

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ГАЩЕНКО
Юлия Александровна

**ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА
ШЕФЕРИНА II В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ В РАЗНЫХ
ШТАММАХ *ESCHERICHIA COLI***

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
старший преподаватель
кафедры микробиологии
Н.В. Сауткина

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Объекты исследования: плазмиды pSumo-Sheph-oII 7 (включает гибридный ген *SUMO-shepherdin-oII*, кодирующий белок Sumo-Sheph-oII), pCBMT-Sheph-oII 7 (включает гибридный ген *CBMT-shepherdin-oII*, кодирующий белок CBMT-Sheph-oII).

Цель: изучение характера экспрессии генов, которые кодируют фьюжн-белки, включающие АМП шеферин II корней пастушьей сумки, в разных штаммах *Escherichia coli*, а также выявление наиболее эффективного штамма-продуцента белка CBMT-Shepherdin-oII.

В ходе работы выявляли уровень синтеза в разных штаммах бактерий *E. coli* белков CBMT-Shepherdin-oII и SUMO-Shepherdin-oII (массой 28 кДа и 17,8 кДа соответственно), в процессе индукции экспрессии генов в составе рекомбинантных плазмид pCBMT-Shepherdin-oII 7 и pSUMO-Shepherdin-oII 7. Установлено, что для белка SUMO-Shepherdin-oII характерен высокий уровень синтеза (около 40 % от общего клеточного белка) в штаммах *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL, *E. coli* BL21(DE3)pLysS и *E. coli* BL21(DE3)Gold при температуре индукции экспрессии 37 °C. В случае белка CBMT-Shepherdin-oII, наибольший уровень его синтеза (около 40 % от общего клеточного белка) наблюдается также при температуре 37 °C в двух штаммах: *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL и *E. coli* BL21(DE3)Gold. Выявлено, что для фьюжн-белков CBMT-Shepherdin-oII и SUMO-Shepherdin-oII наиболее эффективное накопление (около 30 % от общего клеточного белка) преимущественно в растворимой клеточной фракции наблюдается в клетках штамма *E. coli* BL21(DE3)pLysS при температуре культивирования 37 °C. В результате хроматографической очистки установлено, что с наименьшими потерями очищается целевой белок CBMT-Shepherdin-oII в концентрации 7,85 мг/мл, наработанный в клетках штамма *E. coli* BL21(DE3)pLysS при температуре индукции 37 °C. Также эффективно, но со значительными потерями, происходит очистка белка CBMT-Shepherdin-oII в концентрации 8,4 мг/мл, наработанного в клетках штамма *E. coli* BL21(DE3)Gold при температуре индукции 20 °C.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

ГАШЧАНКА
Юлія Аляксандраўна

ХАРАКТАР ЭКСПРЭСІІ АНТЫМІКРОБНАГА ПЕПТЫДА
ШЭФЕРЫНА ІІ У СКЛАДЗЕ ФЫЮЖН-БЯЛКОЎ У РОЗНЫХ
ШТАМАХ *ESCHERICHIA COLI*

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік:
старэйшы выкладчык кафедры
мікрабіялогіі
Н.У. Сауткіна

Мінск, 2022

АНАТАЦЫЯ

Аб'екты даследавання: плазміды pSumo-Sheph-oII 7 (уключае гібрыдны ген *SUMO-shepherdin-oII*, кадавальны бялок Sumo-Sheph-oII), pCBMT-Sheph-oII 7 (уключае гібрыдны ген *CBMT-shepherdin-oII*, кадавальны бялок CBMT-Sheph-oII).

Мэта: вывучэнне характару экспрэсіі генаў, кадавальных фьюжн-бялкі, якія ўключаюць АМП шэферын II каранёў пастуховай сумкі, у розных штамах *Escherichia coli*, а таксама выяўленне найбольш эфектыўнага штаму-прадуцэнта бялку CBMT-Shepherdin-oII.

У ходзе работы выяўлялі ўзровень сінтэзу ў розных штамах бактэрыі *E. coli* бялкоў CBMT-Shepherdin-oII і SUMO-Shepherdin-oII (масай 28 кДа і 17,8 кДа адпаведна), у працэсе індукцыі экспрэсіі генаў у складзе рэкамбінантных плазмід pCBMT-Shepherdin-oII 7 і pSUMO-Shepherdin-oII 7. Устаноўлена, што для бялку SUMO-Shepherdin-oII характэрны высокі ўзровень сінтэзу (каля 40 % ад агульнага клеткавага бялку) у штамах *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL, *E. coli* BL21 (DE3)pLysS і *E. coli* BL21 (DE3)Gold пры тэмпературы індукцыі экспрэсіі 37 °C. У выпадку бялку CBMT-Shepherdin-oII, найбольшы ўзровень яго сінтэзу (каля 40 % ад агульнага клеткавага бялку) назіраецца таксама пры тэмпературы 37 °C у двух штамах: *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL і *E. coli* BL21 (DE3)Gold. Выяўлена, што для фьюжн-бялкоў CBMT-Shepherdin-oII і SUMO-Shepherdin-oII найбольш эфектыўнае назапашванне (каля 30 % ад агульнага клеткавага бялку) пераважна ў растваральнай клеткавай фракцыі назіраецца ў клетках штаму *E. coli* BL21 (DE3)pLysS пры тэмпературы культывавання 37 °C. У выніку храматаграфічнай ачысткі ўстаноўлена, што з найменшымі стратамі чысціцца мэтавай бялок CBMT-Shepherdin-oII ў канцэнтрацыі 7,85 мг/мл, напрацаваны ў клетках штаму *E. coli* BL21(DE3)pLysS пры тэмпературы індукцыі 37 °C. Таксама эфектыўна, але са значнымі стратамі, адбываецца ачыстка бялку CBMT-Shepherdin-oII ў канцэнтрацыі 8,4 мг/мл, напрацаванага ў клетках штаму *E. coli* BL21 (DE3)Gold пры тэмпературы індукцыі 20 °C.

MINISTRY OF EDUCATION OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department

Y. A.
GASHCHENKO

**CHARACTER OF THE EXPRESSION OF THE ANTIMICROBIAL
PEPTIDE SCHEFERIN II AS A PART OF FUSION PROTEINS IN
DIFFERENT *ESCHERICHIA COLI* STRAINS**

Abstract to the thesis

Scientific supervisor:
senior lecturer of the Department of
Microbiology
Sautkina N.V.

Minsk, 2022

ANNOTATION

Objects of research: plasmids pSumo-Sheph-oII 7 (includes the hybrid gene *SUMO-shepherin-oII* encoding the protein Sumo-Sheph-oII), pCBMT-Sheph-oII 7 (includes the hybrid gene *CBMT-shepherin-oII* encoding the protein CBMT-Sheph-oII).

Purpose: to study the expression pattern of genes which encode fusion proteins including AMP *Capsella bursa-pastoris* roots shepherin II in different strains of *Escherichia coli* and to identify the most effective strain-producer of CBMT-Shepherin-oII protein.

In the course of the work, the level of synthesis of CBMT-Shepherin-oII and SUMO-Shepherin-oII proteins (weighing 28 kDa and 17.8 kDa, respectively) in different strains of *E. coli* bacteria was detected during the induction of gene expression in the recombinant plasmids pCBMT-Shepherin-oII 7 and pSUMO-Shepherin-oII 7. It was found that the SUMO-Shepherin-oII protein is characterized by a high level of synthesis (about 40 % of the total cellular protein) in *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL, *E. coli* BL21(DE3)pLysS and *E. coli* BL21(DE3)Gold strains at an expression induction temperature of 37 °C. In the case of CBMT-Shepherin-oII protein, the highest level of its synthesis (about 40 % of the total cellular protein) is also observed at a temperature of 37 °C in two strains: *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL and *E. coli* BL21(DE3)Gold. It was revealed that for the CBMT-Shepherin-oII and SUMO-Shepherin-oII fusion proteins, the most effective accumulation (about 30 % of the total cellular protein) is mainly observed in the soluble cell fraction in cells of the *E. coli* BL21(DE3)pLysS strain at a culture temperature of 37 °C. As a result of chromatographic purification, it was found that the target protein CBMT-Shepherin-oII is purified with the least losses at a concentration of 7.85 mg/ml, accumulated in cells of the *E. coli* BL21(DE3)pLysS strain at an induction temperature of 37 °C. Also effective, but with significant losses, is the purification of the CBMT-Shepherin-oII protein at a concentration of 8.4 mg/ml, accumulated in the cells of the *E. coli* BL21(DE3)Gold strain at an induction temperature of 20 °C.