

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

АГЕЕНКО

Иван Александрович

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ ГИБРИДНОЙ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ СТРУКТУРНОЙ
ЧАСТИ ГЕНА СОБАЧЬЕГО АЛЬФА-ИНТЕРФЕРОНА И
ЦЕЛЛЮЛОЗОСВЯЗЫВАЮЩЕГО ДОМЕНА БАКТЕРИЙ
THERMOTOGA MARITIMA

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:
заведующий НИЛ биотехнологии,
М.И. Потапович

Минск, 2015

В результате проведённого исследования, в составе экспрессионного вектора рЕТ-24 в клетках бактерий *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3) -RIPL, клонирована гибридная генетическая последовательность, состоящая из структурной части гена собачьего ИФН- α и целлюлозосвязывающего домена бактерий *Thermotoga maritima*.

Оптимизированы условия экспрессии гибридной генетической конструкции. Оптимальными параметрами являются температура 20 °С и концентрация ИПТГ 0,1 ммоль/л, т.к. именно при таких параметрах происходит наибольшее накопление в клетках целевого белка.

Был получен и в дальнейшем очищен на целлюлозном сорбенте гибридный белок. Показано, что гибридный белок не обладает противовирусной активностью, что может быть вызвано наличием пришитого целлюлозосвязывающего домена.

С использованием TEV-протеазы был разрезан гибридный белок. Установлено, что нативный белок обладает активностью, которая составляет 4×10^6 МЕ/мг. Это говорит о том, что при отрезании целлюлозосвязывающего домена пространственная структура белка восстанавливается, что позволяет ему связаться с рецептором.

MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department

AGEENKO

Ivan A.

**CLONING AND EXPRESSION OF HYBRID SEQUENCE CONSISTING
OF THE STRUCTURAL PART OF THE CANINE INTERFERON GENE
AND ALPHA CELLULOSE BINDING DOMAIN TAKEN FROM
BACTERIA THERMOTOGA MARITIMA**

Annotation

for the thesis work

Supervisor:

Head of the Research Laboratory of Biotechnology

M.I. Potapovich

Minsk, 2015

As a result of conducted research, as part of the expression vector pET-24 in bacterial cells *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3) –RIPL, hybrid genetic sequence has been cloned and also it consists of the structural part of the canine gene IFN- α and cellulose binding domain taken from bacteria *Thermotoga maritima*.

Conditions were optimized for the expression of the hybrid genetic construction. Optimal parameters include temperature of 20 ° C and IPTG concentration of 0.1 mmol / L, because exactly such parameters occurs the largest accumulation of the target protein in the cells.

Fusion protein was obtained and further purified on cellulose sorbent. It is shown that the hybrid protein does not possess antiviral activity that may be caused by sewn cellulose binding domain.

Fusion protein was cut By TEV-protease. Established that native protein is having activity that constitutes 4h106 IU / mg. This suggests that that when cutting cellulose binding domain spatial structure of the protein is restored that allows it to contact with the receptor.