**Поиск подходов к увеличению биосинтеза липопептидного ПАВ сурфактина клетками *Bacillus subtilis***

***Линдин Е.Ю.******1, Трефилов В.С.1,2, Вирясов М.Б.2, Кубарева Е.А.2***

*Студент, 6 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия*

*2НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*E-mail:* *evgenii.lindin@chemistry.msu.ru*

Сурфактин – циклический гептапептид, этерифицированный жирной кислотой. Он является хорошо исследованным и востребованным биологическим поверхностно-активным веществом (биоПАВ). Преимущества сурфактина по сравнению с синтетическими ПАВ – биологическая совместимость, экологическая безопасность, низкая токсичность [1]. Сурфактин, полученный микробиологическим синтезом, является смесью нескольких изоформ, отличающихся между собой длиной углеводородной цепи в остатке жирной кислоты (С13, С14, С15) и аминокислотным составом. Увеличение продукции сурфактина достигают с помощью аппарата генной инженерии и варьирования условий клеточного роста.

Цель данной работы - исследовать влияние 6S РНК и условий культивирования клеток на биосинтез сурфактина, а также восстановить сурфактин-продуцирующую активность в штамме PY79

Объекты исследования: клетки *B. subtilis* природного штамма NCIB 3610 и лабораторного штамма PY79. Лабораторный штамм PY79 не способен к биосинтезу сурфактина из-за мутации в гене *sfp*, хотя содержит ряд мутаций, с большой долей вероятности способствующих биосинтезу сурфактина. Перспективным является восстановление сурфактин-синтезирующей активности данного штамма.

Делеция гена 6S-1 РНК способствует повышению эффективности транскрипции оперона *srfA* в поздней стационарной фазе в клетках NCIB 3610, но не приводит к изменению количества сурфактина (200±50 мг/л среды LB). Рост на богатой SFEM-среде (питательная среда, стимулирующая биосинтез сурфактина) не приводит к изменению количества продуцируемого сурфактина клетками с делецией 6S-1 РНК. Делеция гена
6S-2 РНК не приводит к изменению уровня экспрессии генов оперона *srfA* для обоих штаммов, а также не приводит к изменению количества продуцируемого сурфактина клетками штамма NCIB 3610. При делеции генов обеих 6S РНК для штамма NCIB 3610 наблюдается уменьшение количества мРНК трех из четырех генов оперона *srfA* в поздней стационарной фазе роста, а количество сурфактина через 24 ч от начала роста уменьшается вдвое. Для штамма PY79 наблюдается увеличение экспрессии всех генов оперона *srfA* примерно в 3 раза.

На экспрессионной плазмиде pHT01 был внесен интактный ген *sfp* из штамма NCIB 3610, в компетентные клетки *B. subtilis* PY79 дикого типа. В результате была восстановлена сурфактин-продуцирующая активность штамма PY79, выход сурфактина в нем составил 460±100 мг/л среды LB (24 ч роста). Количество продуцируемого сурфактина уменьшается при добавлении индуктора. Проводятся эксперименты по восстановлению сурфактин-продуцирующей активности в делеционных клетках PY79 с в нокаутных клеточных линиях.

При изменении среды со SFEM на LB происходит изменение изоформного состава сурфактина. В среде SFEM основным компонентом является С15-сурфактин, а в среде LB – С14 (для штамма NCIB 3610). Изоформный состав сурфактина, продуцируемого штаммом PY79, аналогичен наблюдаемому для NCIB 3610 для среды LB.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект 24-24-00193*

**Литература**

1. Кисиль О.В., Трефилов В.С., Садыкова В.С., Зверева М.Э., Кубарева Е.А. Сурфактин: биологическая активность и возможность применения в сельском хозяйстве // Прикладная биохимия и микробиология. 2023. Т. 59, № 1. С. 1–13.2.