

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра микробиологии

ЛОГВИНОВИЧ

Наталия Анатольевна

**СОЗДАНИЕ ВЕКТОРОВ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КЛОНИРОВАНИЯ
НА ОСНОВЕ МУТАНТНЫХ РЕПЛИКОНОВ ПЛАЗМИДЫ pBS267
ГРУППЫ INCP-9**

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор М.А.Титок

Минск, 2014

Объектом исследования в данной работе являлись мутантные репликоны плазмиды pBS267 группы IncP-9.

Целью работы являлось создание векторов для молекулярного клонирования на основе мутантных репликонов плазмиды pBS267 группы IncP-9, характеризующихся высокой копийностью и стабильностью наследования в широком круге бактерий рода *Pseudomonas*.

В результате проведенного исследования установлено, что мутантные репликоны плазмиды pBS267 группы IncP-9 pKIOR3, pKIOR33 и pKIOR333 присутствуют в клетках *P.putida* количестве 1,3, 17,6 и 42,5 копий на хромосому, соответственно.

Показано, что плазмиды pKIOR33 и pKIOR333 способны эффективно вводиться путем конъюгации в широкий круг бактерий рода *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. fluorescens*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. stutzeri*, *P. chlororaphis*, *P. mendocina*, *P. palleronii*, *P. aureofaciens*, *P. caryophylli*, *P. aurantiaca*). Частота конъюгационного переноса составляла от $1,0 \times 10^{-4}$ до $3,7 \times 10^{-1}$ в пересчете на клетки донора.

Плазмиды pKIOR33 и pKIOR333 в бактериях *Pseudomonas* поддерживались более стабильно относительно исходного репликона pKIOR (стабильность наследования возросла в 10-1000 раз). В зависимости от генетического окружения стабильность наследования данных плазмид варьировала от 48 % до 99 %. Исключение составили бактерии *P. mendocina*, в клетках которых плазида pKIOR333 наследовалась с частотой 2 %.

На основе репликонов плазмид pKIOR33 и pKIOR333 созданы вектора для молекулярного клонирования в бактериях рода *Pseudomonas*.

The object of research in this work was a mutant replicons plasmids pBS267 of the group IncP-9.

The aim of the research was to create vectors for molecular cloning on the basis of mutant replicons plasmids pBS267 of the group IncP-9, characterized by high copy number and stability of inheritance in a wide range of bacteria of the genus *Pseudomonas*.

The study has found that the mutant replicons plasmids pBS267 IncP-9 pKIOR3, pKIOR33 and pKIOR333 are present in the cells *P.putida* the amount of 1,3, 17,6 and 42,5 copies of a chromosome, respectively.

It is shown that plasmids pKIOR33 and pKIOR333 can effectively be entered by conjugation in a wide range of bacteria of the genus *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. fluorescens*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. stutzeri*, *P. chlororaphis*, *P. mendocina*, *P. palleronii*, *P. aureofaciens*, *P. caryophylli*, *P. aurantiaca*). The frequency of the conjugation of migration was from 1.0 is 10^{-4} to 3.7 the 10^{-1} in terms of cell donor.

Plasmids pKIOR33 and pKIOR333 in bacteria *Pseudomonas* was maintained more stable relative to the source replicon pKIOR (stability inheritance increased 10-1000 times). Depending on the genetic environment stability inheritance data plasmids ranged from 48 % to 99 %. The exception was the bacteria *P. mendocina*, in cells which plasmid pKIOR333 inherit with a frequency of 2 %.

On the basis of replicons plasmids pKIOR33 and pKIOR333 created vector for molecular cloning in bacteria of the genus *Pseudomonas*.