

Streszczenie rozprawy doktorskiej mgr Edyty Czajkowskiej pt. „Identyfikacja, klonowanie i ekspresja nowego genu *taqIIIRM* z termofilnej bakterii *Thermus aquaticus* na podstawie analizy bioinformatycznej sekwencji genomu, uzyskanej metodami sekwencjonowania nowej generacji.

Termofilne bakterie *Thermus aquaticus* (*T. aquaticus*) należą do rodzaju *Thermus*. Bakterie te zasiedlają gorące źródła, których temperatura oscyluje w granicach 55-95°C. W 1984 roku Barker i wsp. wyizolowali i scharakteryzowali enzym RM.TaqII (*Barker i wsp., 1984*). Wykazali oni, że enzym ten rozpoznaje specyficznie dwie sekwencje DNA 5'-GACCGA-3' oraz 5'-CACCCA-3' oraz posiada dwie aktywności enzymatyczne, zlokalizowane w jednym polipeptydzie: metylotransferazę (MTazę) oraz endonukleazę restrykcyjną (REazę). Żylicz-Stachula i wsp. zidentyfikowali, zsekwencjonowali i sklonowali gen *taqIIIRM* do bakterii *Escherichia coli* (*E. coli*). Uzyskany przez ten zespół rekombinowany enzym RM.TaqII rozpoznawał specyficznie tylko sekwencję 5'-GACCGA-3' (*Żylicz-Stachula A. i wsp., 2011, 2014*).

Różnica specyficzności substratowej natywnego oraz rekombinowanego enzymu RM.TaqII spowodowała rozpoczęcie badań, mających na celu wyjaśnienie zaobserwowanego zjawiska. Hipoteza badawcza podjęta i potwierdzona w niniejszej pracy zakładała istnienie w genomie *T. aquaticus* YT-1 ortologicznego genu *taqIIIRM*, kodującego białko RM.TaqIII.

Aby zweryfikować postawioną hipotezę badawczą wykonano analizę bioinformatyczną zsekwencjonowanego genomu *T. aquaticus* YT-1, zidentyfikowano oraz zlokalizowano gen *taqIIIRM*. Ponadto, w ramach niniejszej pracy sklonowano gen *taqIIIRM* do bakterii *E. coli*. Następnie przeprowadzono ekspresję rekombinowanego genu i oczyszczono rekombinowany enzym RM.TaqIII do homogenności funkcjonalnej. Uzyskany preparat enzymatyczny wykorzystano do potwierdzenia sekwencji DNA rozpoznawanej przez REazę RM.TaqIII: 5'-CACCCA-3'.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały prawdziwość postawionej hipotezy badawczej i udowodniły istnienie funkcjonalnego genu *taqIIIRM*, homologicznego do genu *taqIIRM*, zlokalizowanego w jednym z sześciu megaplazmidów *T. aquaticus* YT-1. Zidentyfikowany enzym RM.TaqIII wykazuje bardzo wysokie podobieństwo sekwencji aminokwasowej (aa) do sekwencji aa RM.TaqII (*Skowron P.M. i wsp., 2017*).