

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

Кафедра молекулярной биологии

ДУХИНА

Екатерина Викторовна

**ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДЫ НА
ОСНОВЕ ВЕКТОРНЫХ МОЛЕКУЛ pMUTIN-4 И pDG148-Stu**

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,

доцент А.В Качан

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 25 страниц, 8 рисунков, 8 источников.

Ключевые слова: плазмида, лигирование, рестрикция, электрофорез.

Цель работы: на основе плазмиды pMUTIN-4 получить рекомбинантный вектор с удалённым геном ген *lacZ*.

Объект исследования: рекомбинантные бирепликонные плазмидные векторы для клеток *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*

Методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические (выделение плазмидной ДНК методом щелочного лизиса, рестрикция ДНК, электрофорез в агарозном геле) .

В ходе работы была получена плазмида pMUTIN-4-d, в отличие от плазмиды pMUTIN-4 лишённая гена β -галактозидазы *lacZ*.

На основе плазмиды pMUTIN-4 получили рекомбинантный экспрессионный вектор с удалённым геном ген *lacZ*. Были получены очищенные препараты векторов pDG148-Stu и pMUTIN-4, произведена обработка обеих плазмид ферментом EcoRV, лигирование и трансформация клеток *E.coli* XL1-Blue. Затем проведено выделение плазмидных ДНК из нескольких штаммов *E.coli* XL1-Blue, полученных после данной трансформации. В результате электрофоретического анализа было подтверждено, что один из проанализированных образцов ДНК представляет собой плазмиду pMUTIN-4, в которой отсутствует участок гена β -галактозидазы *lacZ*. Таким образом, была получена плазмида pMUTIN-4-d.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 25 старонак, 8 малюнкаў, 8 крыніц.

Ключавыя словы: плазміда, лігіраванне, рэстрыкцыя, электрофарэз.

Мэта працы: на аснове плазміды pMUTIN-4 атрымаць рэкамбінантныя вектар з выдаленым геном ген lacZ.

Аб'ект даследавання: рэкамбінантныя бірэпліконныя плазмідныя вектары для клетак *Bacillus subtilis* і *Escherichia coli*

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, малекулярна-генетычныя (вылучэнне плазміднай ДНК метадам шчолачнага лізісу, рэстрыкцыя ДНК, электрофарэз у агарозным гелі).

У ходзе работы была атрымана плазміда pMUTIN-4-d, у адрозненне ад плазміды pMUTIN-4 пазбаўленая гена β -галактозідазы lacZ.

На аснове плазміды pMUTIN-4 атрымалі рэкамбінаваны экспрэсійны вектар з выдаленым геном ген lacZ. Былі атрыманы вычышчаныя прэпараты вектараў pDG148-Stu і pMUTIN-4, праведзена апрацоўка абедзвюх плазмід ферментам EcoRV, лігіравання і трансфармацыя клетак *E.coli* XL1-Blue. Затым праведзена вылучэнне плазмідных ДНК з некалькіх штамаў *E.coli* XL1-Blue, атрыманых пасля дадзенай трансфармацыі. У выніку электрофоретическага аналізу было пацверджана, што адзін з прааналізаваных узораў ДНК уяўляе сабой плазміды pMUTIN-4, у якой адсутнічае ўчастак гена β -галактозідазы lacZ. Такім чынам, была атрымана плазміда pMUTIN-4-d.

ESSAY

Diploma work 25 pages, 8 drawings, 8 sources.

Key words: plasmid, ligation, restriction, electrophoresis.

Purpose of the work: based on the plasmid pMUTIN-4, to obtain a recombinant vector with a deleted lacZ gene.

Object of study: recombinant bi-replicon plasmid vectors for *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* cells

Research methods: microbiological, molecular genetic (isolation of plasmid DNA by alkaline lysis, DNA restriction, agarose gel electrophoresis).

In the course of the work, the pMUTIN-4-d plasmid was obtained, which, unlike the pMUTIN-4 plasmid, lacks the lacZ β -galactosidase gene.

Based on the pMUTIN-4 plasmid, a recombinant expression vector with the lacZ gene deleted was obtained. Purified preparations of the pDG148-Stu and pMUTIN-4 vectors were obtained, both plasmids were treated with the EcoRV enzyme, ligation and transformation of *E. coli* XL1-Blue cells. Then, plasmid DNA was isolated from several strains of *E. coli* XL1-Blue obtained after this transformation. As a result of electrophoretic analysis, it was confirmed that one of the analyzed DNA samples is the pMUTIN-4 plasmid, which lacks the lacZ β -galactosidase gene region. Thus, plasmid pMUTIN-4-d was obtained.