

Получение штаммов *Pantoea brenneri* с инкапсулированным геном глюкозодегидрогеназы (*gcd*)

Научный руководитель – Шарипова Маргарита Рашидовна

Егорова Евгения Андреевна

Студент (магистр)

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

E-mail: egorova.evgenia@mail.ru

Индукцированная системная резистентность (ISR) - важный механизм, при котором защитная способность растений усиливается в ответ на получение стимула. Индукции ISR способствуют полезные ризосферные бактерии, обеспечивающие рост и развитие растений (PGPR). К таким бактериям относятся представители рода *Pantoea*, которые обладают различными механизмами, способствующими увеличению роста и развитию растений, одним из которых является синтез глюконового кислоты. Описано несколько путей производства глюконового кислоты микроорганизмами, тем не менее, не все механизмы синтеза хорошо изучены. Известно, что ген *gcd* (глюкозодегидрогеназы) ответственен за синтез глюконового кислоты.

Целью работы явилось получение мутантных штаммов *P. brenneri* 3.2 и 3.5.2 с делетированным геном *gcd*, который кодирует ключевой фермент пути биосинтеза глюконового кислоты. Инактивацию проводили с помощью системы рекомбинации фага λ Red, в качестве векторов были использованы pKD4, pKD46-Gm, pCP20. Для этого был получен ПЦР-продукт гена устойчивости к канамицину (*kan*), фланкированный участками целевого гена *gcd*. Очищенным ПЦР-продуктом проводили трансформацию штаммов *P. brenneri*, содержащих плазмиду pKD46-Gm. Для проведения гомологичной рекомбинации в среду культивирования добавляли арабинозу и, тем самым, индуцировали в клетках экспрессию рекомбиназы фага λ Red. Таким образом, целевой ген *gcd* заменялся кассетой устойчивости к канамицину, фланкированной прямыми повторами (FRT-сайтами). Отбор мутантов проводили на среде LA с канамицином. Для получения безмаркерного мутанта ген *kan* удаляли с помощью хелперной плазмиды pCP20 и последующим культивированием при 42 °C. Таким образом, с помощью системы рекомбинации фага λ Red были получены мутантные штаммы *P. brenneri* Δgcd , из генома которых делетирован ген *gcd* – ответственный за синтез глюконового кислоты бактериями.

Источники и литература

- 1) Andreeva I.G., Golubeva L.I., Kuvaeva T.M., Gak E.R., Katashkina L., Mashko S.V. Identification of *Pantoea ananatis* gene encoding membrane pyrroloquinoline quinone (PQQ)-dependent glucose dehydrogenase and pqqABCDEF operon essential for PQQ biosynthesis // FEMS Microbiol Lett. 2011, №318(1). P. 55-60.