

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

„Badania strukturalne O-polisacharydów wyizolowanych z bakterii  
*Franconibacter helveticus*, *Pseudomonas donghuensis* oraz *Pectobacterium brasiliense*”

mgr Sylwia Szulta

Wyniki badań strukturalnych O-polisacharydów wyizolowanych z bakterii *Pectobacterium* mogą być niezwykle użyteczne w poznawaniu mechanizmów oddziaływania bakteria-roślina, jak również określenia wpływu OPS-u na proces chorobotwórczy. Wiedza na temat różnorodności chemicznej O-polisacharydów z pewnością może pozwolić na opracowanie skutecznych i szybkich testów służących do identyfikacji fitopatogenów. Podjęte zostały prace nad takimi testami, czego przykładem są wciąż udoskonalane testy PCR opierające się reakcji łańcuchowej polimerazy DNA czy testy immunoenzymatyczne (ELISA). Jednakże ze względu na wciąż zmieniający się podział taksonomiczny bakterie *Pectobacterium* nie są łatwe w identyfikacji i klasyfikacji. Wydaje się, że poznanie budowy struktur powierzchniowych umożliwiłoby uzupełnienie systemu klasyfikacji tych fitopatogenów.

Określenie struktury chemicznej OPS-ów bakterii endofitycznych *Franconibacter helveticus* oraz *Pseudomonas donghuensis* może być pomocne w badaniach interakcji pomiędzy bakteriofagiem a bakterią. Wiedza ta w przyszłości może posłużyć do opracowania skutecznych środków ochrony roślin, co doprowadziłoby do ograniczenia strat ekonomicznych powodowanych przez fitopatogeny.

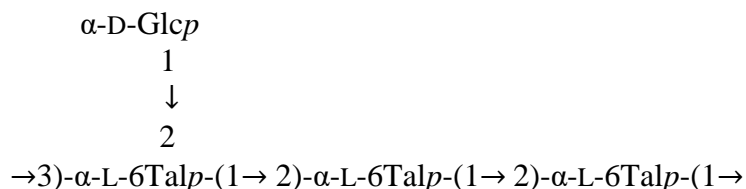
Szczepki bakterii *P. brasiliense* 5527 i *P. donghuensis* P482 pochodziły z kolekcji Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed, natomiast bakterie *Franconibacter helveticus* 1975 zostały udostępnione przez prof. Stephen'a Forsythe'a z Nottingham Trent University w Wielkiej Brytanii w ramach współpracy naukowej.

Otrzymane komórki bakteryjne poddałam klasycznej ekstrakcji fenolowo-wodnej, a także ekstrakcji PCP. Następnie usunęłam kwasy nukleinowe wykorzystując metodę strącenia etanolem oraz trawienie enzymatyczne. Wyodrębniłam LPS i oddzieliłam z jego struktury lipid A, przeprowadzając łagodną kwaśną hydrolizę. OPS oczyściłam za pomocą chromatografii wykluczania (GPC).

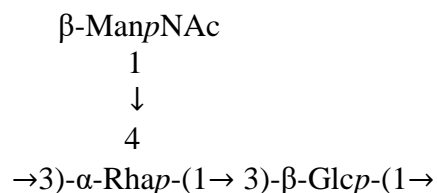
Badania strukturalne O-polisacharydów przeprowadziłam z wykorzystaniem modyfikacji chemicznych, tj. analiza cukrowa, analiza metylacyjna i reakcja z optycznie czynnym butan-2-olem. Otrzymane w ten sposób pochodne analizowałam z wykorzystaniem

techniki chromatografii gazowej (GC) oraz chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Na podstawie otrzymanych wyników określiłam skład cukrowy OPS-ów, ustaliłam sposób powiązania ze sobą reszt cukrowych oraz przyporządkowałam poszczególne monosacharydy do szeregu konfiguracyjnego D lub L. Następnie polisacharydy bakteryjne poddałam analizie z wykorzystaniem techniki spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Dla badanych próbek zarejestrowane zostały widma NMR ( $^1\text{H}$  NMR oraz dwuwymiarowe homokorelacyjne i heterokorelacyjne: COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, HSQC-TOCSY i HMBC). W wyniku interpretacji widm NMR potwierdziłam wyniki analizy cukrowej i metylacyjnej, a także określiłam konfigurację anomeryczną poszczególnych jednostek cukrowych i ustaliłam sekwencję monosacharydów w badanych OPS-ach. Na podstawie wszystkich przeprowadzonych analiz chemicznych oraz opierając się o wyniki analizy NMR określiłam struktury chemiczne O-polisacharydów wyizolowanych z bakterii *Franconibacter helveticus* 1975, *Pseudomonas donghuensis* P482 i *Pectobacterium brasiliense* 5527:

*Franconibacter helveticus* 1975



*Pseudomonas donghuensis* P482



*Pectobacterium brasiliense* 5527

