

Перспектива применения штамма *Pseudomonas putida* PCL1760, с измененным геномом, в промышленной биотехнологии

Кунгуров Г.А.¹, Суханов А.Ю.²

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: gkungurov567@gmail.com*; 2 - Казанский научный центр РАН, Казань, Россия, *E-mail: ay.sukhanov@gmail.com*

Pseudomonas putida PCL1760 - штамм, выделенный из ризосферы авокадо, защищает растения за счет конкурентной колонизации ризосферы [4]. Геном *P. putida* PCL1760 был определен методом полногеномного секвенирования и аннотирован [1]. Будучи безопасным для применения он может быть использован в промышленной биотехнологии как продуцент биомолекул или для биотрансформации. Одним из требований для таких штаммов является удовлетворительный рост в ферментерах с наименьшим образованием био пленок.

В этой работе произведена оптимизация штамма *P. putida* PCL1760 для промышленных задач. Для этого мы удалили ключевой ген (*algA*), отвечающий за образование био пленок. *AlgA* является первым белком системе синтеза альгинатов и его удаление останавливает образование субстрата для следующих этапов синтеза альгината [2].

Для делетирования гена использовался метод гомологичной рекомбинации. Участок, содержащий фланкирующие последовательности гена длиной 1000 п.н. каждый был амплифицирован из генома *P. putida* PCL1760 и клонирован в составе вектора pK18mobsacB, неспособного к самостоятельной репликации в клетках псевдомонад [3]. С помощью конъюгативного переноса pK18mobsacB:fl*DalgA* была перенесена из клеток штамма *E. coli* S17-1 в штамм *P. putida* PCL1760. Делецию в клонах *Pseudomonas putida* PCL1760 после элиминации pK18mobsacB:fl*DalgA* определяли с помощью ПЦР. Для полученного мутанта был проведен тест на образование био пленок.

Полученный делеционный мутант *P. putida* PCL1760(*DalgA*) образовывал био пленку в 5 раз меньше чем исходный штамм. Это позволяет в дальнейшем использовать его как платформу для последующих генетических манипуляций под конкретные биотехнологические задачи.

Работа выполнена при поддержке Министерства Науки и Высшего образования Российской Федерации в рамках проекта «Генетическая технология конструирования искусственных консорциумов микроорганизмов для создания био препаратов в растениеводстве», соглашение № 075-15-2021-1395 от «25» октября 2021 г. Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019-2027 годы от 18 октября 2021 г. № 2021-1930-ФП5-0010/4

Источники и литература

- 1) Afordoanyi, D.M. Genomic Features of *Pseudomonas putida* PCL1760: A Biocontrol Agent Acting via Competition for Nutrient and Niche. / Diabankana, R.G.C.; Miftakhov, A.K.; Kuchaev, E.S.; Validov, S.Z. // Appl. Microbiol., 2022, 2, 749–765.
- 2) Franklin, M.J. Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Extracellular Polysaccharides, Alginate, Pel, and Psl. / Nivens D.E., Weadge J.T., Howell P.L. // Front Microbiol., 2011, 2, 2:167.
- 3) Kvitko, B.H. Construction of *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 Mutant and Polymutant Strains. / Collmer A. // Methods Mol Biol., 2011, 712:109-28.

- 4) Validov, S. Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in stonewool substrate. / Kamilova, F.; Qi, S.; Stephan, D.; Wang, J. J.; Makarova, N.; Lugtenberg, B. // *Journal of Applied Microbiology* 2007, 102 (2), 461-471.