

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

**РЕКОМБИНАНТНЫЙ СНАР-ДОМЕН ЭНДОЛИЗИНА БАКТЕРИОФАГА
P11 КАК АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБИОТИКАМ**

Дипломная работа

Ковалевского Константина Васильевича
студента 5 курса,
специальность
«биохимия»

Научный руководитель:
Заведующий НИЛ биотехнологии
кафедры микробиологии
Потапович М.И.

Минск, 2021

РЕФЕРАТ

Данная работа выполнена на пятидесяти страницах, включает пять таблиц и восемь рисунков. Для написания использовалось семьдесят четыре источника литературы.

Объекты исследования: СНАР-домен эндолизина бактериофага phi 11, штаммы *Escherichia coli* BL-21(DE3), *Escherichia coli* XL-1 Blue, *Staphylococcus aureus* 25923.

Цель исследования: получение в клетках *Escherichia coli*, выделение и очистка СНАР-домена эндолизина бактериофага phi 11.

Основные методы исследования: ДСН-ПААГ электрофорез, электрофорез в агарозном геле, хроматография, ПЦР, турбидиметрический анализ.

Наблюдения и исследования проводили в НИЛ Биотехнологии на базе кафедры микробиологии биологического факультета БГУ с сентября 2018 года по май 2021 года.

Основные результаты исследования:

1. Были успешно трансформированы штаммы *Escherichia coli* XL-1 Blue и *Escherichia coli* BL21 (DE3) плазмидным вектором pET 24b(+), содержащим ген СНАР-домена эндолизина бактериофага phi 11.
2. Подобраны условия рефолдинга при выделении и очистке целевого белка из телец включения после проведения индукции.
3. Разработана технология выделения и очистки исследуемого белка из телец включения.
4. Проведены исследования и анализ антистафилококковой активности СНАР-домена эндолизина бактериофага phi 11.

Ключевые слова: эндолизин, СНАР-домен, бактериофаг phi 11, выделение и очистка белка, *Staphylococcus aureus*, антибиотики, рефолдинг.

Область применения: лечение бактериальных инфекций.

РЭФЕРАТ

Дадзеная праца выканана на пяцідзсяці старонках, уключае пяць табліц і восем малюнкаў. Для напісання выкарыстоўвалася семдзсят чатыры літаратурных крыніцы.

Аб'екты даследавання: СНАР-дамен эндалізіна бактэрыяфага phi 11, штамы *Escherichia coli* BL-21 (DE3), *Escherichia coli* XL-1 Blue, *Staphylococcus aureus* 25923.

Мэта даследавання: атрыманне ў клетках *Escherichia coli*, вылучэнне і ачыстка СНАР-дамена эндалізіна бактэрыяфага phi 11.

Асноўныя метады даследавання: ДСН-ПААГ электрафарэз, электрафарэз ў агарозном гелі, храматаграфія, ПЦР, турбідыметрычэскі аналіз.

Назірання і даследаванні праводзілі ў НДЛ Біятэхналогіі на базе кафедры мікрабіялогіі біялагічнага факультэта БДУ з верасня 2018 года па май 2021 года.

Асноўныя вынікі даследавання:

1. Былі паспяхова трансфармаваны штамы *Escherichia coli* XL-1 Blue і *Escherichia coli* BL21 (DE3) плазмідным вектарам pET 24b (+), які змяшчае ген СНАР-дамена эндалізіна бактэрыяфага phi 11.

2. Падабраны ўмовы рэфолдынга пры выдзяленні і ачыстцы мэтавага бялку з цяля ўключэння пасля правядзення індукцыі.

3. Распрацавана тэхналогія выдзялення і ачысткі доследнага бялку з цяля ўключэння.

4. Праведзены даследаванні і аналіз антыстафілакоккавай актыўнасці СНАР-дамена эндалізіна бактэрыяфага phi 11.

Ключавыя словы: эндалізін, СНАР-дамен, бактэрыяфаг phi 11, вылучэнне і ачыстка бялку, *Staphylococcus aureus*, антыбіётыкі, рэфолдынг.

Вобласць прымянення: лячэнне бактэрыяльных інфекцый.

ABSTRACT

This work is done on fifty pages, includes five tables and eight figures. For writing, seventy-four sources of literature were used.

Objects of research: the CHAP domain of endolysin of bacteriophage phi 11, strains of *Escherichia coli* BL-21 (DE3), *Escherichia coli* XL-1 Blue, *Staphylococcus aureus* 25923.

Objective of the study: obtaining in *Escherichia coli* cells, isolation and purification of the CHAP-domain of endolysin of bacteriophage phi 11.

Basic research methods: SDS-PAGE electrophoresis, agarose gel electrophoresis, chromatography, PCR, turbidimetric analysis.

Observations and studies were carried out at the Research Laboratory of Biotechnology on the basis of the Department of Microbiology, Faculty of Biology, BSU from September 2018 to May 2021.

The main results of the study:

1. Were successfully transformed strains *Escherichia coli* XL-1 Blue and *Escherichia coli* BL21 (DE3) plasmid vector pET 24b (+) containing the gene CHAP-domain endolysin of bacteriophage phi 11.
2. The refolding conditions were selected for the isolation and purification of the target protein from inclusion bodies after induction.
3. A technology has been developed for the isolation and purification of the protein under study from inclusion bodies.
4. Research and analysis of antistaphylococcal activity of CHAP-domain of endolysin of bacteriophage phi 11 were carried out.

Key words: endolysin, CHAP domain, phi 11 bacteriophage, protein isolation and purification, *Staphylococcus aureus*, antibiotics, refolding.

Applications: treatment of bacterial infections.