

ня цього білка для діагностики інфекції. У зв'язку з цим важливим є отримання пластівцевоютворюючого фактора в достатній кількості. І оскільки ефективних методів виділення його із клітинної стінки *S. aureus* не знайдено, альтернативою є експресія рекомбінантного пластівцевоютворюючого фактора у клітинах *Escherichia coli*.

В наших дослідженнях використано люб'язно наданий проф. Т. Фостером (Trinity College, Republic of Ireland) штам-продуцент, отриманий на основі реципієнта *E. coli* XLI-Blue. Штам-реципієнт був трансформований сконструйованою за допомогою вектора pQE30 плазмідною pCF41, що містить фрагмент гена *clfA* *S. aureus*, який кодує лігандзв'язувальний домен пластівцевоютворюючого фактора (221–559 залишки).

Виявлено, що для генноінженерної конструкції, яка забезпечує експресію рекомбінантного пластівцевоютворюючого фактора, характерна нестабільність, що обумовлено швидкою елімінацією рекомбінантної плазмиди із клітин *E. coli* у процесі культивування. Попередній скринінг високопродуктивних клонів, які синтезують не менше 18–20% рекомбінантного білка, дозволяє зменшити накопичення в популяції безплазмідних клітин. Стабільність експресії залежить також від умов культивування та кількості антибіотика, що додається у середовище. Показано, що однократне додавання ампіциліну (100 мкг/мл) на початку ферментації є недостатнім для забезпечення істотного переважання в популяції продуктивних клітин, які містять плазмиду (Ap^r). Високого рівня біосинтезу рекомбінантного білка

можна досягти за рахунок підвищення концентрації антибіотика до 200 мкг/мл та періодичного додавання тієї самої його кількості через кожні 2 години культивування, а після індукції ІПТГ – через 1 годину.

Підібрано середовище культивування, яке дозволяє отримувати високу густину культури у процесі вирощування та більш ефективний біосинтез продукту. Із трьох випробуваних нами середовищ – LB, 2YT та M9 з додаванням гідролізату казеїну (до 1%), дріжджового екстракту (до 0,5%) і глюкози (до 1%) – таким вимогам відповідає останнє модифіковане нами середовище M9, при культивування на якому протягом 4 годин після індукції ІПТГ вихід цільового білка становить біля 30% відносно інших клітинних білків.

Рекомбінантний пластівцевоютворюючий фактор у клітинах *E. coli* знаходиться в розчинній формі (22% всіх клітинних білків) і частково у вигляді тілець включення (8% від усіх білків). Він містить додатковий фрагмент із 6 залишків гістидину на N-кінці, що дозволило ефективно зв'язувати його на колонці з IDA-сефарозою-6B та очищати з високим виходом.

За допомогою описаних засобів оптимізовано процес культивування штаму-продуцента рекомбінантного пластівцевоютворюючого фактора *S. aureus* (*E. coli* XLI-Blue (pCF41)), внаслідок чого досягнуто високий рівень біосинтезу цього білка (30% від усіх клітинних білків) у даній експериментальній системі.

В. Д. ІВАНОВА (доповідач), В. К. ПОЗУР

ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ РЕКОМБІНАНТНОГО
ПЛАСТІВЦЕВОУТВОРЮЮЧОГО ФАКТОРА *Staphylococcus aureus* У КЛІТИНАХ
Escherichia coli XLI-BLUE

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна

У клітинній стінці *Staphylococcus aureus* міститься кілька фібриногензв'язуючих адгезинів, які беруть участь у колонізації тканин та ініціації інфекцій. Вважають, що пластівцевоутворюючий фактор (clumping factor) є

головним фактором в адгезії цих бактерій. Наявні в літературі дані свідчать про протективний ефект імунізації тварин фібриногензв'язуючим рецептором за деяких стафілококових інфекцій. Перспективним виявляється також використан-