

СОЗДАНИЕ ЭФФЕКТИВНОГО ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ

Идрисова Л. Т.¹

Научный руководитель – канд. биол. наук, науч. сотрудник Коляденко И. А.¹

¹Университет ИТМО

idrisovaliana320@gmail.com

Введение

Янтарная кислота является важным химическим соединением, широко используемым для синтеза химических веществ, включая полимеры и биоразлагаемые материалы. Традиционное промышленное производство янтарной кислоты основано на нефтехимических процессах, которые характеризуются высокой энергоемкостью и оказывают значительное воздействие на окружающую среду. Эти недостатки стимулируют активные исследования в области биотехнологического производства ЯК как более экологичного и перспективного подхода.

Биологическое производство ЯК основано на микробной ферментации возобновляемых источников углерода, таких как глюкоза и лигноцеллюлоза [1]. Природные продуценты, включая *Actinobacillus succinogenes*, *Mannheimia succiniciproducens* и *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, способны синтезировать янтарную кислоту как основной метаболит. Наряду с ними применяются генетически модифицированные штаммы *Escherichia coli*, *Corynebacterium glutamicum*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Yarrowia lipolytica*, обеспечивающие более эффективное получение продукта в анаэробных или микроаэробных условиях, снижая зависимость от ископаемого сырья и уменьшая выбросы парниковых газов.

В зарубежной научной литературе описано множество подходов к улучшению биопродукции янтарной кислоты, включая адаптивную лабораторную эволюцию и метаболическую инженерию *Escherichia coli*. Эти методы позволили достичь конверсии глицерина в ЯК на уровне 70-80%, что важно для использования побочных продуктов биодизеля в качестве субстрата [2]. Промышленное биотехнологическое производство ЯК уже реализовано рядом компаний, в частности BioAmber, Succinity GmbH, Myriant Corporation, Reverdia. Объем производства компанией BioAmber составляет 30 000-50 000 тонн в год [3], что подтверждает промышленную реализуемость и масштабируемость подхода. На сегодняшний день в РФ методы метаболической инженерии слабо развиты, однако биотехнологическим способом преимущественно производится лимонная, уксусная и молочная кислоты.

В последние годы значительные успехи достигнуты благодаря метаболической инженерии, оптимизации штаммов и состава сред, что позволило повысить выход янтарной кислоты для дикого типа с 0,19 г/г (из расчета на субстрат-источник углерода) до 0,71 г/г у рекомбинантного, при теоретическом максимуме 1,12 г/г. В то же время сохраняются проблемы, связанные с экономической эффективностью биопроцессов: оптимизацией производительности микроорганизмов, снижением затрат на питательные среды и очистку продукта, а также уменьшением образования побочных соединений. В связи с этим современные исследования направлены на совершенствование штаммов, использование

более доступных источников сырья и улучшение условий культивирования микроорганизмов и очистки целевого метаболита.

Основная часть

В данной работе реализован комплексный биотехнологический подход, направленный на повышение эффективности микробного синтеза янтарной кислоты путем конструирования рекомбинантных штаммов-продуцентов. Для направленной инактивации генов была использована усовершенствованная система редактирования генома CRISPR/Cas9, что позволило создать безмаркерные рекомбинантные штаммы с делецией генов, ответственных за синтез побочных органических кислот. Используемый подход позволил перераспределить углеродный поток и минимизировать образование побочных метаболитов, что привело к направлению метаболизма в сторону синтеза янтарной кислоты.

Количественный анализ продукции метаболитов осуществлялся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Проведенные эксперименты по оптимизации состава питательных сред и метода культивирования рекомбинантных штаммов показали, что эффективность наработки ЯК наилучшим вариантом штамма почти в 4 раза превышает показатель дикого типа. При этом образование побочных органических кислот существенно снижалось или полностью отсутствовало. Максимальная эффективность конверсии глюкозы в янтарную кислоту разработанными рекомбинантными штаммами составила 70-76%.

Полученные результаты подтверждают эффективность предложенного подхода, основанного на сочетании методов метаболической инженерии и оптимизации условий культивирования. Разработанный штамм представляет перспективную основу для дальнейшего создания промышленных продуцентов янтарной кислоты и разработки экономически эффективных биотехнологических процессов.

Выводы

Показано, что выбранный микроорганизм способен производить большое количество ЯК. Метаболическая инженерия, оптимизация состава питательной среды и условий культивирования является важным фактором повышения продуктивности рекомбинантных штаммов. Практическая значимость работы заключается в возможности использования разработанного штамма и подходов для создания промышленного продуцента янтарной кислоты и биотехнологии ее получения.

В дальнейшем целесообразно проведение масштабирования процесса культивирования в контролируемых условиях биореактора, а также проведение опытно-промышленных испытаний с целью оценки стабильности штамма и подтверждения его промышленного потенциала.

Литература

1. Das S., Sharma K., Sharmmah D. Metabolic rewiring of microbial cell factories for improved production of succinic acid // *Biotechnology for Sustainable Materials*. — 2024. — Vol. 1, Article 15. — DOI: 10.1186/s44316-024-00012-z.
2. Peng J., Sun J., Luo Y., Wu H. Evolution-assisted engineering of *Escherichia coli* improved succinic acid production from glycerol // *BioDesign Research*. — 2025. — Vol. 7, № 2. — Article 100022. — DOI: 10.1016/j.bidere.2025.100022.
3. Timizar N. File on the environment. Green chemistry. The Bioamber company bio-produces succinic acid // *ResearchGate*. — 2008. — Vol. 45. — URL: https://www.researchgate.net/publication/292234202_File_on_the_environment_Green_chemistry_The_Bioamber_company_bio-produces_succinic_acid.