

27. Використання метаболітної інженерії для створення високоефективних продуцентів бутанолу серед представників роду *Clostridium*

Марина Маначин

Національний університет харчових технологій

Вступ: Крім класичних способів підвищення ефективності виходу цільового продукту за допомогою мікроорганізмів, в даний час все частіше використовують технології рекомбінантних ДНК, вводячи в клітини прокаріотів нові гени чи модифікуючи існуючі. Бактерії роду *Clostridium* здатні продукувати бутанол в

процесі ацетано-бутилового бродіння і за допомогою методів метаболічної інженерії можна значно поліпшити процес мікробіологічного отримання бутанолу.

Завдання, які вирішує метаболічна інженерія

Використання метаболічної інженерії бактерій роду *Clostridium* дозволяє вирішити такі завдання: підвищити продуктивність утворення бутанолу, аеротолерантність, толерантність до продуктів біосинтезу і розширити діапазон використання субстратів. Клостридії – облигатні анаероби. Однак спектр їх чутливості до молекулярного кисню досить широкий, що пов'язано з виявленням у бактерій роду *Clostridium* супероксиддисмутази, яка бере участь у процесі нейтралізації токсичного впливу O_2 і його похідних. Дослідження щодо підвищення аеротолерантності бактерій роду *Clostridium* показали, що видалення гена пероксидазного репресора (PerR) *C. acetobutylicum* призводить до тривалої аеротолерантності бактерій, не обмежує їх ріст в аеробних умовах і підвищує стійкість мікроорганізмів до H_2O_2 [1].

Резистентність до продуктів метаболізму є однією з найбільш досліджуваних проблем, які пов'язані з мікробіологічними виробництвом бутанолу. Відомо, що бутанол унеможливає споживання глюкози, тому не відбувається утворення енергії в клітині і спостерігається внутрішньоклітинне падіння активності АТФ-ази. Для вирішення цієї біотехнологічної виробничої проблеми традиційно звернулися до використання мутантних мікроорганізмів і оптимізації середовища. Можливо, введення декількох генів, які відповідають за толерантність бактерій до високих концентрацій розчинників в бактеріальну ДНК, призведе до створення стійкого до високих концентрацій бутанолу штаму *C. acetobutylicum*. Процес утворення розчинників пов'язаний з утворенням спор. У промисловому відношенні утворення розчинників неспоруютьчими штамами є бажаним, тому що бактерії роду *Clostridium* синтезують розчинники тільки упродовж вузького відрізка часу – до початку процесу спорування. Одним із способів вирішення цієї проблеми є введення генів, які відповідають за синтез бутанолу в бактеріальну ДНК неспоруютьчого і нездатного до продукування бутанолу штаму *C. acetobutylicum* [2].

Проводяться роботи щодо розширення діапазону споживання субстратів бактеріями роду *Clostridium*. Зокрема, як потенційний субстрат досліджується целюлоза. Для споживання бактеріями целюлози необхідне наявність ферментів, які відповідають за її розщеплення. Існує кілька сиквенованих клостридій, які містять повний функціональний целюлазний комплекс (*C. phytofermentans*, *C. thermocellum*, *C. cellulolyticum*), які продукують бутанол. Ряд робіт показує, що бактерії роду *Clostridium* можуть засвоювати целюлозу без будь-яких генетичних модифікацій, але незважаючи на те, що зазначені бактерії містять повний комплекс генів целюлазних ферментів, вони не здатні до повного розкладу целюлози. Причиною цього є або наявність гена, який перешкоджає функціонуванню целюлаз або істотна мутація в структурі ферменту, або нездатність до перенесення та активації целюлозосом в правильному клітинному місці [3,4].

Висновки: Враховуючи вище сказане, можна допустити, що в майбутньому буде створено штам бактерій роду *Clostridium*, який буде характеризуватися здатністю до синтезу великої кількості бутанолу, відсутністю спорування, аеротолерантністю, високою продуктивністю і простотою проведення процесу біосинтезу.

Література

1. Hillmann F.C., Fischer R.J., Saint P.F. PerR acts as a switch for oxygen tolerance in the strict anaerobe *Clostridium acetobutylicum* // *Molecular Microbiology*. – 2008. – Vol. 68. – P. 848–860.
2. Alsaker K.V., Spitzer T.R., Papoutsakis E.T. Transcriptional analysis of spo0A overexpression in *Clostridium acetobutylicum* and its effect on the cell's response to butanol stress // *Journal of Bacteriology*. – 2004. – Vol. 186. – P. 1959–1971.
3. Berezina O.V., S.P. Sineoky S.P., Velikodvorskaya G.A. Extracellular glycosyl hydrolase activity of the *Clostridium* strains producing acetone, butanol, and ethanol // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2008. – Vol. 44. – P. 42–47.
4. Lopez-Contreras A.M., Gabor K., Martens A.A., Renckens B.A. Substrate-induced production and secretion of cellulases by *Clostridium acetobutylicum* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2004. – Vol. 70. – P. 5238–5243.