

Rūta Urbonaitė

***Arthrobacter* spp. plazmidžių tyrimas**

SANTRAUKA

Arthrobacter genties bakterijos yra plačiai tiriamos visame pasaulyje. Jomis domimasi, kadangi įvairūs minėtos genties kamienai sugeba utilizuoti skirtingus pesticidus, *N*-heterociklinius junginius ir kitus pramonės produktus (pvz. ftalatus). Taigi, bakterijos gali būti panaudotos dirvos detoksikacijai. Nustatyta, kad *Arthrobacter* sp. kamienai, sugebantys degraduoti minėtus junginius, dažnai turi katabolines plazmidės, kuriose yra išsidėstę degradacijos fermentus koduojantys genai. Šios genties skirtingi kamienai turi plazmidės, kurių dydis įvairuoja nuo 41 iki 380 kb.

Pagrindinis mano darbo tikslas buvo sukonstruoti hibridinį vektorių, kuriame būtų *Arthrobacter* sp. replikacijos baltymų operonas ir kuris veiktų *Arthrobacter* genties bakterijose.

Pirmiausia, iš VP3 ir PRH1 kamienų buvo išskirtos plazmidės atitinkamai pVP3 ir pPRH. Atlikus 16 sDNR analizę, paaiškėjo, kad abu kamienai priklauso *Arthrobacter rhombi* genčiai. Buvo nustatyta abiejų plazmidžių seka: pVP3 yra 6135 bp dydžio, GC sąstatas 64,6%, pPRH plazmidės dydis 5000 bp, jos GC sudaro 66%. Abiejų plazmidžių GC reikšmės patenka į *Arthrobacter* sp. chromosominei ir plazmidinei DNR būdingų reikšmių intervalą: 59%-66%. Atlikus kompiuterinę analizę pVP3 plazmidėje buvo nustatyti 9 ORF, ilgesni nei 200 bp, o pPRH plazmidėje – 6 ORF. Pavyko identifikuoti tik 4 pVP3 plazmidėje aptiktus atviro skaitymo rėmelius (ORF1, ORF3, ORF6 ir ORF7). pPRH plazmidės buvo identifikuoti penki iš šešių atviro skaitymo rėmelių. Duomenų bazėse pVP3 ORF2, ORF4, ORF5, ORF8, ORF9 ir pPRH ORF1 koduojamiems baltymams neaptikome homologiškų baltymų. Reiškia, kad šie genai koduoja dar nežinomus baltymus.

Buvo nustatyta, kad pPRH plazmidei būdinga teta replikacija, tačiau kol kas nepavyko nustatyti, kokiū būdu replikuojasi pVP3 plazmidė. Hibridinio vektoriaus kūrimui buvo pasirinkta pPRH plazmidė, kadangi ji koduoja replikacijos baltymus. Genetinis žymuo *tet* (Tc^R) genas buvo klonuotas į hibridinę pPRHHind4 plazmidę. Sukonstruota plazmidė buvo pavadinta pPRHHind4Tc1, jos dydis 9324 bp. Nustatėme, kad plazmidinis vektorius sugeba replikuotis *Arthrobacter globiformis*, *Arthrobacter rhombi* VP3, *Arthrobacter oxydans* PY21, *Rhodococcus erythropolis* SQ1 ir, žinoma, *Escherichia coli* DH5 α kamienuose.