

Utjecaj pojačane ekspresije gena biosintetskog puta za 3-hidroksipropionsku kiselinu na njezin prinos u bakteriji

Lactobacillus reuteri

Sažetak

3-Hidroksipropionska kiselina je novi antimikrobni agens koji se može upotrijebiti za suzbijanje patogenih bakterija u hrani, kao što su vrste iz rodova *Salmonella* i *Staphylococcus*. Bakterija *Lactobacillus reuteri* iz glicerola sintetizira 3-hidroksipropionsku kiselinu biosintetskim putem ovisnim o koenzimu A, kodiranim operonom za korištenje propandiola koji je reguliran kataboličkom represijom. U mutantu *L. reuteri* RPRB3007 u kojem nema kataboličke represije, ispitanom pomoću metode PCR, primijećeno je 2,5 puta više transkripata gena *pduP*, *pduW* i *pduL*, i to tijekom logaritamske faze rasta bakterije. Proizvodnja 3-hidroksipropionske kiseline određena je u stanicama koje se ne dijele, a bile su resuspendirane u fosfatnom puferu, te u šaržnim kulturama uzgojenim u podlozi MRS s različitim omjerima glukoze i glicerola. Utvrđeno je da se u mutantu zbog pojačane ekspresije gena biosintetskog puta povećala specifična brzina nastajanja 3-hidroksipropionske kiseline, i to s 0,167 na 0,257 g po gramu suhe biomase po satu. Osim toga, sinteza je 3-hidroksipropionske kiseline u stanicama koje se ne dijele bila usporena nakon dodatka reuterina u koncentraciji od (30±5) mM. U šaržnom uzgoju nije utvrđena prisutnost 3-hidroksipropionske kiseline tijekom logaritamske i stacionarne faze rasta divljeg soja i mutanta, što je potvrđeno i NMR spektroskopijom. Međutim, nakon ispiranja i povratka u stanje mirovanja ove su stanice ponovno proizvodile 3-hidroksipropionsku kiselinu. Zaključeno je da laktat i acetat, primarni produkti katabolizma glukoze, vjerojatno inhibiraju sintezu 3-hidroksipropionske kiseline u šaržnim kulturama, što je potvrđeno činjenicom da dodatak laktata u koncentraciji od (25±5) mM ili acetata u koncentraciji od (20±5) mM podlozi sprečava sintezu 3-hidroksipropionske kiseline. Osim toga, uklanjanjem je natrijevog acetata i glukoze (izvora ugljika za proizvodnju mliječne kiseline) potaknuta proizvodnja 3-

3-hidroksipropionske kiseline u hranjivoj podlozi MRS na sličan način kao i uporabom fosfatnog pufera. Iako je genetička represija u mutantu izbjegnuta pojačanom ekspresijom gena biosintetskog puta, proizvodnja je 3-hidroksipropionske kiseline i dalje bila ograničena supstratom i kataboličkom inhibicijom.

Ključne riječi: 3-hidroksipropionska kiselina, katabolička inhibicija, katabolička represija, *Lactobacillus reuteri*, biotransformacija