

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

ГУТОРОВА
Алина Ивановна

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОХРОМА P450 ПАТОГЕНА ЧЕЛОВЕКА
*Mycobacterium tuberculosis***

Дипломная работа

Научный руководитель:
кандидат химических наук,
старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной
диагностики и биотехнологии
Института биоорганической химии
НАН Беларуси, А.В. Свирид

Допущена к защите
«__» _____ 2020 г.
Зав. кафедрой биохимии

Кандидат биологических наук, доцент
_____ И.В. Семак

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 43стр.,8 глав, 43 источника.

Ключевые слова: ЦИТОХРОМЫ P450,ТРАНСФОРМАЦИЯ, КУЛЬТИВАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК,ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ, МЕТАЛЛ-АФФИННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ, ИОННОБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

Объект исследования: цитохром P450Rv1880с патогена человека *M. tuberculosis*.

Цель исследования: охарактеризовать структурные и функциональные особенности цитохромов P450 *M. tuberculosis* как потенциальных мишеней для создания противотуберкулезных препаратов.

Методы исследования: металл-аффинная хроматография, ионообменная хроматография, спектрофотометрические методы,SDS-PAGE электрофорез, MALDI-TOF.

Полученные результаты:В ходе работы была проведена ПЦР-амплификация ДНК генаRv1880сс последующим его клонированием в экспрессионный векторpCW-LIC.

Продукт гена Rv1880с экспрессирован в клетках *E. coli*, выделен и очищен. Физико-химическая характеристика подтвердила соответствие белка ожидаемым параметрам и показала, что в качестве лиганда в активном центре выступает имидазол, применявшийся на стадии металл-аффинной хроматографии.

Практическая значимость исследования и область применения:

Работа проводилась в рамках проекта по деорфанизациимикобактериальных цитохромов, с целью углубить понимание процессов жизнедеятельности и вирулентности микобактерий.

Поиск новых ингибиторов позволит значительно оптимизировать существующие схемы комбинированного приема лекарств в терапии резистентных форм туберкулеза.

SUMMARY

Diploma project 43p., 8 chapters, 43 sources.

Key words: P450 CYTOCHROME, TRANSFORMATION, CULTIVATION OF BACTERIAL CELLS, HETEROLOGICAL EXPRESSION, METAL-AFFINITY CHROMATOGRAPHY, ION-EXCHANGE CHROMATOGRAPHY.

The object of the research: cytochrome P450 *Rv1880c* of the human pathogen *M. tuberculosis*.

The aim of the research: to characterize the structural and functional features of *M. tuberculosis* cytochrome P450 as potential targets for the creation of anti-TB medicine.

Methods used in the research: metal affinity chromatography, ion exchange chromatography, spectrophotometric, SDS-PAGE electrophoresis, MALDI-TOF.

Results: In the course of the work, PCR amplification of the *Rv1880c* gene DNA was carried out with its subsequent cloning into the pCW-LIC expression vector.

The product of the *Rv1880c* gene is expressed in *E. coli* cells, isolated and purified. The physicochemical characterization confirmed the correspondence of the protein to the expected parameters and showed that imidazole, used at the stage of metal affinity chromatography, acts as a ligand in the active center.

The practical value of the research and spheres of application: the work was carried out as part of a project on the deorphanization of mycobacterial cytochromes, in order to deepen understanding of the vital processes and virulence of mycobacteria.

The search of new inhibitors will significantly optimize existing schemes of combined drug use in the treatment of resistant forms of tuberculosis.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 43 стар., 8 глаў, 43крынiцы.

Ключавыя словы: ЦЫТАХРОМ Р450, ТРАНСФАРМАЦЫЯ, КУЛЬТЫВАЦЫЯ БАКТЭРЫЯЛЬНЫХ КЛЭТАК, ГЕТЭРАЛАГІЧНАЯ ЭКСПРЭСІЯ, МЕТАЛ-АФФІННАЯ ХРАМАТАГРАФІЯ, ІЁНААБМЕННАЯ ХРАМАТАГРАФІЯ.

Аб'ект даследавання: цытахром Р450
Rv1880 спатагена чалавека *M. tuberculosis*.

Мэта даследавання: ахарактэрызаваць структурныя і функцыянальныя саблівасці цытахромаў Р450 *M. tuberculosis* як патэнцыйных мішэняў для стварэння прэцэдураў туберкулёзных прэпаратаў.

Метады даследавання: метал-афінная храматаграфія, іёнаабменная храматаграфія, спектрафотаметрычныя, SDS-PAGE электрафарэз, MALDI-TOF.

Атрыманыя вынікі: У ходзе працы была праведзена ПЦР-ампліфікацыя ДНК гена *Rv1880c* з наступным яго кланаваннем ў экспрэсійны вектар pCW-LIC.

Прадукт гена *Rv1880c* экспрэсаваны ў клетках *E. coli*, выдзелены і ачышчаны.

Фізіка-хімічныя характарыстыкі пацвердзіла адпаведнасць бялку чаканым параметрам і паказала, што ў якасці ліганда ў актыўным цэнтры выступае імідазол, які прымяняўся на стадыі метал-афіннай храматаграфіі.

Практычная значнасць даследавання і вобласць выкарыстання:

Праца праводзілася ў рамках праекта па дэарфанізацыі мікабактэрыяльных цытахромаў з мэтай паглыбіць разуменне працэсаў жыццядзейнасці і вірулентнасці мікабактэрыяў.

Пошук новых інгібітараў дазваляе значна аптымізаваць існуючыя схемы камбінаванага прыёму лекаў у тэрапіі рэзісцэнтных формаў туберкулёзу.

