

**ВЫДЕЛЕНИЯ ТИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ
БИООКИСЛЕНИЯ СЕРЫ РАЗЛИЧНОЙ ДИСПЕРСНОСТИ**

Н.С. Серік, М.А. Абдулжанова, Н.Е. Болатжан

Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, Казахстан, Алматы,
nazeka.ska@gmail.com

В земной коре содержится около 0,006% серы. В почве сера в основном находится в составе органических соединений, представленных растительными остатками и гумусом. Так же сера постоянно присутствует во всех живых организмах и имеет исключительно важное значение в жизни растений. Наиболее значимым среди бактерий, окисляющие молекулярную серу являются тионовые бактерии – хемолитоавтотрофы, использующие энергию окисления серы кислородом для хемосинтеза. Тионовые бактерии, широко распространённые в почвах, они окисляют серу до сульфатов, делая её доступной для растений, которые не могут усваивать элементарную серу. За счёт освобождающейся энергии ассимилируется углерод из угольной кислоты. Образованная ими серная кислота подкисляет почву, способствуя переводу некоторых важных для растений элементов в доступную форму.

Накопительные культуры микроорганизмов получали, засевая по 10 г почвы в 100 мл синтетической среды Армбрустера и инкубируя в колбах Эрленмейера под резиновыми пробками 4 суток при перемешивании. Элективные условия развития сероокисляющих микроорганизмов были созданы посредством включения в состав питательной среды источника восстановленной серы, а также установлением рН среды в диапазоне нейтральных и слабощелочных значений. Культивирование проводили в колбах на перемешивающем устройстве при температуре 28° С.

Для того, чтобы выделить чистые культуры сероокисляющих бактерий из микробных ассоциаций почвы, производили пересев из них, осуществляли несколько пассажей. Бактерии культивировались на жидкой среде в пробирках на качалке при 160 об/мин и при температуре 28°С. При исследовании роста бактерий в качестве источника серы использовали тиосульфат, в качестве источника азота использовался NH₄Cl.

Выделено 36 штаммов сероокисляющих бактерий. Контроль чистоты полученных изолятов и определение их морфологических характеристик осуществляли при микроскопировании. Все изоляты характеризовались наличием в поле зрения палочковидных, в большинстве подвижных Грамотрицательных бактерий. Полученные 36 изолятов отнесены к роду *Thiobacillus*. По результатам фенотипической и генетической идентификации бактерии были отнесены к следующим таксономическим единицам: *Thiobacillus thioparus*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus denitrificans*, *Thiobacillus thiocyanoxidans*, *Thiobacillus novellus*, *Thiobacillus ferrooxidans*.

Ғылыми жетекшісі: б.ғ.к. Қыстаубаева А.С.

**СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*,
ЭФФЕКТИВНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИЙ ГЕНЫ ЦЕЛЛЮЛАЗ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ
БИОТОПЛИВА**

И.Т. Смекенов, А.К. Куанбай, А.С. Бурибаева, С.М. Тайпакова

ДГП «Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии»
Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

На сегодня весь топливный этанол производится биотехнологически — путем сбраживания сахаров, или крахмалосодержащего сырья. В условиях угрозы мирового продовольственного кризиса такая стратегия для Казахстана неприемлема, поскольку приводит к еще большему нарастанию дефицита продовольствия и нерациональному использованию сельскохозяйственных угодий. Однако, даже в США, где кукуруза очень дешевая, поддержание рентабельности производства топливного этанола требует государственных субсидий, а для того чтобы этанол мог составить ценовую конкуренцию нефтепродуктам необходимо дальнейшее существенное снижение цены топливного этанола. Основными способами удешевления этого продукта могут быть замена сырья для его производства и кардинальное изменение технологии алкогольной ферментации. Изменение

Секция 4. Проблемы современной биотехнологии

технологии алкогольной ферментации подразумевает применение технологии консолидированного биопроцесса гидролиза и сбраживания (СВР), т.е. прямой ферментации целлюлозосодержащего субстрата в этанол. Идеальным решением данного вопроса было бы использование микроорганизмов, способных одновременно гидролизовать биомассу, и ферментировать образующиеся сахара в этанол. Связи с этим целью данной работы являлось создание рекомбинантных штаммов, ко-экспрессирующих гены целлюлаз, и проверка их способности производить этанол из аморфной целлюлозы.

С помощью генно-инженерных методов был сконструирован интегральный вектор *pHO-GAPDH-eng1-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-GAPDH- α -bgII-flag-KanMX4-HO*, содержащий необходимые элементы для эффективной экспрессии клонируемых генов, способный включаться в *HO* локус VI хромосомы *S.cerevisiae*. С использованием данной конструкции для геномной интеграции были получен новый штамм *Saccharomyces cerevisiae* FF18733-*pHO-GAPDH-eng1-GAPDH- α -cel7A-myc-6His-GAPDH- α -bgII-flag-KanMX4-HO* эффективно экспрессирующие эндо-1,4- β -глюканазу, β -гликозидазу гриба *Aspergillus niger* и целлюбогидролазу гриба *Lentinula edodes*. Хромосомная интеграция генов *eng1*, *cel7A* и *bgII* в *HO* локус генома дрожжей была подтверждена методом ПЦР. Была показана способность рекомбинантных штаммов расти в среде с целлюбиозой и карбоксиметилцеллюлозой в качестве единственного источника углеводов, а также выявлена экспрессия интегрированных в хромосому генов методами иммуноблоттинга и ДНС-ПААГ зимограммы. Физиологические характеристики рекомбинантного штамма не показали существенных отличий от родительского штамма (в среде с глюкозой) по скорости роста и выходу биомассы. Показано, что рекомбинантный штамм производит этанол с более высоким выходом (15,6 г/л) в среде содержащем целлюбиозу и глюкозу, по сравнению с выходами этанола (7,65 г/л из глюкозы или 9,05 г/л из целлюбиозы) при ферментации сахаров по отдельности.

Научный руководитель: д.б.н. член-корр. НАН РК Бисенбаев А.К.

ӨНДІРІС ОРЫНДАРЫНДАҒЫ ТОПЫРАҚ ЖӘНЕ СУ ҮЛГІЛЕРІНІҢ ТОКСИНДІГІН БИОЛОГИЯЛЫҚ БАҒАЛАУ

Қ.Т. Тастамбек*, Б.Д. Қосалбаев, Н.Ш. Акимбеков, Б. Бердіқұлов
эл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы
tastambeku@gmail.com

Қазір еліміздің қаншалықты қарқынды дамуы-өзіміздің табиғи ресурстардыда соншалықты пайдалану болып отыр. Қоршаған ортадағы антропогендік компоненттер биологиялық жүйелердің ластануына себеп болады. Оларды пайдаланып қана қоймай, қоршаған ортаға тигізетін әсерлері көп. Сондықтан, ластану көрсеткішін уақытында анықтап, бағалау қажет. Егер, өз уақытында анықтап, алдын алмаған жағдайда, маңызды аймақтардың қайтымсыз өзгеріске ұшырап кетуі мүмкін. Ол үлкен қауіп тудырады.

Басылымда өндірістің қарқынды дамып жатқан шоғыры Ақтау, Жаңаөзен және Атырау аймақтарынан алынған топырақ пен су сынамаларының токсинділігін биологиялық бағалау болып отыр.

Су сынамаларын бақылауда әр ыдысқа *Daphnia magna*-ның 10 данасы енгізілді. Зерттеу жұмыстарын бақылау 24, 48 және 96 сағаттарда жүргізіліп, дафниялардың саны, оларға әсері, яғни жүзуі бақыланды.

Топырақ сынамаларының токсинділігін анықтауда жауынқұрттардың саны, қалыпты мінез-құлқы бақыланды. Әр ыдысқа 10 дана жауынқұрттан енгізілді.

Нәтижелер бойынша, Ақтау сынамасының да токсинділігі 7 тәулікте және 10 тәулікте бақылау жүргізілгенде жауынқұрт саны 9 болып, 1 жауынқұртқа азайғандығын көрсетті. Қозғалыстары екі тәулікте де белсенді болды. Атырау сынамасының токсинділігі өте жоғары болып, сынамаға салынған жауынқұрттардың өлуі дәлел болды. Құлсары сынамасын жоғарыдағы сынамалармен салыстырғанда токсинділік байқалмады. Баста салынған 10 жауынқұрт тәжірибе біткенше белсенді тіршілік етті. Қоршаған ортаға улағыш заттардың түсу жолдары өте көп болып отыр. Жаңаөзен сынамасының бақылауы барысында 1 жауынқұртқа азайды. Тіршілік ету барысында белсенді қозғалыс танытты. Демек, адамдардың күнделікті өмір тіршілігіне, кәсіби қызметіне, денсаулығына