

FTB 53 (3) 251-260.

(FTB-3802)

## **Sustav za izlaganje na površini i sekreciju rekombinantnih proteina u bakteriji *Escherichia coli*, posredovan ekspresijom autotransportera**

### **Sažetak**

U radu je opisan novi, optimirani sustav za izlaganje na površini stanice i sekreciju rekombinantnih proteina, nazvan MATE (engl. **maximized autotransporter-mediated expression**). Zasnovan je na sintetiziranoj sekvenciji DNA, koja se sastoji od dijela što kodira za signalni peptid CtxB, višestrukog mjesta za kloniranje u kojeg se ugrađuje gen za željeni protein, omeđenog sekvencijama za linearne epitope monoklonskih antitijela i proteaze OmpT, te mjestom cijepanja za proteazu Xa. Nakon toga slijedi optimirana sekvencija za vezni dio i  $\beta$ -bačvasti dio autotransportera EhaA tipa V iz bakterije *Escherichia coli* pod kontrolom promotora T5 induciranog pomoću spoja IPTG. Zahvaljujući cijepanju pomoću proteaze OmpT nativno prisutne u *E. coli* tijekom uzgoja pri 37 °C omogućena je kontinuirana sekrecija rekombinantnog proteina mCherry u sustavu MATE. Ovo je prvi dokaz da je nativna aktivnost OmpT dovoljna za sekreciju proteina ispravne konformacije, pri čemu je iz 800 mL sirovog supernatanta bakterijske kulture dobiveno 240  $\mu$ g pročišćenog proteina mCherry. Budući da je za oslobađanje proteina odgovorna aktivnost proteaze OmpT, isti se plazmid može koristiti za kontinuiranu sekreciju u OmpT-pozitivnom soju ili za izlaganje proteina na površini stanice u OmpT-negativnom soju. Stoga je zaključeno da se sustav MATE može koristiti za izlaganje proteina na površini stanice i sekreciju odabranih proteina u bakteriji *E. coli*.

*Ključne riječi:* izlaganje na površini, sekrecija, sustav za izlaganje na površini, mCherry, OmpT, EhaA, MATE