

TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL  
Matemaatika-loodusteaduskond  
Geenitehnoloogia instituut

*PSEUDOMONAS PUTIDA* KT2440 LIIKUMISMUTANTIDE ISOLEERIMINE JA  
ISELOOMUSTAMINE  
Bakalaureusetöö

Sigrid-Kristiina Simson

Juhendaja: PhD Inga Sarand

geenitehnoloogia

2014

## Kokkuvõte

Keskkonnatingimused on pidevas muutumises ning seega tuleb bakteritel ellu jääda äärmuslikes tingimustes. Bakteritel on erinevaid retseptoreid, mille abil nad ümbritsevat keskkonda monitoorivad. Kemoretseptorite abil suudavad bakterid tunnetada ainete kontsentratsioonigradiente. Kemotaktilise vastuse käigus liiguvad bakterid flagella abil atraktantide poole või repellentidest eemale.

Käesoleva töö kirjandusliku ülevaate osas on kirjeldatud bakterite liikumist ja kemotaktilist vastust. Eksperimentaalses osas teostati keskkonnabakteri *Pseudomonas putida* KT2440 transposoonmutagenees ja isoleeriti mutandid kasutades selektiivsöötmel. Saadud transposoonmutantide liikumisfunktsiooni hinnati analüüsiga pehmel agaril. Mini-Tn5 insertioonikoha tuvastamiseks selekteeriti välja spetsiifilised praimerid ning kasutati ARB-PCR meetodit.

Käesoleva uurimistöö tulemuste põhjal oli transposoonmutatsiooni sagedus 0,0011%.

Analüüsimeetodiga pehmel agaril täheldati 82/120 mutandist muutunud fenotüüpi. Fenotüübi alusel jagunesid mutandid viide erinevasse rühma.

Insertioonijärjestuse kaardistamiseks ARB-PCR meetodil osutus sobivaimaks praimerite kombinatsioon, milles kasutati etapp I: ARB6 (100 pmol/  $\mu$ l) ja uniKm (10 pmol/  $\mu$ l) ja etapp II: ARB2 (10 pmol/  $\mu$ l) ja IEEco (10 pmol/  $\mu$ l).

Mutantidel fenotüübiga (+) ja (-) tuvastati transposoon mini-Tn5 inserteerumine geeni *flgH*, mis on seotud flagella L-rõnga valkude kodeerimisega. Mini-Tn5 inserteerumine genoomi rikub ära *flgH* geeni lugemisraami ning see omakorda mõjutab flagella mootori struktuuri, mistõttu bakteriraku liikumisvõime on kahanenud.

Mutatsioonid mutantides, mille fenotüüp oli pehmel LB ja M9+glc söötmel vastavalt (+++) ja (+) või (+++) ja (-), olid seotud aminohapete ja vitamiinide biosünteesi radadega.

Mutantidel, mille fenotüüp oli (-) ja (-) ei õnnestunud tuvastada mini-Tn5 inserteerumiskohta. Seega oleks seda huvitav kindlasti edasi uurida.