы гриба *Neonothopanus nambi*. При выделении рекомбинантного фермента из клеток дрожжей *Pichia pastoris* он был получен в виде микросомальной фракции, что указывает на его мембранную локализацию. Также в данном ферменте была предсказана трансмембранная спираль на N-конце биоинформатическими методами. Нами были созданы различные генетические конструкции, кодирующие как полноразмерную люциферазу, так и укороченный вариант с частичным удалением предсказанного трансмембранного домена, слитую с коммерческим флуоресцентным белком TagGFP2 (Евроген). На следующем этапе были произведены трансфекции данными генетическими конструкциями культур клеток млекопитающих совместно с флуоресцентными генетически кодируемыми метками внутриклеточной локализации (ядра, митохондрий, аппарата Гольджи, клеточных мембран, эндоплазматического ретикулума). Все генетические конструкции после экспрессии были проверены на функциональность люциферазы. Кроме того, был сделан иммуногистохимический анализ с использованием антител к люциферазе, была исследована локализация как полноразмерной люциферазы, так и укороченной, а также перечисленных выше конструкций. Планируется уточнение локализации с использованием микроскопии сверхвысокого разрешения. Информация о локализации люциферазы гриба *Neonothopanus nambi* позволит нам лучше спланировать прикладное применение этого фермента и методы его дальнейшей очистки.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ, идентификатор проекта RFMEFI61317X0062.

Источники и литература

- 1) Purto, K. V. et al. The Chemical Basis of Fungal Bioluminescence // *Angew. Chem., Int. Ed.* 2015, 54, 8124 –8128.