

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ДИТЧЕНКО
Марта Витальевна

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ
RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS

Аннотация к дипломной работе

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

Минск, 2018

АННОТАЦИЯ

Объекты исследования: 10 штаммов бактерий *Rhodococcus pyridinivorans*.

Цель работы: выявить и охарактеризовать природные бактерии *R. pyridinivorans*, эффективно деградирующие нефть и отдельные углеводороды.

Методы исследования: микробиологические (культивирование бактерий), генетические (конъюгация), молекулярно-генетические (выделение ДНК, ПЦР, RER-ПЦР), химические (гравиметрический), физические (электрофорез) и биоинформационные (BLASTN2.2.).

С использованием метода RER-ПЦР не выявлено особенностей в генетической организации природных бактерий *R. pyridinivorans*, выделенных из различных природных источников (Беларусь, Ливия и Антарктида), но показано, что они отличаются от вариантов, утративших плазмиду деградации нафталина. Анализ деградативных свойств бактерий *R. pyridinivorans* позволил установить, что наиболее эффективным деструктором нефти и углеводородов является штамм *R. pyridinivorans* 5Ap, выделенный на территории Ливии. Данные бактерии утилизировали 21 субстрат (в отличие от других штаммов утилизировали производное нонана) и эффективно деградировали нефть при повышенных температурных режимах (около 60 % – при 28 и 37 °C и 37 % – при температуре 45 °C).

Аннотированные локусы генома бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap (3 профага и 17 генов, кодирующих синтез цитохромов P450) содержат ряд уникальных генов, которые могут служить молекулярными маркерами для ДНК-типирования данных микроорганизмов.

Изучена роль отдельных генетических детерминант бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap в процессе биodeградации нефти. Показано, что эффективность деградации нефти снижается на 65 % в результате инактивации гена *narAa*, кодирующего большую субъединицу нафталиндиоксигеназы. Варианты с инактивированным геном *alkB*, определяющим синтез алкан-1-монооксигеназы (получены в результате направленного мутагенеза) или утратившие плазмиду биodeградации нафталина практически не утилизировали нефть (эффективность снизилась на 96% и 95% соответственно). Полученные данные свидетельствуют о ключевой роли указанных генетических детерминант в процессе утилизации этого сложного химического соединения.

MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department

M.V.
DITCHENKO

THE CHARACTERISTIC OF NATURAL BACTERIA
RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS

Scientific supervisor:
Doctor of biological sciences
Professor Titok M.A.

Minsk, 2018

ANNOTATION

Objects of research: 10 strains of bacteria *Rhodococcus pyridinivorans*.

Purpose: identify and characterize the natural bacteria *R. Pyridinivorans* which effectively degrading oil and individual hydrocarbons.

Research methods: microbiological (cultivation of bacteria), genetic (conjugation), molecular genetic (DNA extraction, PCR, REP-PCR), chemical (gravimetric), physical (electrophoresis) and bioinformatic (BLASTN2.2.).

Genetic polymorphism of natural bacteria of *R. pyridinivorans* isolated from various natural sources (Belarus, Libya and Antarctica) was not detected using the REP-PCR method. There are established genetic differences of the initial bacteria of *R. pyridinivorans* from variants that have lost plasmid of naphthalene biodegradation. The degradative properties of different strains of bacteria *R. pyridinivorans* established that the the Libya's strain of *R. pyridinivorans* 5Ap is the most effective destructor of oil and hydrocarbons. These bacteria utilized 21 substrates (unlike other strains were utilized the nonane derivative) and effectively degraded oil at elevated temperature conditions (about 60% at 28 and 37 ° C and 37% at 45 ° C).

Specific loci of the genome of the *R. pyridinivorans* 5Ap were annotated, which includes 3 prophages and 17 genes that encodes synthesis of cytochromes P450. It contains a number of unique genes that can serve as molecular markers for DNA typing of mantioned microorganisms.

The role of individual genetic determinants for process of oil biodegradation was studied. It is shown that the efficiency of oil degradation is reduced by 65% as a result of the inactivation of the *narAa* gene, which encodes a large subunit of naphthalene dioxygenase. The variants with the inactivated *alkB* gene , which determines the synthesis of alkane-1-monooxygenase (obtained as a result of directed mutagenesis), or the lost naphthalene biodegradation plasmid didn't practically utilize oil (the efficiency decreased by 96 % and 95 %, respectively). The obtained data evidences the key role of these genetic determinants in the process of utilization of this complex chemical compound.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ УНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікробіялогіі

ДЗІТЧАНКА
Марта Вітальеўна

ХАРАКТАРЫСТЫКА ПРЫРОДНЫХ БАКТЭРЫЙ
RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік:
доктар біялагічных навук
прафесар М. А. Ціток

Мінск, 2018

АНАТАЦЫЯ

Аб'екты даследвання: 10 штамаў бактэрыі *Rhodococcus pyridinivorans*.

Мэта працы: выявіць і ахарактарызаваць прыродныя бактэрыі *R. pyridinivorans*, эфектыўна дэградуе нафту і асобныя вуглевадароды.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне бактэрыі), генетычныя (кан'югацыя), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, ПЦР, REP-ПЦР), хімічныя (гравіметрычны), фізічныя (электрафарэз) і біяінфармацыйныя (BLASTN2.2.).

З выкарыстаннем метаду REP-ПЦР не выяўлена асаблівасцяў у генетычнай арганізацыі прыродных бактэрыі *R. pyridinivorans*, вылучаных з розных прыродных крыніц (Беларусь, Лівія і Антарктыда), але паказана, што яны адрозніваюцца ад варыянтаў, якія страцілі плазмід дэградацыі нафталіну. Аналіз дэградацыйных уласцівасцяў бактэрыі *R. pyridinivorans* дазволіў вызначыць, што найбольш эфектыўным дэструктарам нафты і вуглевадародаў з'яўляецца штам *R. pyridinivorans* 5Ap, вылучаны на тэрыторыі Лівіі. Дадзеныя бактэрыі ўтылізавалі 21 субстрат (у адрозненне ад іншых штамаў ўтылізавалі вытворнае нонана) і эфектыўна дэградавалі нафту пры падвышаных тэмпературных рэжымах (каля 60 % – пры 28 і 37 °C і 37 % - пры тэмпературы 45 °C).

Анатаваныя локусы геному бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap (3 прафагі і 17 генаў, якія кадыруюць сінтэз цытахрома P450) ўтрымліваюць шэраг унікальных генаў, якія могуць служыць малекулярнымі маркерамі для ДНК-тыпіравання дадзеных мікраарганізмаў.

Вывучана роль асобных генетычных дэтэрмінант бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap ў працэсе біядэградацыі нафты. Паказана, што эфектыўнасць дэградацыі нафты зніжаецца на 65 % у выніку інактывацыі гена *narAa*, які кадыруе вялікую субадзінку нафталіндзіоксігеназы. Варыянты з інакціраваным генам *alkB*, які вызначае сінтэз алкан-1-монаоксігеназы (атрыманы ў выніку накіраванага мутагенеза) або якія страцілі плазмід біядэградацыі нафталіну практычна не ўтылізавалі нафту (эфектыўнасць знізілася на 96 % і 95 %, адпаведна). Атрыманыя дадзеныя сведчаць аб ключавой ролі вызначаных генетычных дэтэрмінант ў працэсе ўтылізацыі гэтага складанага хімічнага злучэння.