

## **ZAPOJENÍ POLYHYDROXYALKANOÁTŮ DO ADAPTAČNÍHO PROCESU BAKTERIÁLNÍHO KMENE *CUPRIAVIDUS NECATOR***

Nováčková I.<sup>1</sup>, Hrabalová V.<sup>1</sup>, Slaninová E.<sup>1</sup>, Sedláček P.<sup>2</sup>, Obruča S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická, VUT, Brno, Česká republika

<sup>2</sup>Ústav fyzikální a spotřební chemie, Fakulta chemická, VUT, Brno, Česká republika

Polyhydroxyalkanoáty (PHA) jsou ve formě intracelulárních granulí produkovány a akumulovány řadou prokaryotických mikroorganismů za účelem tvorby depozitu uhlíku, energie a potřebné redukční síly. Bylo pozorováno, že akumulace PHA navyšuje robustnost bakteriálních buněk vůči působení řady stresových faktorů. Evoluční inženýrství představuje nástroj, pomocí kterého můžeme řízeně vylepšovat vybrané charakteristiky mikroorganismů na úrovni fenotypu bez předchozí genotypové charakterizace. Vzhledem k provedení, kdy dochází k aplikaci selekčního tlaku na mikroorganismy během růstu, je vhodné využívat pro práci bakterie s relativně krátkou generační dobou, jelikož za stejnou dobu procesu vzniká řada generací, které mohou fixovat výhodné změny. V kontextu evolučního inženýrství mohou hrát PHA roli při adaptačním procesu díky obecně zvýšené robustnosti bakteriálních buněk vůči stresu.

Modelový kmen pro produkci PHA, *Cupriavidus necator* H16 (CCM 3726), byl v rámci konceptu evolučního inženýrství podroben adaptačnímu procesu na dva vybrané stresory, a to zvýšený osmotický tlak (20 g/L NaCl) a zvýšenou koncentraci měďnatých iontů (30 mg/L Cu<sup>2+</sup>). Experiment byl prováděn prostřednictvím sériového přenosu alikvotu 48hodinové kultury do nového media s danou dávkou stresu, a to až do zisku 78 pasáží při adaptaci na měďnaté ionty a 68 pasáží při adaptaci na osmotický stres. Součástí práce bylo následné porovnání původního kmene především s posledními pasážemi adaptovaných kmenů. Při komparaci byly podrobeny zkoumání případné změny v růstu, tvorba PHA, morfologie buněk, základní metabolická charakterizace, všeobecná stresová robustnost a také analýza buněk prostřednictvím pokročilých spektroskopických technik.

Důležitá role PHA v rámci zvýšené úspěšnosti adaptace byla potvrzena pro oba testované stresory.