

## RESUMEE

Käesoleva töö eesmärk oli tööstuslikus *L. Lactis*-e tüves optimeerida insenergeneetilisi meetodeid nagu transfektsioon ja rekombinatsioon.

Selleks, et seda saavutada oli vaja esmalt leida sobiv sööde elektrokompentsete rakkude kasvatamiseks. Annuskultiveerimisega mikrotiiterplaatidel testiti erinevaid glütsiini ja sahharoosi kontsentratsioone kasutatavas M17 baassöötmes, et leida sobivaim ning lisaks inkubeeriti rakke erinevate raku seina nõrgendavate kemikaalidega. Saadud kompetentsete rakkude transfektsiooni efektiivsuse mõõtmiseks elektroporeeriti nad pNZ8148 plasmiidiga, mis sisaldab endas kloramfenikoli resistentsuse geeni, mille järgi selekteeriti positiivsed kloonid. Rekombineeringu efektiivsuse mõõtmiseks, tekitati mutatsioon *rpoB* geenis, mille tagajärjel tekkis rakul resistentsus rifampitsiini suhtes, mis oli eduka rekombineeringu selektiivseks markeriks.

Käesolevas töös töötati välja protokoll 11497 tööstuslikus tüves geneetiliste manipulatsioonide tegemiseks. Optimaalne sööde kompetentsete rakkude kasvatamiseks sisaldab M17 baassöödet kuhu on lisatud 1.5% glütsiini ja 0.5M sahharoos. Kui rakud on saavutanud kultuuritiheduse  $OD_{600} = 0.5$  töödeldi rakke 1 tund 60 $\mu$ g/mL penicillin G-ga.

Leitud optimaalsed elektroporatsiooni tingimused olid järgmised: kolm impulssi elektrivälja tugevusega 20kV/cm ja impulsi kestvusega 4ms.

Käesoleva töö lõpptulemuseks saadi tööstusliku *L. lactis*-e DGCC 11497 transfektsiooni efektiivsuseks  $2.34 \times 10^7$  CFU mL<sup>-1</sup> ug<sup>-1</sup> ja rekombineeringu efektiivsuseks 0.004%.