

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

Аннотация к дипломной работе

ЛЯХ
Юлия Владимировна

**ПОВЫШЕНИЕ СИНТЕЗА АЛЬФА-АМИЛАЗЫ В КЛЕТКАХ *BACILLUS*
SUBTILIS С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕГУЛЯТОРНЫХ УЧАСТКОВ
*B. LICHENIFORMIS*1-15**

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

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 40 страниц, 8 рисунков, 1 таблица, 16 источников.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis* 568, *Bacillus licheniformis* 1-15, *E. coli* TG1, плаزمида pALPT-5, альфа-амилаза, регуляторные участки, повышение уровня синтеза.

Объект исследования: бактерии *Bacillus subtilis* 568.

Цель: получение библиотеки фрагментов геномной ДНК *B. licheniformis* 1-15, с последующим отбором участков, обеспечивающих синтез альфа-амилазы в клетках *B. subtilis* 568.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), спектрофотометрические (измерение амилолитической активности, определение концентрации белков), генетические (трансформация), молекулярно-биологические (выделение ДНК, рестрикция, лигирование, электрофорез ДНК).

Результаты исследования: была получена библиотека рекомбинантных плазмид pALPT-5 со вставками фрагментов геномной ДНК *B. licheniformis* 1-15. Проведена трансформация клеток штамма *E. coli* TG1, щелочной лизис клеток *E. coli* TG1. Далее, с использованием рекомбинантной плазмиды pALPT-5 со вставками геномной ДНК *B. licheniformis* 1-15, была проведена трансформация клеток *B. subtilis*.

В результате было получено 14 штаммов *B. subtilis* 568, которые содержат рекомбинантные плазмидные ДНК pALPT-5 со вставками фрагментов геномной ДНК *B. licheniformis* 1-15, обеспечивающих активность репортерного гена альфа-амилазы.

После глубинного культивирования, на основании количественного анализа амилолитической активности среди полученных штаммов *B. subtilis* 568 с рекомбинантными плазмидами было получено 10 штаммов *B. subtilis* 568, которые имеют показатель удельной активности фермента альфа-амилазы в промежутке значений от 3 до 10 ед/мг клеточного белка, у 2 штаммов показатель удельной активности находится в промежутке значений между 14 и 20 ед/мг.

У двух самых продуктивных штаммов, показатели удельной амилолитической активности в культурах составили 41,6335 ед/мг и 41,3694 ед/мг клеточного белка.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 40 старонак, 8 малюнкаў, 1 табліца, 16 крыніц.

Ключавыя словы: *Bacillus subtilis* 568, *Bacillus licheniformis* 1-15, *E. coli* TG1, плазмід рALPT-5, альфа-амілаза, рэгулярныя ўчасткі, павышэнне ўроўня сінтэзы.

Аб'ект даследавання: бактэрыя *Bacillus subtilis* 568.

Мэта: атрыманне бібліятэкі фрагментаў геномнай ДНК *B. licheniformis* 1-15, з наступнага дэбора ўчасткаў, якія забяспечваюць сінтэзу альфа-амілазы ў клетках *B. subtilis* 568.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), спектрафотаметрычныя (вымярэнне амілалітычнай актыўнасці, вызначэнне канцэнтрацыі бялкоў), генетычныя (трансфармацыя), малекулярна-біялагічныя (выдзяленне ДНК, рэстрыкцыя, лігіраванне, электрофарэз ДНК).

Вынікі даследавання: была атрымана бібліятэка рэкамбінантных плазмід рALPT-5 з устаўкамі фрагментаў геномнай ДНК *B. licheniformis* 1-15. Праведзена трансфармацыя клетак штаму *E. coli* TG1, шчолачны лізіс клетак *E. coli* TG1. Далей, з выкарыстаннем рэкамбінантнай плазміды рALPT-5 з устаўкамі геномнай ДНК *B. licheniformis* 1-15, была праведзена трансфармацыя клетак *B. subtilis*.

У выніку было атрымана 14 штамаў *B. subtilis* 568, якія ўтрымліваюць рэкамбінантныя плазмідныя ДНК рALPT-5 з устаўкамі фрагментаў геномнай ДНК *B. licheniformis* 1-15, якія забяспечваюць актыўнасць рэпарцёрнага гена альфа-амілазы.

Пасля глыбіннага культывавання, на падставе колькаснага аналізу амілалітычнай актыўнасці сярод атрыманых штамаў *B. subtilis* 568 з рэкамбінантнымі плазмідамі было атрымана 10 штамаў *B. subtilis* 568, якія маюць паказчыку дзельнай актыўнасці ферменту альфа-амілазы ў прамежку значэнняў ад 3 да 10 адз/мг клеткавага бялку, у 2 штамах паказчыку дзельнай актыўнасці знаходзіцца ў прамежку значэнняў паміж 14 і 20 адз/мг.

У двух самых прадуктыўных штамах, паказчыкі ўдзельнай амілалітычнай актыўнасці ў культурах склалі 41,6335 адз/мг і 41,3694 адз/мг клеткавага бялку.

ESSAY

Thesis 40 pages, 8 figures, 1 table, 16 sources.

Key words: *Bacillus subtilis* 568, *Bacillus licheniformis* 1-15, *E. coli* TG1, plasmid pALPT-5, alpha-amylase, regulatory regions, increased synthesis.

The object of research: *Bacillus subtilis* 568 bacteria.

The aim of the research: to obtain a library of fragments of genomic DNA of *B. licheniformis* 1-15, followed by selection of sites for the synthesis of alpha-amylase in *B. subtilis* 568 cells.

Research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), spectrophotometric (measurement of amylolytic activity, determination of protein concentration), genetic (transformation), molecular biological (DNA extraction, restriction, ligation, DNA electrophoresis).

Research results: a library of recombinant plasmids pALPT-5 with inserts of *B. licheniformis* 1-15 genomic DNA was obtained. Transformation of *E. coli* TG1 strain cells and alkaline lysis of *E. coli* TG1 cells were performed. Then, using the recombinant plasmid pALPT-5 with inserts of *B. licheniformis* 1-15 genomic DNA, *B. subtilis* cells were transformed.

As a result, 14 *B. subtilis* 568 strains were obtained, that contain recombinant plasmid DNA pALPT-5 with inserts of fragments of *B. licheniformis* 1-15 genomic DNA, providing the activity of the alpha-amylase reporter gene.

After deep cultivation, based on a quantitative analysis of amylolytic activity among the obtained *B. subtilis* 568 strains with recombinant plasmids, 10 *B. subtilis* 568 strains were obtained, that have an alpha-amylase enzyme specific activity index ranging from 3 to 10 units/mg of cellular protein, in 2 strains, the specific activity index is in the range between 14 and 20 units/mg.

In the two most productive strains, the specific amylolytic activity in cultures was 41.6335 units/mg and 41.3694 units/mg of cellular protein.