

УДК 579.252.5

**МОДЕЛЮВАННЯ ПЛАЗМІДИ ДЛЯ ШТАМУ-ПРОДУЦЕНТУ
CLOSTRIDIUM SP. IMB B-7570 З НАДЕКСПРЕСІЄЮ ГЕНУ *bdhA***

Тігунова О.О.¹, Братішко В.В.², Прийомов С. Г.¹, Шульга С.М.¹

¹ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України,
shulga5@i.ua

²Національний університет біоресурсів та природокористування України

Бутанол важлива хімічна сировина, яка використовується в промисловому синтезі багатьох органічних сполук та як альтернативне паливо [1]. Бутанол виробляють з нафти гідролізом галогеналканів чи гідролізом і гідратацією алкенів. В останні роки поновився інтерес до мікробіологічного процесу отримання бутанолу як альтернативного палива, оскільки за прогнозами об'єми використання біопалива на ринку пального в найближчі роки сягне 30% [2]. Тому, пошук, створення та ідентифікація нових штамів-продуцентів бутанолу, оптимізація етапів культивування з використанням нехарчової сировини як субстрату є актуальним завданням [3].

Метою даної роботи є моделювання плазмиди для штаму-продуценту *Clostridium sp. IMB B-7570* з надекспресією гену *bdhA*.

Для досліджень використовували штам-продуцент бутанолу *Clostridium sp. IMB B-7570* з «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для сільськогосподарської та промислової біотехнології» ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України». Для встановлення необхідних праймерів було використано програми Primer-BLAST, NEBcutter V2.0, для підбору плазмиди була використана база даних Addgene, GeneBank. Для моделювання плазмиди було використано програму SnapGene. Для оцінки результатів впливу генів на метаболізм використовували «аналіз балансу потоку». Для проведення аналізу потоків метаболізму використано алгоритми лінійного програмування COBRA Toolbox11. Для оптимізації розрахунків та моделювання використано програму MetNetMaker. Експресію гену бутанолдегідрогенази у відповідний фермент було відстежено у віртуальному середовищі методом FBrAtio.

Методами комп'ютерного моделювання SnapGene проведено конструювання плазмиди для внесення гену бутанолдегідрогенази *bdhA* в *Clostridium sp. IMB B-7570* на основі модифікованої плазмиди pUC19 *E.coli*. На першому етапі було зроблено заміну частини плазмиди Sall-BamHI на сайтвмістну вставку олігону Sall-DraI-HpyCH4IV-BamHI. Отриману модифіковану плазмиду використовували, як модель вектора для гена бутанолдегідрогенази за сайтами DraI-HpyCH4IV. В результаті дослідження отримано мапу модифікованої плазмиди pUC19, яка містила ген *bdhA* (рис 1).

Проведене моделювання плазмиди для штаму-продуценту *Clostridium sp. IMB B-7570* з геном *bdhA*, виконане методом FBrAtio, дало змогу відстежити експресію цього гену у відповідний фермент у віртуальному середовищі.

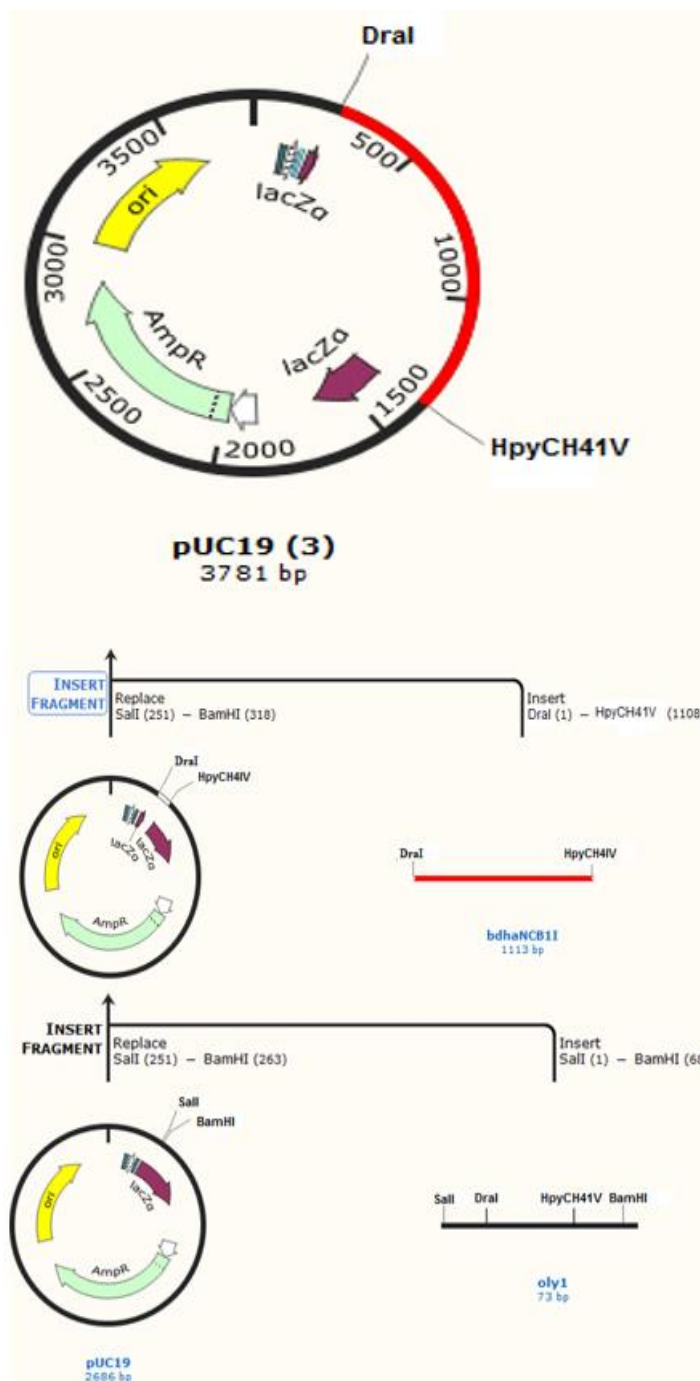


Рис.1. Конструювання плазмиди з геном *bdhA* (<https://www.snapgene.com/>)

Список використаної літератури:

1. Hussain A., Shahbaz U., Khan S., Basharat S., Ahmad K., Khan F., Xia X. Advances in microbial metabolic engineering for the production of butanol isomers (isobutanol and 1-butanol) from a various biomass. *Bioenerg. Res.* 2022. <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10410-8>
2. Abdelaal A.S., Yazdani S.S. Engineering *E.coli* to synthesize butanol. *Biochem Soc Trans.* 2022. <https://doi.org/10.1042/BST20211009>
3. Tigunova O. O., Kamenskyh D. S., Tkachenko T. V., Yevdokymenko V. A., Kashkovskiy V. I., Rakhmetov D. B., Blume Y. B., Shulga S. M. **Biobutanol Production from Plant Biomass.** *Open Agriculture Journal.* 2020, 14, 187-197. DOI: [10.2174/1874331502014010187](https://doi.org/10.2174/1874331502014010187)