

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

Аннотация к дипломной работе

МАТУЛЕВИЧ
АНЖЕЛА ИВАНОВНА

ПОЛУЧЕНИЕ АУКСОТРОФНЫХ МУТАНТОВ ДРОЖЖЕЙ
***KLUYVEROMYCES LACTIS* МЕТОДОМ ХИМИЧЕСКОГО**
МУТАГЕНЕЗА

Научный руководитель:
кандидат химических наук,
доцент О.Б. Русь

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 40 с., 5 рис., 9 табл., 29 источников.

Ключевые слова: ауксотрофные мутанты, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, гетерологичные белки, неметилотрофные дрожжи, метилотрофные дрожжи, векторные системы, селективные маркеры, химический мутагенез, нитрозогуанидин, нистатин, клотримазол.

Объект исследования: дрожжи *K. lactis* GG799 (прототроф) из коллекции кафедры молекулярной биологии.

Цель: получение ауксотрофных мутантов дрожжей *K. lactis* методом химического мутагенеза.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), спектрофотометрические, генетические (трансформация), химический мутагенез, обогащение антибиотиками.

В ходе работы было исследовано выживаемость клеток дрожжей *K. lactis* GG799 при их обработке N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидином, увеличение концентрации мутагена с 10 мкг/мл до 100 мкг/мл приводит к изменению процента выживших клеток с $(22,5 \pm 3,5) \%$ до $(0,43 \pm 0,1) \%$.

Исследовано влияние нистатина в концентрациях 25 – 500 ед/мл на плотность клеток популяции *K. lactis*. При использовании 500 ед/мл нистатина плотность культуры уменьшилась более, чем в 3 раза.

Исследовано влияние клотримазола в концентрации 0,5 – 10 мг/мл. При использовании 10 мг/мл клотримазола плотность культуры уменьшилась более, чем в 3 раза.

После проведения нитрозогуанидинового мутагенеза и нистатинового обогащения протестировано около 7000 колоний *K. lactis* в 5 независимых экспериментах, среди проанализированных клонов выделено 2 ауксотрофных мутанта. Частота возникновения ауксотрофных мутантов составила $7 \cdot 10^{-4}$ (2 мутанта на 3000 колоний).

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 40 старонкі, 5 малюнкаў, 9 табліц, 29 крыніц.

Ключавыя словы: аўксатрофны мутант, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, гетэралагічны бялок, неміцэлатрофныя дрожджы, мецілатрофныя дрожджы, вектарныя сістэмы, селектыўны маркер, хімічны мутагенез, нітрозагуанідзін, ністацін, клотрымазол.

Аб'ект даследавання: дрожджы *K. lactis* GG799 (прататроф) з калекцыі кафедры малекулярнай біялогіі.

Мэта: атрыманне аўксатрофных мутантаў дрожджаў *K. lactis* метадам хімічнага мутагенезу.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культыраванне мікраарганізмаў), спектрафатометрычныя, генетычныя (трансфармацыя), хімічны мутагенез, узбагачэнне антыбіётыкамі.

У ходзе працы было даследавана выжывальнасць клетак дрожджаў *K. lactis* GG799 пры іх апрацоўцы N-меціў-N-нітра-N-нітрозагуанідзінам, павелічэнне канцэнтрацыі мутагена з 10 мкг/мл да 100 мкг/мл прыводзіць да змены працэнту клетак, якія выжылі, з $(22,5 \pm 3,5)\%$ да $(0,43 \pm 0,1)\%$.

Даследаван ўплыў ністаціну ў канцэнтрацыях 25 - 500 мг/мл на шчыльнасць клетак папуляцыі *K. lactis*. Пры выкарыстанні 500 мг/мл ністаціну шчыльнасць культуры паменшылася больш, чым у 3 разы.

Даследаван ўплыў клотрымазолу ў канцэнтрацыях 0,5 - 10 мг/мл. Пры выкарыстанні 10 мг/мл клотрымазолу шчыльнасць культуры паменшылася больш, чым у 3 разы.

Пасля правядзення нітрозагуанідзінавага мутагенезу і ністацінавага ўзбагачэння пратэставана каля 7000 калоній *K. lactis* ў 5 незалежных эксперыментах, сярод прааналізаваных клонаў выдзелена 2 аўксатрофных мутанта. Частата ўзнікнення аўксатрофных мутантаў склала $7 \cdot 10^{-4}$ (2 мутанта на 3000 калоній).

ABSTRACT

Diploma project 40 p., 5 fig., 9 tables, 29 sources.

Key words: auxotrophic mutants, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, heterologous proteins, nonmethylotrophic yeast, methylotrophic yeast, vector systems, selectable markers, methylotrophic yeast, vector systems, selective markers, chemical mutagenesis, nitrosoguanidine, nystatin, clotrimazole.

Object of study: yeast *K. lactis* GG799 (prototroph) from the collection of the Department of Molecular Biology.

The aim of the research obtaining auxotrophic mutants of yeast *K. lactis* by chemical mutagenesis.

The research methods: microbiological (cultivation of microorganisms), spectrophotometric, genetic (transformation), chemical mutagenesis, enrichment with antibiotics.

In the course of the research work, the survival of cells of the yeast *K. lactis* GG799 was studied when they were treated with N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine, an increase in the mutagen concentration from 10 µg/ml to 100 µg/ml leads to a change in the percentage of surviving cells from $(22,5 \pm 3,5)\%$ to $(0,43 \pm 0,1)\%$.

The effect of nystatin at concentrations of 25 – 500 units/ml on the cell density of the *K. lactis* population was studied. When using 500 units/ml of nystatin, the density of the culture decreased by more than 3 times.

The effect of clotrimazole at a concentration of 0.5 – 10 mg/ml was studied. When using 10 mg/ml of clotrimazole, the density of the culture decreased by more than 3 times.

After nitrosoguanidine mutagenesis and nystatin enrichment, about 7000 *K. lactis* colonies were tested in 5 independent experiments; 2 auxotrophic mutants were isolated from the analyzed clones. The frequency of occurrence of auxotrophic mutants was $7 \cdot 10^{-4}$ (2 mutants per 3000 colonies).