

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

Аннотация к дипломной работе

ФЁДОРОВ
Андрей Дмитриевич

**КЛОНИРОВАНИЕ ОПЕРОНА *cssRS BACILLUS SUBTILIS* В
КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI***

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

Минск, 2021

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 40 с., 15 рис., 2 табл., 16 источников.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, *E.coli*, клонирование генов, полимеразная цепная реакция, *CssS*, мутагенез.

Объект исследования: нуклеотидные последовательности оперона *cssRS B.subtilis* 168, в частности участок кодирующий внеклеточный домен *cssS*.

Цель работы: разработать праймеры для сегмент-специфического мутагенеза участка гена *cssS* и получить рекомбинантную плазмиду с фрагментом ДНК, содержащим оперон *cssRS B. subtilis* 168, для последующего мутагенеза.

Работа выполнялась микробиологическими и молекулярно-биологическими методами, такими, как электрофорез ДНК в агарозном геле, рестрикционный анализ, трансформация бактериальных штаммов, полимеразная цепная реакция.

Основными результатами выполненной работы являются:

1. С помощью ПЦР получен фрагмент ДНК, содержащий последовательность оперона *cssRS B. subtilis* 168. Амплифицированный фрагмент ДНК был клонирован в клетках *E. coli* в составе вектора pMTL21с.
2. Разработаны последовательности праймеров для проведения сегмент-специфического мутагенеза участка гена *cssS*, кодирующего внеклеточный домен рецептора *CssS B. subtilis* 168.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 40 с., 15 мал., 2 табл., 16 крыніц.

Ключавыя словы: *Bacillus subtilis*, *E.coli*, кланаванне генаў, палімеразную ланцуговая рэакцыя, *CssS*, мутагенез.

Аб'ект даследавання: нуклеотидны паслядоўнасці оперона *cssRS B.subtilis 168*, у прыватнасці ўчастак кадавальных пазаклеткавай дамен *cssS*.

Мэта работы: распрацаваць праймер для сегмент-спецыфічнага мутагенеза ўчастка гена *cssS* і атрымаць рэкамбінантны плазмід з фрагментам ДНК, які змяшчаюць оперон *cssRS B. subtilis 168*, для наступнага мутагенеза.

Праца выконвалася мікрабіялагічная і молекулярна-біялагічнымі метадамі, такімі, як электрофарэз ДНК у агарозным гелі, рэстрыкцыйны аналіз, трансфармацыя бактэрыяльных штамаў, палімеразную ланцуговая рэакцыя.

Асноўнымі вынікамі выкананай працы з'яўляюцца:

1. З дапамогай ПЦР атрыманы фрагмент ДНК які змяшчае паслядоўнасць оперона *cssRS B. subtilis 168*. Ампліфіцыраваны фрагмент ДНК быў кланаваны ў клетках *E. coli* ў складзе вектара pMTL21с.

2. Распрацаваны паслядоўнасці праймер для правядзення сегмент-спецыфічнага мутагенеза ўчастка гена *cssS*, кадавальных пазаклеткавай дамен рэцэптара *CssS B. subtilis 168*.

ABSTRACT

Thesis 40 pages, 15 figures, 2 tables, 16 sources.

Key words: *Bacillus subtilis*, *E. Coli*, gene cloning, polymerase chain reaction, C_{ss}S, mutagenesis.

Subject of research: nucleotide sequences of the *B. subtilis* 168 *cssRS* operon, in particular, the region encoding the extracellular domain of *cssS*.

Purpose of the work: to develop primers for segment-specific mutagenesis of the *cssS* gene region and obtain a recombinant plasmid with a DNA fragment containing the *B. subtilis* 168 *cssRS* operon for subsequent mutagenesis.

The work was carried out by microbiological and molecular biological methods, such as electrophoresis of DNA in agarose gel, restriction analysis, transformation of bacterial strains, polymerase chain reaction.

The main results of the work performed are:

1. Using PCR, a DNA fragment containing the sequence of the *B. subtilis* 168 *cssRS* operon was obtained. The amplified DNA fragment was cloned into *E. coli* cells as part of the pMTL21c vector.
2. Developed primer sequences for performing segment-specific mutagenesis of the *cssS* gene region encoding the extracellular domain of the *B. subtilis* 168 C_{ss}S receptor.