

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

Аннотация к магистерской диссертации

ОХРЕМЧУК
Екатерина Владимировна

**СОЗДАНИЕ ВЕКТОРНОЙ СИСТЕМЫ С ВИЗУАЛЬНЫМ ОТБОРОМ
РЕКОМБИНАНТНЫХ МОЛЕКУЛ**

Научный руководитель:
Валентович Леонид Николаевич
кандидат биологических наук

Минск, 2018

АННОТАЦИЯ

Тема работы: Создание векторной системы с визуальным отбором рекомбинантных молекул.

Магистерская работа 42с., 22 рис., 3 табл., 48 источников литературы.

Ключевые слова: ЗФБ, ВЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ, ВИЗУАЛЬНЫЙ ОТБОР, sfGFP.

Цель работы: создание векторной конструкции с визуальным отбором рекомбинантных молекул.

Объектами исследования являлись последовательность сфЗФБ и векторная система с визуальным отбором рекомбинантных молекул.

В ходе работы были получены следующие штаммы бактерий: *E. coli* pUC19-sfGFP, *E. coli* pUC19-sfGFP/ins, а также штамм *E. coli* pJET-MCS FR.

Колонии бактерий *E. coli* pUC19-sfGFP, содержащих векторную конструкцию, в состав которой входит последовательность гена сфЗФБ, имели салатовый окрас. Нарушение кодирующей последовательности сфЗФБ приводило к исчезновению способности к флуоресценции у бактерий штамма *E. coli* pUC19-sfGFP/ins.

Для *E. coli* pUC19-sfGFP был осуществлен количественный анализ уровня флуоресценции клеточной культуры в условиях индукции экспрессии и без нее. Из результатов следует, что уровень флуоресценции клеток может быть увеличен путем создания векторной конструкции, в которой ген сфЗФБ будет находиться под контролем lac-промотора.

Для создания двух вариантов векторной конструкции с визуальным отбором рекомбинантных молекул, отличных по методу сборки, маркеру антибиотикорезистентности и типу промоторных последовательностей, было сконструировано 11 праймеров. Кроме того, был осуществлен синтез полилинкерной последовательности (MCS FR), после чего полилинкер был включен в состав вектора pJET с последующим клонированием в клетки *E. coli* XL1-Blue.

**MINISTRY OF EDUCATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
THE FACULTY OF BIOLOGY
Department of Microbiology**

Annotation to the master thesis

AKHREMCHUK
Ekaterina Vladimirovna

**THE VECTOR SYSTEM FOR VISUAL SELECTION OF RECOMBINANT
MOLECULES**

Scientific Supervisor:
Ph. D. L. N. Valentovich

Minsk, 2018

ANNOTATION

Master thesis: 42 pages, 22 pictures, 3 tables, 48 sources.

Key words: GFP, VECTOR SYSTEMS, VISUAL SELECTION, sfGFP.

The purpose of the study was to construct the vector system that can be used for on-plate screening of recombinant molecules.

The objects of the study were the nucleotide sequence of sfGFP and a vector system that can be used for visual selection of recombinant molecules.

In the result, the following bacterial strains were obtained: *E. coli* pUC19-sfGFP, *E. coli* pUC19-sfGFP/ins, *E. coli* pJET-MCS FR.

The *E. coli* pUC19-sfGFP colonies were green due to presence of the plasmid containing the sfGFP gene. The insertion into coding sequence of the sfGFP gene resulted in loss of the fluorescence capability of *E. coli* pUC19-sfGFP / ins.

The fluorescence intensity was observed for *E. coli* pUC19-sfGFP cells after pre-induction with 0.25 mM IPTG and for the same bacterial strain without induction. It was found although it is not strictly necessary the level of cell fluorescence can be increased by using vector that has got sfGFP gene under the control of the lac promotor.

In order to create two variants of a vector construction that can be used for visual selection of recombinant molecules the 11 primers were designed.

In addition, the polylinker sequence was synthesized followed by cloning into pJET1.2 bacterial vector. Then pJET1.2-MCS FR was cloned into *E. coli* XL-1Blue.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

Анатацыя да магістарскай работы

**АХРЭМЧУК
Кацярына Ўладзіміраўна**

**СТВАРЭННЕ ВЕКТАРНАЙ КАНСТРУКЦЫІ З ВІЗУАЛЬНЫМ АДБОРАМ
РЭКАМБІНАНТНЫХ МАЛЕКУЛ**

Навуковы кіраўнік:
Валентовіч Леянід Мікалаевіч
кандыдат біялагічных навук

Мінск, 2018

АНАТАЦЫЯ

Магістарская работа 42с., 22 мал., 3 табл., 48 крыніц літаратуры.

Ключавыя словы: ЗФБ, ВЕКТАРНЫЯ СІСТЭМЫ, ВІЗУАЛЬНЫ АДБОР, sfGFP.

Мэта работы: стварэнне вектарнай канструкцыі з візуальным адборам рэкамбінантных малекул.

Аб'ектамі даследавання з'яўляліся паслядоўнасць сфЗФБ і вектарная сістэма з візуальным адборам рэкамбінантных малекул.

Былі атрыманы наступныя штамы бактэрыі: *E. coli* pUC19-sfGFP, *E. coli* pUC19-sfGFP/ins, а таксама штам *E. coli* pJET-MCS FR. Калоніі бактэрыі *E. coli* pUC19-sfGFP, якія ўтрымваюць вектарную канструкцыю, у склад якой уваходзіць паслядоўнасць гена сфЗФБ, мелі салатавую афарбоўку. Парушэнне кадавальнай паслядоўнасці сфЗФБ прыводзіла да знікнення здольнасці да флуарэсцэнцыі ў бактэрыі штама *E. coli* pUC19-sfGFP/ins.

Для *E. coli* pUC19-sfGFP быў ажыццёўлены колькасны аналіз узроўню флуарэсцэнцыі клеткавай культуры ва ўмовах індукцыі экспрэсіі і без яе. Было ўсталявана, што ўзровень флуарэсцэнцыі клетак можа быць павялічаны шляхам стварэння вектарнай канструкцыі, у якой ген сфЗФБ будзе знаходзіцца пад кантролем lac-прамотара.

Дзеля стварэння двух варыянтаў вектарнай канструкцыі з візуальным адборам рэкамбінантных малекул, выдатных па метадзе зборкі, маркеру антыбіётыкарэзістэнтнасці і тыпу прамотарных паслядоўнасцей, было сканструявана 11 праймераў. Апроч таго, быў ажыццёўлены сінтэз паслядоўнасці полілінкера (MCS FR), пасля чаго ён быў улучаны ў склад вектара pJET1.2. Далей канструкцыя pJET-MCSFR была кланавана у клеткі *E. coli* XL1-Blue.