

## Характеристика штамма *B. pumilus* 3-19 ( $\Delta sigF$ ), полученного с помощью технологии CRISPR-Cas9.

**Гильмутдинова Айгуль Ильдусовна**

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: [aigwinrygilmuizn@gmail.com](mailto:aigwinrygilmuizn@gmail.com)

Сложная регуляторная система споруляции и взаимосвязь между вовлеченными факторами были в значительной степени выяснены в последние годы. На этой основе было предпринято множество усилий в разработке промышленных штаммов для улучшения производства целевых белков или ингибирования синтеза токсичных веществ путем предотвращения споруляции [1].

Ранее в нашем исследовании был получен мутантный штамм путем введения делеции в ген *sigF*, кодирующий клеточно-специфический сигма-фактора  $\sigma^F$ , который активируются вскоре после асимметричного деления и направляют экспрессию генов в предспоре.

После получения штамма *B. pumilus* 3-19, мутантного по гену *sigF*, изучали его динамику роста и спорообразования, а также протеолитическую активность (измерения проводили в течение 83 часов).

Динамика роста контрольного штамма *B. pumilus* 3-19 характеризуется интенсивным ростом бактерий до 21 часа, и переходом в стационарную фазу к 25 часу культивирования. Максимальное значения оптической плотности равно  $OD_{590}=2.13$  наблюдается на 37 час культивирования. Фаза отмирания наступает после 53 часа.

Динамика роста *B. pumilus* 3-19 ( $\Delta sigF$ ), характеризуется экспоненциальной фазой до 31, после чего наступает стационарная фаза. Максимальное значение составляет  $OD_{590}=1.85$ , достигается на 41 час культивирования. Фаза отмирания наступает после 65 часа. Динамика роста мутантного штамма отличается более продолжительной стационарной фазой.

Динамика спорообразования контрольного штамма *B. pumilus* 3-19 характеризуется наличием спор с 25 часа, максимальное количество спор составляет 19 % на 47 час. Мутантный штамм является аспорогенным.

Протеолитическая активность (оценивали по гидролизу азоказеина) штамма *B. pumilus* 3-19, выше, в сравнении с мутантным штаммом. Максимальное значение активности составляет 0.5 ед/мл, и наступает к 47 часу культивирования. Для мутантного штамма максимум наступает к 65 часам и составляет 0.28 ед/мл. Что свидетельствует о снижении протеолитической активности мутантного штамма на 53%.

Мутантный штамм, полученный путем инактивации гена сигма фактора споруляции *sigF* является аспорогенным, протеолитическая активность рекомбинантного штамма при этом ниже, чем у нативного штамма на 53%, однако сохранена. Введение делеции в гене *sigF* позволяет получить мутант, который сохраняет важные промышленные свойства и предпочтительные характеристики, при этом продлевая стабильную фазу активности фермента, что имеет большое прикладное значение в промышленном производстве.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект 22-16-00138)

### Источники и литература

- 1) Zhang, K. Recent Advances in Recombinant Protein Production by *Bacillus subtilis* [Text] / K. Zhang, L. Su, J. Wu // *Annu Rev Food Sci Technol*. 2020. V. 11. P. 295-318.