

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

Науменко
Мария Николаевна

**КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА КИСЛОТОУСТОЙЧИВОЙ
АЛЬФА-АМИЛАЗЫ *BACILLUS SP. 426* В КЛЕТКАХ
*ESCHERICHIA COLI***

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент А.В. Качан

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 43 с., 12рис., 2 табл., 13 источников.

Клонирование гена кислотоустойчивой альфа-амилазы *Bacillus sp.* 426 в клетках *Escherichia coli*

Объекты исследования: штаммы бактерий: *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*

Цель: клонировать ген альфа-амилазы *Bacillus sp.* 426 в клетках *Escherichia coli*, а также подтвердить высокую активность рекомбинантной α -амилазы при кислых значениях pH реакционной среды.

Методы исследования: культивирование микроорганизмов, выделение периплазматических белков из клеток, электрофорез, измерение активности фермента, выделение ДНК, рестрикционный анализ, амплификация, клонирование, кальциевая трансформация, лигирование.

С использованием метода ПЦР ген, кодирующий α -амилазу *Bacillus sp.* 426, был клонирован в клетках *Escherichia coli* в составе векторной молекулы pUC18. Синтезированная в клетках *Escherichia coli* рекомбинантная альфа-амилаза является кислотоустойчивой и проявляет высокую активность при pH 4,7; 5,6.

Ключевые слова: альфа-амилаза, кислотоустойчивость, реактив с динитросалициловой кислотой, амилолитическая активность.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 43 с., 12 мал., 2 табл., 13 крыніц.

Кланаванне гена кіслотоустойчывості альфа-амілазы *Bacillus sp.* 426 у клетцы *Escherichia coli*

Аб'екты даследавання: штамы бактэрый: *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*

Мэта: кланаваць ген альфа-амілаза *Bacillus sp.* 426 у клетках *Escherichia coli*, а таксама пацвердзіць высокую актыўнасць рэкамбінантнай α -амілаза пры кіслых значэннях pH рэакцыйнай серады.

Метады даследавання: культыванне мікраарганізмаў, вылучэнне периплазматических бялкоў з клетак, электрофарэз, вымярэнне актыўнасці фермента, вылучэнне ДНК, рэстрыкцыйны аналіз, ампліфікацыя, кланаванне, кальцыевая трансфармацыя, лігіраванне.

З выкарыстаннем метаду ПЦР ген, кадавальны α -амілазу *Bacillus sp.* 426, быў кланаван ў клетках *Escherichia coli* ў складзе вектарнай малекулы pUC18. Сінтэзаваны ў клетках *Escherichia coli* рэкамбінантная альфа-амілаза з'яўляецца кіслотоустойчывой і праяўляе высокую актыўнасць пры pH 4,7; 5,6.

Ключавыя словы: альфа-амілаза, кіслотоустойчывость, рэактыў з днітрасаліцылавай кіслатой, амілалітыческая актыўнасць.

SUMMARY

Graduate work 43 p., 12 fig., 2 tab., 13 sources.

Cloning of acid-stable gene from *Bacillus sp.* 426 in *Escherichia coli* cells

Objects of the study: strains of bacteria: *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*

Objective: To clone the gene α -amylase of *Bacillus sp.* 426 cells in *Escherichia coli*, and also confirm the high activity of the recombinant α -amylase at acid pH values of the reaction medium.

Research methods: cultivation of microorganisms, isolation of periplasmic protein from the cells, electrophoresis, measurement of enzyme activity, DNA isolation, restriction analysis, amplification, cloning, calcium transformation, ligation.

Using the PCR method gene encoding α -amylase *Bacillus sp.* 426 was cloned in *Escherichia coli* cells in the vector pUC18. The synthesized molecules in the cells of *Escherichia coli* recombinant α -amylase is an acid-resistant and exhibits high activity at pH 4,7; 5,6.

Keywords: α -amylase, acid, reagent with dinitrosalicylic acid, amylolytic activity.