

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**Кафедра молекулярной биологии**

Аннотация к дипломной работе

**ЗАВАДСКАЯ**  
Ольга Александровна

**АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ,  
ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ПОВЫШЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ  
ГЕНА АЛЬФА-АМИЛАЗЫ *VACILLUS*, СРЕДСТВАМИ  
БИОИНФОРМАТИКИ**

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук,  
доцент А. В. Качан

Минск, 2019

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 58 с., 22 рис., 3 табл., 51 источник.

### АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ПОВЫШЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА АЛЬФА-АМИЛАЗЫ *BACILLUS*, СРЕДСТВАМИ БИОИНФОРМАТИКИ

Объекты исследования: штаммы бактерий *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* и рекомбинантные конструкции, полученные на основе плазмиды pALPT-5;

Цель дипломной работы: охарактеризовать фрагменты геномной ДНК бактерий рода *Bacillus*, которые обеспечивают повышенную активность репортерного гена  $\alpha$ -амилазы в клетках *B. subtilis*;

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), спектрофотометрические (определение концентрации фермента), молекулярно-биологические (трансформация бактерий, выделение плазмидной ДНК, электрофорез ДНК), биоинформатические (анализ нуклеотидных последовательностей);

Результаты работы: оценена амилолитическая активность штаммов *B. subtilis* 568, содержащих рекомбинантные векторные молекулы с инсерциями участков геномной ДНК из различных представителей *Bacillus* выше репортерного гена  $\alpha$ -амилазы; наибольшую активность – 150,20, 160,41, 195,58, 220,35 и 244,44 ед/мл – после 72 часов инкубирования проявляли штаммы, обозначенные 2/11, 2/17, 2/4, 2/21 и 2/18 соответственно; проведён анализ нуклеотидных последовательностей обозначенных участков геномной ДНК средствами биоинформатики; в результате анализа было предсказано положение промоторных последовательностей для фактора  $\sigma^A$ , предположительно обуславливающих повышенную активность гена  $\alpha$ -амилазы в клетках *B. subtilis* 568; был также проведен поиск в проанализированных участках предполагаемых элементов вторичной структуры и сайтов связывания для факторов транскрипции *B. subtilis*.

Ключевые слова: альфа-амилаза, *Bacillus*

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 58 с., 22 мал., 3 табл., 51 крыніца.

АНАЛІЗ НУКЛЕАТЫДНЫХ ПАСЛЯДОЎНАСЦЕЙ,  
ЗАБЯСПЕЧВАЮШЧЫХ ПАВЫШАНУЮ ЭКСПРЭСІЮ ГЕНА АЛЬФА-  
АМІЛАЗЫ *BACILLUS*, СРОДКАМІ БІЯІНФАРМАТЫКІ

Аб'екты даследвання: штамы бактэрыяў *Bacillus subtilis* і *Escherichia coli* і рэкамбінантныя канструкцыі, атрыманыя на аснове плазміды pALPT-5;

Мэта дыпломнай работы: ахарактарызаваць фрагменты геномнай ДНК бактэрыяў роду *Bacillus*, якія забяспечваюць павышаную актыўнасць рэпарцёрнага гена  $\alpha$ -амілазы ў клетках *B. subtilis*;

Метады даследвання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), спектрафотаметрычныя (устаўленне канцэнтрацыі ферменту), малекулярна-біялагічныя (трансфармацыя бактэрыяў, выдзяленне плазміднай ДНК, электрафарэз ДНК), біяінфарматычныя (аналіз нуклеатыдных паслядоўнасцей);

Вынікі работы: ацэнена амілалітычная актыўнасць штамаў *B. subtilis* 568, утрымліваючых рэкамбінантныя вектарныя малекулы з устаўкамі участкаў геномнай ДНК з розных прадстаўнікоў *Bacillus* вышэй рэпарцёрнага гена  $\alpha$ -амілазы; найбольшую актыўнасць – 150,20, 160,41, 195,58, 220,35 і 244,44 ад/мл – пасля 72 гадзін інкубавання праяўлялі штамы, абазначаныя 2/11, 2/17, 2/4, 2/21 і 2/18 адпаведна; праведзены аналіз нуклеатыдных паслядоўнасцей абазначаных участкаў геномнай ДНК сродкамі біяінфарматыкі; у выніку аналіза было прадказана месцазнаходжанне праматорных паслядоўнасцей для фактару  $\sigma^A$ , магчыма абумоўліваючых павышаную актыўнасць гена  $\alpha$ -амілазы ў клетках *B. subtilis* 568; быў таксама праведзены пошук у прааналізаваных участках магчымых элементаў другаснай структуры і сайтаў звязвання для фактараў транскрыпцыі *B. subtilis*.

Ключавыя словы: альфа-амілаза, *Bacillus*

## ABSTRACT

Diploma thesis 58 p., 22 fig., 3 tables, 51 sources.

### ANALYSIS OF NUCLEOTIDE SEQUENCES PROVIDING ELEVATED ALPHA-AMYLASE GENE EXPRESSION IN *BACILLUS*, BY MEANS OF BIOINFORMATICS

Objects of study: strains of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* and recombinant constructs based on pALPT-5 plasmid;

Aim of diploma thesis: to characterize fragments of *Bacillus* genome DNA which provide elevated activity of  $\alpha$ -amylase reporter gene in *B. subtilis* cells;

Research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), spectrophotometrical (determination of enzyme concentration), molecular-biological (bacterial transformation, plasmid DNA extraction, DNA electrophoresis), bioinformatical (analysis of nucleotide sequences);

Results of the research: amylolytic activity in *B. subtilis* 568 strains carrying recombinant vector molecules with inserts of genome DNA fragments from different representatives of the *Bacillus* upstream the  $\alpha$ -amylase reporter gene, was measured; the highest level of activity – 150.20, 160.41, 195.58, 220.35 and 244.44 U/ml – after 72 hours of incubation, was shown by strains specified as 2/11, 2/17, 2/4, 2/21 and 2/18 respectively; nucleotide sequence analysis of the genome DNA fragments was performed by means of bioinformatics; the analysis results predicted locations of  $\sigma^A$  promoter sequences which could supposedly induce  $\alpha$ -amylase gene elevated activity in *B. subtilis* 568 cells; the analyzed fragments were also searched for supposed secondary structure elements and transcription factor binding sites in *B. subtilis*.

Keywords: alpha-amylase, *Bacillus*