**Лекція 9**

**КЛОНУВАННЯ ДНК У ПРОКАРІОТИЧНИХ СИСТЕМАХ.**

**ВЕКТОРНІ МОЛЕКУЛИ. ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ**

**Технологія рекомбінантних ДНК** (син. **генетична інженерія**, трансгенез, молекулярне клонування) – це сукупність експериментальних процедур, що дають можливість здійснювати перенесення генетичного матеріалу, як правило ДНК, з одного організму в інший.

Введення у клітину і наступна стабільна підтримка генетичної інформації, що міститься у рекомбінантних молекулах ДНК, досягається за допомогою векторних молекул, або векторів. Справа у тому, що при звичайному введенні ДНК, наприклад, у бактеріальну клітину вона, як правило, піддається атаці ферментів, які розкладають її на складові компоненти – нуклеотиди. В деяких випадках ДНК «виживає» у клітині, однак у процесі розподілу клітин вона не успадковується і втрачається. Для того, щоб рекомбінантна ДНК стала складовою частиною генетичного апарату клітини, вона повинна або вбудуватися в її геном (інтегруватися у хромосому) і реплікуватися за його рахунок, або бути здатною до автономної реплікації.

**Векторами** (від лат. vector – той, що несе; носій; переносник) називають молекули ДНК, які здатні акцептувати (включати в себе) чужорідну ДНК і забезпечувати її реплікацію, експресію і/або трансформацію (перенесення в інші організми). Таким чином, вектор дозволяє здійснити введення у клітину додаткової генетичної інформації.

На сьогодні практично будь-яка послідовність ДНК може бути клонованою в бактеріальних клітинах. Переважно для маніпуляцій з рекомбінантними ДНК використовуються клітини *E.coli*.

Клонувальний вектор – фаг або плазміда, що забезпечує «перенесення» і реплікацію чужорідної ДНК у вигляді інертної частини свого генома в реципієнтній клітині.

Класифікацію векторів можна проводити за різними ознаками.

*За застосуванням розрізняють вектори:*

• клонувальні – використовуються для клонування будь-яких фрагментів ДНК;

• експресійні – використовуються для синтезу мРНК і білків;

• спеціалізовані – використовуються для секвенування і мутування генів, дослідження особливостей регуляції клонованих генів, ідентифікації в клонованій ДНК регуляторних ділянок, зокрема промоторів тощо.

*За походженням вектори поділяють на:*

• плазмідні – здатні існувати в клітині і поза її межами у вигляді ДНК;

• фагові (вірусні) – можуть існувати у вигляді ДНК і віріонів;

• гібридні – поєднують окремі властивості плазмід і вірусів.

*За структурою розрізняють:*

• кільцеві вектори;

• лінійні вектори.

*За способом підтримання в клітині вектори поділяють на:*

• автономні – реплікуються самостійно;

• інтегративні – реплікуються в складі клітинного генома.

*За кількістю молекул у клітині:*

• однокопійні та низькокопійні – представлені в клітині 1 - 4 (до 10) копіями;

• висококопійні (мультикопійні) – представлені в клітині 10-100 копіями.

Для ефективного виконання своїх функцій вектор має відповідати таким основним вимогам:

1) вектор повинен містити ділянку, куди чужорідна ДНК може бути вбудованою без порушення важливих функцій;

2) вектор має містити хоча б один унікальний сайт рестрикції (сайт клонування), куди можна інтегрувати вставку;

3) вектор має ефективно реплікуватися в реципієнтній клітині;

4) вектор повинен мати хоча б один селективний маркер, за яким можна відбирати трансформовані цим вектором клітини.

Вибір певного вектора, плазмідного чи фагового, залежить від мети й умов проведення експерименту.

**Введення рекомбінантних ДНК в клітини**

Процес введення вільної ДНК (вектора) у бактеріальну клітину можливий шляхом трансформації, трансдукції, коньюгації.

Можливість трансформації бактеріальних клітин залежить від їх компетентності, тобто здатності поглинати (пропускати через клітинну стінку) молекули ДНК. Компетентність клітин може бути первісною або індукованою. Первісна компетентність притаманна бактеріям родів *Bacillus, Haemophilus, Pseudomonas, Streptococcus, Streptomyces* та деяким іншим. У більшості випадків компетентність клітин, у тому числі й E.coli, потрібно індукувати. Ефективність трансформації залежить від штаму бактерій та структури ДНК. Кільцеві молекули, а також лінійні з кінцевими шпильками, що ковалентно замикають обидва ланцюги ДНК, ефективніше трансформують клітини, ніж лінійні молекули з відкритими кінцями.

Для індукції трансформації прокаріотичних клітин застосовується ряд методів.

Хімічна індукція трансформації полягає в обробці «на холоді» культури клітин перед трансформацією двовалентними катіонами, переважно іонами Са2+. Клітини обробляють крижаним розчином 50мМ CaCl2, після чого витримують при 42о С протягом 1,5-2 хв. Максимальна частота трансформації при цьому становить 10-3, а ефективність трансформації може сягати 107 -108 .

Елекропорація – збільшення проникності цитоплазматичної мембрани під впливом електричного струму. В результаті елекрошоку в мембрані утворюються тимчасові пори, через які ДНК потрапляє до клітини. Умови електопорації для різних видів бактерій різні. Наприклад, для E.coli через суспензію клітин і ДНК об’ємом близько 50 мкл пропускають одиничний імпульс струму тривалістю 4,5 мс (25 мкФ; 2,5 кВ; 200 Ом). Ефективність трансформації методом електропорації залежить від розміру молекули ДНК і становить: • для коротких плазмід (до 3 т.п.н.) до 109 ; • для довгих плазмід (близько 135 т.п.н.) до 106 .

Кон’югація – проникнення рекомбінантної ДНК до клітин з низьким ступенем компетентності за механізмом передачі плазмідних ДНК у природних умовах. Утворення контактів між донорською та реципієнтною клітиною забезпечується кон’югативними властивостями плазміди, а перенесення ДНК – мобілізаційними. При цьому перенесення рекомбінантної ДНК у складі вектора з мобілізаційними 1 мкг доданої ДНК кількість трансформантів Ефективність трансформації = 19 властивостями може відбутися в присутності другої плазміди з кон’югативними властивостями.

Для трансформації можуть бути використані й інші методи, проте основними є індукція Са2+ та електропорація.

**Створення векторів на основі плазмід**

Найбільш поширеним методом генної інженерії є метод отримання рекомбінантних плазмід, тобто плазмід, що містять чужорідний ген. (Плазміди – це невеликі позахромосомні дволанцюгові кільцеві молекули ДНК, здатні реплікуватися автономно.).

Цей процес включає наступні етапи:

1. Отримання потрібного фрагменту ДНК (н-д, гену).

2. Лігування – фрагмент з потрібним геном включають у плазміди і зшивають їх.

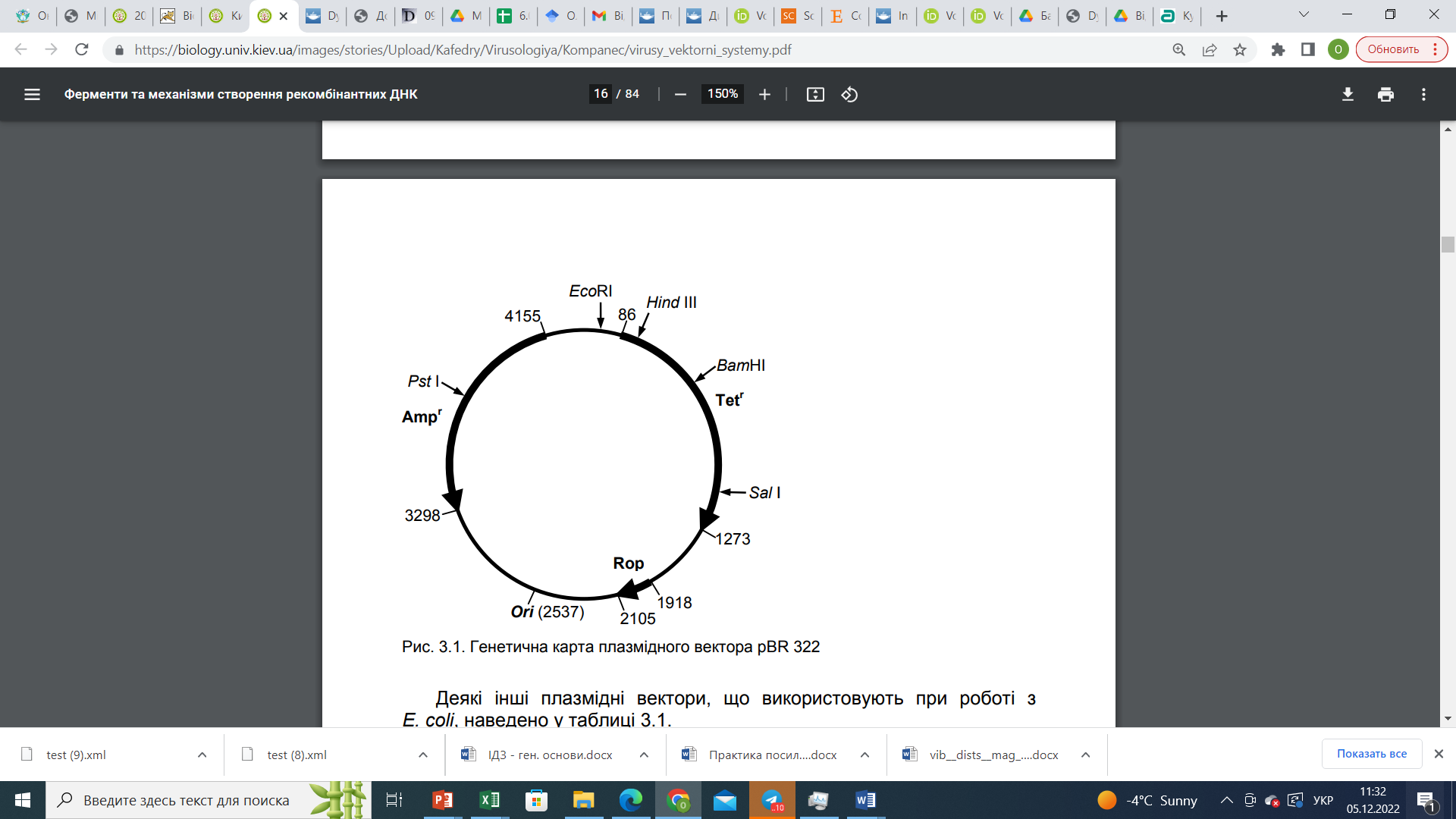
3. Трансформація – введення рекомбінантних плазмід у бактеріальні клітини. Трансформовані бактерії при цьому набувають певних властивостей. Кожна з трансформованих бактерій розмножується й утворює колонію з багатьох тисяч нащадків – клон

4. Скринінг – відбір серед клонів трансформованих бактерій тих, які містять плазміди, що несуть потрібний ген людини.

Весь цей процес називається **клонуванням**. Клонування ДНК у прокаріотичних клітинах можливе завдяки властивості бактеріальних плазмід і бактеріофагів функціонувати після вбудовування в їх геном додаткової чужорідної послідовності ДНК. Такі гібридні, чи химерні, плазміди або фаги реплікуються в бактеріальних клітинах так само, як вихідні, і можуть накопичуватися у великій кількості. Копії чужорідних фрагментів ДНК згодом можуть бути виділені в чистому вигляді.

Усі плазміди містять сайт початку реплікації (ori), який визначає специфічність плазміди. Плазміди з вузьким спектром хазяїв мають специфічний ori-сайт і можуть реплікуватися тільки в клітинах певного виду.

Для E.coli створено велику кількість плазмідних векторів. Як правило, номенклатура сучасних плазмідних векторів включає маленьку літеру «р» (від англ. - plasmid) і декілька літер, які стосуються опису властивостей або історії створення цього вектора.

У 80-х роках ХХ століття високою популярністю користувався плазмідний вектор, сконструйований Боліваром і Родрігесом на базі плазміди Col E1 – pBR 322. Довжина плазміди 4361 п.н. Вона містить гени стійкості до ампіциліну (Ampr) та тетрацикліну (Tetr ). На рис. також наведено розташування унікальних сайтів рестрикції для ендонуклеаз Pst I, EcoRI, Hind III, BamHI і Sal I.

Клонування в сайті Pst I інактивує ген Ampr , а клонування в сайтах Hind III, BamHI і Sal I – ген Tetr. Таким чином, при трансформації клітин *E.coli* сумішшю молекул, отриманих у результаті рекомбінації in vitro із застосуванням рестриктази Pst I, клітини, що міститимуть рекомбінантні молекули, будуть резистентними до ампіциліну, а при використанні рестриктаз Hind III, BamHI і Sal I – до тетрацикліну. Нетрансформовані клітини будуть чутливими, а клітини, які матимуть у собі векторну плазміду – резистентними до обох антибіотиків. Такий прийом називають інактивацією маркера в результаті вставки.

Зручними для роботи з рекомбінантними ДНК є човникові вектори. Човниковий (шатл) вектор – це вектор, який містить більше одного сайта ініціації реплікації і може реплікуватися в клітинах різних видів організмів. Після клонування конструкції на основі човникового вектора в одному виді, переважно E.coli, її переносять у клітини іншого виду, де може здійснюватися експресія клонованої ДНК.

**Методи відбору рекомбінантних ДНК меред колоній після трансформації :**

1 Біло-блакитна селекція

2 Рестрикційне картування

3 ПЛР-скринінг

*Біло-блакитна селекція*

Колонії, що несуть плазміду, яка має будь-які вставки, можна відібрати за допомогою біло-блакитної селекції.

Суть методу полягає в тому, що полілінкер вектора знаходиться на початку рамки зчитування α-субодиниці галактозидази, що знаходиться під контролем lac-промотора. При цьому послідовність, яка генерується самим полілінкером при трансляції не впливає на активність фермента.

Якщо такий вектор трансформувати в штам, дефектний по α- субодиниці галактозидази, але який містить нативну β-субодиницю, при додаванні IPTG утворюється функціонально активний фермент, що розщеплює хромогенний субстрат з утворенням яскраво-блакитного продукту.

Якщо в полілінкері вектора проведено клонування фрагмента, рамка зчитування α-субодиниці порушується і функціональний продукт не утворюється. Колонії, що несуть таку плазміду на чашці з селективним середовищем (містить IPTG та хромогенний субстрат) виглядають безколірними.

*Метод рестрикційного картування*

Метод базується на введенні в вектор специфічного сайту чи сайтів рестрикції з фрагментом, що клонується.

Найбільш старий, але в той же час надійний і досі широко використовуваний метод

*Метод ПЛР*

Інший універсальний підхід полягає у використовуванні ПЛР.

Можливі дві стратегії: використання праймерів, що фланкують полілінкер, і використання праймерів, специфічних до послідовності, що клонується.

Перший метод володіє перевагою універсальності (можна використовувати одну пару праймерів для скринінгу всіх рекомбінантів), другий – дозволяє точно сказати, що клонована послідовність – цільова.

Сучасні плазмідні вектори також конструюють таким чином, щоб можна було здійснювати прямий відбір клонів клітин, які несуть рекомбінантні молекули. Для цього у вектор вводять гени-кілери (kil-гени фага Mu, ген коліцину тощо), інактивація яких у результаті вставки робить трансформанти життєздатними.

За допомогою плазмідних векторів можна клонувати фрагменти ДНК довжиною до 10 т.п.н. Виявилось, що плазміди, які мають великі вставки чужорідної ДНК, нестабільні і при реплікації поступово зменшуються в розмірі в результаті делецій чужорідної ДНК. Чим менший розмір плазміди, тим швидше вона реплікується. Тому генетичний матеріал, що не потрібний плазміді, поступово втрачається.

**Створення клонувальних векторів на основі бактеріофагів**

Фагові вектори створюють на базі ДНК бактеріофагів таким чином, щоб зберігалася інформація, яка забезпечує збірку віріонів in vivo.

Фагові вектори більш ефективні, ніж плазмідні, для клонування великих вставок; Фагові вектори дозволяють клонувати фрагменти ДНК довжиною 15-25 т.п.н.

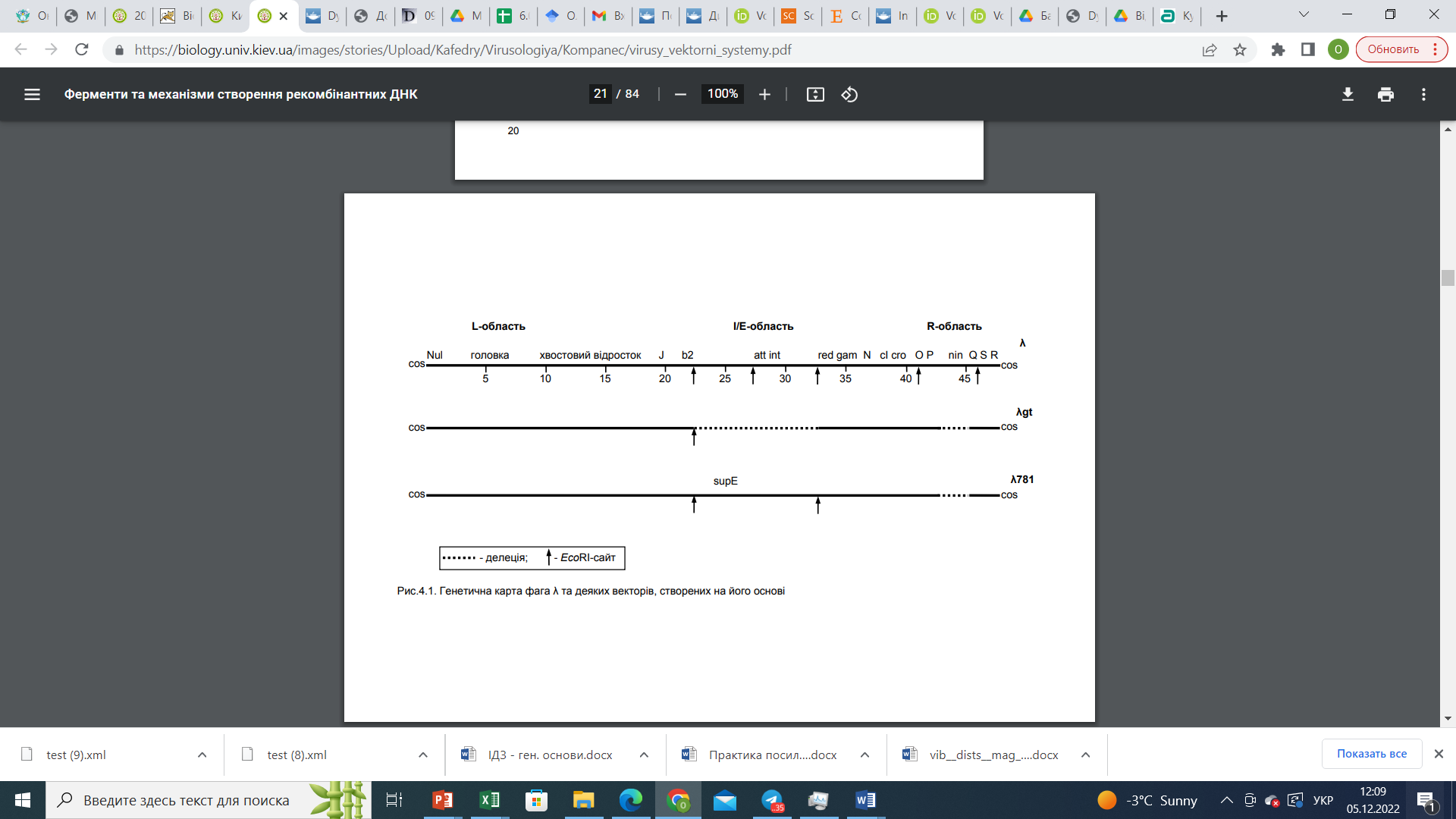
Виявляти потрібну вставку з негативних колоній фага легше, ніж із бактеріальних колоній.

Для клонування в клітинах ДНК E.coli переважно використовуються вектори на основі бактеріофагів λ та М13.

Після проникнення фагу λ у клітину E. coli події можуть розвиватися за двома сценаріями. Якщо реалізується літичний цикл, то фаг починає інтенсивно розмножуватися й приблизно через 20 хв клітина руйнується (лізує) з вивільненням до 100 нових фагових часток. При альтернативному варіанті розвитку подій фагова ДНК включається в хромосому Е. coli як профаг і реплікується в клітині разом із нормальними бактеріальними генами. Однак, при нестачі живильних речовин або інших несприятливих обставинах інтегрована фагова ДНК вивільнюється і запускається літичний цикл розвитку

Фаг λ можна вважати природним вектором перенесення чужорідної ДНК. Геном фага складається з 48502 п.о. Приблизно третина генома між 20 та 38 т.п.н. містить гени, необхідні для лізогенізації клітини, але не важливі для літичної інфекції. Ця ділянка в природних умовах може заміщатися бактеріальними генами при утворенні трансдукуючих фагів. Неістотною також є ділянка nin розміром близько 3,5 т.п.н., розташована між генами P і Q.

Стратегія створення λ-векторів полягає в тому, що центральна область, несуттєва для літичного циклу, замінюється вставкою.

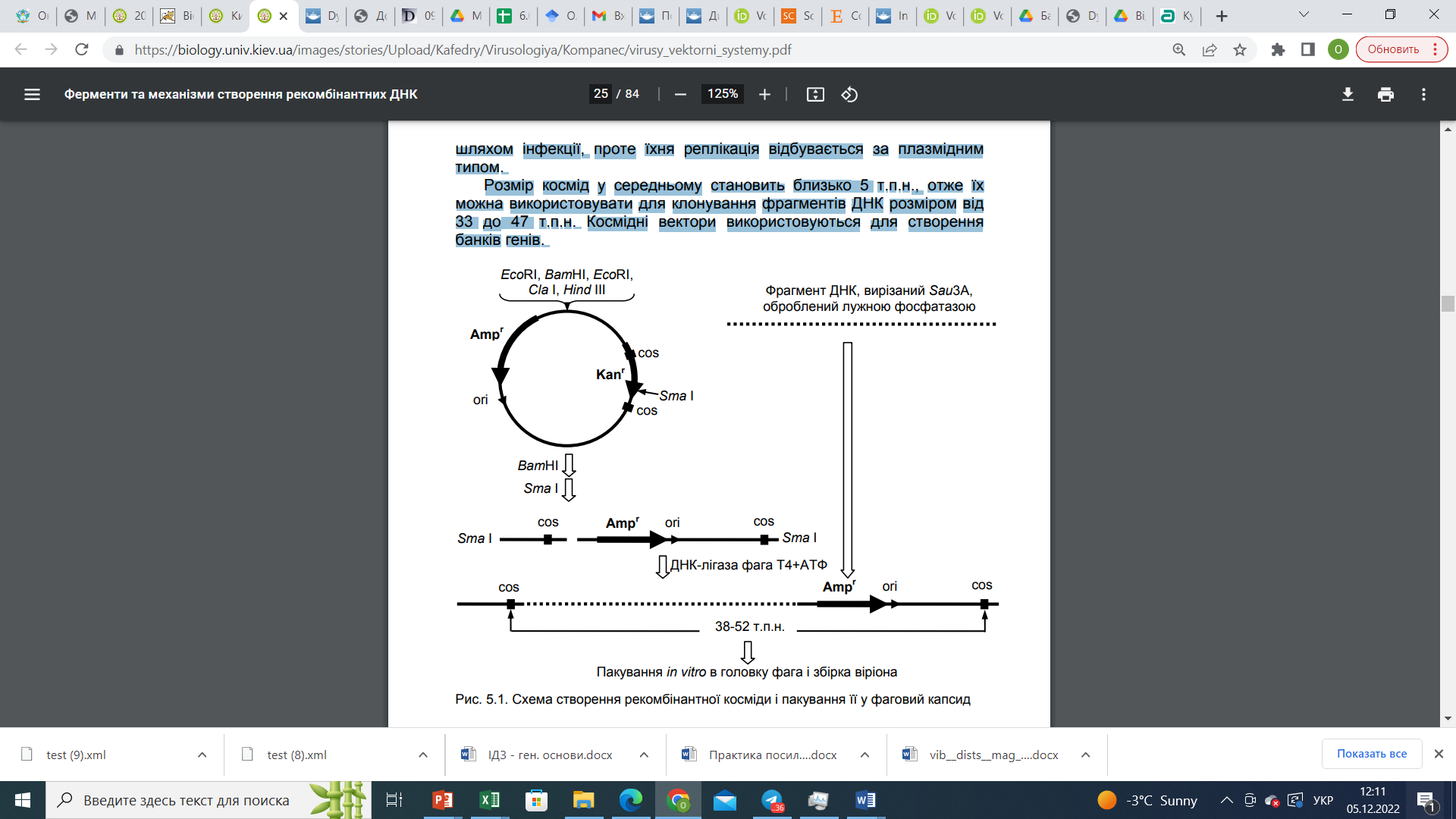
Для λ-векторів, як і для переважної більшості векторів на основі вірусів, існують верхня і нижня межі розміру фрагмента-вставки, що визначається розміром нуклеїнової кислоти, яка може запакуватися в капсид. Для фага λ максимальний розмір ДНК, що може запакуватися в головку, становить 52 т.п.н., а мінімальний – 38 т.п.н. Гени, необхідні для літичного розвитку фага λ, займають близько 29 т.п.н. Отже, максимальна можлива ємність λ-вектора становить 23 т.п.н.

У будь-якому випадку вектори включають L- та R-області, на кінцях яких розташовуються cos-сайти. Вони розділяють мономери фагової ДНК. При нормальному життєвому циклі фага λ сотні молекул фагової ДНК утворюють довгий ланцюг – конкатемер, причому кожний геном фага λ з’єднаний зі своїм сусідом через cos-сайт. Ферменти, що каталізують упаковку фагової ДНК, впізнають у складі цього конкатемеру два cos-сайти, що знаходяться на відстані 35-45 kb один від одного, вищеплюють розташований між ними фаговий геном і упаковують його в головку фага.

Бактеріофаг М 13 виявся дуже зручним вектором для клонування. Фаг М 13 містить одноланцюгову ДНК, що упакована у нитковидний білковий капсид. Коли фаг, що містить такий “+” ланцюг інфікує E. сoli , ДНК реплікується з утворенням дволанцюгових (“+”/”-“) проміжних продуктів, “+” ланцюги яких потім знову упаковуються з утворенням багатьох дочірніх фагових частинок. Дволанцюговий проміжний продукт (реплікативну форму - РФ) можна використовувати як вектор для клонування: вона має невеликий розмір (біля 7,2 kb) Для зручності відбору рекомбінантів ген дикого типу М13 модифікують, вбудувавши в нього частину лактозного оперону (lас-оперона) Е.coli, що включає промотор, оператор і кодуючу ділянку гена β-галактозидази. У цю ділянку додатково вбудовують фрагмент ДНК, який містить сайти пізнавання для певних рестриктаз, з тим, щоб далі можна було їх використовувати для включення фрагментів ДНК з відповідними "липкими кінцями". Такий сегмент називають полілінкером.

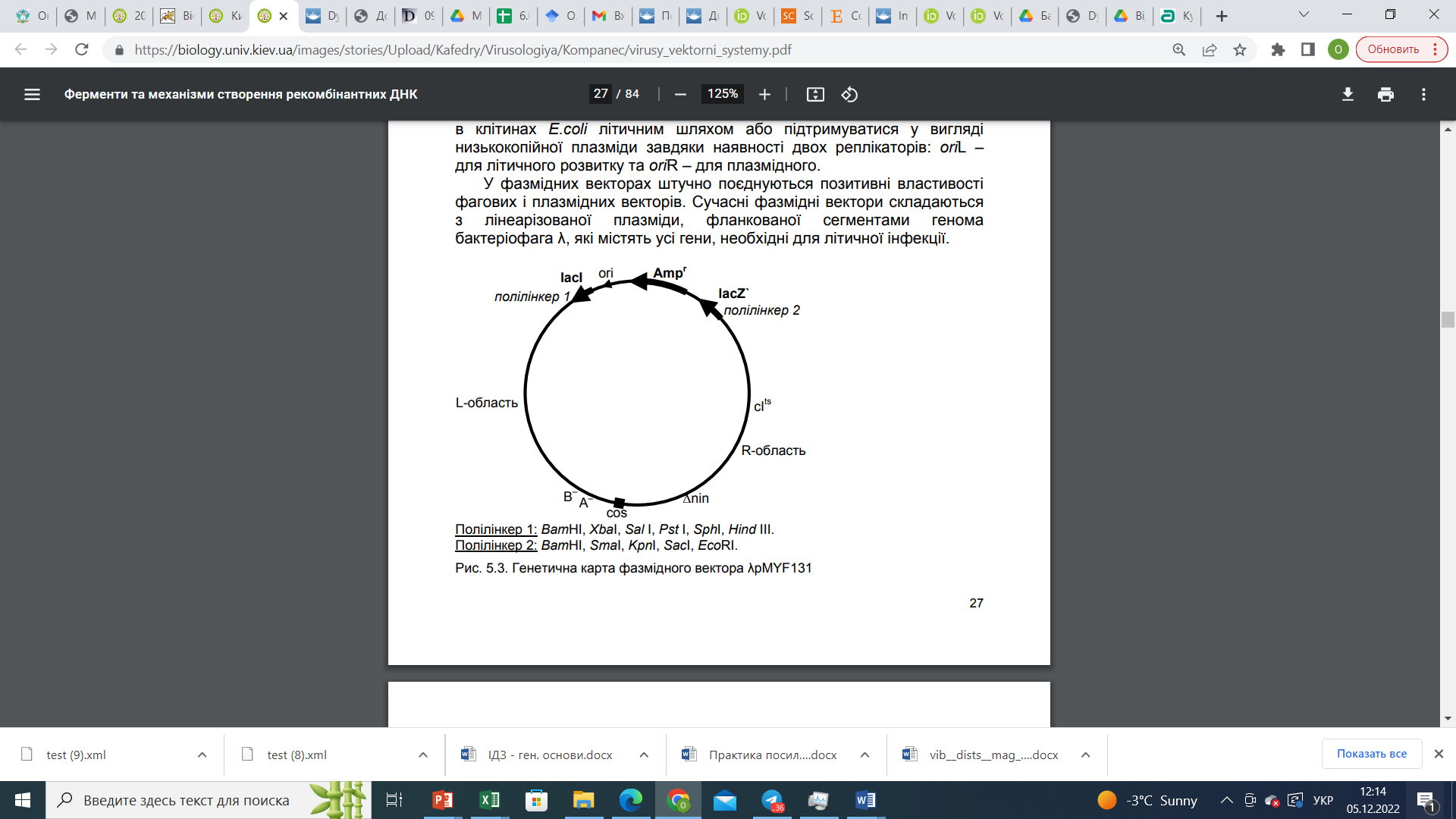
**Створення гібридних векторів на основі бактеріофагів і плазмід**

Фагові вектори дозволяють клонувати фрагменти ДНК довжиною 15-25 т.п.н. Однак, цього явно недостатньо, щоб клонувати цілком багато генів тварин і рослин, довжина яких найчастіше перевищує 35-40 т.п.н. Необхідною місткістю володіють векторні молекули, називані космідами.

**Косміда** – один із гібридних векторів, сконструйований на основі плазміди, в яку вбудовано cos-сайти бактеріофага λ. Такі вектори здатні пакуватися in vitro у фаговий капсид і потрапляти в клітину шляхом інфекції, проте їхня реплікація відбувається за плазмідним типом.

Сos-сайти фага λ були клоновані у гені AmpR плазміди pBR322, що містила інтактний ген TetR . Еукаріотичну ДНК частково гідролізують рестриктазою з утворенням відносно довгих фрагментів ДНК. Потім цю суміш фрагментів лігують з плазмідою, що містить cos-сайти, що гідролізована тою ж рестриктазою. При цьому повинна утворитися суміш химерних ДНК з інтактним TetR - геном, в яких кожний фрагмент еукаріотичної ДНК фланкований cos-сайтами. При додаванні цієї суміші екстракта, що каталізує упаковку ДНК фага λ, відбувається впізнавання і вищеплення фланкованих cos-сайтами фрагментів еукаріотичної ДНК розміром 35-40 kb і їх упаковка в головка фага. Більш короткі фрагменти еукаріотичної ДНК, навіть якщо вони мають cos-сайти, упаковані не будуть. Фагові головки, що містять таку ДНК не можуть розмножуватись як фаги; ними заражують E. сoli і відбирають заражені клітини по стійкості до тетрацикліну. Потрапивши в клітину E. сoli гібридна молекула, що містить фланковану cos-сайтами еукаріотичну ДНК розмножується як плазміда

Розмір космід у середньому становить близько 5 т.п.н., отже їх можна використовувати для клонування фрагментів ДНК розміром від 33 до 47 т.п.н. Космідні вектори використовуються для створення банків генів.

**Фазміди** – гібриди між фагами і плазмідами, здатні існувати в клітині і у вигляді фага, і у вигляді плазміди. Фазміди не є виключно штучною конструкцією. Наприклад, бактеріофаг Р1 може розвиватися в клітинах E.coli літичним шляхом або підтримуватися у вигляді низькокопійної плазміди завдяки наявності двох реплікаторів: oriL – для літичного розвитку та oriR – для плазмідного.

У фазмідних векторах штучно поєднуються позитивні властивості фагових і плазмідних векторів. Сучасні фазмідні вектори складаються з лінеарізованої плазміди, фланкованої сегментами генома бактеріофага λ, які містять усі гени, необхідні для літичної інфекції.

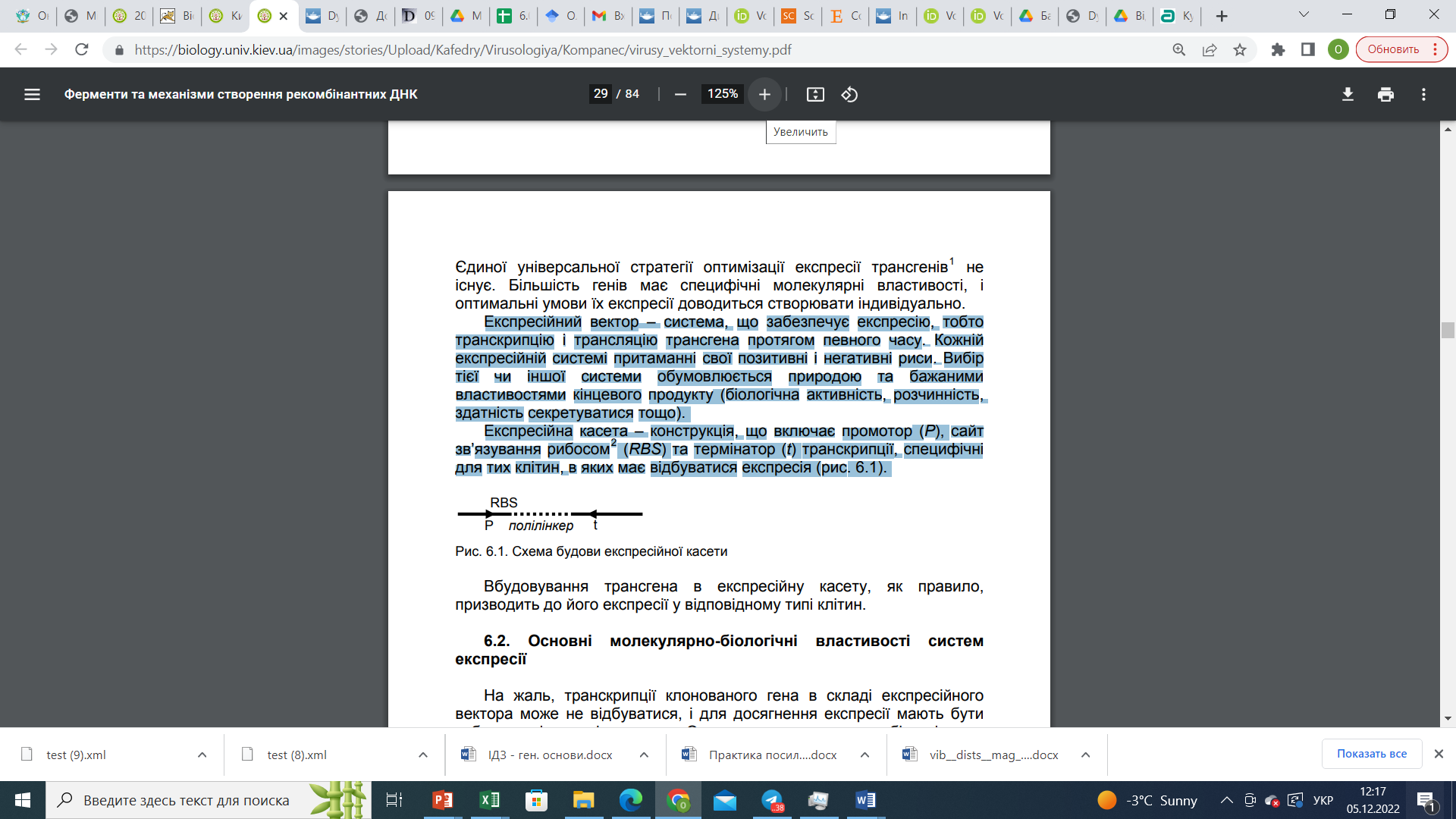
Вставки сторонньої ДНК в одних умовах можуть розмножуватися як фаги, а в інших - як плазміди. Фазміди мають певні переваги перед векторами інших типів. Їх можна "упаковувати" в оболонки фагових білків, і вони існуватимуть як фаги, при температурі 42°С, або, використовуючи термочутливий білок - репресор фага λ, примушувати їх розмножуватися як плазміди (при нижчій температурі ~32 °С).

Фазмідні вектори, як і фагові, використовуються для клонування геномних і кДНК. Ефективність пакування рекомбінантних фазмід у фаговий капсид з наступним інфікуванням бактеріальних клітин перевищує ефективність трансформації плазмідами на два порядки.

**Експресія чужорідних генів у прокаріотичних клітинах.**

Основним завданням біотехнологічного процесу є отримання кінцевого продукту. Для генно-інженерних біотехнологій таким продуктом буде білок. З цією метою можна використовувати різні про- та еукаріотичні клітини, проте основною культурою для отримання комерційних продуктів поки що залишається *E.coli*. Слід зауважити, що сам факт отримання рекомбінантної ДНК не означає, що вбудований ген буде експресуватися.

Експресійний вектор – система, що забезпечує експресію, тобто транскрипцію і трансляцію трансгена протягом певного часу. Кожній експресійній системі притаманні свої позитивні і негативні риси. Вибір тієї чи іншої системи обумовлюється природою та бажаними властивостями кінцевого продукту (біологічна активність, розчинність, здатність секретуватися тощо).

Експресійна касета – конструкція, що включає промотор (Р), сайт зв’язування рибосом2 (RBS) та термінатор (t) транскрипції, специфічні для тих клітин, в яких має відбуватися експресія.

Від типу промотора залежить ефективність активації транскрипції, від стабільності мРНК та міцності зв’язування її з рибосомами – ефективність активації трансляції. Зайва довжина мРНК може сприяти утворенню вторинної структури, яка перешкоджатиме ефективній трансляції. Концентрація кінцевого продукту – білка – залежить від кількості копій і локалізації його гена, стабільності самого білка у клітині, його внутрішньоклітинної агрегації, ймовірності правильної посттрансляційної модифікації, а також спроможності клітини секретувати даний білок.

При правильно дібраних умовах вихід чужорідного білка може досягати 10-40% сумарного білка клітини.

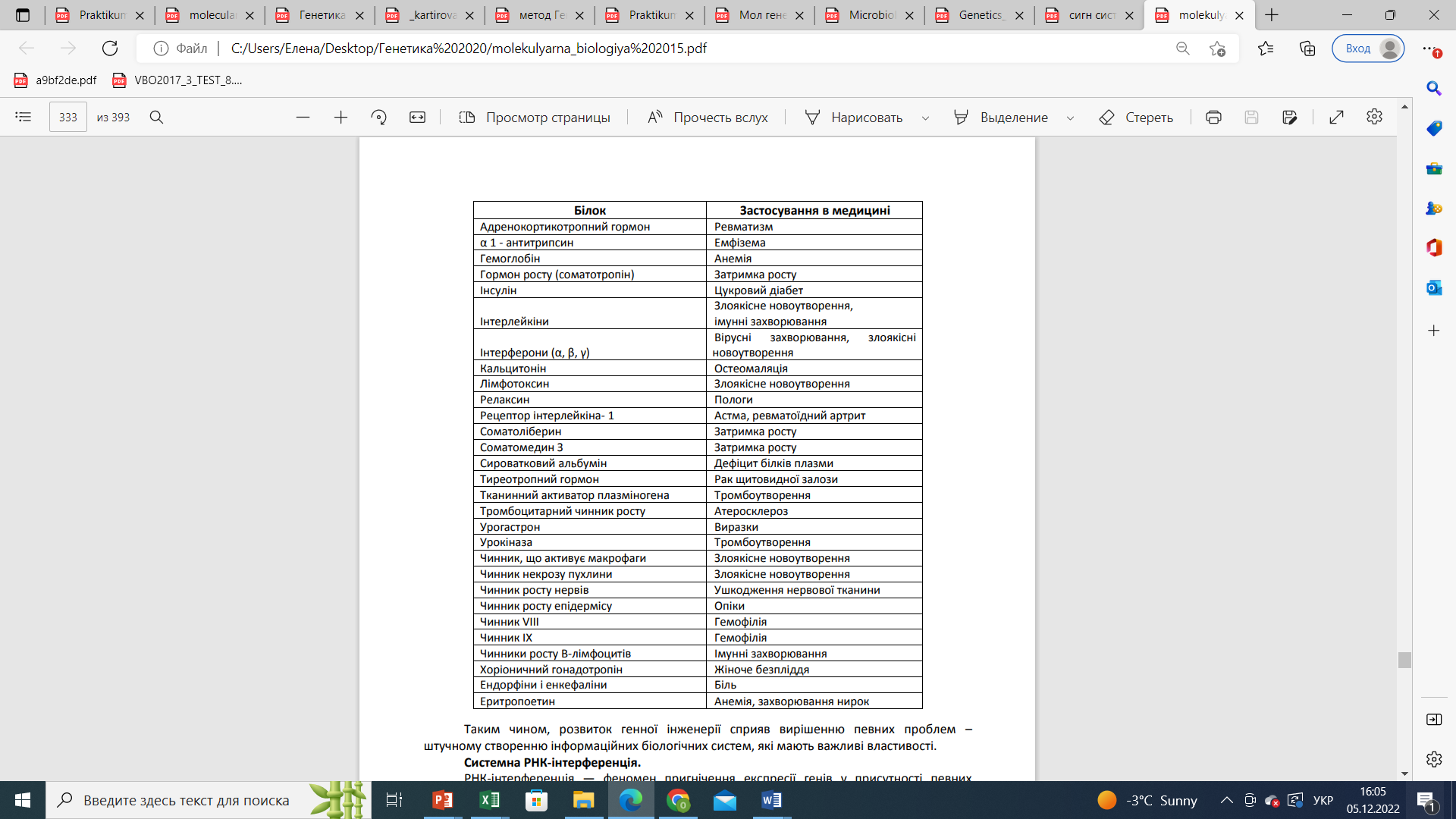
Окрім того, через мозаїчну будову більшості еукаріотичних генів їх експресію в прокаріотичних клітинах можна здійснювати лише за використання кДНК, або хімічно синтезованої білок-кодуючої нуклеотидної послідовності.

**Генетична інженерія мікробіологічних систем**

Генетично модифіковані мікроорганізми використовуються здебільшого як біореактори, що продукують білки для потреб медицини. В основному це невеликі білки, що не піддаються посттрансляційним модифікаціям. Одним із перших промислових застосувань генетичної інженерії було отримання шляхом експресії у клітинах *E. coli* гормону росту людини - соматотропіну. В організмі він секретується передньою часткою гіпофіза, а його дефіцит є причиною захворювання ñ гіпофізарної карликовості.

Отримання **соматостатину** являє собою цікавий приклад цілеспрямованого конструювання білків за допомогою методів генної інженерії. Це короткий пептид (містить 14 амінокислотних залишків), який синтезується у шлунково-кишковому тракті й гальмує вивільнення з гіпофізу гормону росту. Отримати соматостатин у клітинах бактерій у значних кількостях є складним завданням, оскільки він швидко руйнується протеолітичними ферментами. Щоб "обійти" внутрішньоклітинні бактеріальні протеази, було сконструйовано химерний білок-попередник. У його складі як N-кінцеву ділянку було використано білок бактерії, до якого приєднали сам соматостатин: звичайно, усе це було зроблено на рівні ДНК, зв'язувальним елементом у цій конструкції було використано триплет АТG, що кодує метіонін. Після виділення з клітин бактерій химерний білок обробляли бромціаном, унаслідок чого відбувалось його розщеплення за залишком метіоніну, і таким чином вилучався фізіологічно активний поліпептид. За аналогічною схемою було розроблено процес отримання інсуліну.

Шляхом експресії в E. coli отримують також **інтерферони** всіх трьох груп: α-, β- та γ-інтерферони ñ антивірусні білки, які синтезуються імунокомпетентними клітинами. Проте недоліком використання бактеріальних клітин для отримання β- і γ-інтерферонів (природні інтерферони цих двох груп - глікопротеїди) є відсутність у бактерій систем, що забезпечують посттрансляційні модифікації білків. Роль глікозилювання β- і γ-інтерферонів не до кінця зрозуміла і, хоча неглікозильовані форми цих білків практично повністю зберігають противірусну активність, це спонукає до розробки й використання систем експресії рекомбінантних інтерферонів в еукаріотичних клітинах.



Важливе місце в генетичній інженерії мікроорганізмів посідає виробництво **рекомбінантних вакцин**. Вони мають цілий ряд переваг перед традиційними вакцинами: характеризуються відсутністю (або значним зниженням вмісту) баластних компонентів, майже повною нешкідливістю та низькою вартістю.

Можна назвати три основні підходи, які використовують для отримання таких вакцин:

• Модифікація мікроорганізму шляхом делеції генів, що відповідають за вірулентність. При цьому зберігається здатність викликати імунну відповідь, і мікроорганізм можна використовувати як живу вакцину.

• Перенесення антигенних детермінант патогенного мікроорганізму на непатогенний, який можна використовувати як вакцину

Клонування та експресія генів білків, котрі містять анигенні детермінанти. Білки використовують як вакцину, що провокує імунну відповідь.

Велике значення має використання мікроорганізмів для промислового виробництва органічних сполук. У такому виробництві, крім класичних технологій, усе ширше використовують технологію рекомбінантних ДНК, яка дозволяє спрямовано змінювати метаболізм мікроорганізмів, уводячи нові гени або модифікуючи такі, що вже існують. Прикладами є використання рекомбінантних мікроорганізмів для промислового синтезу L-аскорбінової кислоти (вітаміну С), барвника індиго, антибіотиків, цінних біополімерів тощо.

Мікроорганізми можуть приносити користь не тільки завдяки якомусь певному продукту, який ними синтезується, а й своєю дією на довкілля. Зокрема, бактерії можна використовувати **для деградації ксенобіотиків** (неприродних синтетичних хімічних речовин ñ гербіцидів, пестицидів, холодоагентів, хімічних відходів). Головну групу ґрунтових мікроорганізмів, що руйнують ксенобіотики, становлять бактерії роду *Pseudomonas*. Різні штами *Pseudomonas* здатні розщеплювати понад 100 органічних сполук, але кожен окремий штам використовує як джерело вуглецю тільки певну групу споріднених сполук і не використовує інших. Шляхом перенесення плазмід, які кодують ферменти різних катаболічних шляхів, в один реципієнтний штам було створено "супербацилу", що має надзвичайні катаболічні властивості - вона здатна руйнувати більшість вуглеводнів нафти. Тепер генетично модифіковані штами природних ґрунтових мікроорганізмів використовуються для комплексної біологічного очищення стічних вод.