

ЭКСПРЕССИОННАЯ ПЛАТФОРМА МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТЕХНИЧЕСКИХ И ПИЩЕВЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.М. Рожкова, А.М. Чулкин, И.Г. Синельников, В.Ю. Кислицин, И.А. Шашков, П.В. Волков, Д.О. Осипов, М.В. Семенова, О.А. Сеницына, Е.Г. Кондратьева, А.П. Сеницын

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Российская Федерация, 119071, г. Москва, Ленинский проспект 33, стр.2
e-mail: info@fbras.ru

Мицелиальный гриб *Penicillium verruculosum* (ВКМ F-3972D) является высокопродуктивным продуцентом комплекса ферментов, участвующих в биодegradации полимеров растительной клеточной стенки. Секреторная способность *P. verruculosum* достигает 60 г/л внеклеточного белка, что позволяет использовать его в качестве базового продуцента ферментов и ферментных комплексов, востребованных промышленными биотехнологиями.

На базе гриба *P. verruculosum* была разработана система экспрессии, основанная на использовании сильного индуцибельного промотора гена *cbh1*, кодирующего ключевой фермент секретлируемого комплекса – целлобиогидролазу 1. Для получения рекомбинантных штаммов методами геномного редактирования был получен ауксотрофный штамм-реципиент *Penicillium verruculosum* 537, дефектный по гену *niaD*, кодирующий нитратредуктазу, что позволило осуществить направленную селекцию рекомбинантов на средах с нитратом натрия. Анализ транскрипционного механизма *P. verruculosum* позволил получить генерацию реципиентных штаммов с нокаутом генов негативных факторов транскрипции (*TacA*, *CreA*), что позволило качественно улучшить состав секретлируемого комплекса. Частичная дерепрессия штамма по глюкозе позволила оптимизировать схему ферментации рекомбинантных штаммов в режиме

fed-batch.

Используя разработанную систему экспрессии были получены штаммы-продуценты кормовых ферментов (эндоглюканазы, ксиланазы, пептидазы) для гидролиза некрахмальных полисахаридов зерна и соевого белка, штаммы-продуценты комплекса пектиндеградирующих ферментов для различных направлений пищевой промышленности, комплекс инулин-деградирующих ферментов для получения фруктозо-глюкозных сиропов и фруктоолигосахаридов, разрабатывается комплекс ферментов-пептидаз и липаз для моющих средств и т.д..

Важно отметить, что разработки ФИЦ Биотехнологии РАН имеют реальный спрос в секторе биотехнологий РФ. Плотные связи Лаборатории биотехнологии ферментов ФИЦ Биотехнологии РАН с заводом ферментных препаратов ООО «Агрофермент» позволяет внедрять разработки в промышленность и сельское хозяйство.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в соответствии с договором № 075-15-2022-318 от 20.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета РФ. Грант предоставлен для государственной поддержки создания и развития НЦМУ «Агротехнологии будущего».