

Onderzoek naar het fycocyaninepigment van cyanobacterie *Arthrospira* sp. PCC8005, geselecteerd als voedingssupplement voor ruimtemissies

Stijn Ramaekers

Academiejaar: 2013 - 2014

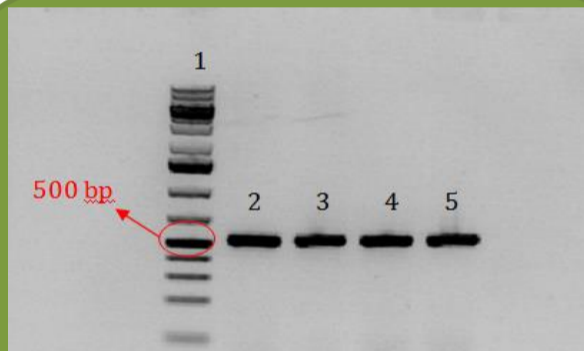
Introductie

Met het oog op lange ruimtemissies ontwikkeld het SCK•CEN samen met partners een regeneratieve bioreactor systeem, MELISSA genaamd. In het 4^{de} compartiment hiervan wordt de cyanobacterie *Arthrospira* sp. PCC8005 gebruikt voor de productie van O₂ en eetbare biomassa uit afval. Eén van de pigmenten geproduceerd door *Arthrospira* is c-fycocyanine (c-FC) dat een antioxidatieve werking vertoont en daardoor als voedingssupplement mogelijke stralingsbescherming kan bieden aan de astronauten in de ruimte. Of c-FC van de MELISSA bacterie *Arthrospira* sp. PCC8005 daadwerkelijk ook deze eigenschappen heeft, en of dit pigment ook voldoende kan worden geproduceerd in de biomassa moet nog wetenschappelijk bewezen worden.

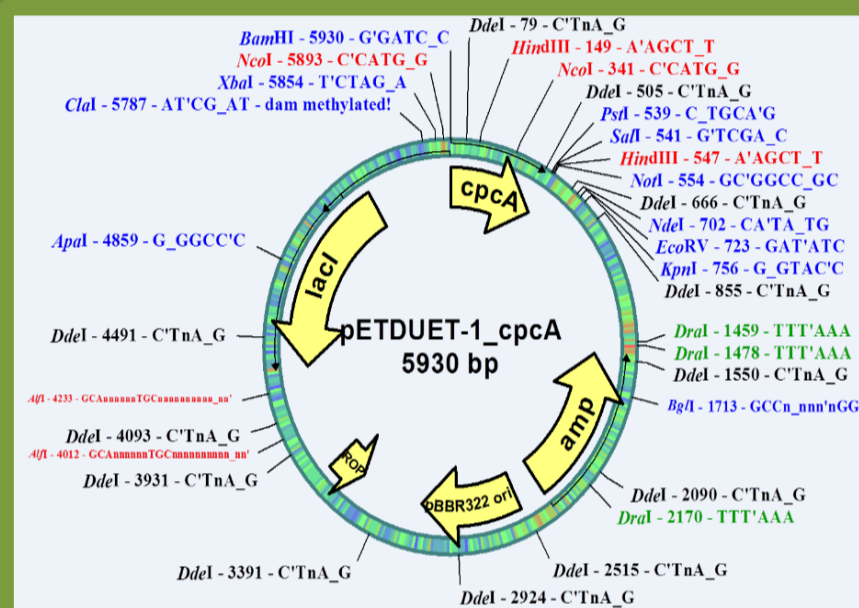
Doelstelling

Deze masterproef beoogde de biosynthese van c-FC van *Arthrospira* sp. PCC8005 verder te karakteriseren en een beter beeld te krijgen van de antioxidantactiviteiten. Meer bepaald werd nagegaan of de voorloper (CpcA) ook een aandeel heeft in de antioxidatieve eigenschappen van *Arthrospira* sp. PCC8005. Daarom werd het *cpcA*-gen heteroloog tot expressie gebracht in *E. coli*, het eiwit product getest op antioxidantactiviteit en de recombinante *E. coli* stam getest op UV-resistentie.

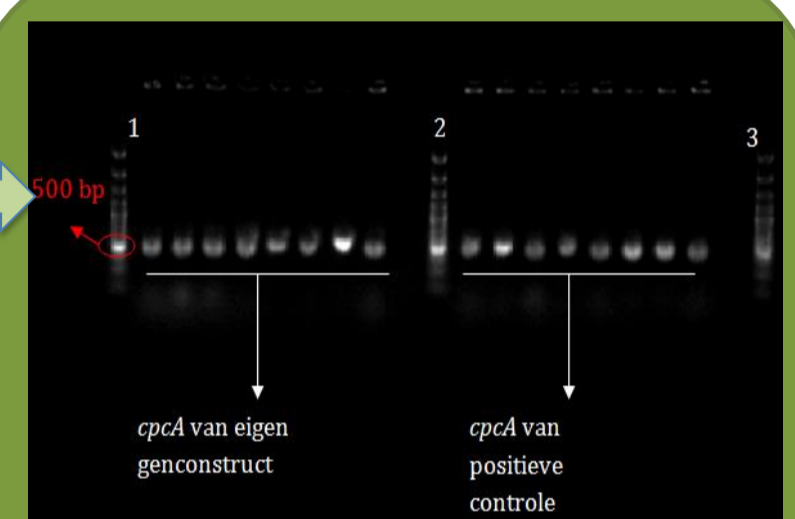
Arthrospira
sp. PCC8005



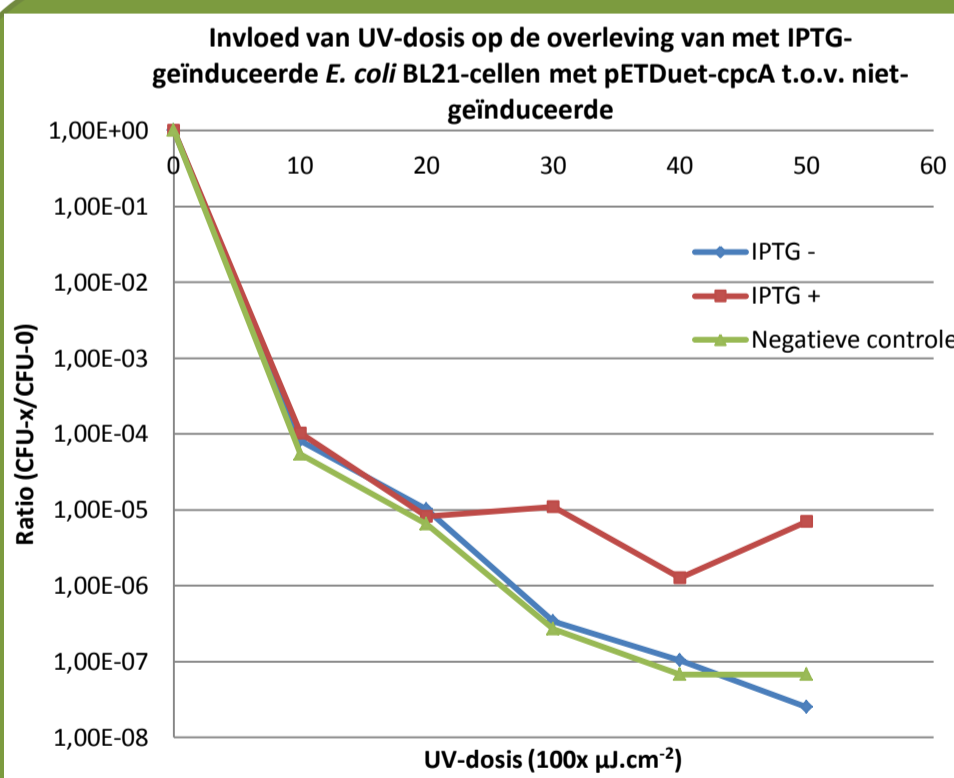
Amplificatie van het *cpcA*-gen via PCR:
Het amplicon is 524 bp lang : 489 bp voor *cpcA* –sequentie, + 27 en 8 bp voor resp. *forward* en *reverse* primersequenties



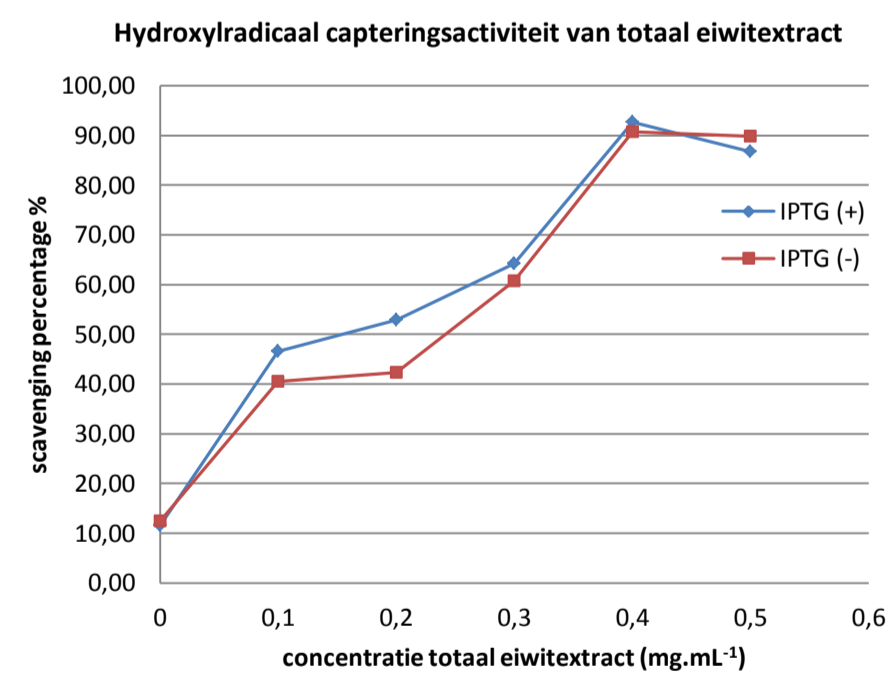
Clonering van *cpcA*-gen in pETDuet-& vector: Restrictie met *Bam*HI en *Pst*I gevolgd door ligatie



Kolonie-PCR na transformatie van pETDuet-CpcA in *E. coli* BL21:
In alle opgezuiverde kolonies is *cpcA*-gen aanwezig, zichtbaar t.h.v. 500 bp



De *E. coli* BL21-cellen waarbij CpcA-eiwit tot expressie komt na IPTG-inductie, overleven beter een blootstelling aan UV.



Totaal eiwitextract met CpcA (IPTG (+)) blijft experimenteel een hoger % aantal OH•-radicalen te neutraliseren, maar statistisch niet bevestigd omdat het slechts in duplo is uitgevoerd



Heterologe expressie van CpcA in *E. coli* BL21 na IPTG-inductie:
In lijn 7 & 5 t.h.v 20 kDa extra bandje van CpcA-eiwit tot expressie na IPTG-inductie.

Conclusie

Het *cpcA*-gen van *Arthrospira* sp. PCC8005 werd succesvol gecloneerd en heteroloog tot expressie gebracht in *E. coli*. Er werd aangetoond dat het CpcA-eiwit naar grote waarschijnlijkheid antioxidantcapaciteit bezit en een verhoogde UV resistentie geeft aan *E. coli*.

Promotoren / Copromotoren: Extern: dr. ir. Natalie Leys, dr. ing. Paul Janssen
Intern: ir. Myriam Meyers