

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

СІМОНЧЫК
Алена Эдуардаўна

МАЛЕКУЛЯРНА-ГЕНЕТЫЧНЫ АНАЛІЗ ГЕНАЎ *PIP*, ЯКІЯ
КАДУЮЦЬ БЯЛКІ ФАГАВАЙ ІНФЕКЦЫІ БАКТЭРЫЙ
LACTOCOCCUS LACTIS

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
доктар біялагічных навук, прафесар
М.А. Ціток

Мінск, 2020

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная работа 62 с., 16 мал., 17 табл., 46 крыніц.

МАЛОЧНАКІСЛЯ БАКТЭРЫІ, БЯЛОК ФАГАВАЙ ІНФЕКЦЫІ, ДЫЯГНОСТЫКА.

Аб'ект даследавання: малочнакіслыя бактэрыі *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

Мэта: малекулярна-генетычны аналіз генаў *rip* бактэрыі *L. lactis*, якія кадзіруюць бялок фагавай інфекцыі.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), фізічныя (спектрафотаметрыя), генетычныя (трансфармацыя, кан'югацыя), малекулярна-генетычныя (выдзяленне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, рэстрыкцыйны аналіз, кланаванне) і біяінфарматычныя.

У выніку праведзенага даследавання ажыццяўлены малекулярна-генетычны аналіз генаў *rip* бактэрыі *L. lactis*, якія дэтэрмінуюць сінтэз бялкоў фагавай інфекцыі. Філагенетычны і сівкенс-аналіз генаў *rip*, а таксама кадаваных імі бялкоў, дазволілі вызначыць іх спецыфічнасць, і, такім чынам, прыдатнасць для выяўлення штамаў з пэўным таксанамічных статусам на ўзроўні падвіду. На падставе вынікаў параўнальнага аналізу нуклеатыдных паслядоўнасцей генаў *rip* бактэрыі *L. lactis* былі сканструяваныя праймеры, якія забяспечваюць ампліфікацыю спецыфічнага ўчастка дадзенай дэтэрмінанты, характэрнага для прадстаўнікоў бактэрыі *L. lactis* subsp. *lactis*. Упершыню паказана, што на падставе ампліфікацыі генаў *rip* і іх рэстрыкцыйнага аналізу можна выяўляць і ідэнтыфікаваць бактэрыі *L. lactis* subsp. *lactis*. З пробаў малака выдзелена 9 штамаў бактэрыі гэтай таксанамічных групы. У складзе вектара pK18mob кланаваныя гены *rip*, ізаляваныя з клетак трох штамаў прыродных бактэрыі *L. lactis* subsp. *lactis*. У выніку рэстрыкцыйнага і ПЦР-аналізаў было высветлена, што ў плазмідзе pK18mob фрагменты генаў *rip* з штамаў Cos і CFI убудаваныя ў прамой, а з штаму Cow, у зваротнай арыентацыі адносна проматора P_{lac}.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

СИМОНЧИК
Елена Эдуардовна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *PIP*,
КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ ФАГОВОЙ ИНФЕКЦИИ
У БАКТЕРИЙ *LACTOCOCCUS LACTIS*

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор М.А. Титок

Минск, 2020

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа 62 с., 16 рис., 17 табл., 46 источников.

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ, БЕЛОК ФАГОВОЙ ИНФЕКЦИИ, ДИАГНОСТИКА.

Объект исследования: молочнокислые бактерии *Lactococcus lactis subsp. lactis*.

Цель: молекулярно-генетический анализ генов *rip*, кодирующих белок фаговой инфекции у бактерий *L. lactis*.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), физические (спектрофотометрия), генетические (трансформация, конъюгация), молекулярно-генетические (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, рестрикционный анализ, клонирование) и биоинформатические.

В результате проведенного исследования осуществлен молекулярно-генетический анализ генов *rip*, детерминирующих синтез белков фаговой инфекции у бактерий *L. lactis*. Филогенетический и сиквенс-анализ генов *rip* и кодируемых ими белков, позволили установить их специфичность, и, следовательно, пригодность для выявления штаммов с определенным таксономическим статусом на уровне подвида. На основе результатов сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей генов *rip* бактерий *L. lactis* были сконструированы праймеры, обеспечивающие амплификацию специфического участка данной детерминанты, характерного для представителей бактерий *L. lactis subsp. lactis*. Впервые показано, что на основании амплификации генов *rip* и их рестрикционного анализа можно выявлять и идентифицировать бактерии *L. lactis subsp. lactis*. Из проб молока выделено 9 штаммов бактерий этой таксономической группы. В составе вектора pK18mob клонированы гены *rip*, изолированные из клеток трех штаммов природных бактерий *L. lactis subsp. lactis*. В результате рестрикционного и ПЦР-анализа было установлено, что в состав pK18mob фрагменты генов *rip* из штаммов Cos и CFI встроены в прямой, а из штамма Cow в обратной ориентации относительно промотора P_{lac}.

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

Alena Simonchik

**MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF PIP GENES,
OF THE CODING PROTEINS OF PHAGE INFECTION
IN *LACTOCOCCUS LACTIS* BACTERIA**

Annotation graduate work

Scientific adviser:
Doctor of Biological Sciences,
Professor M.A. Titok

Minsk, 2020

ANNOTATION

Thesis 62 p., 16 fig., 17 tab., 46 sources.

LACTIC ACID BACTERIA, PROTEIN PHAGE INFECTION, DIAGNOSTICS.

Research object: lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

Purpose: molecular genetic analysis of *pip* genes of bacteria *L. lactis*, encoding a protein of phage infection.

Research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), physical (spectrophotometry), genetic (transformation, conjugation), molecular genetic (DNA isolation, polymerase chain reaction, restriction analysis, cloning) and bioinformation.

As a result of the study, a molecular genetic analysis of *pip* genes of *L. lactis* bacteria determining the synthesis of proteins of phage infection was carried out. Phylogenetic and sequence analysis of *pip* genes and the proteins encoded by them made it possible to establish their specificity, and, therefore, their suitability for identifying strains with a certain taxonomic status at the subspecies level. Based on the results of a comparative analysis of the nucleotide sequences of the *pip* bacteria of *L. lactis*, primers were designed to amplify a specific region of this determinant that is characteristic of representatives of the bacteria *L. lactis* subsp. *lactis*. It was shown for the first time that, based on the amplification of *pip* genes and their restriction analysis, bacteria *L. lactis* subsp. *lactis* can be detected and identified. 9 strains of bacteria of this taxonomic group were isolated from milk samples. The pK18mob vector cloned *pip* genes isolated from the cells of three strains of natural bacteria *L. lactis* subsp. *lactis*. As a result of restriction and PCR analysis, it was found that in the pK18mob plasmid, fragments of the *pip* genes from the Cos and CFI strains were inserted in the direct and from the Cow strain in the opposite orientation relative to the P_{lac} promoter.