

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

МАКСИМОВ
Максим Дмитриевич

**РОЛЬ СТРУКТУРНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ,
КОДИРУЮЩИХ СИНТЕЗ АЛКАН-1-МОНООКСИГЕНАЗ, В
СИНТЕЗЕ БИОПАВ БАКТЕРИЙ RHODOCOCCLUS
QINGSHENGII**

Аннотация дипломной работы

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

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа содержит 78 страницы, 10 рисунков, 20 таблиц, 56 источников литературы.

Ключевые слова: алкан-1-монооксигеназы, бактерии рода *Rhodococcus*, биоПАВ, гексадекан.

Объекты исследования: алкан-1-монооксигеназы бактерий рода *Rhodococcus*, мутанты бактерий *R. qingshengii* A29-k1 с нарушенными генами *alkB1*, *alkB2*, *alkB3*, *alkB4*, *alkB5*.

Цель работы: охарактеризовать алкан-1-монооксигеназы бактерий рода *Rhodococcus* и изучить их роль в деградации гексадекана и синтезе биоПАВ бактериями *R. qingshengii* A29-k1.

Методы исследования: микробиологические (культивирование бактерий) биохимических (выделение биоПАВ), молекулярно-генетические (ПЦР в реальном времени) и биоинформативные (анализ функциональных доменов, филогенетический анализ).

В результате проведенного исследования охарактеризованы алкан-1-монооксигеназы бактерий *R. qingshengii* A29-k1, аминокислотные последовательности которых депонированы в ГенБанк NCBI под номерами OM964634 (*AlkB1*), OM964635 (*AlkB2*), OM964636 (*AlkB3*), OM964637 (*AlkB4*) и OM964638 (*AlkB5*). Установлено, что алкан-1-монооксигеназы образуют 7 филогенетических групп, что соответствует систематике бактерий рода *Rhodococcus* и может использоваться для изучения роли данных ферментов в бактериальной клетке и установления таксономического статуса представителей этой разнообразной и практически значимой группы микроорганизмов. В частности, анализ аминокислотной последовательности алкан-1-монооксигеназы определяющей синтез биоПАВ у бактерий *Rhodococcus* sp. SD-74, позволил отнести данный штамм к виду *R. triatomaе*. В синтезе биоПАВ и утилизации гексадекана бактериями *R. qingshengii* A29-k1 ключевую роль играли гены *alkB2* и *alkB4*, экспрессия которых достоверно возрастала в присутствии гексадекана. При этом у мутантных вариантов с нарушением данных генов соответственно на 32 %–35 %, снижалась эффективность утилизации гексадекана и в 2–3 раза уменьшался синтез трегалолипидов. В отличие от штамма *Rhodococcus* sp. SD-74, ген *alkB1* не играл ключевой роли в продукции биоПАВ бактериями *R. qingshengii* A29-k1, поскольку ее нарушение приводило к увеличению деградации гексадекана (в 1,1 раз) и эмульгирующей активности (в 2 раза).

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

МАКСІМАВ
Максім Дзмітрыевіч

**РОЛЬ СТРУКТУРНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНАЎ,
КАДЗІРУЮЧЫХ СІНТЭЗ АЛКАН-1-МОНААКСІГЕНАЗ, У
СІНТЭЗЕ БІЯПАЎ БАКТЭРІЙ RHODOCOCCLUS
QINGSHENGII**

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковый кіраўнік:
Прафесар кафедры мікрабіялогіі
Доктар біялагічных навук
М.А. Ціток

Мінск, 2020

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная работа змяшчае 78 старонкі, 10 малюнкаў, 20 табліц, 56 крыніц літаратуры.

Ключавыя словы: Алкан-1-монааксігеназы, бактэрыі роду *Rhodococcus*, біоПАВ, гексадекан.

Аб'екты даследавання: Алкан-1-монааксігеназы бактэрыі роду *Rhodococcus*, мутанты бактэрыі *R.qingshengii* A29-k1 з парушанымі генамі *alkB1*, *alkB2*, *alkB3*, *alkB4*, *alkB5*.

Мэта працы: ахарактарызаваць алкан-1-монааксігеназы бактэрыі роду *Rhodococcus* і вывучыць іх ролю ў дэградацыі гексадекана і сінтэзе біяПАВ бактэрыямі *R.qingshengii* A29-k1.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне бактэрыі) біяхімічных (вылучэнне біяПАВ), малекулярна-генетычных (ПЦР у рэальным часе) і біяінфарматыўныя (аналіз функцыянальных даменаў, філагенетычных аналіз).

У выніку праведзенага даследавання ахарактарызаваны алкан-1-монооксігеназы бактэрыі *R. qingshengii* A29-k1, амінакіслотны паслядоўнасці якіх дэпанаваныя ў ГенБанк NCBI пад нумарамі OM964634 (*AlkB1*), OM964635 (*AlkB2*), OM964636 (*AlkB3*), OM964637 (*AlkB4*) і OM964638 (*AlkB5*). Устаноўлена, што алкан-1-монааксігеназы ўтвараюць 7 філагенетычных груп, што адпавядае сістэматыцы бактэрыі роду *Rhodococcus* і можа выкарыстоўвацца для вывучэння ролі дадзеных ферментаў у бактэрыяльнай клетцы і ўстанаўлення таксанамічнага статусу прадстаўнікоў гэтай разнастайнай і практычна значнай групы мікраарганізмаў. У прыватнасці, аналіз амінакіслотны паслядоўнасці алкан-1-монооксігеназы вызначальнай сінтэз біяПАВ ў бактэрыі *Rhodococcus* sp. SD-74, дазволіў аднесці дадзены штам да выгляду *R. triatomaе*. У сінтэзе біяПАВ і ўтылізацыі гексадекана бактэрыямі *R. qingshengii* A29-k1 ключавую ролю гулялі гены *alkB2* і *alkB4*, экспрэсія якіх пэўна ўзрастала ў прысутнасці гексадекана. Пры гэтым у мутантных варыянтаў з парушэннем дадзеных генаў адпаведна на 32 %-35 %, зніжалася эфектыўнасць ўтылізацыі гексадекана і ў 2-3 разы памяншаўся сінтэз трегалаліпідов. У адрозненне ад штаму *Rhodococcus* sp. SD-74, ген *alkB1* не гуляў ключавой ролі ў прадукцыі біоПАВ бактэрыямі *R.qingshengii* A29-k1, паколькі яе парушэнне прыводзіла да павелічэння дэградацыі гексадекана (у 1,1 раз) і эмульгуючай актыўнасці (у 2 разы).

MINISTRY OF EDUCATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Department of Microbiology

MAXIMOV
Maxim Dmitrievich

**THE ROLE OF STRUCTURAL AND REGULATORY GENES
ENCODING THE SYNTHESIS OF ALKANE-1-
MONOOXYGENASES IN THE SYNTHESIS OF
BIOSURFACTANTS BACTERIA RHODOCOCCLUS
QINGSHENGII**

Thesis to the annotation

Scientific supervisor:
Professor of the Department of Microbiology,
Doctor of Biological Sciences
M.A. Titok

Minsk, 2020

ANNOTATION

The thesis contains 78 pages, 10 figures, 20 tables, 56 literature sources.

Keywords: alkane-1-monooxygenases, bacteria of the genus *Rhodococcus*, bioPAV, hexadecane.

Objects of research: alkane-1-monooxygenases of bacteria of the genus *Rhodococcus*, mutants of bacteria *R. qingshengii* A29-k1 with impaired genes *alkB1*, *alkB2*, *alkB3*, *alkB4*, *alkB5*.

Objective: to characterize the alkane-1-monooxygenases of bacteria of the genus *Rhodococcus* and to study their role in the degradation of hexadecane and the synthesis of bioavailants by *R. qingshengii* A29-k1.

Research methods: microbiological (cultivation of bacteria) biochemical (isolation of bioavailants), molecular genetic (Real-Time PCR) and bioinformative (functional domain analysis, phylogenetic analysis).

As a result of the study, alkane-1-monooxygenases of *R. qingshengii* A29-k1 were characterized, the amino acid sequences of which were deposited in the NCBI GenBank under the numbers OM964634 (*AlkB1*), OM964635 (*AlkB2*), OM964636 (*AlkB3*), OM964637 (*AlkB4*) and OM964638 (*AlkB5*). It has been established that alkane-1-monooxygenases form 7 phylogenetic groups, which corresponds to the taxonomy of bacteria of the genus *Rhodococcus* and can be used to study the role of these enzymes in the bacterial cell and establish the taxonomic status of representatives of this diverse and practically significant group of microorganisms. In particular, the analysis of the amino acid sequence of alkane-1-monooxygenase, which determines the synthesis of surfactant in the bacteria *Rhodococcus* sp. SD-74, allowed us to attribute this strain to the species *R. triatmae*. In the synthesis of bioavailants and utilization of hexadecane by *R. qingshengii* A29-k1 genes *alkB2* and *alkB4* played a key role, the expression of which significantly increased in the presence of hexadecane. At the same time, in mutant variants with a violation of these genes, respectively, by 32%-35%, the efficiency of hexadecane utilization decreased and the synthesis of trehalolipids decreased by 2-3 times. Unlike the *Rhodococcus* sp. SD-74 strain, the *alkB1* gene did not play a key role in the production of surfactants by *R. qingshengii* A29-k1, since its violation led to an increase in hexadecane degradation (by 1.1 times) and emulsifying activity (by 2 times).