

## Μελέτη παραγόντων που επηρεάζουν την παραγωγή μίας θερμοανθεκτικής και θερμοσταθερής β-γλυκοζιδάσης από μετασχηματισμένο βακτηριακό στέλεχος *E.coli* BL21

Σ. Καλαντζή<sup>1</sup>, Χ. Κοντού Βρεττού<sup>1</sup>, Σ. Κρικώνα<sup>1</sup>, Δ. Χατζηνικολάου<sup>2</sup>, Δ. Μαμμά<sup>1</sup>,  
Δ. Κέκος<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο βιοτεχνολογίας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ

<sup>2</sup> Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

(\*[kekos@chemeng.ntua.gr](mailto:kekos@chemeng.ntua.gr))

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι θερμοφίλοι μικροοργανισμοί αποτελούν πηγές δραστικών θερμοσταθερών ενζύμων, με ποικίλες βιοτεχνολογικές εφαρμογές, ενώ διαθέτουν πλήρες μεταβολικό δυναμικό αποδιάταξης της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας καθώς και υδρογονανθράκων. Από αυτούς, οι κύριοι παραγωγοί θερμοσταθερών ενζύμων ανήκουν στο Βασίλειο των βακτηρίων.

Στην παρούσα ερευνητική εργασία μελετήθηκε η αριστοποίηση της ετερόλογης παραγωγής μίας θερμοσταθερής β-γλυκοζιδάσης από το θερμοφίλο βακτήριο *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. Το γονίδιο του ενζύμου έχει κλωνοποιηθεί σε πλασμιδιακό φορέα pET15b με τον οποίο και μετασχηματίστηκαν κύτταρα *E. coli* BL21 (DE03).

Αρχικά μελετήθηκαν οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή της β-γλυκοζιδάσης από τα μετασχηματισμένα κύτταρα *E. coli* BL 21 (DE03). Ο μικροοργανισμός αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο LB και για την επαγωγή της έκφρασης του ενζύμου, χρησιμοποιήθηκε IPTG (ισοπροπυλο-β,D-θειογαλακτοζιδάση). Το IPTG (ισοπροπυλο-β,D-θειογαλακτοζιδάση) είναι το δομικό ανάλογο της αλλολακτόζης, που αδρανοποιεί τον καταστολέα lac (IacI) του πλασμιδιακού φορέα, επομένως επάγει την έκφραση των πρωτεϊνών που μεταγράφονται υπό τον έλεγχο του χειριστή του οπερονίου. Επομένως, το IPTG λειτουργεί ως επαγωγέας της έκφρασης του οπερονίου της λακτόζης και μιμείται το φυσικό επαγωγέα του οπερονίου, την αλλολακτόζη. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του IPTG (5, 10, 20, 40 μM) και η θερμοκρασία επαγωγής (20, 25, 30, 37°C) στην παραγωγή του ενζύμου. Ακολούθως μελετήθηκε η επίδραση του θρεπτικού μέσου ανάπτυξης στην παραγωγή της β-γλυκοζιδάσης χρησιμοποιώντας διαφορετικές πηγές άνθρακα, απουσία του τεχνητού επαγωγέα (IPTG). Οι πηγές άνθρακα που επιλέχθηκαν είναι: (α) γλυκόζη, (β) λακτόζη, (γ) γαλακτόζη, (δ) γλυκερόλη και (ε) μίγμα αυτών και η χρήση τους έχει ως στόχο την αντικατάσταση του επαγωγέα IPTG έτσι ώστε να προκύψει μία οικονομικά και οικολογικά συμφέρουσα διεργασία.