

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

АШМАНКЕВИЧ
Денис Дмитриевич

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ
ФЕНАЗИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS*
CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA

Аннотация
к дипломной работе

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

Минск, 2021

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 61 с., 35 рис., 47 источников, 1 приложение.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ
ФЕНАЗИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS*
CHLORORAPHIS SUBSP. *AURANTIACA*.

Объекты исследования: штаммы *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* В-162, В 162/2, В-162/15, В-162/17, В-162/18, В-162/55, В-162/255.

Цель: протеомное профилирование штаммов *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* В-162 дикого типа и полученных на его основе мутантов, способных к сверхпродукции феназиновых соединений.

Методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические, биохимические.

Феназины являются перспективными соединениями для использования их в различных отраслях народного хозяйства и медицины. Это объясняет необходимость создания продуцентов данных соединений.

Целью данной работы являлось протеомное профилирование штаммов *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* В-162 дикого типа и полученных на его основе мутантов, способных к сверхпродукции феназиновых соединений.

В результате проведения протеомного исследования в высоком качестве для каждого из штаммов были получены и идентифицированы 144 белка. Установлено, что появление некоторых белков *phz*-оперона (в частности PhzA, PhzB, PhzD), а также белка PhzO, ген которого располагается за пределами *phz*-оперона, происходит еще в логарифмическую фазу роста бактериальной культуры задолго до синтеза самих феназинов. У штаммов-продуцентов феназиновых антибиотиков также четко прослеживается тенденция на накопление пептидов и ферментов систем антиоксидантной защиты, нейтрализующих активные формы кислорода. Также зарегистрировано значительное увеличение содержания базовых шаперонов и пептидилпролил-изомеразы в протеомах мутантных штаммов-продуцентов, что может являться адаптивным механизмом, направленным на защиту внутриклеточных белков и пептидов и восстановление их нативной структуры даже в присутствии значительного количества активных форм кислорода, образующихся в клетках продуцентов под действием феназинов. Кроме того, в протеомах штаммов-сверхпродуцентов обнаружено увеличение содержания некоторых белков систем репарации.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 61 с., 35 рыс., 47 крыніц, 1 дадатак.

ПРАТЭОМНЫ АНАЛІЗ ШТАМАЎ-ПРАДУЦЭНТАЎ ФЕНАЗІНАВЫХ АНТЫБІЁТЫКАЎ БАКТЭРЫЙ *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA*.

Аб'екты даследавання: штамы *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162, B 162/2, B -162/15, B-162/17, B-162/18, B-162/55, B-162/255.

Мэта: пратэомнае прафіляванне штамаў *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162 дзікага тыпу і атрыманых на яго аснове мутантаў, здольных да звышпрадукцыі феназінавых злучэнняў.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, малекулярна-генетычныя, біяхімічныя.

Феназіны з'яўляюцца перспектыўнымі злучэннямі для выкарыстання іх у розных галінах народнай гаспадаркі і медыцыны. Гэта тлумачыць неабходнасць стварэння прадукцэнтаў дадзеных злучэнняў.

У выніку правядзення пратэомнага даследавання з высокай якасцю для кожнага са штамаў былі атрыманы і ідэнтыфікаваны 144 бялкі. Вызначана, што з'яўленне некаторых бялкоў *phz*-аперона (у прыватнасці *PhzA*, *PhzB*, *PhzD*), а таксама бялка *PhzO*, ген якога размяшчаецца за межамі *phz*-аперона, адбываецца яшчэ ў лагарыфмічную фазу росту бактэрыяльнай культуры задоўга да сінтэзы саміх феназінаў. У штамаў-прадукцэнтаў феназінавых антыбіётыкаў таксама дакладна назіраецца тэндэнцыя на накапленне пептыдаў і ферментаў сістэм антыаксідантнай абароны, якія нейтралізуюць актыўныя формы кіслароду. Таксама зарэгістравана значнае павелічэнне зместу базавых шаперонаў і пептыдліпаліл-ізамеразы ў пратэомах мутантных штамаў-прадукцэнтаў, што можа з'яўляцца адаптыўным механізмам, накіраваным на абарону ўнутрыклеткавых бялкоў і пептыдаў і аднаўленне іх натывнай структуры нават у прысутнасці значнай колькасці актыўных форм кіслароду, якія ўтвараюцца ў клетках прадукцэнтаў пад удзеяннем феназінаў. Акрамя таго, у пратэомах штамаў-звышпрадукцэнтаў выяўлена павелічэнне зместу некаторых бялкоў сістэм рэпарацыі.

ABSTRACT

Graduate work 61 p., 35 pict., 47 references, 1 attachments.

PROTEOMIC ANALYSIS OF PHENAZINE ANTIBIOTICS OF BACTERIA *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA* PRODUCING STRAINS.

Object of research: strains of *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162, B 162/2, B-162/15, B-162/17, B-162/18, B-162/55, B-162/255.

Aim of work: proteomic profiling of *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162 wild type and derived from it mutants capable of overproduction of phenazine compounds.

Methods: microbiological, molecular-genetic, biochemical.

Phenazines have multiple promising applications in both agriculture and medicine. Therefore growing producers of these compounds becomes a critical task.

The aim of this work was proteomic profiling of *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162 wild type and derived from it mutants capable of overproduction of phenazine compounds.

In process of this proteomic study, 144 proteins were isolated and identified with high accuracy for each of the strains. One of the major findings of this work is an observation that appearance of some proteins of phz-operon (in particular, PhzA, PhzB, PhzD), as well as of PhzO protein, which gene is located outside the phz-operon, occurs already in the logarithmic growth phase of bacterial culture, long before the synthesis of phenazines themselves. A clear trend of accumulation of peptides and enzymes of antioxidant defence systems that neutralize reactive oxygen species was observed in the strains producing phenazine antibiotics. A significant increase in the content of basic chaperones and peptidylprolyl-isomerase in the proteomes of mutant producing strains was also recorded. This might be an adaptive mechanism aimed at protecting intracellular proteins and peptides and restoring their native structure even in the presence of a significant amount of reactive oxygen species formed in producing cells under the action of phenazines. Finally, increased concentration of some repair system proteins was discovered in the proteomes of overproducing strains.