

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИД ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS*

*П.В. Ковальчук, 3 курс*

*Научный руководитель – Е.М. Волкова, к.с.-х.н., доцент*

*Полесский государственный университет*

Повсеместно распространенные в природной среде обитания бактерии *Bacillus subtilis* способны утилизировать широкий спектр органических и неорганических субстратов, продуцировать во внешнюю среду биологически активные соединения (ферменты, антибиотики, стимуляторы роста растений). Наличие полной нуклеотидной последовательности генома этих микроорганизмов позволяет целенаправленно изменять их свойства для биотехнологического использования.

Цель – провести поиск, сбор и обработку данных из научных исследований и с их помощью провести изучение молекулярно-генетической организации плазмид бактерий *Bacillus subtilis*, выделенных из различных природных источников на территории Беларуси.

Материалы и методы. Объект и предмет исследования. Объектом настоящего исследования являлись плазмиды природных штаммов *Bacillus subtilis* выделенных на территории Беларуси.

В результате исследований нами было установлено, что:

1. **Из 287 штаммов грамположительных бактерий, выделенных из различных природных источников на территории Беларуси, 55 штаммов** отнесены к виду *Bacillus subtilis*. Показано, что 24 % штаммов *Bacillus subtilis* содержат внехромосомные генетические элементы размером от 6,3 до более 90 kb. При этом в клетках 5 штаммов выявлено по одной плазмиде размером от 6,3 kb до более 90 kb, а в клетках штаммов обнаружено по две плазмиды размером 8,0 kb и более 90 kb. Наиболее распространенными являются внехромосомные элементы размером более 90 kb [3, с. 29].

2. **Установлено, что плазмиды размером до 10 kb реплицируются в соответствии с механизмом «катящегося кольца» и относятся к рС194-семейству.** Показано, что плазмиды размером более 90 kb, широко распространенные среди природных штаммов *Bacillus subtilis*, имеют сходно организованные гер-области и не имеют аналогов среди плазмид грамположительных бактерий [1, с. 83-85].

3. **В пределах клонированных и секвенированных последовательностей мини-репликонов плазмид рBS72 и рBS57 размером более 90 kb** обнаружено несколько открытых рамок считывания. Открытая рамка считывания *orf* - 1, предположительно детерминирующая белок инициации репликации, имеющий достоверную гомологию с белком DnaA хромосомного происхождения. Межгенная последовательность, расположенная между открытыми рамками считывания *orf* - 1 и *orf* - 2, предположительно является сайтом инициации репликации (*oriV*) и содержит DnaA-боксы, а также прямые и инвертированные повторы. Обнаруженный Rep-белок является новым, ранее не описанным для плазмид грамположительных и грамотрицательных бактерий [4, с. 81-84].

4. В результате функционального анализа установлено, что для стабильного наследования мини-репликонов плазмид **pBS72** и **pBS57** в клетках бактерий *Bacillus subtilis* достаточно присутствие гер-гена и сайта инициации репликации *oriV*. В отличие от известных малокопийных внехромосомных генетических элементов грамположительных и грамотрицательных бактерий сегрегационная стабильность плазмид **pBS72** и **pBS57** определяется областью инициации репликации и не требует присутствия *par*-системы, обеспечивающей активное распределение плазмидных копий в процессе деления [2, с. 17].

#### Список использованных источников

1. Азизбеян, Р.Р. Споро- и кристаллообразование у *Bacillus thuringiensis*/ /Р.Р. Азизбеян, Т.А. Смирнова// Успехи микробиологии. Наука-1988. – С. 82-105.
2. Гайденко,Т.А. Выделение и характеристика плазмиды из термотолерантного штамма *Bacillus licheniformis*/ Т.А. Гайденко [и др.] //Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 1987. – 12. С. 16-20.
3. Каменева, С.В. Конъюгативные транспозоны бактерий/ С.В. Каменева//Генетика. 1998. -34. С.23-31.
4. Каменек, Л.К. Действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* в отношении фитопатогенных грибов родов *Phytophthora* и *Fusarium*/ Л.К. Каменек [и др.] // Биотехнология. – 2008. – С.76-89.