

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ЛАРЧЕНКО
Алина Юрьевна

**РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССА БИОДЕГРАДАЦИИ
ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ
УГЛЕВОДОРОДОВ БАКТЕРИЯМИ РОДА *RHODOCOCCLUS***

Аннотация к магистерской диссертации

специальность 1-31 80 12 Микробиология

Научный руководитель:
доцент кафедры микробиологии,
кандидат биологических наук,
доцент М.И. Мандрик

Минск, 2023

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Ключевые слова: БИОДЕГРАДАЦИЯ НАФТАЛИНА, *RHODOCOCCLUS*, ДИОКСИГЕНАЗА, ГЕНЫ БИОДЕГРАДАЦИИ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОДЕГРАДАЦИИ, ДИНАМИКА РОСТА, ТРАНСКРИПЦИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ, РЕГУЛЯТОРНЫЕ БЕЛКИ, МУТАГЕНЕЗ, БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ, АРОМАТИЧЕСКИЕ УГЛЕВОДОРОДЫ.

Цель работы – проведение биоинформационного и функционального анализа генетических детерминант *nar*-кластера биodeградации нафталина бактерий *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap.

Объекты исследования: бактерии *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap дикого типа и полученные на их основе мутантные варианты; нуклеотидная последовательность плазмиды биodeградации нафталина pNAPH бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap.

Полученные результаты и их новизна. В результате исследования получены мутантные варианты бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap по генам *narAa* (кодирует большую субъединицу нафталиндиоксигеназы), *narB* (кодирует цис-нафталиндигидродиолдегидрогеназу) и *narR1* (кодирует регулятор транскрипции из семейства GntR). Установлено, что мутации в генах *narAa* и *narB* приводят к утрате способности утилизировать нафталин. Таким образом, нафталиндиоксигеназа (в частности, ее большая субъединица) и цис-нафталиндигидродиолдигидрогеназа являются ключевыми ферментами биodeградации нафталина, которые не имеют аналогов в геноме бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap. Бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap дикого типа в течение трех суток утилизируют нафталин в концентрации в 5000 раз превышающей ПДК нафталина в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования и в 125000 – в воде водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. Охарактеризовано 7 диоксигеназ и 3 регуляторных белка, кодируемых плазмидными генами pNAPH бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap, проведен филогенетический анализ. Наиболее сходные гомологичные белки обнаруживаются у различных видов рода *Rhodococcus*. Обнаружены и охарактеризованы по три сайта связывания с ДНК на плазмиде pNAPH для белков NarR1 и CRP. Установлено, что белок NarR2 не обладает структурой, характерной для транскрипционных регуляторов, в частности семейства XylR.

Структура магистерской диссертации: работа изложена на 78 страницах, состоит из разделов «Введение», «Общая характеристика работы», трех глав, разделов «Заключение» и «Список использованных источников» из 62 наименований, а также 5 публикаций магистранта. Работа содержит 22 иллюстрации и 10 таблиц.

АГУЛЬНАЯ ХАРАКТАРЫСТЫКА РАБОТЫ

Ключавыя словы: БІЯДЭГРАДАЦЫЯ НАФТАЛІНУ, *RHODOCOCCLUS*, ДЫЯКСІГЕНАЗА, ГЕНЫ БІЯДЭГРАДАЦЫІ, ЭФЕКТЫЎНАСЦЬ БІЯДЭГРАДАЦЫІ, ДЫНАМІКА РОСТУ, ТРАНСКРЫПЦЫЙНАЯ РЭГУЛЯЦЫЯ, РЭГУЛЯТАРНЫЯ БЯЛКІ, БАКТЭРЫІ-ДЭСТРУКТАРЫ, АРАМАТЫЧНЫЯ ВУГЛЕВАДАРОДЫ

Мэта работы – правядзенне біяінфармацыйнага і функцыянальнага аналізу генетычных дэтэрмінантаў *nar*-кластара біядэградацыі нафталіну бактэрыі *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap.

Аб'екты даследавання: бактэрыі *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap дзікага тыпу і атрыманыя на іх аснове мутантныя варыянты; нуклеатыдная паслядоўнасць плазміды біядэградацыі нафталіну pNAPH бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. У выніку даследавання атрыманы мутантныя варыянты бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap па генах *narAa* (кадуе вялікую субадзінку нафталіндыяксігеназы), *narB* (кадуе цыс-нафталіндзігідрадыёлдэгідрагеназу) і *narR1* (кадуе рэгулятар транскрыпцыі з сямейства GntR). Устаноўлена, што мутацыі ў генах *narAa* і *narB* прыводзяць да страты здольнасці ўтылізаваць нафталін. Такім чынам, нафталіндыяксігеназа (у прыватнасці, яе вялікая субадзінка) і цыс-нафталіндзігідрадыёлдэгідрагеназа з'яўляюцца ключавымі ферментамі біядэградацыі нафталіну, якія не маюць аналагаў у геноме бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap. Бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap дзікага тыпу на працягу трох сутак утылізавалі нафталін у канцэнтрацыі ў 5000 разоў больш за ГДК нафталіну ў вадзе водных аб'ектаў гаспадарча-пітнага водакарыстання і ў 125000 – у вадзе водных аб'ектаў, якія маюць рыбагаспадарчае значэнне. Ахарактарызавана 7 дыяксігеназ і 3 рэгулятарных бялка, якія кадзіруюцца плазміднымі генамі pNAPH бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap, праведзены філагенетычны аналіз. Найбольш падобныя гамалагічныя бялкі выяўляюцца ў розных відаў роду *Rhodococcus*. Выяўлены і ахарактарызаваны па тры сайта звязвання з ДНК на плазмідзе pNAPH для бялкоў NarR1 і CRP. Устаноўлена, што бялок NarR2 не валодае структурай, характэрнай для транскрыпцыйных рэгулятараў, у прыватнасці сямейства XylR.

Структура магістарскай дысертацыі: работа змяшчае 78 старонак, складаецца з раздзелаў "Уводзіны", "Агульная характарыстыка працы", трох раздзелаў, раздзелаў "Заклучэнне" і "Спіс выкарыстаных крыніц" з 62 найменняў, а таксама 5 публікацый магістранта. Праца змяшчае 22 ілюстрацыі і 10 табліц.

SUMMARY

Key words: NAPHTHALENE BIODEGRADATION, *RHODOCOCCUS*, DIOXYGENASE, CATABOLIC GENES, BIODEGRADATION EFFECTIVENESS, GROWTH DYNAMICS, TRANSCRIPTION REGULATION, REGULATORY PROTEINS, MUTAGENESIS, HYDROCARBON-DEGRADING BACTERIA, AROMATIC HYDROCARBONS.

The aim of the work is to carry out bioinformatic and functional analysis of genetic determinants of naphthalene biodegradation cluster *nar* of *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap bacteria.

Objects of the study: wild-type *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap bacteria and mutant variants derived from them; nucleotide sequence of naphthalene biodegradation plasmid pNAPH of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria.

The results obtained and their novelty. As a result of the study, mutant variants of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria were obtained for the *narAa* (encodes the large subunit of naphthalene dioxygenase), *narB* (encodes cis-naphthalene dihydrodiol dehydrogenase) and *narR1* (encodes a transcription regulator from the GntR family) genes. It was established that mutations in the *narAa* and *narB* genes lead to the loss of the ability to utilize naphthalene. Thus, naphthalene dioxygenase (in particular, its large subunit) and cis-naphthalene dihydrodiol dehydrogenase are the key enzymes of naphthalene biodegradation, which have no analogues in the genome of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria. Wild-type *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria during three days utilized naphthalene at a concentration of 5,000 times higher than maximum allowable concentration (MAC) of naphthalene limit in the drinking and cultural water bodies and 125,000 times greater than MAC for water bodies with fishery importance. Seven dioxygenases and three regulatory proteins encoded by the pNAPH plasmid genes of *R. pyridinivorans* 5Ap bacteria were characterized, and a phylogenetic analysis was carried out. The most similar homologous proteins are found in various species of the genus *Rhodococcus*. Three DNA-binding sites on the pNAPH plasmid for the NarR1 protein and three – for CRP protein were found and characterized. It was found that the NarR2 protein does not have a structure characteristic of transcriptional regulators, in particular, those of the XylR family.

Structure of the thesis: the work is presented on 78 pages; consists of sections "Introduction", "Summary", three chapters, "Conclusion" and "List of references" from 62 titles, and also 5 publications of the master's student. The work contains 22 illustrations and 10 tables.