

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра микробиологии

ГОРИНА

Арина Игоревна

**АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
ПЕРОКСИДАЗ ХРЕНА ИЗОФЕРМЕНТОВ ГРУППЫ С И
КОНСТРУИРОВАНИЕ ВЕКТОРА ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ
ИЗОФЕРМЕНТА С₂ В КЛЕТКАХ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:

кандидат биологических
наук,

ведущий научный сотрудник
лаборатории ферментов
Института микробиологии
НАН Беларуси Семашко Т.В.

Минск, 2018

Объект исследования – изофермент С пероксидазы их хрена *Armoracia rusticana*.

Цель – провести анализ нуклеотидных последовательностей генов пероксидазы хрена изоферментов группы С, сконструировать вектор для экспрессии гена, кодирующего изофермент С2 в клетках мицелиальных грибов.

В ходе работы выявлены следующие результаты:

1) Проведен анализ нуклеотидных последовательностей генов пероксидазы хрена *Armoracia rusticana* изоферментов группы С, представленных в базе данных GenBank. Установлено, что все исследуемые гены имеют единую структуру: 4 экзона, 3 интрона. Показано, что сходство последовательностей экзонов составляет: 71-99 % (для экзона 1), 71-100 % (для экзона 2), 73-99 % (для экзона 3), 66-100 % (для экзона 4). Отмечено сходство (на 95-100 %) последовательности 3' и 5' концов экзонов. Подобраны праймеры и выделены 4 экзонные области гена пероксидазы хрена изофермента С.

2) Сконструированы векторы для экспрессии гена пероксидазы хрена изофермента С2 в клетках мицелиальных грибов на основе плазмид: рЕХ – А258 – Gene2a, несущей ген пероксидазы хрена изофермента С2 (*hrp C2*), рK18-cat, несущей фрагмент гена каталазы *Penicillium adametzii* для обеспечения встройки плазмиды в геномную ДНК, и рAN7-1, имеющей в своем составе промотор и терминатор гена глицеральдегидфосфатдегидрогеназы *A. nidulans* для экспрессии *hrp C2*.

3) На основании ПЦР анализа отобраны 4 штамма мицелиальных грибов *Penicillium adametzii*, *Penicillium kapuscinski*, *Penicillium chrysogenum* БИМ F- 112, *Penicillium chrysogenum* БИМ F-32 как потенциальные реципиенты для трансформации полученной векторной конструкции.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ УНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

ГОРЫНА
Арына Ігараўна

**АНАЛІЗ НУКЛЕАТЫДНЫХ ПАСЛЯДОЎНАСЦЯЎ ПЕРОКСІДАЗ
ХРЭНУ ІЗАФЕРМЕНТАЎ ГРУПЫ С І КАНСТРУЯВАННЕ ВЕКТАРА
ДЛЯ ЭКСПРЭСІ ІЗАФЕРМЕНТУ С2 У КЛЕТКАХ МІЦЭЛІАЛЬНЫХ
ГРЫБОЎ**

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік::
кандыдат біялагічных навук,
вядучы навуковы супрацоўнік
лабараторыі ферментаў
Інстытута мікрабіялогіі НАН
Беларусі Сямашка Т.В.

Мінск, 2018

Аб'ект даследавання – ізофермент С пераксідазы з хрэну *Armoracia rusticana*.

Мэта – правесці аналіз нуклеатыдных паслядоўнасцяў генаў перааксідазы хрэну ізаферментаў групы С, сканструяваць вектар для экспрэсіі гена, што кадуе ізафермент С2 у клетках міцэліяльных грыбоў.

Падчас працы выяўлены наступныя вынікі:

1) Праведзены аналіз нуклеатыдных паслядоўнасцяў ізаферментаў С пераксідазы хрэну *Armoracia rusticana*, прэзентаваных у базе дадзеных GenBank. Усталявана, што ўсе доследныя гены маюць адзіную структуру: 4 экзоны, 3 інтроны. Паказана, што падабенства паслядоўнасцяў экзонаў складае: 71-99 % (для экзона 1), 71-100 % (для экзона 2), 73-99 % (для экзона 3), 66-100 % (для экзона 4). Адзначана падабенства (на 95-100 %) паслядоўнасці 3' і 5' канцоў экзонаў. Падабраны праймеры і вылучаны 4 экзонныя вобласці гена пераксідазы хрэну ізаферменту С.

2) Сканструяваны вектар для экспрэсіі гена пераксідазы хрэну ізаферменту С2 у клетках міцэліяльных грыбоў на аснове плазмід: рEX – A258 – Gene2a, якая нясе ген пераксідазы хрэну ізаферменту С2 (*hrp C2*), рK18-cat, якая нясе фрагмент гена каталазы *Penicillium adametzii* для забеспячэння ўбудавання плазміды ў геномную ДНК, і рAN7-1, якая мае ў сваім складзе праматар і тэрмінатар гена гліцэральдэгідфосфатдэгідрогеназы *A. nidulans* для экспрэсіі *hrp C2*.

3) На аснове ПЦР аналізу адабраны 4 штамы міцэліяльных грыбоў *Penicillium adametzii*, *Penicillium kapuscinski*, *Penicillium chrysogenum* БІМ F-112, *Penicillium chrysogenum* БІМ F-32 як патэнцыйныя рэцыпіенты для трансфармацыі атрыманай вектарнай канструкцыі.

MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department

GORINA

Arina Igorevna

**ANALYSIS OF NUCLEOTIDE SEQUENCES OF HORSERADISH
PEROXIDASE ISOENZYMES C GROUP AND VECTOR
CONSTRUCTION FOR EXPRESSION ISOENZYME C2 IN MYCELIAL
FUNGI CELLS**

Diploma work

Scientific supervisor:
candidate of biological
sciences, leading researcher of
laboratory of enzyme of
Institute of microbiology,
National academy of sciences
Semashko T.V.

Минск, 2018

Object of research: isoenzyme C of horseradish peroxidase from *Armoracia rusticana*

Aim of work: nucleotide sequences analysis of horseradish peroxidase genes of isoenzymes C group, to construct a vector for the expression of the gene encoding the C2 isozyme in the cells of mycelial fungi.

The following results were revealed when studies carrying out:

1) The nucleotide sequences of horseradish peroxidase genes *Armoracia rusticana* of isoenzymes C group presented in the GenBank database were analyzed. It was established that all the genes have an identical structure consisting of 4 exons, 3 introns. It is shown that the similarity of the exon sequences is 71-99% (for exon 1), 71-100% (for exon 2), 73-99% (for exon 3), 66-100% (for exon 4). The similarity (at 95-100%) of the sequence of 3' and 5' ends of exons was noted. Primers were selected and 4 exon regions of horseradish peroxidase gene of isoenzyme C were extracted.

2) The vector for the expression of the horseradish peroxidase gene of the C2 isoenzyme was constructed for mycelial fungi cells using some plasmids: pEX-A258-Gene2a, carrying horseradish peroxidase isoenzyme C2 gene (*hrp C2*), pK18-cat, carrying the fragment of *Penicillium adametzii* catalase gene for plasmid insertion into genomic DNA, and pAN7-1, which contains the promoter and terminator of *A. nidulans* glyceraldehyde phosphate dehydrogenase gene for *hrp C2* expression.

3) By PCR analysis 4 strains of mycelial fungi (*Penicillium adametzii*, *Penicillium kapuscinski*, *Penicillium chrysogenum* BIM F-112, *Penicillium chrysogenum* BIM F-32) were selected as potential recipients for transformation of the received vector.