

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ДОВНАР

Анастасия Александровна

ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ
ПЕПТИДОВ ЛЯГУШКИ В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ В КЛЕТАХ
БАКТЕРИЙ
ESCHERICHIA COLI

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
старший преподаватель
Н. В. Сауткина

Минск ,2024

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа: 46 страниц, 9 рисунков, 10 таблиц, 24 источника.

Ключевые слова: АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ, ЭСКУЛЕНТИН, УГЛЕВОД-СВЯЗЫВАЮЩИЙ ДОМЕН, ФЬЮЖН-БЕЛОК, КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ.

Целью работы является клонирование оптимизированных для экспрессии в клетках бактерий *E. coli* генов *esc-21opt* и *esc-20opt*, кодирующих антимикробные пептиды лягушки – эскулентин-а(1-21) и эскулентин-б(1-20), а также гибридных генов *esc20optCBMT* и *esc21optCBMT*, кодирующих соответствующие фьюжн-белки.

В результате работы клонированы гены *esc-20opt* и *esc-21opt* в составе плазмиды pET-24b(+) в клетках штамма *E. coli* XL1-Blue, что подтверждено ПЦР-анализом и секвенированием по методу Сэнгера. Также клонированы гибридные гены *esc20optCBMT* и *esc21optCBMT* в составе плазмиды pET-24b(+) в клетках штамма *E. coli* XL1-Blue, что подтверждено ПЦР-анализом и рестрикционным анализом. В результате индукции экспрессии штаммов *E. coli* BL21-Gold(DE3) pEsc20optCBMT и *E. coli* BL21-Gold(DE3) pEsc21optCBMT установили, что в клетках продуцентов синтезируются фьюжн-белки Esc20optCBMT и Esc21optCBMT массой около 25 кДа.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ

БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ

БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ

Кафедра мікрабіялогіі

ДОЎНАР

Анастасія Аляксандраўна

ЭКСПРЭСІЯ РЭКАМБІНАНТНЫЯ АНТЫМІКРОБНЫХ ПЕПТЫДАЎ

ЖАБЫ Ў СКЛАДЗЕ ФЫЮЖН-БЯЛКОЎ У КЛЕТКАХ БАКТЭРЫЙ

ESCHERICHIA COLI

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік:
старэйшы выкладчык,
Сауткіна Н. В.

Мінск, 2024
АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца: 46 старонак, 9 малюнкаў, 10 табліц, 24 крыніцы.

Ключавыя словы: АНТЫМІКРОБНЫЯ ПЕПТЫДЫ, ЭСКУЛЕНЦІН, ВУГЛЕВОД-ЗВЯЗНЫ ДОМЕН, Ф'ЮЖН-БЯЛОК, КЛАНІРАВАННЕ, ЭКСПРЭСІЯ.

Мэтай працы з'яўляецца кланаванне аптымізаваных для экспрэсіі ў клетках бактэрыі *E. coli* генаў *esc-21opt* і *esc-20opt*, кадавальных антымікробных пептыдаў жабы – эскуленцін-а (1-21) і эскуленцін-б (1-20), а таксама гібрыдных генаў *esc20optCBMT* і *esc21optCBMT*, якія кадуюць адпаведныя ф'южн-бялкі.

У выніку працы кланаваныя гены *esc-20opt* і *esc-21opt* у складзе плазміды pET-24B(+) у клетках штаму *E. coli* XL1-Blue, што пацверджана ПЦР-аналізам і секвеніраваннем па метадазе Сэнгера. Таксама кланаваныя гібрыдныя гены *esc20optCBMT* і *esc21optCBMT* ў складзе плазміды pET-24B(+) у клетках штаму *E. coli* XL1-Blue, што пацверджана ПЦР-аналізам і рестрык-цына аналізам. У выніку індукцыі экспрэсіі штамаў *E. coli* BL21-Gold (DE3) pEsc20optCBMT і *E. coli* BL21-Gold (DE3) pEsc21optCBMT ўсталявалі, што ў клетках прадукцэнтаў сінтэзуюцца ф'южн-бялкі Esc20optCBMT і Esc21optCBMT масай каля 25 кДа.

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

DOVNAR
Anastasia Alexandrovna

EXPRESSION OF RECOMBINANT ANTIMICROBIAL FROG PEPTIDES
AS PART OF FUSION PROTEINS IN BACTERIAL CELLS
ESCHERICHIA COLI

Annotation of the diploma thesis

Scientific adviser:
senior teacher,
Sautkina N. V.

Minsk, 2024

ANNOTATION

Thesis: 46 pages, 9 figures, 10 tables, 24 sources.

Keywords: ANTIMICROBIAL PEPTIDES, ESULENTIN, CARBOHYDRATE-BINDING DOMAIN, FUSION PROTEIN, CLONING, EXPRESSION.

The goal of the work is cloning of the *esc-21opt* and *esc-20opt* genes optimized for expression in *E. coli* bacterial cells, encoding the frog antimicrobial peptides esculentin-a(1-21) and esculentin-b(1-20), as well as the hybrid genes *esc20optCBMT* and *esc21optCBMT*, encoding the corresponding fusion proteins.

As a result, the *esc-20opt* and *esc-21opt* genes were cloned as part of the pET-24b(+) plasmid in cells of the *E. coli* XL1-Blue strain, which was confirmed by PCR analysis and sequencing using the Sanger method. The hybrid genes *esc20optCBMT* and *esc21optCBMT* were also cloned as part of the pET-24b(+) plasmid in cells of the *E. coli* XL1-Blue strain, which was confirmed by PCR analysis and restriction analysis. As a result of induction of expression of *E. coli* BL21-Gold(DE3) pEsc20optCBMT and *E. coli* BL21-Gold(DE3) pEsc21optCBMT has been established that fusion proteins Esc20optCBMT and Esc21optCBMT weighing about 25 kDa are synthesized in producer cells.