

Streszczenie rozprawy doktorskiej

„Określenie struktury chemicznej O-antygenów fitopatogennych bakterii rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium*”

mgr Karolina Ossowska

Bakterie należące do rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium* to mikroorganizmy fitopatogenne. Jako czynniki sprawcze chorób szerokiej gamy roślin użytkowych (m. in. ziemniaki, marchew, pomidory, ogórki, cykorii, kapusta, kukurydza, ryż, banany, słonecznik, trzcina cukrowa i wiele innych) przyczyniają się do znacznych strat w ich uprawie. Znajomość struktur powierzchniowych tych drobnoustrojów może w znacznej mierze przyczynić się do lepszego poznania i scharakteryzowania czynników odpowiedzialnych za ich patogenność, jak również biorących udział w mechanizmach oddziaływania patogen-roślina. Z kolei wiedza ta może w przyszłości prowadzić do opracowania łatwiejszych i szybszych testów do identyfikacji tych drobnoustrojów, jak również do opracowania skutecznych metod zwalczania i zapobiegania infekcji wywoływanych przez te fitopatogeny.

Głównym celem moich badań było określenie struktur chemicznych O-antygenów dwunastu szczepów bakteryjnych należących do pięciu gatunków bakterii rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium*. Wszystkie wybrane do badań szczepy bakteryjne pochodziły z kolekcji Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Cele pośrednie obejmowały wyizolowanie i oczyszczenie O-antygenów, a następnie poddanie ich badaniom strukturalnym.

W pierwszej części moich badań wyodrębniłam i oczyściłam O-antygeny. Suche masy bakteryjne poddałam ekstrakcji fenolowo-wodnej. Następnie usunęłam kwasy nukleinowe, po czym wyizolowałam lipopolisacharydy. Uzyskane LPSy poddałam łagodnej hydrolizie. Z frakcji sacharydowych, pozostałych po oddzieleniu lipidu A, wyizolowałam i oczyściłam O-polisacharydy za pomocą chromatografii wykluczania (SEC).

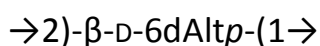
W drugiej części pracy badane O-antygeny poddałam badaniom strukturalnym z wykorzystaniem metod chemicznych, takich jak: analiza cukrowa, analiza metylacyjna i reakcja z optycznie czynnym butan-2-olem. Uzyskane w wyniku modyfikacji chemicznych pochodne analizowałam techniką chromatografii gazowo-cieczowej (GLC) oraz

chromatografii gazowo-cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GLC-MS). Na podstawie otrzymanych wyników ustaliłam liczbę i rodzaj reszt cukrowych, wielkości pierścieni cukrowych, miejsca podstawienia poszczególnych reszt cukrowych oraz przyporządkowałam poszczególne reszty cukrowe do szeregu konfiguracyjnego D lub L.

Ostatni etap moich badań obejmował interpretację widm NMR. Na ich podstawie wyznaczyłam konfigurację α lub β anomerycznych atomów węgla poszczególnych reszt cukrowych, ustaliłam sekwencję poszczególnych reszt cukrowych oraz scharakteryzowałam składniki wchodzące w skład badanych OPSów niezidentyfikowane we wcześniejszym etapie z wykorzystaniem analiz chemicznych.

W oparciu o uzyskane wyniki wszystkich przeprowadzonych badań, zarówno z wykorzystaniem analiz chemicznych jak i metod spektroskopowych, ustaliłam struktury chemiczne jednostek powtarzalnych O-antygenów bakterii *Dickeya dadanti* IFB0016, *Dickeya dianthicola* IFB0485, *Dickeya zeae* IFB0031, czterech szczepów bakterii gatunku *Dickeya solani* (IFB0099, IFB0123, IFB0158 i IFB0223) oraz pięciu szczepów bakterii gatunku *Pectobacterium parmentieri* (IFB5308, IFB5408, IFB5427, IFB5432 i IFB5441):

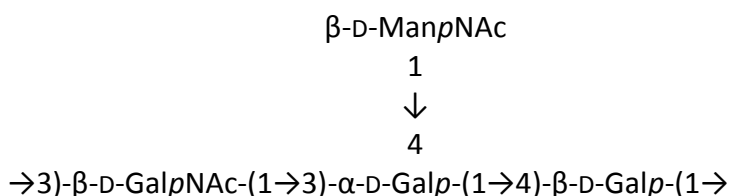
***Dickeya dadanti* IFB0016, *Dickeya dianthicola* IFB0485, *Dickeya zeae* IFB0031 oraz *Dickeya solani* (IFB0099, IFB0123, IFB0158 i IFB0223):**



***Pectobacterium parmentieri* IFB5308 i IFB5432:**



***Pectobacterium parmentieri* IFB5408 i IFB5427:**



***Pectobacterium parmentieri* IFB5441:**

→6)-β-D-Galf-(1→3)-β-D-Galp-(1→4)-β-D-Galp-(→

3

↑

2

β-Pse4Ac5Ac7(S3Hb)