

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

КАШКАН

Иван Андреевич

**ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТОВ *PSEUDOMONAS AURANTIACA*,
СПОСОБНЫХ К СИНТЕЗУ ФЕНАЗИНОВ НА МИНИМАЛЬНОЙ СРЕДЕ
И ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ *rpeA*-ГЕНА В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ**

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е.Г. Веремеенко

Минск, 2014

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 54 с., 15 рис., 8 табл., 40 источников.

ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТОВ *PSEUDOMONAS AURANTIACA*, СПОСОБНЫХ К СИНТЕЗУ ФЕНАЗИНОВ НА МИНИМАЛЬНОЙ СРЕДЕ И ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ *rpeA*-ГЕНА В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ.

Объект исследования: штаммы *Pseudomonas aurantiaca* В-162, *Pseudomonas aurantiaca* В-162/17, *Pseudomonas aurantiaca* В-162/255.

Цель: получение штаммов-продуцентов феназиновых антибиотиков, способных к синтезу феназинов на минимальных средах, и последующая характеристика полученных продуцентов

Феназиновые антибиотики являются перспективными биологически активными веществами, которые находят применение в разнообразных сферах научной и хозяйственной деятельности. В то же время, как никогда актуально встает вопрос об изучении и всяческой индукции синтеза столь ценных соединений.

Методом НГ-мутагенеза был получен штамм *Pseudomonas aurantiaca* В-162/17, способный к сверхсинтезу феназинов как на минимальных (до 210 мг/л), так и на полноценных средах. Установлено, что некоторые добавки в среду культивирования (соевый экстракт, этанол) позволяют повысить продукцию антибиотиков в полтора-два раза. Подобным же действием обладают арабиноза, маннит и глицерин, использованные как альтернативные источники углерода.

На основе штамма дикого типа В-162 осуществлен поиск индуктора гена *rpeA*, предположительно регулирующего активацию синтеза феназиновых антибиотиков. В качестве индуктора были проверены аминокислоты и длинноцепочечные жирные кислоты. Была зарегистрирована небольшая индуцирующая активность триптофана. Осуществлен ПЦР-скрининг и обнаружение в геноме бактерий *P.aurantiaca* В-162, фрагмента ожидаемого размера, предположительно, представляющего собой *rpeA*-ген.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 54 с., 15 мал., 8 табл., 40 крыніц.

АТРЫМАННЕ МУТАНТАЎ PSEUDOMONAS AURANTIACA, ЗДОЛЬНЫХ ДА СІНТЭЗУ ФЭНЗІНАЎ НА МІНІМАЛЬНЫМ АСЯРОДДЗІ І ВЫВУЧЭННЕ РОЛІ PPEA-ГЕНА Ў ГЭТЫМ ПРАЦЭСЕ.

Аб'ект даследавання: штамы Pseudomonas aurantiaca B-162, Pseudomonas aurantiaca B-162/17, Pseudomonas aurantiaca B-162/255.

Мэта: атрыманне штамаў-прадучэнтаў феназінавых антыбіётыкаў, здольных да сінтэзу феназінаў на мінімальных асяроддзях, і наступная характарыстыка атрыманых прадучэнтаў.

Феназінавыя антыбіётыкі з'яўляюцца перспектыўнымі біялагічна актыўнымі рэчывамі, якія знаходзяць ужыванне ў размаітых сферах навуковай і гаспадарчай дзейнасці. У той жа час, як ніколі актуальна ўстае пытанне пра вывучэнне і ўсялякую індукцыю сінтэзу гэтак каштоўных злучэнняў.

Метадам НГ-мутагенезу быў атрыман штама Pseudomonas aurantiaca B-162/17, здольны да звышсінтэзу фэнзінаў як на мінімальных (да 210 мг/л), так і на паўнавартасных асяроддзях. Усталявана, што некаторыя дадаткі ў асяроддзе культывавання (соевы экстракт, этанол) дазваляюць павялічыць прадукцыю антыбіётыкаў у паўтара-два разы. Падобным жа дзеяннем валодаюць арабіноза, маніт і гліцэрын, скарыстаныя як альтэрнатыўныя крыніцы вугляроду.

На аснове штама дзікага тыпу Ў-162 ажыццёўлены пошук індуктара гена greA, меркавана які рэгулюе актывацыю сінтэзу феназінавых антыбіётыкаў. У якасці індуктара былі правераны амінакіслоты і доўга-ланцужковыя тлустыя кіслоты. Была зарэгістравана невялікая якая індукуе актыўнасць трыптафану. Ажыццёўлены ПЦР-скрынінг і выяўленне ў геноме бактэрыі P.aurantiaca B-162, фрагмента чаканага памеру, меркавана, уяўлялага сабой greA-ген.

ABSTRACT

Diploma work 54 p., 15 fig., 8 tables, 40 sources.

OBTAINING OF MUTANT STRAIN OF *PSEUDOMONAS AURANTIACA*, WITH ABILITY OF PHENAZINE ANTIBIOTICS SYNTHESIS IN MINIMAL MEDIA AND RECOGNITION OF FUNCTION OF *rpeA*-GENE IN THAT PROCESS.

Object of research: strains *Pseudomonas aurantiaca* B-162, *Pseudomonas aurantiaca* B-162/17 and *Pseudomonas aurantiaca* B-162/255.

Aim of work: Obtaining of mutant strain of *Pseudomonas aurantiaca*, with ability of phenazine antibiotics synthesis in minimal media and their characteristic.

Phenazine antibiotics are perspective biologically active substances, which we can use in different spheres of economic and science activity. Moreover, at the same time research of their function and induction mechanism is necessary.

Strain of *Pseudomonas aurantiaca* B-162/17 was obtained with NG method. That strain was able to superproduction of phenazine antibiotics in minimal and full medias. We learned that soybean extract and ethanol allows multiplying of antibiotic production in half and twice. Arabinose, mannitol and glycerin has similar activity, when we use them as single carbon and energy source.

In basis of B-162 strain (wild type) we have looking for inductor of *rpeA* gene. By our assumptions that gene can regulate activity of synthesis of phenazine antibiotics. We checked aminoacids and long chain fatty acids. We registered that tryptophan can induce antibiotic production. We implemented PCA-screening and detection in *Pseudomonas aurantiaca* B-162 genome fragment with expected size. That fragment presumably can be *rpeA*-gene.