

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

МАЛЁВАНАЯ
Алиса Геннадьевна

**КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ГРАНУЛОЦИТАРНО-
МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА
2 СВИНЬИ ДОМАШНЕЙ В КЛЕТКАХ *E. COLI***

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
заведующий НИЛ
биотехнологии кафедры
микробиологии
М. И. Потапович

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 46 страниц, 4 таблицы, 9 рисунков, 27 источников.

ЦИТОКИНЫ, КЛЕТКИ КРОВИ, КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР, ГЕМОПОЭЗ, СТВОЛОВАЯ КРОВЕТВОРНАЯ КЛЕТКА (СКК), ГРАНУЛОЦИТ, МАКРОФАГ, ИММУНОТЕРАПИЯ, ВЕТЕРИНАРИЯ, СВИНЬЯ ДОМАШНЯЯ, КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ.

Объект исследования: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор 2 свиньи домашней.

Цель работы: клонирование и экспрессия гена гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора 2 свиньи домашней в клетках *E.coli*.

Методы исследования: молекулярно-биологические, биохимические, микробиологические, генно-инженерные.

Полученные результаты. В ходе проделанной работы был получен экспрессионный вектор на основе плазмиды pET-24b(+), содержащий в составе последовательность гена свиного ГМ-КСФ-2, который клонирован в клетках *E. coli* BL21 (λ DE3) и *E. coli* BL21 CodonPlus(DE3)-RIPL. Проведен отбор наиболее эффективных клонов, содержащих целевой ген. После проведенной индуцибельной экспрессии установлено, что белковый продукт, накапливающийся в клетках бактерий, соответствует по массе свиному гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору 2. Подобраны оптимальные условия экспрессии белка – это индукция при оптической плотности 1,0 бактерий с добавлением ИПТГ в концентрации 0,2 mM и инкубированием при температуре 37°C. Экспериментально было показано, что рекомбинантный белок свиного ГМ-КСФ-2 накапливается в тельцах включения.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 46 старонак, 4 табліцы, 9 малюнкаў, 27 крыніц.

ЦЫТАКІНЫ, КЛЕТКІ КРЫВІ, КАЛОНІЕСТЫМУЛЮЮЧЫ ФАКТАР, ГЕМАПАЭЗ, СТВАЛАВАЯ КРЫВЯТВОРНАЯ КЛЕТКА (СКК), ГРАНУЛАЦЫТ, МАКРАФАГ, ІМУНАТЭРАПІЯ, ВЕТЭРЫНАРЫЯ, СВІННЯ ХАТНЯЯ, КЛАНАВАННЕ, ЭКСПРЭСІЯ.

Аб'ект даследавання: гранулацытарна-макрафагальны калоніестымулюючы фактар 2 свінні хатняй.

Мэта працы: кланаванне і экспрэсія гена гранулацытарна-макрафагальнага калоніестымулюючага фактару 2 свінні хатняй у клетках *E.coli*.

Метады даследавання: малекулярна-біялягічныя, біяхімічныя, мікрабіялягічныя, генна-інжэнерныя.

Атрыманыя вынікі. У ходзе праведзенай працы быў атрыманы экспрэсійны вектар на аснове плазміды pET-24b(+), які змяшчае ў складзе паслядоўнасць гена свінога ГМ-КСФ-2, які кланаваны ў клетках *E. coli* BL21 (λDE3) і *E. coli* BL21 CodonPlus(DE3)-RIPL. Праведзены адбор найбольш эфектыўных клонаў, якія змяшчаюць мэтавы ген. Пасля праведзенай індцыбельнай экспрэсіі было ўстаноўлена, што бялковы прадукт, які назапашваецца ў клетках бактэрыі, адпавядае па масе свіному гранулацытарна-макрафагальнаму калоніестымулюючаму фактару 2. Падабраны аптымальныя ўмовы экспрэсіі бялку – гэта індукцыя пры аптычнай шчыльнасці 1,0 бактэрыі з даданнем IPTG у канцэнтрацыі 0,2 мМ і інкубаваннем пры тэмпературы 37 °С. Эксперыментальна было паказана, што рэкамбінантны бялок свінога ГМ-КСФ-2 назапашваецца ў цяльцах ўключэння.

ABSTRACT

Graduate work 46 pages, 4 figures, 9 tables, 27 sources.

CYTOKINES, BLOOD CELLS, COLONY-STIMULATING FACTOR, HEMATOPOIESIS, STEM HEMOPOIETIC CELL (SHC), GRANULOCYTE, MACROPHAGE, IMMUNOTHERAPY, VETERINARY, DOMESTIC PIG, CLONING, EXPRESSION.

The object of study: granulocyte-macrophage colony stimulating factor 2 of domestic pig.

Objective: cloning and expression of porcine granulocyte-macrophage colony stimulating factor 2 gene in *E.coli* cells.

Methods: molecular biology, biochemical, microbiological, genetic engineering.

Results. During this work an expression vector, based on pET-24b(+) plasmid was constructed, which contains the sequence of porcine GM-CSF-2 gene. The vector was cloned in *E. coli* BL21 (λ DE3) and *E. coli* BL21 CodonPlus(DE3)-RIPL cells. Selection of the most effective clones containing the target gene was conducted. Following the inducible expression it was found that the accumulating protein matches the mass of porcine granulocyte-macrophage colony stimulating factor 2. The optimal protein expression conditions are: induction at OD 1.0 by adding IPTG to a concentration of 0.2 mM, and incubation at 37 °C. It was experimentally shown, that porcine GM-KSF accumulates in the form of inclusion bodies.