

# Очистка и характеристика кислой фосфатазы Pho5 *Saccharomyces cerevisiae*

<sup>1</sup>Андреева Н.А., <sup>1</sup>Ледова Л.А., <sup>1</sup>Рязанова Л.П., <sup>1</sup>Кулаковская Т.В., <sup>2</sup>Эльдаров М.Э.

<sup>1</sup>ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»,  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН;  
alla@ibpm.pushchino.ru

<sup>2</sup>ФИЦ «Биотехнология РАН», Институт биоинженерии РАН

Кислые фосфатазы у дрожжей *S. cerevisiae* являются частью системы фосфорного гомеостаза. Известно несколько высокомолекулярных кислых фосфатаз дрожжей, среди которых отдельный интерес представляет собой репрессибельный фермент Pho5 в связи с его локализацией в клеточной стенке. По физико-химическим свойствам кислые фосфатазы дрожжей сходны, поэтому для получения очищенного фермента и его характеристики был сконструирован штамм-сверхпродуцент Pho5. Родительский штамм трансформировали вектором, содержащем ген *PHO5* под сильным конститутивным промотором дрожжевой глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы. Активность кислой фосфатазы штамма-трансформанта, ассоциированная с клеточной стенкой и находящаяся в культуральной жидкости, превышала таковую у родительского штамма в 10 и 20 раз, соответственно. Эта активность распределялась между культуральной жидкостью и биомассой примерно поровну. Из культуральной жидкости штамма-суперпродуцента получен очищенный препарат Pho5 с удельной активностью 46 Е/мг белка и выходом 95 Е/л. Очищенный препарат проявлял сходную активность со многими органическими субстратами, содержащими фосфоэфирную связь, однако очень слабо гидролизовал неорганические полифосфаты. Следовательно, эта кислая фосфатаза не участвует в метаболизме полифосфатов в клеточной стенке, а ее функцией является высвобождение фосфата из органических соединений в условиях дефицита фосфата в среде, когда происходит индукция этого фермента.

Субстратная специфичность очищенной Pho5 из *S. cerevisiae* (100% - 45.8 Е/мг белка)

Субстрат	Концентрация, мМ	Удельная активность, %	Км, мМ
<i>p</i> -нитрофенилфосфат	2,7	100	1,00±0,05
АТФ	2,5	73	0,75±0,04
Глюкозо-6-фосфат	2,5	73	0,40±0,07
Пирофосфат	2,5	43	0,52±0,06
АДФ	2,5	66	
ГТФ	1,25	53	
НАДФ	1,25	13	
Фруктозо-1,6-дифосфат	2,5	17	
Рибозо-5-фосфат	1,25	27	
Фосфоенолпируват	2,5	11	
Глицерофосфат	2,5	63	

---

Триполифосфат	2,5	5
ПолиР <sub>15</sub>	2,5	4
ПолиР <sub>208</sub>	2,5	1

---