

Получение и анализ мутантных штаммов цианобактерии *Trichormus variabilis* с повышенным уровнем продукции молекулярного водорода

Научный руководитель – Михеева Лидия Евгеньевна

Емец Елизавета Владимировна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра генетики, Москва, Россия

E-mail: lizayemets@mail.ru

Цианобактерии образуют большую и разнообразную группу оксигенных фотоавтотрофных прокариот, многие из которых обладают способностью производить водород в качестве побочного продукта нитрогеназной реакции, однако уровень его продукции для большинства природных изолятов невысокий. В связи с этим разрабатываются способы генетической модификации имеющихся лабораторных штаммов цианобактерий с целью увеличения продукции водорода [1].

Гены *hup* и *hup* контролируют гидрогеназы, необходимые для эндогенного поглощения водорода. Нарушение работы этих генов является перспективным способом повышения водород-продуцирующей способности цианобактерий, что было показано на модели химически индуцированных мутантов *Trichormus variabilis*, имеющих мутации в генах *hup* и *hup* [2]. Таким образом, целью нашей работы являлось получение штаммов-продуцентов водорода методом генетической инженерии на основе штамма дикого типа *T. variabilis* ATCC 29413, а также сравнение уровней продукции водорода у других изолятов *Trichormus*.

Для создания инсерционных мутантов по генам *hupL* нами были получены генно-инженерные конструкции, несущие копию гена *hupL*, инактивированную с помощью кассеты устойчивости к канамицину. В системе трехродительского скрещивания с клетками *T. variabilis* были отобраны клоны с инактивированным геном *hupL*. Для сравнительного определения уровня продукции водорода нами были отобраны природные изоляты нитчатых цианобактерий различного происхождения. Определение уровня продукции водорода у природных штаммов-изолятов и продуцирующих водород инсерционных мутантов *T. variabilis* проводили в микроаэрофильных условиях на свету в безазотистой среде с добавлением 5мМ фруктозы и $4 \cdot 10^{-5}$ М DCMU. Нами было показано, что природные изоляты незначительно отличаются по уровню выделения водорода по сравнению со штаммом дикого типа, а полученные нами стабильные селективно поддерживаемые мутантные штаммы обладают не менее чем в 2 раза повышенной водород-продуцирующей активностью по сравнению с таковой у природных изолятов.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения данной методики в биотехнологических и фундаментальных исследованиях. Наши данные позволят в дальнейшем сконструировать двойные мутанты по генам *hup* и *hup* для получения других мутантных штаммов гетероцистных цианобактерий с высоким уровнем продукции водорода.

Источники и литература

- 1) Dutta, D. et al. Hydrogen production by Cyanobacteria. *Microb Cell Fact* 4, 36 (2005).
- 2) S. Shestakov, L. Mikheeva, A. Mardanov et al. "Genomic Analysis of *Anabaena variabilis* Mutants PK17 and PK84 That Are Characterised by High Production of Molecular Hydrogen," *Advances in Microbiology*, Vol. 3 No. 4, 2013, pp. 350-365.