

Construction of a dual purpose, *gfp* labelled plasmid for controlled release of DNA from donor strains and detection of DNA uptake by *Acinetobacter baylyi* ADP1

Silke Jachlewski

Home Supervisor: Professor Hans-Curt Flemming

Guest Supervisor: Professor Stefan Wuertz





Ziel des Projektes

Konstruktion eines Zellyse-induzierenden Plasmids zur Bestimmung des Einflusses von Zellysat auf *Acinetobacter baylyi* ADP1 Biofilm-Transformation mit Hilfe von Lyse-Genen der λ -Phage

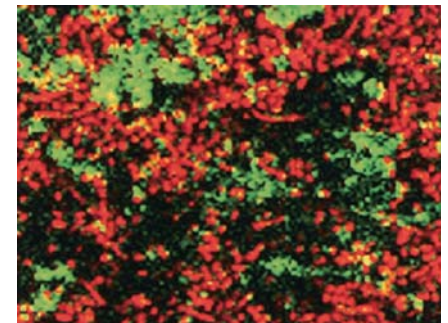
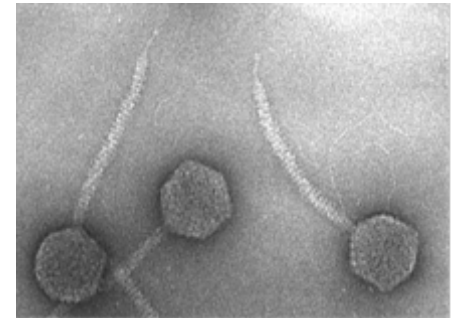
Schritt 1: Klonierung der Lyse-Gene unter *lacP* Kontrolle in Plasmid pSM103

Schritt 2: Optimierung der Lyse-Bedingungen

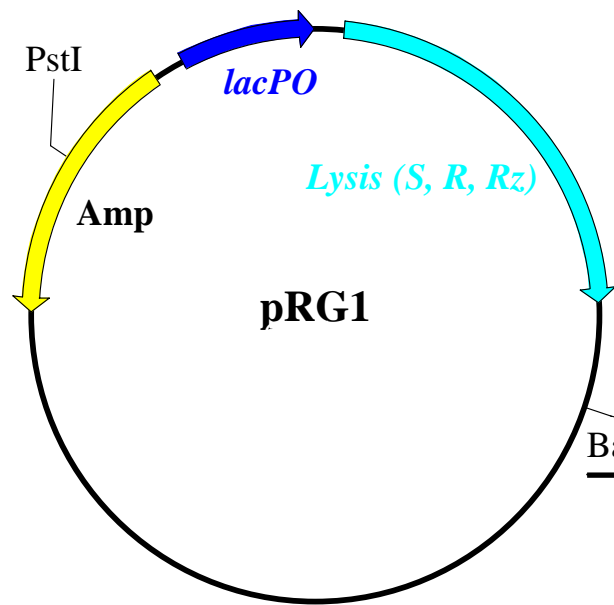
Schritt 3: Entwicklung eines Konzepts, das die Anwendung des Plasmids in anderen Bakterien erlaubt

Motivation

- Vorhergehende Experimente deuteten darauf hin, dass Zellysat die Transformation in *Acinetobacter*-Biofilmen beeinflusst
- Lyse durch Phagen stellt einen natürlichen Prozess dar, durch den DNA in die Umwelt gelangt
- Hitze, Chemikalien oder mechanisches Aufschließen der Zellen könnte Zellinhalte verändern oder gar zerstören



→ **Verfälschung der Ergebnisse**



pRG1

Lysis (S, R, Rz)

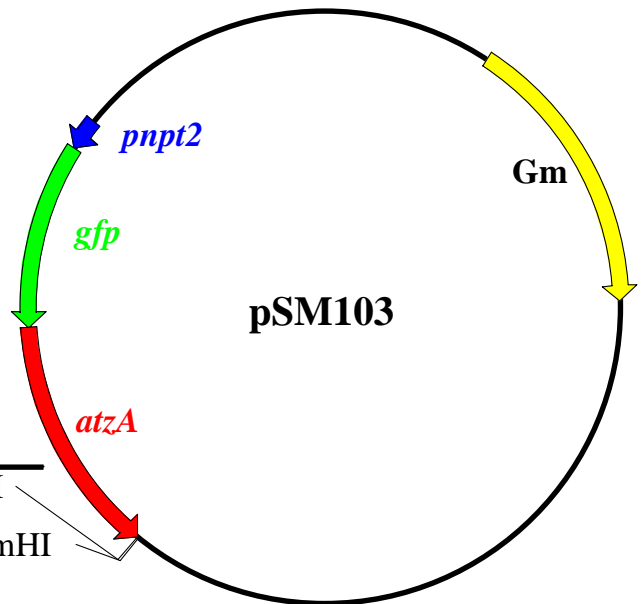
PstI

Amp

lacPO

BamHI

E. coli CQ21
(*lacI* Mutant)



pSM103

pnpt2

gfp

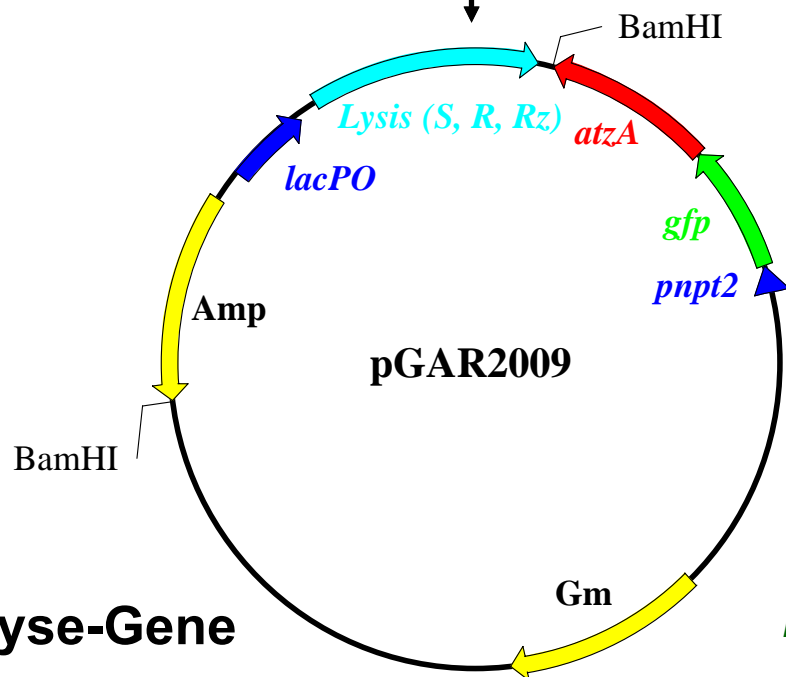
atzA

Gm

PstI

BamHI

E. coli DH5 α



pGAR2009

Lysis (S, R, Rz)

lacPO

Amp

BamHI

Gm

BamHI

atzA

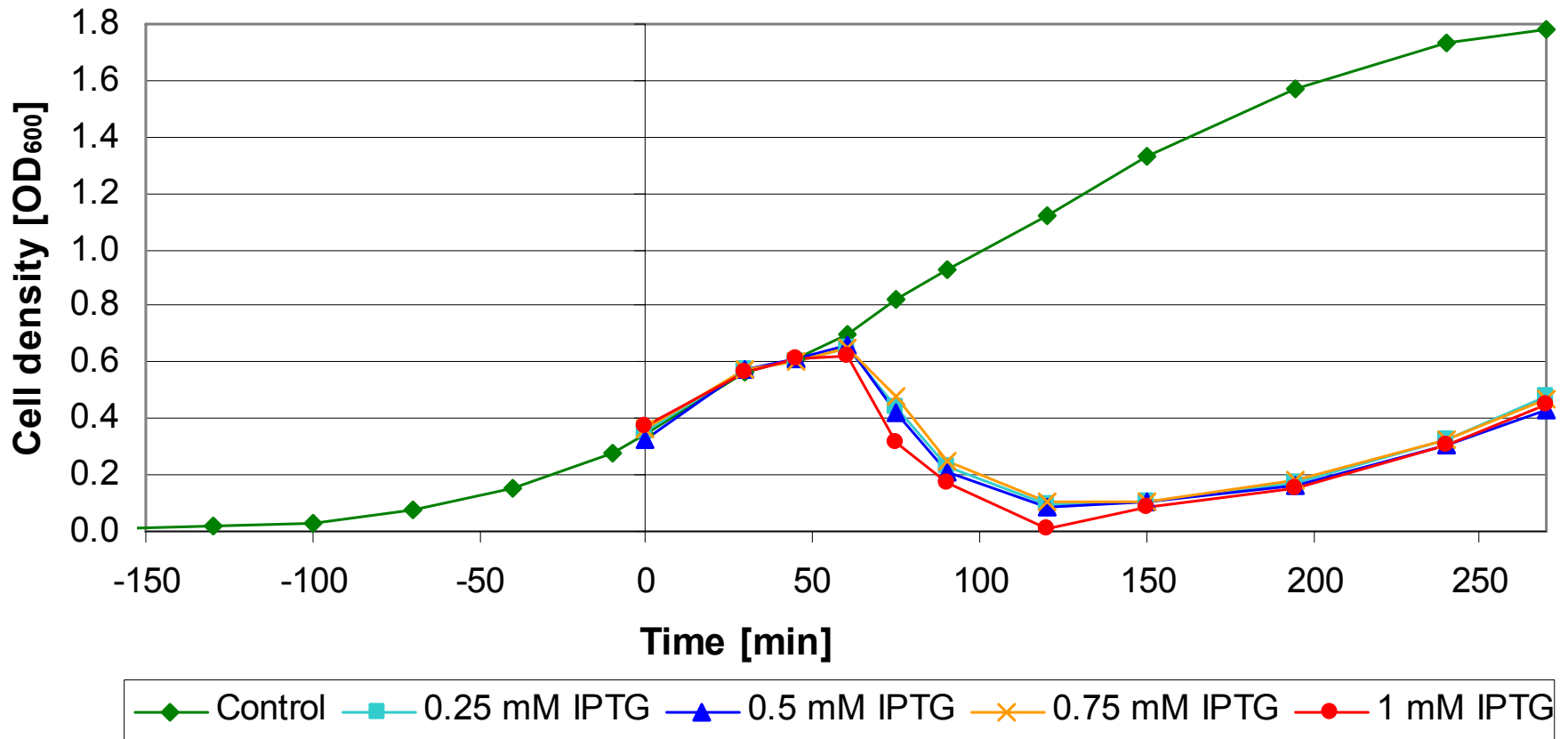
gfp

pnpt2

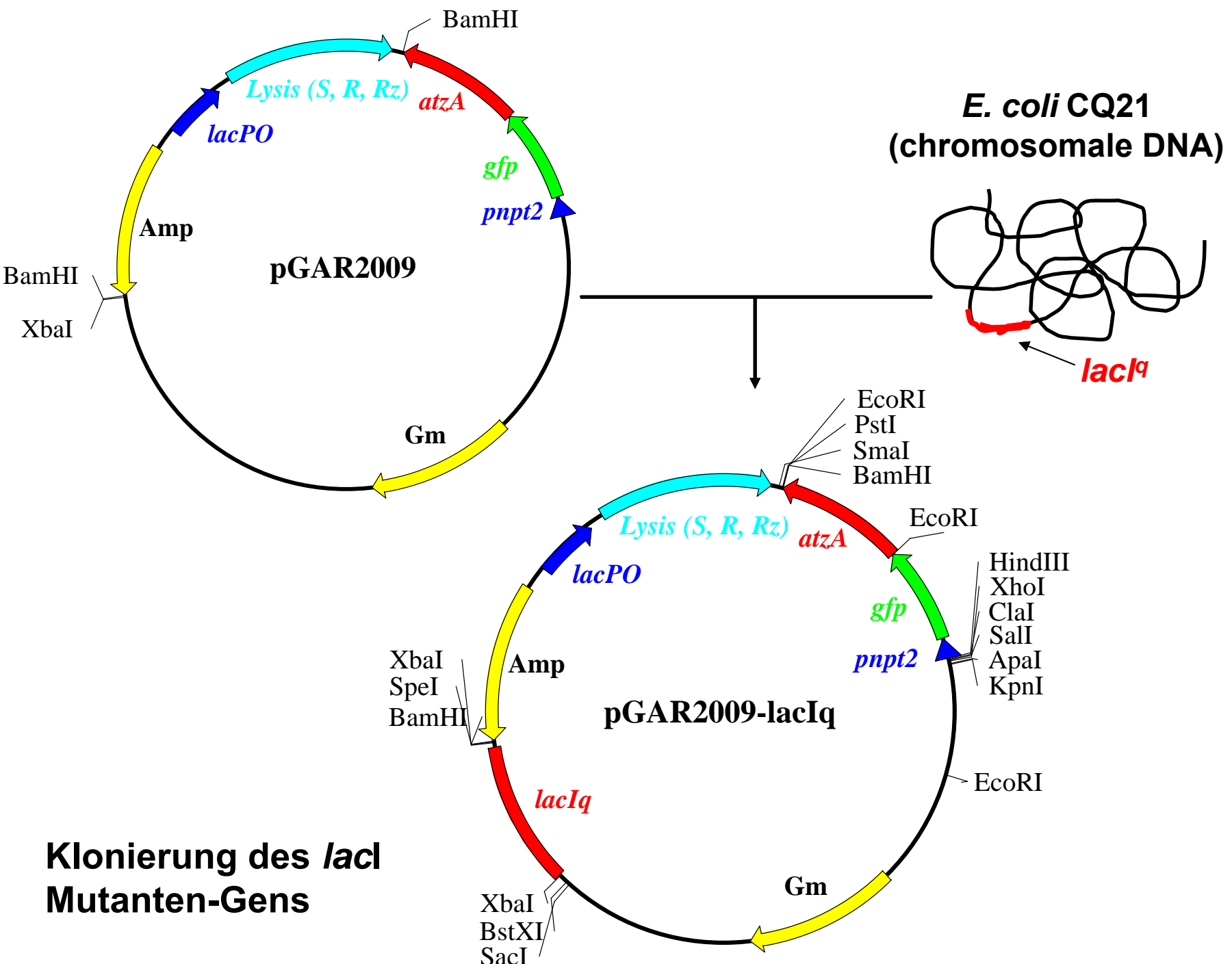
E. coli CQ21

Klonierung der Lyse-Gene

Optimierung der Lyse-Bedingungen



Änderung der optischen Dichte (OD₆₀₀) in *E. coli* CQ21 mit pGAR2009 nach Induktion (t = 0) der Zellyse durch verschiedene IPTG Konzentrationen



Klonierung des *lacI* Mutanten-Gens





Danke!

