

**Получение штамма *Pantoea brenneri* 3.2 с делетированным геном индол-3-пируватдекарбоксилазы (*ipdC*) и оценка его способности к продукции индол-3-уксусной кислоты**

**Научный руководитель – Шарипова Маргарита Рашидовна**

**Сокольникова Лидия Владиславовна**

*Студент (магистр)*

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

*E-mail: lidasok00@mail.ru*

Известно, что бактерии рода *Pantoea* ассоциированы с растениями и входят в группу PGPB (Plant Growth Promotion Bacteria). Данные микроорганизмы обладают множеством механизмов, способствующих увеличению роста и развития растений, одним из которых является синтез индол-3-уксусной кислоты (ИУК). Описано множество путей производства ИУК микроорганизмами, тем не менее, не все механизмы синтеза хорошо изучены. Известно, что ген *ipdC* (индол-3-пируватдекарбоксилазы) кодирует фермент, катализирующий превращение индол-3-пирувата в индол-3-ацетальдегид, что является ключевой стадией биосинтеза ИУК [1]. Целью работы явилось получение мутантного штамма *P. brenneri* 3.2 с делетированным геном *ipdC* и оценка его способности продуцировать ИУК.

Инактивацию гена *ipdC* проводили при помощи рекомбиназы фага  $\lambda$  Red. С плазмиды рKD4 получали амплификат гена устойчивости к канамицину (*kan*), фланкированный участками гена *ipdC*. Затем полученный ПЦР-продукт трансформировали в штамм *P. brenneri* 3.2, содержащий плазмиду рKD46-Gm с рекомбиназой фага  $\lambda$  Red в своем составе. Ген *ipdC* в геноме бактерии заменялся на ген *kan* в процессе гомологичной рекомбинации, основанной на наличии выступов в ПЦР-продукте *kan*, идентичных фланкирующим участкам целевого гена. Для получения безмаркерного мутанта ген *kan* удаляли с помощью хелперной плазмиды рCP20 и последующим культивированием при 42 °С. Оценку способности мутантного штамма продуцировать ИУК проводили на жидкой среде LB с добавлением 4 мМ триптофана при 37 °С и 180 об/мин. Количество ИУК определяли с помощью реактива Сальковского и калибровочной кривой построенной с использованием синтетического ауксина с известной концентрацией. Измерения проводили каждые 12 часов в течение 3 суток. На 12 час роста наблюдался максимальный уровень продукции ИУК как у мутантного, так и у дикого штаммов. Однако у делеционного мутанта *P. brenneri* 3.2  $\Delta ipdC$  отмечалось снижение биосинтеза ауксина на 29,9% по сравнению со штаммом дикого типа. Таким образом, можно заключить, что ген *ipdC* играет важную роль в выработке ИУК штаммом *P. brenneri* 3.2, однако, его инактивация не ведет к полному прекращению продукции ауксина, что свидетельствует о наличии в геноме бактерии альтернативных путей, ответственных за синтез ИУК.

Работа финансирована грантом РНФ №22-16-00138.

### **Источники и литература**

- 1) Estenson K., Hurst G.B., Standaert R.F., Bible A.N., Garcia D., Chourey K., Doktycz M.J., Morrell-Falvey J.L. Characterization of Indol-3-acetic Acid Biosynthesis and the Effects of This Phytohormone on the Proteome of the Plant-Associated Microbe *Pantoea* sp. YR343 // Journal of Proteome Research. 2018, №17(4). p. 1361-1374.