

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

Аннотация к дипломной работе

КОРОЛЕНКО
Инна Григорьевна

**ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *ASPERGILLUS AWAMORI*,
ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВВЕДЕНИЯ В ХРОМОСОМУ
ПЛАЗМИДЫ *PH4-HYG-GLAA***

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

Минск, 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 46 с., 10 рис., 6 табл., 21 источник.

Ключевые слова: *Aspergillus awamori*, амплификация, *glaA*, глюкоамилаза, *pH4-Hyg-glaA*, выделение хромосомной ДНК, гидролиз крахмала.

Объект исследования: штаммы *Aspergillus awamori* 1/3a, *A. awamori* 1-1, *A. awamori* 1-2, *A. awamori* 1-3, *A. awamori* 1-4, *A. awamori* 1-5, *A. awamori* 1-6, *A. awamori* 1-7, *A. awamori* 1-8, *A. awamori* 1-9, плаزمида *pH4-Hyg-glaA*, праймеры *pH4-Hygf*, *pH4-Hygr*, *glaA1f*, *glaA1r*.

Цель: характеристика штаммов *A. awamori*, полученных в результате введения в хромосому плазмиды *pH4-Hyg-glaA*.

Методы исследования: микробиологические (культивирование штаммов *A. awamori*), молекулярно-генетические (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция), аналитические методы (электрофоретическое разделение), а также методы биоинформатики.

В результате исследовательской работы было определено, что наибольшая амилолитическая активность наблюдалась у штаммов, *A. awamori* 1-2 (среднее значение отношения диаметра зоны гидролиза крахмала к диаметру мицелия через сутки – 4,4, через двое суток – 4,4), *A. awamori* 1-4 (среднее значение отношения диаметра зоны гидролиза крахмала к диаметру мицелия через сутки – 4,5, через двое суток – 5,2), *A. awamori* 1-7 (среднее значение отношения диаметра зоны гидролиза крахмала к диаметру мицелия через сутки – 5,8, через двое суток – 4,6), данные штаммы имеют наибольшие зоны гидролиза крахмала по сравнению с исходным штаммом *A. awamori* 1/3a. А также, что наилучший рост мицелия, на чашках с агаризованной средой Чапека с добавлением 200 мкг/мл гигромицина В, наблюдался у мицелиальных грибов *A. awamori* 1-4, *A. awamori* 1-6, *A. awamori* 1-7, *A. awamori* 1-8, *A. awamori* 1-9. С помощью проведения ПЦР с использованием праймеров к генам глюкоамилазы и *Hyg^r* доказано присутствие дополнительной копии гена глюкоамилазы *glaA* в составе интегрированной в хромосому плазмиды *pH4-Hyg-glaA*.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 46 старонак, 10 малюнкаў, 6 табліц, 21 крыніца.

Ключавыя словы: *Aspergillus awamori*, ампліфікацыя, *glaA*, глюкоамілаза, *pH4-Hyg-glaA*, вылучэнне храмасомнай ДНК, гідроліз крухмалу.

Аб'ект даследавання: штамы *Aspergillus awamori* 1/3a, *A. awamori* 1-1, *A. awamori* 1-2, *A. awamori* 1-3, *A. awamori* 1-4, *A. awamori* 1-5, *A. awamori* 1-6, *A. awamori* 1-7, *A. awamori* 1-8, *A. awamori* 1-9, плазміда *pH4-Hyg-glaA*, праймер *pH4-Hygf*, *pH4-Hygr*, *glaA1f*, *glaA1r*.

Мэта: характарыстыка штамаў *A. awamori*, атрыманых у выніку ўвядзення ў храмасому плазміды *pH4-Hyg-glaA*.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне штамаў *A. awamori*), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, палімеразнай ланцуговая рэакцыя), аналітычныя метады (электрафарэтычны падзел), а таксама метады біяінфарматыкі.

У выніку даследчай працы было вызначана, што найбольшая амілалітычная актыўнасць назіралася ў штамаў, *A. awamori* 1-2 (сярэдняе значэнне адносіны дыяметра зоны гідролізу крухмалу да дыяметра міцэлію праз суткі - 4,4, праз двое сутак - 4,4), *A. awamori* 1-4 (сярэдняе значэнне адносіны дыяметра зоны гідролізу крухмалу да дыяметра міцэлію праз суткі - 4,5, праз двое сутак - 5,2), *A. awamori* 1-7 (сярэдняе значэнне адносіны дыяметра зоны гідролізу крухмалу да дыяметра міцэлія праз суткі - 5,8, праз двое сутак - 4,6), дадзеныя штамы маюць найбольшыя зоны гідролізу крухмалу ў параўнанні з зыходнымі штамамі *A. awamori* 1/3a. А таксама, што найлепшы рост міцэлію, на кубках з агарызаваным асяроддзем Чапека з даданнем 200 мкг/мл гіграміцыну В, назіраўся ў міцэліяльных грыбоў *A. awamori* 1-4, *A. awamori* 1-6, *A. awamori* 1-7, *A. awamori* 1-8, *A. awamori* 1-9. З дапамогай правядзення ПЦР з выкарыстаннем праймераў да генаў глюкоамілазы і *Hyg^r* даказана прысутнасць дадатковай копіі гена глюкоамілазы *glaA* ў складзе інтэграванай у храмасому плазміды *pH4-Hyg-glaA*.

ABSTRACT

Thesis 46 p., 10 figures, 6 tables, 21 sources.

Key words: *Aspergillus awamori*, amplification, *glaA*, glucoamylase, *pH4-Hyg-glaA*, chromosomal DNA isolation, starch hydrolysis.

Subject: strains of *Aspergillus awamori* 1/3a, *A. awamori* 1-1, *A. awamori* 1-2, *A. awamori* 1-3, *A. awamori* 1-4, *A. awamori* 1-5, *A. awamori* 1-6, *A. awamori* 1-7, *A. awamori* 1-8, *A. awamori* 1-9, plasmid *pH4-Hyg-glaA*, primers *pH4-Hygf*, *pH4-Hygr*, *glaA1f*, *glaA1r*.

Objective: characterization of *A. awamori* strains obtained by introducing the *pH4-Hyg-glaA* plasmid into the chromosome.

Research methods: microbiological (cultivation of *A. awamori* strains), molecular genetic (DNA isolation, polymerase chain reaction), analytical methods (electrophoretic separation), and bioinformatics methods.

As a result of the research work, it was determined that the highest amylolytic activity was observed in *A. awamori* 1-2 strains (average value of the ratio of the diameter of the starch hydrolysis zone to the mycelial diameter after one day - 4.4, after two days - 4.4), *A. awamori* 1-4 (average value of the ratio of the diameter of the starch hydrolysis zone to the mycelial diameter after one day - 4.5, after two days - 5.2), *A. awamori* 1-7 (average value of the ratio of the diameter of the starch hydrolysis zone to the mycelial diameter after one day - 5.8, after two days - 4.6), these strains have the largest starch hydrolysis zones compared with the initial strain *A. awamori* 1/3a. And also, that the best mycelial growth, on dishes with agarized Chapek's medium with addition of 200 µg/ml hygromycin B, was observed in mycelial fungi *A. awamori* 1-4, *A. awamori* 1-6, *A. awamori* 1-7, *A. awamori* 1-8, and *A. awamori* 1-9. PCR using primers to the glucoamylase and *Hyg^r* genes proved the presence of an additional copy of the *glaA* glucoamylase gene in the *pH4-Hyg-glaA* plasmid integrated into the chromosome.