

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

Аннотация к дипломной работе

ФИЛИППОВА
Злата Васильевна

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ИНТЕРФЕРОНА
АЛЬФА СВИНЬИ ДОМАШНЕЙ В КЛЕТКАХ *E. COLI*

Научный руководитель:
зав. НИЛ биотехнологии кафедры
микробиологии БГУ М.И. Потапович

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 49 с., 6 табл., 9 рис., 38 источников.

Цитокины, интерферон, ветеринария, клонирование, экспрессия, *E.coli*, *Sus scrofa*.

Объектом исследования являлся интерферон альфа свиньи домашней.

Целью работы являлось клонирование и экспрессия гена интерферона альфа свиньи домашней в клетках *E.coli*.

Методы исследования: электрофорез в агарозном геле, описанный в руководстве Маниатиса, кальциевая трансформация бактерий плазмидной ДНК и амплификация фрагментов ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по стандартной методике, рестрикция ДНК и лигирование с использованием ферментов и буферных систем фирмы «Thermo Scientific», индукция при помощи набора реактивов QIAprep®Spin Miniprep Kit (Qiagen), белковый электрофорез в ПААГ.

В ходе проделанной работы были получены экспрессионные вектора на основе плазмид pD861-SR и pD441-SR, содержащие в составе последовательность гена свиного интерферона альфа, который клонирован в клетках *Escherichia coli* XL – 1 Blue. Проведен отбор наиболее эффективных клонов, содержащих целевой ген. Не удалось получить рекомбинантный IFN, в системе экспрессии на основе штаммов *E. coli* XL-1 Blue и векторов pD861-SR и pD441-SR. На основании полученных результатов можно сказать, что вероятно целесообразным решением проблемы будет использование другой системы экспрессии для получения рекомбинантного интерферона.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 49 старонак, 6 табліцы, 9 малюнкаў, 38 крыніцы.

Цытакіны, інтэрферон, ветэрынарыя, кланаванне, экспрэсія, *E.coli*, *Sus scrofa*.

Аб'ектам даследавання з'яўляўся інтэрферон альфа свінні хатняй

Мэта працы з'яўлялася кланаванне і экспрэсія гена інтэрферона альфа свінні хатняй у клетках *E.coli*.

Метады даследавання: электрафарэз у агарозавым гелі, апісаны ў кіраўніцтве Маниатис, кальцыевая трансфармацыя бактэрыі плазмідай ДНК і ампліфікацыя фрагментаў ДНК метадам полімеразнай ланцуговай рэакцыі (ПЛР) па стандартнай методыцы, рэстрыкцыя ДНК і лігаванне з выкарыстаннем ферментаў і буферных сістэм фірмы «Thermo Scientific», індукцыя з дапамогай набору рэактываў QIAprep®SpinMiniprepKit (Qiagen), бялковы электрафарэз у ПААГ, лізіс бактэрыяльных клетак з выкарыстаннем рэактываў набору B-PER® Bacterial Protein Extraction Reagent (Thermo Scientific).

У ходзе праведзенай працы былі атрыманы экспрэсіённыя вектара на грунце плазмід рD861-SR і рD441-SR, які змяшчае ў складзе паслядоўнасць гена свінога інтэрферона, які затым быў кланаваны ў клетках *Escherichia coli* XL – 1 Blue. Праведзены адбор найбольш эфектыўных клонаў, якія змяшчаюць мэтавы ген. Не атрымалася атрымаць рэкамбінантны інтэрферон, у сістэме экспрэсіі на аснове штамаў *E. coli* XL – 1 Blue і вектараў рD861-SR, рD441-SR. На падставе атрыманых вынікаў магчыма казаць, што верагодным рашэннем праблемы будзе выкарыстанне іншай сістэмы экспрэсіі для атрымання рэкамбінантнага інтэрферона.

ABSTRACT

Graduate work 49 pages, 6 tables, 9 figures, 38 sources.

Cytokines, interferon, veterinarians, cloning, expression, *E. coli*, *Sus scrofa*.

Research objects were the pig interferon alpha

The purpose of this work was to cloning and expression of the gene pig interferon alpha in *E. coli* cells.

Methods: agarose gel electrophoresis as described in the manual of Maniatis, calcium transformation of bacteria with plasmid DNA and amplification of DNA fragments by polymerase chain reaction (PCR) according to standard procedures, DNA restriction and ligation using enzymes and buffers company systems «Thermo Scientific», by means of induction QIAprep®SpinMiniprepKit reagent kit (Qiagen), protein electrophoresis in SDS, lysis of bacterial cells using a reagent kit B-PER® bacterial protein Extraction reagent (Thermo Scientific).

As the result of this work the expression pD861-SR и pD441-SR vector coding the pig interferon alpha was constructed, it was cloned into the cells of *E. coli* XL – 1 Blue. Selection of the most effective clones containing the target gene was conducted. It was not possible to obtain recombinant pig interferon alpha in the expression system based on *E. coli* XL – 1 Blue strain and the vectors pD861-SR и pD441-SR. Based on the results obtained, it can be concluded that the use of another expression system for the production of recombinant pig interferon alpha is probably to be an appropriate solution.