

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ПЕТРУША
Яна Владимировна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА**
BACILLUS

Аннотация к дипломной работе

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

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа 75 стр., 27 рис., 9 табл., 60 источников литературы.
BACILLUS, *CodY*, БАЦИЛЛИЗИН, КОНЪЮГАЦИЯ.

Объекты исследования: природные бактерии рода *Bacillus*.

Цель: физиолого-биохимический и молекулярно-генетический анализ природных бактерий рода *Bacillus*.

Методы исследования: микробиологические (культивирование бактерий), физиолого-биохимические (параметры роста, ферментативная активность), генетические (конъюгация, электропорация), молекулярно-генетические (выделение ДНК, рестрикционный анализ, полимеразная цепная реакция, клонирование) и биоинформативные.

Природные бактерии рода *Bacillus*, обладающие антимикробной активностью (*B. velezensis* 7I-3A, *B. subtilis* d16, *B. licheniformis* FD9) и способные утилизировать отдельные и сложные смеси углеводов (*B. licheniformis* FD9 и *B. flexus* 6-3), характеризуются широким спектром ферментативных активностей (в частности, обладают протеолитической, целлюлолитической и амилолитической активностями), растут при разных температурных режимах (от 18 до 55 °C), pH-среды (от 3 до 11), в присутствии NaCl (до 14 %). Регуляторный ген *codY*, влияющий на проявление антимикробной активности у бактерий *B. velezensis*, имеет идентичную организацию и локализацию в геномах разных представителей рода *Bacillus*. Локус *bacABCDEF*, определяющий антибактериальную активность, организован сходным образом у бактерий *B. subtilis* и *B. velezensis* и отсутствует в геномах *B. licheniformis*. Фрагменты генов *codY* бактерий *B. licheniformis* FD9 и *B. velezensis* 7I-3A встроены в состав суицидальных векторов pMTL21E и pK18mob. Регуляторный участок *bac*-оперона бактерий *B. velezensis* 7I-3A встроен в плазмиду pMUTIN. Полученные гибридные конструкции являются основой для изучения функциональной роли генов *codY* и функциональной активности *bac*-оперона в синтезе антимикробных метаболитов у бактерий *B. velezensis* и *B. licheniformis*. Установлено, что в клетки *B. velezensis* 7I-3A, *B. subtilis* d16, *B. licheniformis* FD9 и *B. flexus* 6-3 вектора, содержащие *mobV*-сайт, можно вводить методом конъюгации с использованием мобилизующей плазмиды pBS72 (в частности, частота переноса вектора pBC16 составила до 10^{-4} при скрещивании в жидких полноценных средах в течение 3-х или 24-х часов).

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

PIATRUSHA
Yana Vladimirovna

**PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC
PROPERTIES OF NATURAL BACTERIA OF GENUS *BACILLUS***

Annotation to the thesis

Scientific supervisor
Doctor of biological studies,
Professor M. A. Titok

Minsk, 2022

ANNOTATION

The thesis is 75 pages, 27 fig., 9 tab., 60 sources.

BACILLUS, *CodY*, *BACILYSIN*, *CONJUGATION*.

Objects of study: natural bacteria of the genus *Bacillus*.

Objective: to analyze the physiological-biochemical and molecular-genetic properties of natural bacteria belonging to the genus *Bacillus*.

Research methods: microbiological (cultivation of bacteria), physiological-biochemical (growth parameters, enzyme activity), genetic (conjugation, electroporation), molecular-genetic (DNA extraction, restriction analysis, polymerase chain reaction, cloning) and bioinformatical.

Natural bacteria of the genus *Bacillus* are capable of showing antimicrobial activity (*B. velezensis* 7I-3A, *B. subtilis* d16, *B. licheniformis* FD9) and utilizing separate and complex mixtures of hydrocarbons (*B. licheniformis* FD9 и *B. flexus* 6-3). Their specter of enzyme activities is broad (including proteolytic, cellulolytic and amylolytic activities), they grow at various temperatures (from 18 to 55 °C), pH (from 3 to 11), in NaCl-containing mediums (up to 14 %). Regulatory gene *codY*, which influences the antimicrobial properties of *B. velezensis*, has an identical organization and localization in genomes of various members of the genus *Bacillus*. *bacABCDEF* locus, which determines antibacterial activity, is organized in a similar fashion in genomes of *B. subtilis* and *B. velezensis*, it is not present in genomes of *B. licheniformis*. Two fragments of *codY* from *B. licheniformis* FD9 and *B. velezensis* 7I-3A were inserted into two suicidal vectors – pMTL21E and pK18mob. Regulatory region of *bac*-operon belonging to *B. velezensis* 7I-3A was inserted into pMUTIN plasmid. The resulting hybrid constructions are a basis for studying functional role of *codY* gene and functional activity of *bac*-operon during the synthesis of antimicrobial metabolites in *B. velezensis* and *B. licheniformis*. It was also determined, that mobV-containing vectors can be introduced into cells of *B. velezensis* 7I-3A, *B. subtilis* d16, *B. licheniformis* FD9 and *B. flexus* 6-3 by using mobilizing plasmid pBS72 (in particular, after conjugation in liquid sterling mediums for 3 or 24 hours the transfer success of pBC16 vector was up to 10^{-4}).

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

ПЯТРУША
Яна Ўладзіміраўна

ФІЗІЁЛАГА-БІЯХІМІЧНЫЯ І МАЛЕКУЛЯРНА-ГЕНЕТЫЧНЫЯ
ЎЛАСЦІВАСЦІ ПРЫРОДНЫХ БАКТЭРЫЙ РОДА *BACILLUS*

Анатацыя да дыпломнай работы

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

Мінск, 2022

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца 75 с., 27 мал., 9 табл., 60 крыніц.

BACILLUS, *CodY*, БАЦІЛЛІЗІН, КАН'ЮГАЦЫЯ.

Аб'ект даследавання: прыродныя бактэрыі рода *Bacillus*.

Мэта: фізіёлага-біяхімічны і малекулярна-генетычны аналіз прыродных бактэрыі рода *Bacillus*.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), фізіёлага-біяхімічныя (параметры росту, ферментатыўная актыўнасць), генетычныя (кан'югацыя, электрапарацыя), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, рестрыкцыйны аналіз, палімеразная ланцуговая рэакцыя, кланаванне), і біяінфармацыйныя.

Прыродныя бактэрыі рода *Bacillus* маюць антымیکробную актыўнасць (*B. velezensis* 7I-3A, *B. subtilis* d16, *B. licheniformis* FD9), і здольны ўтылізаваць асобныя і складаныя сумесі вуглевадародаў (*B. licheniformis* FD9 і *B. flexus* 6-3), характарызуюцца шырокім спектрам ферментатыўных актыўнасцей (прынамсі, маюць пратэалітычную, целюлалітычную і амілалітычную актыўнасці), растуць пры розных тэмпературных рэжымах (ад 18 да 55 °C), pH-асяроддзя (ад 3 да 11), у прысутнасці NaCl (да 14 %). Рэгулятарны ген *codY*, які ўплывае на праяўленне антымیکробнай актыўнасці ў бактэрыі *B. velezensis*, маець ідэнтычную арганізацыю і лакалізацыю ў геномах розных прадстаўнікоў рода *Bacillus*. Локус *bacABCDEF*, які абмоўлівае наяўнасць антыбактэрыяльнай актыўнасці, арганізаваны падобным складам у бактэрыі *B. subtilis* і *B. velezensis* і адсутнічае ў геномах *B. licheniformis*. Фрагменты генаў *codY* бактэрыі *B. licheniformis* FD9 і *B. velezensis* 7I-3A устаўлены ў састаў суіцыдальных вектараў pMTL21E і pK18mob. Рэгулятарны ўчастак *bac*-оперона бактэрыі *B. velezensis* 7I-3A устаўлены ў плазміды pMUTIN. Атрыманыя гібрыдныя канструкцыі з'яўляюцца асновай для вывучэння функцыянальнай ролі генаў *codY* і функцыянальнай актыўнасці *bac*-оперона ў сінтэзе антымیکробных метабалітаў у бактэрыі *B. velezensis* і *B. licheniformis*. Устаноўлена, што ў клеткі *B. velezensis* 7I-3A, *B. subtilis* d16, *B. licheniformis* FD9 і *B. flexus* 6-3 вектара, якія змяшчаюць *mobV*-сайт, можна ўвесці метадам кан'югацыі з выкарыстаннем мабілізучай плазміды pBS72 (у прыватнасці, частата пераноса вектара pBC16 была да 10^{-4} пры скрыжоўванні ў вадкіх паўнацэнных асяроддзях на працягу 3-х альбо 24-х гадзін).