

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

НАРКЕВИЧ
Дарья Алексеевна

РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ В СИНТЕЗЕ
ЭМУЛЬГИРУЮЩИХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
У БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS* 5Ap

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор М.А. Титок

Минск, 2020

АННОТАЦИЯ

Объекты исследования: штамм *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap, деградирующий широкий спектр углеводов.

Цель: установить роль отдельных генетических детерминант бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap в синтезе биоПАВ, обладающих эмульгирующей активностью.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), генетические (трансформация, конъюгация и мутагенез), молекулярно-генетические (выделение ДНК, рестрикционный анализ, полимеразная цепная реакция, клонирование), биохимические (выделение поверхностно-активных веществ, оценка эмульгирующей активности).

В ходе выполнения настоящей работы изучена роль отдельных генетических детерминант бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap в синтезе биоПАВ, обладающих эмульгирующей активностью. Показано, что на синтез биоПАВ влияет продукт, кодируемый геном *hrcA* (регулятор транскрипции генов, детерминирующих белки теплового шока). При оптимальном температурном режиме (28°C) у бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap, содержащих мутацию в гене *hrcA*, в более чем 10 раз снижалась эмульгирующая активность и в 1,4 уменьшался синтез трегалолипидов. В результате направленного мутагенеза отобраны мутантные варианты бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap с нарушенными генами, кодирующими синтез алкан-1-монооксигеназ (*alkB1*, *alkB2*) и нерибосомальной пептидсинтазы (*sid*). Установлено, что бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap с нарушенным геном *sid*, кодирующим нерибосомальную пептидсинтазу, более активно растут в среде, содержащей в качестве единственного источника углерода гексадекан, но хуже его эмульгируют (по сравнению с исходным штаммом индекс эмульгирования снижался в 1,2 раза). Мутант бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap с нарушенным геном *alkB1* не отличался от исходного штамма скоростью роста в среде, содержащей в качестве единственного источника углерода гексадекан, однако более эффективно его эмульгировал (по сравнению с исходным штаммом индекс эмульгирования возрос в 1,3 раза). Детерминанта *alkB2* является ключевой для деградации гексадекана. Нарушение в данном гене приводит к неспособности бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap эффективно расти в среде, содержащей в качестве единственного источника углерода гексадекан.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

НАРКЕВІЧ
Дар'я Аляксееўна

РОЛЯ АСОБНЫХ ГЕНЕТЫЧНЫХ ДЭТЭРМІНАНТ У СІНТЭЗЕ
ЭМУЛЬГУЮЧЫХ ПАВЕРХНЕВА-АКТЫЎНЫХ РЭЧЫВАЎ У
БАКТЭРЫЙ *RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS* 5AP

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
доктар біялагічных навук,
прафесар М.А. Ціток

Мінск, 2020

АНАТАЦЫЯ

Мэта: вызначыць ролю асобных генетычных дэтэрмінант бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap падчас сінтэзу біаПАР, якія валодаюць эмульгуючай актыўнасцю.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), генетычныя (трансфармацыя, кан'югацыя і мутагенез), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, рэстрыкцыйны аналіз, палімеразная ланцуговая рэакцыя, кланаванне), біяхімічныя (вылучэнне паверхнева-актыўных рэчываў, ацэнка эмульгуючай актыўнасці).

У ходзе выканання гэтай працы вывучана роля асобных генетычных дэтэрмінант бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap падчас сінтэзу біаПАР, якія валодаюць эмульгуючай актыўнасцю. Паказана, што на сінтэз біаПАР уплывае прадукт, які кадзіруецца генам *hrcA* (рэгулятар транскрыпцыі генаў, якія дэтэрмінуюць бялкі цеплавога шоку). Пры аптымальным тэмпературным рэжыме (28°C) у бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap, якія змяшчаюць мутацыю ў гене *hrcA*, у больш чым 10 разоў зніжалася эмульгуючая актыўнасць і ў 1,4 памяншаўся сінтэз трэгалаліпідаў. У выніку накіраванага мутагенезу адабраныя мутантавыя варыянты бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap з парушанымі генамі, якія кадзіруюць сінтэз алкан-1-монааксігеназ (*alkB1*, *alkB2*) і нерыбасамальнай пептыдсінтазы (*sid*). Устаноўлена, што бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap з парушаным генам *sid*, які кадзіруе нерыбасамальную пептыдсінтазу, больш актыўна растуць у асяроддзі, якое змяшчае ў якасці адзінай крыніцы вугляроду гексадэкан, але горш яго эмульгуе (у параўнанні з зыходным штамам індэкс эмульгавання зніжаўся ў 1,2 разы). Мутант бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap з парушаным генам *alkB1* не адрозніваўся ад зыходнага штаму хуткасцю росту ў асяроддзі, якое змяшчае ў якасці адзінай крыніцы вугляроду гексадэкан, аднак больш эфектыўна яго эмульгаваў (у параўнанні з зыходным штамам індэкс эмульгавання ўзрос у 1,3 разы). Дэтэрмінанта *alkB2* з'яўляецца ключавой для дэградацыі гексадекана. Парушэнне ў дадзеным гене прыводзіць да няздольнасці бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap расці ў асяроддзі, якое змяшчае ў якасці адзінай крыніцы вугляроду гексадэкан.

MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department

D. A.
NARKEVICH

**ROLE OF INDIVIDUAL GENETIC DETERMINANTS IN THE
SYNTHESIS OF EMULSIFYING SURFACTANTS IN *RHODOCOCCUS
PYRIDINIVORANS* 5Ap BACTERIES**

Annotation for diploma work

Scientific supervisor:
Doctor of biological sciences,
professor Titok M.A.

Minsk, 2020

ANNOTATION

Objective: To establish the role of individual genetic determinants of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria in the synthesis of bio-surfactants with emulsifying activity.

Research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), genetic (transformation, conjugation and mutagenesis), molecular genetic (DNA isolation, restriction analysis, polymerase chain reaction, cloning), biochemical (isolation of surfactants, evaluation of emulsifying activity).

In the course of this work has been studied the role of individual genetic determinants of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria in the synthesis of bio-surfactants with emulsifying activity. It has been shown that the synthesis of bio-surfactants is influenced by the product encoded by the *hrcA* gene (a regulator of transcription of genes that determine heat shock proteins). At optimal temperature mode (28°C) in *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria containing mutation in *hrcA* gene, emulsifying activity decreased more than 10 times and the synthesis of trigalolipids decreased by 1.4 times. As a result of directed mutagenesis, mutant variants of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria with disturbed genes encoding the synthesis of alkan-1-monooxygenase (*alkB1*, *alkB2*) and nonribosomal peptides synthase (*sid*) were selected. It has been established that bacteria *R. pyridinivorans* 5Ap with the disturbed *sid* gene encoding the non-ribosomal peptid synthase grow more actively in the medium containing hexadecan as the only carbon source, but emulsify it worse (as compared to the initial strain the emulsification index decreased 1.2 times). The bacterial mutant *R. pyridinivorans* 5Ap with broken *alkB1* gene did not differ from the initial strain by the rate of growth in a medium containing hexadecan as the only carbon source, but emulsified it more efficiently (in comparison with the initial strain the emulsification index increased 1.3 times). The *alkB2* determinant is key to hexadecan degradation. Violation in this gene leads to inability of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria to grow in a medium containing hexadecan as the only carbon source.