

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики**

СОКОЛЮК
Анна Владимировна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ
ENTEROCOCCUS FAECALIS БИМ В-1012**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических
наук
доцент А.В. Лагодич

.

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 49 с, 12 рисунков, 11 таблиц, 33 источников

Ключевые слова: МОЛОЧНАЯ КИСЛОТА, ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА, *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, *LACTOBACILLUS*, РЕСТРИКЦИЯ, ТРАНСФОРМАЦИЯ, СТРУКТУРА, ДОМЕН, БЕЛОК

Объекты исследования: *Enterococcus faecalis* БИМ В-1012

Целью работы является получение молекулярно-генетической модели организации и функционирования лактатдегидрогеназ штамма *Enterococcus faecalis* БИМ В-1012, пригодной для отработки приемов повышения его биотехнологического потенциала как продуцента молочной кислоты

Методы исследования: микробиологические (проводилось культивирование целевых штаммов), молекулярно-генетические (производилось выделение и очистка ДНК, трансформация, рестрикционный и электрофоретический анализы, ПЦР, клонирование), биоинформационные (моделировались пространственные структуры белков, определялись соответствующие им свойства).

В ходе работы были получены первичные нуклеотидные последовательности для генов *ldg1* и *ldg2*, анализ которых позволил подобрать праймеры для амплификации генов лактатдегидрогеназ первого и второго типов штамма *Enterococcus faecalis* БИМ И-1012.

Была получена генетическая конструкция на основе вектора pMTL21C, содержащая ген *ldg1*, пригодная для изучения функциональной активности лактатдегидрогеназ первого типа.

Осуществлен анализ последовательности генов *ldg1* и *ldg2* и детерминируемых ими продуктов штамма *Enterococcus faecalis* БИМ В-1012. При сравнении полученных последовательностей видно, что белки LDG1 и LDG2 сходны в общей организации, в то время как гены *ldg1* и *ldg2* имеют низкую степень гомологии нуклеотидных последовательностей - 44 %. Было выяснено, что по пространственной структуре белки LDG1 и LDG2 представляют собой гомотетрамеры и имеют цитоплазматическую локализацию в клетке.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 49 с, 12 малюнкаў, 11 табліц, 33 крыніцы

Ключавыя словы: МАЛОЧНАЯ КІСЛАТА, ЛАКТАТДЭГІДРАГЕНАЗА, ENTEROCOCCUS FAECALIS, ЛАСТОВАЦИЛЛУС, РЭСТРЫКЦЫЯ, ТРАНСФАРМАЦЫЯ, СТРУКТУРА, ДАМЕН, БЯЛОК

Аб'екты даследавання: *Enterococcus faecalis* БІМ В-1012

Мэтай працы з'яўляецца атрыманне малекулярна-генетычнай мадэлі арганізацыі і функцыянавання лактатдэгідрогеназ штаму *Enterococcus faecalis* БІМ В-1012, прыдатнай для адпрацоўкі прыёмаў павышэння яго біятэхналагічнага патэнцыялу як прадукцэнтаў малочнай кіслаты

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (праводзілася культываванне мэтавых штамаў), малекулярна-генетычныя (адбывалася выдзяленне і ачыстка ДНК, трансфармацыя, рэстрыкцыйны і электрафарэтычны аналіз, ПЦР, кланаванне), біяінфармацыйныя (мадэляваліся прасторавыя структуры бялкоў, вызначаліся адпаведныя ім якасці).

На працягу даследавання былі атрыманыя першасныя нуклеатыдныя паслядоўнасці для генаў *ldg1* і *ldg2*, аналіз якіх дазволіў падабраць праймеры для ампліфікацыі генаў лактатдэгідрогеназ першага і другога тыпаў штама *Enterococcus faecalis* БІМ В-1012

Была атрымана генетычная канструкцыя на аснове вектара pMTL21C, якая змяшчае ген *ldg1*, прыгодная для вывучэння функцыянальнай актыўнасці лактатдэгідрогеназ першага тыпу.

Праведзены аналіз паслядоўнасці генаў *ldg1* і *ldg2* і дэтэрмінуемых імі прадуктаў штаму *Enterococcus faecalis* БІМ В-1012. Пры параўнанні атрыманых паслядоўнасцяў бачна, што бялкі LDG1 і LDG2 падобныя ў агульнай арганізацыі, у той час як ступень падабенства нуклеатыдных паслядоўнасцяў генаў *ldg1* і *ldg2* складае ўсяго 44 %.

Было высветлена, што па прасторавай сруктуры бялкі LDG1 і LDG2 уяўляюць сабой гоматэтрамеры і маюць цытаплазматyczną лакалізацыю ў клетцы.

ABSTRACT

The diploma work: Number of pages – 49, figures – 12, tables –11, sources used – 33.

Keywords: LACTIC ACID, LACTATE DEHYDROGENASE, ENTEROCOCCUS FAECALIS, LACTOBACILLUS, RESTRICTION, TRANSFORMATION, STRUCTURE, DOMAIN. PROTEIN

Research object: *Enterococcus faecalis* BIM B-1012.

Aim of research: To obtain the molecular-genetic model of organization and functioning of lactate dehydrogenase produced by the strain *Enterococcus faecalis* BIM B-1012 suitable for developing the methods resulting in enhancing of the biotechnological potential of the strain as a producer of lactic acid.

Research methods: microbiology (cultivation of the target strains); molecular genetic (isolation and purification of DNA; transformation; restriction and electrophoretic analysis; PCR, molecular cloning), bioinformatic analysis (modeling the spatial structure of proteins, determining the properties).

During the work, primary nucleotide sequences for *ldg1* and *ldg2* genes were obtained, the analysis of which allowed selecting primers for amplification of lactate dehydrogenase genes of the first and second types of strain *Enterococcus faecalis* BIM I-1012.

A genetic construct based on the pMTL21C vector containing the *ldg1* gene, suitable for studying the functional activity of lactate dehydrogenases of the first type, was obtained.

The analysis of the sequence of the *ldg1* and *ldg2* genes and the products of the strain *Enterococcus faecalis* BIM B-1012 determined by them was carried out.

The comparing of these sequences showed that the LDG1 and LDG2 proteins were similar in the overall organization, whereas the *ldg1* and *ldg2* genes organization showed only 44% similarity in the amino acid composition. While scrutinizing the LDG1 LDG2 proteins the homotetrameric spatial structure and cytoplasmic cell localization of the proteins were detected.