



## Doctoral Thesis

# Isolation and characterization of an extrachromosomal element from *Nocardia mediterranei*

**Author(s):**

Moretti, Paola

**Publication Date:**

1986

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000409688> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No 8050

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION  
OF AN EXTRACHROMOSOMAL  
ELEMENT FROM  
NOCARDIA MEDITERRANEI**

A dissertation submitted to the

**SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH**

for the degree of  
doctor of Natural Sciences



29/7/86

presented by  
Paola Moretti  
dipl. Natw. ETH  
born June 29. 1958  
citizen of Cevio (Ticino)

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. R. Hütter, examiner  
Prof. Dr. Th. Leisinger, co-examiner

ADAG Administration & Druck AG

Zurich 1986

## 5. SUMMARY

In this work, the isolation and characterization of a low-copy-number covalently closed circular extrachromosomal DNA element from the wild type strain LBG A3136 of Nocardia mediterranei (ETH collection) is described. This element, called pMEA100, could only be isolated from mycelium grown on agar plates. pMEA100 was also recovered from strain T88, a descendant of strain LBG A3136. No ccc DNA was detected in the closely related strain ATCC 13685, derived from the wild type after manganese chloride treatment. Hybridization experiments showed that pMEA100 is present in strains LBG A3136 and T88 in a free as well as in an integrated form, whereas in strain ATCC 13685 only an integrated form was detected. pMEA100-free derivatives of strains LBG A3136 and T88 could be obtained from regenerants in protoplasting experiments. pMEA100 was found to be self-transmissible, eliciting the lethal zygosis phenotype. However, after the transfer a mixture of plasmids was often observed in an individual recipient strain. Preparations from these strains contained the original element pMEA100 and in addition one or several different derivatives of it, mostly deletions. Crossing experiments showed that pMEA100 is involved in the fertility system of N. mediterranei, since no recombinants for chromosomal markers were observed in crosses between two pMEA100-free strains. There is so far no evidence that pMEA100 is an autonomously replicating element. Since no strains containing only the free form were observed and no transformants were detected in Streptomyces lividans, it is possible that this element is propagated only as part of the chromosome and that the observed circular species arises from the integrated form by a specific excision event.

## 6. RIASSUNTO

In questo lavoro vengono presentati l'isolamento e la caratterizzazione di un elemento extracromosomale a basso numero di copie presente nel ceppo selvatico LBG A3136 di Nocardia mediterranei (collezione ETH). Questo elemento, pMEA100, ha potuto essere isolato esclusivamente da micelio cresciuto su terreno solido (piastre di agar). pMEA100 è stato isolato anche dal ceppo T88, un derivato di LBG A3136 ottenuto con radiazione ultravioletta. Al contrario, non sono state trovate molecole circolari nel ceppo ATCC 13685 (derivato dal ceppo selvatico con trattamento al cloruro di manganese). Esperimenti di ibridazione dimostrano che pMEA100 nei ceppi LBG A3136 e T88 è presente sia in forma libera che integrato nel cromosoma, mentre nel ceppo ATCC 13685 è presente solo la forma integrata. Derivati dei ceppi LBG A3136 e T88 che non contengono pMEA100 hanno potuto essere isolati dopo formazione e rigenerazione di protoplasti. pMEA100 è trasferibile da un ceppo all'altro di N. mediterranei, causando il fenomeno della zigosi letale. Dopo il trasferimento, spesso è stata osservata una miscela di plasmidi nel ceppo recipiente. Queste preparazioni contenevano pMEA100 e uno o più derivati, formati per lo più da delezioni del medesimo elemento. Esperimenti di coniugazione hanno dimostrato che pMEA100 è l'elemento responsabile della fertilità di N. mediterranei, poichè in coniugazioni fra ceppi privi di pMEA100 non sono stati osservati ricombinanti per geni cromosomali. Non è stato dimostrato che pMEA100 può replicare autonomamente. Poichè non sono stati osservati ceppi contenenti solo la forma libera, e poichè Streptomyces lividans non ha potuto essere trasformato con pMEA100, è possibile che questo elemento si moltiplichi come parte del cromosoma e che la forma libera venga originata da quella integrata tramite escisione in un sito specifico.