

УДК 579.6

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА *C. necator* H16, КУЛЬТИВИРУЕМОГО НА ОТРАБОТАННЫХ КУЛИНАРНЫХ МАСЛАХ.

Лысенко М. Е. (ИТМО), Кузнецова А. П. (ИТМО)

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Аль-Шехадат Р.И. (ИТМО)

Введение. Полигидроксиалконаты – биоразлагаемые полимеры, синтезируемые некоторыми бактериями в условиях недостатка питательных веществ или внешних стрессов [2]. Одной из таких бактерий является *C. necator* H16 ввиду высокой метаболической активности [1,2]. Данные свойства применялись для производства ПГА на различных нетрадиционных субстратах, таких как глицерин, лактоза и отработанные кулинарные масла (ОКМ) [3-5]. ОКМ является перспективным сырьем для производства ПГА, что помогает решить проблему его утилизации и сделать более дешевым процесс синтеза ПГА [4]. Тем не менее, ОКМ не являются легко усвояемым источником углерода для нативного штамма. Таким образом, важным исследовательским вопросом становится поиск методов увеличения способности *C. necator* к потреблению ОКМ и синтезу полимера. Одним из таких путей является химический мутагенез [4].

Основная часть. В настоящей работе был проведен химический мутагенез с применением этилметансульфоната в концентрациях 0,5%, 1% и 2%. Штамм-продуцент *C. necator* H16 культивировался в присутствии мутагена в солевой среде, содержащей отработанные кулинарные масла, такие как пальмовое, подсолнечное и масложировая смесь. Контроль влияния мутагена на клетки осуществлялся путем отбора проб через 6, 24, 48 и 72 часа после начала роста для измерения оптической плотности как показателя динамики роста штамма-продуцента. Отобранные пробы также высевались на агарную среду BSM для культивирования в течение 48-72 часов с целью оценки изменений в количестве синтезируемого штаммом полимера и отбора отдельных колоний для дальнейших исследований. Выход полимера проверялся по активности флюоресценции при ультрафиолетовом свете (длина волны 350 нм), обусловленной окрашиванием инокулята Нильским синим перед посевом. Наиболее яркое свечение соответствует колонии, содержащей большее количество ПГА. Отобранные колонии в дальнейшем анализируются повторно.

Выводы. В результате проведенной работы исследована гипотеза о влиянии процесса химического мутагенеза на свойства штамма-продуцента, помещенного в неблагоприятные условия культивирования. Результаты проведенных исследований демонстрируют, что влияние химического мутагенеза имеет неоднозначный характер и связано как с используемым сырьем, так и с концентрацией мутагена. Дальнейшие исследования важно направить на поиск оптимальной концентрации используемого мутагена и соотношения количества синтезируемого полимера к получаемой биомассе.

Список использованных источников:

1. Morlino M. S., García R. S., Savio F., Zampieri G., Morosinotto T., Treu L., Campanaro S. *Cupriavidus necator* as a platform for polyhydroxyalkanoate production: An overview of strains, metabolism, and modeling approaches // *Biotechnology Advances*. – 2023. – V. 69. – P. 108264.
2. Nygaard D., Yashchuk O., Hermida E. B. PHA granule formation and degradation by *Cupriavidus necator* under different nutritional conditions // *Journal of Basic Microbiology*. – 2021. – V. 61(9). – P. 825-834.

3. Nygaard D., Yashchuk O., Hermida E. B. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Production from Residual Glycerol by Wild Type *Cupriavidus necator* // Waste and Biomass Valorization. – 2022. – V. 14. – P. 1489-1496.
4. Obruca S., Ondrej Snajdar, Zdenek Svoboda & Ivana Marova Application of random mutagenesis to enhance the production of polyhydroxyalkanoates by *Cupriavidus necator* H16 on waste frying oil // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2013. - V. 29. – P. 2417-2428.
5. Povolito S., Toffano P., Basaglia M., Casella S. Polyhydroxyalkanoates production by engineered *Cupriavidus necator* from waste material containing lactose // Bioresource Technology. – 2010. – V. 101(20). – P. 7902-7907.

Автор _____ Лысенко М. Е.

Научный руководитель _____ Аль-Шехадат Р. И.