الجينوم الكلى والتكيف الوراثى للنوع سيدوموناس اتجاه النفط الخام

اعداد

حمدى نصر يوسف عيسى

إشراف

د/ ياسر أنور الحق

بسبب قدرتها على التحليل الحيوي للمركبات الاروماتيه والأليفاتية تعتبر جنس سيدوموناس ذو إمكانيات عالية على تحليل النفط الخام بالإضافة الى الملوثات الأخرى. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تتابع وتحليل الجينوم الكلى لسلاله *Pseudomonas* sp. S5 وقدرة الجينوم الخاص بها على التكيف اتجاه النفط الخام. ولتحديد التسلسل الجينومى تم استخدام تقنية PacBio Denovo Assembly بالإضافة الى برنامج FastQC للتحقق من مدى كفاءة التسلسل الجينومى. كما تم استخدام برنامج Prokka وPatrice serverلتحديد الجينات الموجودة على الجينوم وبرنامج CGView server لرسم خريطه توضيحية للجينوم. كما تم استخدام لتحديد وظائف الجينات وكذلك معرفة الجينات المشاركة في تكسير مكونات النفط الخام. ولمقارنة الجينات الأساسية وكذلك الجينات الأخرى مع الجينوم لسلالات أخرى تم استخدام منصة. ولتحديد الوضع التقسيمي للسلالة تم استخدام منصة وتحديد السلالات القريبة لها، كما تم استخدام تقنية التهجين الرقمي لتحديد نوع السلالة البكتيرية رقميا. كما تم استخدام أطلس الجينوم البكتيري لتجديد متوسط التشابه النكليوتيدى، ومتوسط التشابه للأحماض الأمينية. وكانت النتائج كالتالي ٣ Contigsالتتابع الكلى pb ٤٣٦٥٢٣٠ تشفر الى ٤٠٢٣ جين CDS و٦٣ tRNAحامض نووي ريبوسى ناقل و١٢rRNA حامض نووي ريبوسى. كما تدعم النتائج ارتباط السلالة *Pseudomonas* sp. S5 بالسلالة *Pseudomonas balearica*. ويشير تحديد وظائف الجينات الى وجود جينات لها القدرة على تحليل مركبات النفط الخام وهي-1 alkane monooxygenease (AlkB1, AlkB2), halobenzoate 1,2-dioxygenase large subunit, cytochrome P450, toluene 1.2-dioxygenase alpha subunit, toluene 1.2-dioxygenase beta subunit, halobenzoate 1,2-dioxygenase small subunit, benzoate/toluate 1,2-dioxygenate reductase component, dihydroxycyclohexadiene carboxylate dehydrogenase component, xylene monooxygenase electron transfer subunit, xylene monooxygenase hydrolase subunit, octaprenylphenol hydroxylase and Nitrite reductase [NADPH] مع غياب لجينtoluene dioxygenase . وبالتالي نستنتج ان السلالة

لها القدرة على تحليل النفط الخام كما ان الجينوم الخاص بها يساعد على فهم ميكانيكية التأقلم للبكتريا في البيئات القاسية مثل النفط الخام وبالتالي تمكنا من استخدام البكتيريا في المعالجة الحيوية للملوثات.

الكلمات المفتاحية: النفط الخام، سيدوموناس، التحليل الجينومى، التكيف الجينومى، التحلل الحيوي

Whole genome & Genetic Adaptation of *Pseudomonas* sp. Toward Crude Oil

By

Hamdy Nasr Youssef Issa

Supervised By

Dr. Yasir Anwar Ul haq

Bacterial species due to their capability to diverse biotransformation of aromatic and aliphatic compounds, the genus *Pseudomonas* has a high potential for crude oil degradation and other pollutants. The goal of this research is to sequence, analyze, and investigate the adaptation of the *Pseudomonas* sp. S5 genome to crude oil. PacBio Denovo assembly techniques and FastQC software for quality genome checking were used for this genome sequencing. For genome annotation, the Patrice server and Prokka software were used, as well as the CGView server for genome visualization and the KEGG automatic annotation server for functional analysis and mining genes for degrading crude oil. The microscope server performed pan-genome analysis. The Type (Strain) Genome Server (TYGS) platform was used for taxonomic analysis of the entire genome and the identification of closely related type strains. Using the Genome-to-Genome Distance Calculator, digital DNA-DNA hybridization was used to identify *Pseudomonas* sp. S5 species in silico (dDDH) (GGDC 2.1). The Microbial Genomes Atlas (MIGA) server reveals average nucleotide identity (ANI) and average amino identity (AAI). The S5 strain was assembled, annotated, and analyzed, yielding 3 contigs with a total genome of 4,365,230 bp, 4,023 CDS, 63 tRNAs, and 12 rRNAs. Phylogenomic analysis supports the S5 strain's relationship to *Pseudomonas balearica*. Functional analysis suggests that the following genes are involved in crude oil degradation: alkane 1-monooxygenease (AlkB1, AlkB2), halobenzoate 1,2-dioxygenase large subunit, cytochrome P450, toluene 1.2-dioxygenase alpha subunit, toluene 1.2-dioxygenase

beta subunit, halobenzoate 1,2-dioxygenase small subunit, benzoate/toluate 1,2-dioxygenate reductase component, dihydroxycyclohexadiene carboxylate dehydrogenase component, xylene monooxygenase electron transfer subunit, xylene monooxygenase hydrolase subunit, octaprenylphenol hydroxylase and Nitrite reductase [NADPH], but no hit for toluene dioxygenase. Therefore, it is concluded that *Pseudomonas* sp. S5 has the potential to degrade crude oil, and its genome helps to understand the adaptation mechanisms of bacteria for survival in crude oil, which allows the use of bacteria as a technique for bioremediation.

Key words*: Pseudomonas*, Crude oil, Genome analysis, Biodegradation, Genome adaptation