

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра микробиологии

ПЯТНИЦА

Елена Васильевна

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА β -ГАЛАКТОЗИДАЗЫ
ARTHROBACTER SULFONIVORANS

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
заведующий лабораторией белка
с лабораторно-экспериментальным
участком А.А. Костеневич

Минск, 2019

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа содержит 49 страниц, 13 рисунков, 1 таблицу, 54 источника.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ШТАММ *ESCHERICHIA COLI* BL 21 (DE3),
ВЫДЕЛЕНИЕ β -ГАЛАКТОЗИДАЗЫ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА ФЕРМЕНТА, ОПТИМУМ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ
АКТИВНОСТИ.

Объект исследований: рекомбинантный штамм *E. coli* BL 21 (DE3),
содержащий ген *β -gal* из штамма *Arthrobacter sulfonivorans*.

Цель работы – клонирование гена β -галактозидазы *Arthrobacter sulfonivorans*. Исследование ферментативной активности β -галактозидазы из рекомбинантного штамма.

В работе применяли методы микробиологического анализа (культивирование бактерий), выделения ДНК, полимеразной цепной реакции, электрофореза в агарозном геле, белкового электрофореза в полиакриламидном геле с добавлением додецилсульфата натрия, металл-аффинной хроматографии.

Культивирование рекомбинантного штамма при снижении температуры на 4 °С способствовало большей наработке фермента в клетках. Используя метод металл-аффинной хроматографии, получили очищенный фермент. Исследование физико-химических свойств на очищенном ферменте подтвердило, что оптимальной температурой действия фермента является 43 °С, а оптимальный pH равен 7.

Полученные данные о ферментативной активности β -галактозидазы, выделенной из рекомбинантного штамма, позволят эффективно использовать фермент при изготовлении безлактозных продуктов питания и содержащих фермент лекарственных средств, которые способствуют улучшению качества жизни населения.

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

Кафедра мікрабіялогіі

ПЯТНІЦА

Алена Васільеўна

**КЛАНАВАННЕ ГЕНА β -ГАЛАКТАЗІДАЗЫ
*ARTHROBACTER SULFONIVORANS***

Анатацыя дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
кандыдат біялагічных навук,
загадчык лабараторыі бялку
з лабараторна-эксперыментальным
участкам А.А. Касцяневіч

Мінск, 2019

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца ўключае 49 старонак, 13 малюнкаў, 1 табліцу, 54 крывіцы.

РЭКАМБІНАНТНЫ ШТАМ *ESCHERICHIA COLI* BL 21 (DE3), ВЫДЗЯЛЕННЕ β -ГАЛАКТАЗІДАЗЫ, ФІЗІКА-ХІМІЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ ФЕРМЕНТАЎ, ОПТЫМУМ ФЕРМЕНТАТЫЎНАЙ АКТЫЎНАСЦІ.

Аб'ект даследаванняў: рэкамбінантны штам *E. coli* BL 21 (DE3), які змяшчае ген β -gal са штама *Arthrobacter sulfonivorans*.

Мэта работы – кланаванне гена β -галактазідазы *Arthrobacter sulfonivorans*. Даследаванне ферментатыўнай актыўнасці β -галактазідазы з рэкамбінантнага штама.

У працы выкарыстоўвалі метады мікрабіялагічнага аналізу (культываванне бактэрый), выдзялення ДНК, палімеразнай ланцуговай рэакцыі, электрофарэзу ў агарозном гелі, бялковага электрофарэзу ў поліакрыламідным гелі з даданнем дадэцылсульфата натрыя, метал-афіннай храматаграфіі.

Культываванне рэкамбінантнага штама пры зніжэнні тэмпературы на 4 °C спрыяла большай напрацоўцы фермента ў клетках. Выкарыстоўваючы метады метал-афіннай храматаграфіі, атрымалі ачышчаны фермент. Даследаванне фізіка-хімічных уласцівасцяў у ачышчанага фермента пацвердзіла, што аптымальнай тэмпературай дзеяння фермента з'яўляецца 43 °C, а аптымальны pH роўны 7.

Атрыманыя дадзеныя аб ферментатыўнай актыўнасці β -галактазідазы, выдзеленай з рэкамбінантнага штама, дазваляць эфектыўна выкарыстоўваць фермент пры вырабе безлактозных прадуктаў харчавання і змяшчаюшчых фермент лекавых сродкаў, якія спрыяюць паляпшэнню якасці жыцця насельніцтва.

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

Department of Microbiology

PYATNICA

Elena Vasilievna

**CLONING OF β -GALACTOSIDASE GENE FROM
*ARTHROBACTER SULFONIVORANS***

Abstract of the graduate work

Scientific adviser:

Candidate of biological sciences,
Head of the laboratory of protein
with laboratory experimental plot
A.A. Kostenevich

Minsk, 2019

ABSTRACT

The graduate work contains 49 pages, 13 pictures, 1 table, 54 sources.

RECOMBINANT STRAIN *ESCHERICHIA COLI* BL 21 (DE3),
SELECTION of β -GALACTOSIDASE, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES
OF THE ENZYME, OPTIMUM of ENZYMATIC ACTIVITY.

Object of research: recombinant strain *E. coli* BL 21 (DE3) contained the β -*gal* gene from the *Arthrobacter sulfonivorans* strain.

The aim of the work is cloning of β -galactosidase gene from *Arthrobacter sulfonivorans*, as well as study of the enzymatic activity of β -galactosidase from the recombinant strain.

We have applied methods of microbiological analysis (cultivation of bacteria), DNA extraction, polymerase chain reaction, electrophoresis in agarose gel, protein electrophoresis in polyacrylamide gel with the addition of sodium dodecyl sulfate, metal-affinity chromatography.

Cultivation of the recombinant strain with a decrease in temperature of 4 °C contributed to a greater production of the enzyme in the cells. Using the metal-affinity chromatography method, a purified enzyme was obtained. The study of the physical chemical properties of the purified enzyme confirmed that the optimum temperature of the enzyme is 43 °C, and the optimum pH is 7.

The obtained data on the enzymatic activity of β -galactosidase, isolated from a recombinant strain, will allow using of the enzyme effectively in the manufacture of lactose-free food, and medicines containing enzyme, which can help to improve the quality of human life.