

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

Аннотация к дипломной работе

НАСТИНА
ЮЛИЯ АНДРЕЕВНА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ СКРИНИНГА
РЕГУЛЯТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДЛЯ
ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ШТАММА *BACILLUS*
SUBTILIS, СИНТЕЗИРУЮЩЕГО АЛЬФА-АМИЛАЗУ**

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

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 40 с., 8 рис., 1 табл., 16 источников.

Ключевые слова: *Bacillus pumilus* P10, *B. subtilis* 568, α -амилаза, плазмида pALPT-5.

Объект исследования: *B. subtilis* 568, *Escherichia coli* TG1, рекомбинантные конструкции, полученные на основе плазмиды pALPT-5.

Цель: получение библиотеки фрагментов геномной ДНК *B. pumilus* P10 с последующим отбором участков, обеспечивающих повышенный синтез α -амилазы в клетках *B. subtilis* 568.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), спектрофотометрические, генетические (трансформация) молекулярно-генетические (выделение ДНК, рестрикция, лигирование, электрофорез).

Результаты работы:

1. Получена библиотека плазмид pALPT-5 со вставками различных фрагментов геномной ДНК *B. pumilus* P10.

2. Было отобрано 13 колоний *B. subtilis*, содержащих рекомбинантные плазмидные ДНК pALPT-5, среди которых у 9 значения удельной активности от 1,05 до 4,42 ед/мг белка при культивировании 48 часов и от 0,85 до 4,63 ед/мг белка при культивировании 72 часа. Другие 4 протестированных штамма обладали удельной активностью от 18,1 до 73,09 ед/мг белка при культивировании 48 часов и от 17,95 до 81,76 ед/мг белка при культивировании 72 часа. Наибольшее значение удельной активности, равное 81,76 ед/мг белка, достигалось культивированием бактерий *B. subtilis*, содержащих плазмиду, обозначенную как 8. Кроме того, еще 3 конструкции (6,9 и 13) также обеспечивают сверхэкспрессию гена α -амилазы. Можно предположить, что присутствующие в названных плазмидах вставки содержат последовательность, эффективно иницирующую транскрипцию гена *amyM3* в клетках *B. subtilis*.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 40 с., 8 мал., 1 табл., 16 крыніц.

Ключавыя словы: *Bacillus pumilus* P10, *B. subtilis* 568, α -амілаза, плазмід рALPT-5.

Аб'ект даследавання: *B. subtilis* 568, *Escherichia coli* TG1, рэкамбінантныя канструкцыі, атрыманыя на аснове плазміды рALPT-5.

Мэта: атрыманне бібліятэкі фрагментаў геномной ДНК *B. pumilus* P10 з наступным адборам участкаў, якія забяспечваюць павышаны сінтэз α -амілазы ў клетках *B. subtilis* 568.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), спектрафотаметрычныя, генетычныя (трансфармацыя) малекулярна-генетычныя (выдзяленне ДНК, рэстрыкцыя, лігіраванне, электрофарэз).

Вынікі работы:

1. Атрымана бібліятэка плазмід рALPT-5 са ўстаўкамі розных фрагментаў геномной ДНК *B. pumilus* P10.

2. Было адабрана 13 калоній *B. subtilis*, якія змяшчаюць рэкамбінантныя плазмідныя ДНК рALPT-5, сярод якіх у 9 значэнні ўдзельнай актыўнасці ад 1,05 да 4,42 адз / мг бялку пры культываванні 48 гадзін і ад 0,85 да 4,63 адз / мг бялку пры культываванні 72 гадзіны. Іншыя 4 пратэставаных штаму валодалі удзельнай актыўнасцю ад 18,1 да 73,09 адз / мг бялку пры культываванні 48 гадзін і ад 17,95 да 81,76 адз / мг бялку пры культываванні 72 гадзіны. Найбольшае значэнне ўдзельнай актыўнасці, роўнае 81,76 адз / мг бялку, дасягалася культываваннем бактэрыі *B. subtilis*, якія змяшчаюць плазмід, пазначаную як 8. Акрамя таго, яшчэ 3 канструкцыі (6,9 і 13) таксама забяспечваюць свёрхэкспрэсію гена α -амілазы. Можна меркаваць, што прысутныя ў названых плазмідах ўстаўкі ўтрымліваюць паслядоўнасць, эфектыўна ініцыятыўнай транскрыпцыю гена *amyM3* у клетках *B. subtilis*.

ESSAY

Diploma project: 40 p., 8 fig., 1 tab., 16 sources.

Key words: *Bacillus pumilus* P10, *B. subtilis* 568, α -amylase, plasmid pALPT-5.

Object of study: *B. subtilis* 568, *Escherichia coli* TG1, recombinant constructs obtained on the basis of plasmid pALPT-5.

Objective: obtaining a library of fragments of genomic DNA of *B. pumilus* P10 with subsequent selection of sites that provide increased synthesis of α -amylase in *B. subtilis* 568 cells.

Research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), spectrophotometric, genetic (transformation) molecular-genetic (DNA extraction, restriction, ligation, electrophoresis).

Results of work:

1. A library of plasmids pALPT-5 with inserts of various fragments of *B. pumilus* P10 genomic DNA was obtained.

2. 13 colonies of *B. subtilis* containing recombinant plasmid DNA pALPT-5 were selected, among which 9 specific activity had values from 1,05 to 4,42 u / mg protein during 48 hours cultivation and from 0,85 to 4,63 u / mg protein during cultivation 72 hours. The other 4 tested strains had specific activity from 18,1 to 73,09 units / mg protein during cultivation for 48 hours and from 17,95 to 81,76 units / mg protein during cultivation for 72 hours. The highest specific activity, equal to 81,76 units / mg of protein, was achieved by culturing *B. subtilis* bacteria containing the plasmid designated as 8. In addition, another 3 constructs (6,9 and 13) also provide for overexpression of the α -amylase gene. It can be supposed that the inserts present in these plasmids contain a sequence that efficiently initiates transcription of the *amyM3* gene in *B. subtilis* cells.