

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

КОНЕВА
Ольга Михайловна

**КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ БЫЧЬЕГО
ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО
КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА В КЛЕТКАХ
*ESCHERICHIA COLI***

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
зав. НИЛ биотехнологии кафедры
микробиологии БГУ,
М.И. Потапович

Минск, 2021

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа, 43 страницы, 11 рисунков, 4 таблицы, 41 источник.

Ключевые слова: ЦИТОКИН, БЫЧИЙ ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНЫЙ КОЛНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР, РЕКОМБИНАНТНЫЙ БЕЛОК, *ESCHERICHIA COLI*, ИНДУЦИБЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ТЕЛЫЦА ВКЛЮЧЕНИЯ, РЕФОЛДИНГ.

Объект исследования: оптимизированная нуклеотидная последовательность, детерминирующая синтез бычьего гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора.

Цель работы: клонирование и экспрессия бычьего гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в клетках *E. coli*.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), молекулярно-генетические (выделение ДНК, ПЦР, рестрикция, лигирование, кальциевая трансформация, индуцибельная экспрессия, электрофорез в агарозном геле, ДСН-ПААГ электрофорез, определение концентрации белка, рефолдинг), спектрофотометрический (определение оптической плотности).

Результаты:

1. Получена гибридная конструкция pD861-SR-boGM-CSF на основе экспрессионного вектора pD861-SR (ATUM, США), несущая оптимизированную последовательность гена бычьего гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора под контролем рамнозного промотора.

2. Получены рекомбинантные штаммы *E. coli* XL-1 Blue и *E. coli* BL21-Gold(DE3), несущие гибридную конструкцию pD861-SR-boGM-CSF.

3. В результате индуцибельной экспрессии в течение 4 ч при 37 °C в клетках *E. coli* BL21-Gold(DE3) наблюдается накопление белка, соответствующего размеру бычьего гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора.

4. Подобраны оптимальные условия рефолдинга целевого белка.

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

O. M. Koneva

**CLONING AND EXPRESSION OF BOVINE GRANULOCYTE-
MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR IN
ESCHERICHIA COLI CELLS**

Annotation of the thesis

Scientific supervisor:
Head of the Laboratory of
Biotechnology
Potapovich.M.I

Minsk, 2021

ANNOTATION

The thesis consists of 43 pages, 11 figures, 4 tables, 41 sources.

Key words: CYTOKINE, BOVINE GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR, RECOMBINANT PROTEIN, ESCHERICHIA COLI BL21-GOLD (DE3), INDUCED EXPRESSION, INCLUSION BODIES

Object of study: optimized nucleotide sequence that determines the synthesis of bovine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

Purpose: cloning and expression of bovine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in *E. coli* cells.

Research methods: microbiological (cultivation of microorganism), molecular-genetic (PCR, DNA isolation, restriction, ligation, calcium transformation, induced expression, refolding), physico-analytical (SDS-PAGE electrophoresis, electrophoresis in agarose gel, estimation of protein concentrations), spectrophotometric (determination of optical density).

Results:

1. Hybrid construction pD861-SR-boGM-CSF based on expression vector pD861-SR (ATUM, USA) and carrying optimized sequence of the bovine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene under the control of the rhamnose promoter was constructed.
2. Recombinant *E. coli* strains (*E. coli* XL-1 Blue и *E. coli* BL21-Gold(DE3)) carrying hybrid construction pD861-SR-boGM-CSF were created.
3. As a result of inducible expression for 4 h at 37 °C in an *E. coli* BL21-Gold (DE3) cells production of a protein corresponding to the size of bovine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is observed.
4. Optimal conditions for target protein refolding were defined.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

КОНЕВА
Вольга Михайлаўна

**КЛАНАВАННЕ І ЭКСПРЭСІЯ ГРАНУЛАЦЫТАРНА-
МАКРАФАГАЛЬНАГА КАЛОНІЕСТЫМУЛЯЦЫЙНАГА
ФАКТАРУ БЫКА Ў КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI***

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
загадчык НДЛ біятэхналогіі
кафедры мікрабіялогіі БДУ
Патаповіч.М.І.

Мінск, 2021

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца 43 старонкі, 11 малюнкаў, 4 табліцы, 41 крыніца

Ключавыя словы: ЦЫТАКІН, БЫЧЫНЫ ГРАНУЛАЦЫТАРНА-МАКРАФАГАЛЬНЫ КАЛОНІЕСТЫМУЛЯЦЫЙНЫ ФАКТАР, РЭКАМБІНАНТНЫ БЯЛОК, *ESCHERICHIA COLI* BL21-GOLD (DE3), ІНДУЦЫБЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕСІЯ, ЦЕЛЫЦЫ ЎКЛЮЧЭННЯ

Аб'ект даследвання: аптымізаваная нуклеацідная паслядоўнасць, якая дэтэрмінуе сінтэз бычынага гранулацытарна-макрафагальнага калоніестымуляцыйнага фактару.

Мэта працы: кланаванне і экспрэсія гена бычынага гранулацытарна-макрафагальнага калоніестымуляцыйнага фактару ў клетках *E. coli*.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, ПЦР, рэстрыкцыя, лігіраванне, кальцыевая трансфармацыя, індуцыбельная экспрэсія, рэфолдзінг), фізіка-аналітычныя (электрафарэз на агарозным гелі, ДСН-ПААГ электрафарэз, падлік канцэнтрацыі бялка), спектрафотаметрычны (вызначэнне аптычнай шчыльнасці).

Вынікі:

1. Атрымана гібрыдная канструкцыя pD861-SR-boGM-CSF на аснове экспрэсійнага вектару pD861-SR (ATUM, ЗША), якая нясе аптымізаваную паслядоўнасць гена бычынага гранулацытарна-макрафагальнага калоніестымуляцыйнага фактару пад кантролем рамнознага прамотару.

2. Атрыманы рэкамбінантныя штаммы *E. coli* XL-1 Blue і *E. coli* BL21-Gold(DE3), якія нясуць гібрыдную канструкцыю pD861-SR-boGM-CSF.

3. У выніку індуцыбельнай экспрэсіі на пратягу 4 гадзін пры 37 °C у клетках *E. coli* BL21-Gold(DE3) назіраецца накапленне бялка, які па размеры адпавядае бычынаму гранулацытарна-макрафагальнаму калоніестымуляцыйнаму фактару.

4. Падабраны аптымальныя ўмовы рэфолдзінгу мэтавага бялка.