

Разработка рекомбинантного штамма на основе *Pseudomonas putida* PCL1760 для промышленной биотехнологии

Научный руководитель – Валидов Шамиль Завдатович

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

P. putida PCL1760 – штамм, относящийся к почвенным псевдомонадам, был выделен из ризосферы авокадо. Исследования продемонстрировали положительный эффект при использовании этого штамма в борьбе с корневой гнилью томатов, вызываемой *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Forl [3]. Геном *P. putida* PCL1760 секвенирован и аннотирован [1]. Этот штамм безопасен для применения и может быть использован в биотехнологии для биотрансформации молекул. Одним из требований для таких штаммов является удовлетворительный рост в ферментерах с наименьшим образованием биопленок. Также при культивировании в ферментере отсутствует необходимость в подвижности.

В этой работе произведена оптимизация штамма *P. putida* PCL1760 для промышленных задач. Для этого мы удалили ключевые гены систем синтеза альгинатных биопленок (*algA*) и образования жгутиков (*flhA*) с помощью метода на основе гомологичной рекомбинации. Нами были созданы плазмиды, содержащие фланкирующие последовательности длиной 1000 п.н. каждый, на основе плазмиды рK18mobSacB [2]. Далее была проведена электропорация и селекция мутантов, содержащих делецию.

Для полученного мутанта был проведен тест на образования биопленок и тест на подвижность. Полученный мутант *P. putida* LN6160 образовывал биопленку в 5 раз меньше, чем исходный, и не показал способность к подвижности в 0,3% агаре. Это позволяет в дальнейшем использовать его как платформу для биотехнологических задач.

Работа выполнена в рамках выполнения проекта «Разработка рекомбинантного штамма на основе *Pseudomonas putida* PCL1760 для биокаталитической трансформации ароматических производных лигнина», финансируемого Министерством Науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-254 от 17.06.2022 г.).

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) Kvitko, B.H. Construction of *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 Mutant and Polymutant Strains. / Collmer A. // Methods Mol Biol., 2011, 712:109-28.
- 3) Validov, S. Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici* 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.