

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

БУСЛЕНКО
Анна Владимировна

**ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО N-КОНЦЕВОГО
ФРАГМЕНТА АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕН-
ТИНА-1В В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ**

Дипломная работа

Научный руководитель:
ассистент Н.В. Совгир

МИНСК 2018

АННОТАЦИЯ

Объектами исследования являются гибридные нуклеотидные последовательности, детерминирующие синтез фьюжн-белков, содержащих N-концевой фрагмент антимикробного пептида эскулентина-1b прудовой лягушки (*Rana esculenta*, L. 1758), состоящий из 20 а.о.

Целью данной работы являлось получение в клетках *E. coli* фьюжн-белков, состоящих из N-концевого фрагмента антимикробного пептида эскулентина-1b (далее эскулентин-b(1–20) или Esc-b(1–20)) и белков-партнёров, в качестве которых выступают углевод-связывающий домен фермента ксиланазы 10А термофильных бактерий *Thermatoga maritima* (далее СВМТ) и малый убиквитин-подобный модификатор дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (далее SUMO).

В результате:

- в клетках *E. coli* клонированы гибридные генетические последовательности, кодирующие фьюжн-белки, на С-конце которых находится пептид эскулентин-b(1–20), а на N-конце – углевод-связывающий модуль или малый убиквитин-подобный модификатор;
- проиндуцирована экспрессия гибридных генов и определен характер растворимости фьюжн-белков СВМТ-Esc-b(1–20) и SUMO-Esc-b(1–20) в клетках *E. coli*;
- проведена хроматографическая очистка и гель-фильтрация фьюжн-белков;
- выраженная антимикробная активность фьюжн-белков в отношении штаммов бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 23925 и *E. coli* В не выявлена.

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

BUSLENKO
Anna Vladimirovna

**OBTAINING RECOMBINANT H-TERMINAL FRAGMENT OF
ANTIMICROBIAL PEPTIDE ESCULENTIN-1B IN FUSION
PROTEINS**

Diploma work

Scientific supervisor:
assistant N.V.Sovgir

MINSK 2018

ANNOTATION

The object of the study is hybrid nucleotide sequences that determine the synthesis of fusion proteins, the N-terminal fragment of the antimicrobial peptide esculentin-1b of the pond frog (*Rana esculenta*, L. 1758), consisting of 20 amino acid residues.

The aim of this work is to produce fusion proteins in *E. coli* cells consisting of the N-terminal fragment of the antimicrobial peptide esculentin-1b (hereafter, esculentin-b(1–20) or Esc-b(1–20) partners, which are the carbohydrate-binding domain of the enzyme xylanase 10A of thermophilic bacteria *Thermatoga maritima* (hereinafter CBMT) and a small ubiquitin-like yeast modifier *Saccharomyces cerevisiae* (hereinafter SUMO).

As a result:

- in *E. coli* cells, hybrid genetic are cloned sequences encoding fusion proteins, at the C-terminus of which there is the peptide of esculentin-b(1–20), and at the N-terminal – a carbohydrate-binding module or a small ubiquitin-like modifier;
- expression of hybrid genes was induced and the fusion protein solubility of CBMT-Esc-b(1–20) and SUMO-Esc-b(1–20) in *E. coli* cells was determined;
- chromatographic purification and gel filtration of fusion proteins;
- the expressed antimicrobial activity of fusion proteins against strains of bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 23925 and *E. coli* B was not detected.

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

БУСЛЕНКА
Ганна Уладзіміраўна

**АТРЫМАННЕ РЭКАМБІНАНТНАГА N-КАНЦАВОГА
ФРАГМЕНТА АНТЫМІКРОБНАГА ПЕПТЫДА ЭСКУЛЕН-
ТЫНА-1b У СКЛАДЗЕ Ф'ЮЖН-БЯЛКОЎ**

Дыпломная работа

Навуковы кіраўнік:
асістэнт Н.У. Саўгір

МІНСК 2018

АНАТАЦЫЯ

Аб'ектамі даследавання з'яўляюцца гібрыдныя нуклеатыдныя паслядоўнасці, якія дэтэрмінуюць сінтэз ф'южн-бялкоў, што змяшчаюць N-канцавы фрагмент антымікробнага пептыда эскулентына-1b сажалкавай жабы (*Rana esculenta*, L. 1758), які складаецца з 20 а.р.

Мэтай дадзенай работы з'яўлялася атрыманне ў клетках *E. coli* ф'южн-бялкоў, якія складаюцца з N-канцавога фрагмента антымікробнага пептыда эскулентына-1b (далей эсулентын-b(1–20) або Esc-b(1–20)) і бялкоў-партнёраў, у якасці якіх выступаюць вуглявод-звязваючы дамен фермента ксіланазы 10A тэрмафільных бактэрый *Thermatoga maritima* (далей СВМТ) і малы ўбіквітын-падобны мадыфікатар дражджэй *Saccharomyces cerevisiae* (далей SUMO).

У выніку:

- у клетках *E. coli* кланаваны гібрыдныя генетычныя паслядоўнасці, што кадууюць ф'южн-бялкі, на С-канцы якіх знаходзіцца пептыд эсулентын-b(1–20), а на N-канцы - вуглявод-звязваючы модуль ці малы ўбіквітын-падобны мадыфікатар;
- праіндукавана экспрэсія гібрыдных генаў і вызначаны характар растваральнасці ф'южн-бялкоў СВМТ-Esc-b(1-20) і SUMO-Esc-b(1-20) у клетках *E. coli*;
- праведзена храматаграфічная ачыстка і гель-фільтрацыя ф'южн-бялкоў;
- выяўленая антымікробная актыўнасць ф'южн-бялкоў у дачыненні штамаў бактэрый *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 23925 і *E. coli* В не выяўлена. 8