

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ДЖУМКОВ
Егор Андреевич

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЯ
ЭКЗОФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ У ПРИРОДНЫХ
ИЗОЛЯТОВ *BACILLUS***

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент А. В. Лагодич

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 55 страниц, 4 рисунка, 7 таблиц, 31 источник.

Ключевые слова: экзоферментативная активность, биотехнология, ферментация, организм-продуцент, изолят, *Bacillus*, культивирование микроорганизмов, протеолитическая активность, целлюлолитическая активность, амилалитическая активность, пектолитическая активность.

Объект исследования: природные изоляты грамположительных бактерий с высоким уровнем экзоферментативной активности.

Цель работы: отбор природных изолятов грамположительных микроорганизмов, обладающих повышенной экзоферментативной активностью для последующей оценки в особенности бактерии рода *Bacillus*

Методы исследования: микробиологические (выделение, рассев, культивирование на различных средах), молекулярно-генетические (выделение ДНК, ПЦР-ПДРФ-анализ).

Актуальность работы заключается в постоянной необходимости источников важных промышленных ферментов, которые используются в медицине и пищевой промышленности, в производстве косметики и текстильной продукции, в связи с чем отдается наибольший приоритет получению химически и физически устойчивых ферментов, характерных для экзоферментативной активности микроорганизмов в условиях стресса. В биотехнологии интерес к представителям рода *Bacillus* возрос одновременно с использованием методов молекулярной биологии для получения гомологичных и гетерологичных белков. В начале 1958 года был описан первый протокол, в котором *B. subtilis* использовался в качестве хозяина для рекомбинантных белков.

В ходе проведения исследования из 7 природных источников выделено 32 изолята грамположительных спорообразующих микроорганизмов. У всех образцов проведена оценка экзоферментативной активности. Анализ результатов показал, что большинство образцов проявляют протеолитическую активность, самая большая была у образцов под номерами 1А, 2А, 2В, 3В, 3D, 4С, 4D, 6В, 6Е, 7С. Амилалитическую активность в разной степени проявляли больше половины изолятов, наибольшая отмечена у 1А, 2Е, 3В, 4D, 6В и 6Е. Пектолитическая активность проявлялась у большинства полученных изолятов, образцы 1А, 2А, 2Е, 3В, 3D, 3Е, 4D, 6Е и 7С обладали наибольшей пектолитической активностью. Наибольшей целлюлолитической активностью обладали колонии изолятов 2Е, 6В и 7С. Из 32 образцов отобрано 10 (1А, 2А, 2Е, 3В, 3D, 3Е, 4D, 6В, 6D и 7С), обладающих высоким биотехнологическим потенциалом. При помощи ПЦР-ПДРФ-анализа проведена проверка полученных изолятов на принадлежность к роду *Bacillus*.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 55 старонак, 4 рысункі, 7 табліц, 31 крыніц.

Ключавыя словы: экзаферментатыўная актыўнасць, біятэхналогія, ферментацыя, арганізм-прадцэнт, ізаляты, *Bacillus*, культываванне мікраарганізмаў, пратэалітычная актыўнасць, целюлалітычная актыўнасць, амілалітычная актыўнасць, пекталітычная актыўнасць.

Аб'ект даследавання: прыродныя ізаляты грамстаноўчых бактэрый з высокім узроўнем экзаферментатыўнай актыўнасці.

Мэта працы: адбор прыродных ізалятаў грамстаноўчых мікраарганізмаў, якія валодаюць падвышанай экзаферментатыўнай актыўнасцю для наступнай адзнакі асабліва бактэрыі роду *Bacillus*

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (вылучэнне, рассеў, культываванне на розных асяроддзях), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, ПЦР-ПДРФ-аналіз).

Актуальнасць работы складаецца ў пастаяннай неабходнасці крыніц важных прамысловых ферментаў, якія выкарыстоўваюцца ў медыцыне і харчовай прамысловасці, у вытворчасці касметыкі і тэкстыльнай прадукцыі, у сувязі з чым аддаецца найбольшы прыярытэт атрымання хімічна і фізічна ўстойлівых ферментаў, характэрных для экзаферментатыўнай актыўнасці мікраарганізмаў ва ўмовах стрэсу. У біятэхналогіі цікавасць да прадстаўнікоў роду *Bacillus* узрасла адначасова з выкарыстаннем метадаў малекулярнай біялогіі для атрымання гамалагічных і гетэралагічных бялкоў. У пачатку 1958 года быў апісаны першы пратакол, у якім *B. subtilis* выкарыстоўваўся ў якасці гаспадара для рэкамбінантных бялкоў.

У ходзе правядзення даследавання з 7 прыродных крыніц выдзелена 32 ізаляты грамстаноўчых спораўтваральных мікраарганізмаў. Ва ўсіх узорах праведзена ацэнка экзаферментатыўнай актыўнасці. Аналіз вынікаў паказаў, што большасць узораў праяўляюць пратэалітычную актыўнасць, самая вялікая была ва ўзораў пад нумарамі 1А, 2А, 2В, 3В, 3D, 4С, 4D, 6В, 6Е, 7С. Амілалітычную актыўнасць у рознай ступені выяўлялі больш за палову ізалятаў, найбольшая адзначана ў 1А, 2Е, 3В, 4D, 6В і 6Е. Пекталітычная актыўнасць выяўлялася ў большасці атрыманых ізалятаў, узоры 1А, 2А, 2Е, 3В, 3D, 3Е, 4D, 6Е і 7С валодалі найбольшай пекталітычнай актыўнасцю. Найбольшай целюлалітычнай актыўнасцю валодалі калоніі ізалятаў 2Е, 6В і 7С. З 32 узораў адабрана 10 (1А, 2А, 2Е, 3В, 3D, 3Е, 4D, 6В, 6D і 7С), якія валодаюць высокім біятэхналагічным патэнцыялам. Пры дапамозе ПЦР-ПДРФ-аналізу праведзена праверка атрыманых ізалятаў на прыналежнасць да роду *Bacillus*.

ABSTRACT

Diploma project 55 pages, 4 figures, 7 tables, 31 sources.

Keywords: exoenzymatic activity, biotechnology, fermentation, producer organism, isolate, *Bacillus*, cultivation of microorganisms, proteolytic activity, cellulolytic activity, amylolytic activity, pectolytic activity.

Object of study: natural isolates of gram-positive bacteria with a high level of exoenzymatic activity.

Purpose of the work: selection of natural isolates of gram-positive microorganisms with increased exoenzymatic activity for subsequent evaluation, especially bacteria of the genus *Bacillus*

Research methods: microbiological (isolation, sieving, cultivation on various media), molecular genetic (DNA extraction, PCR-RFLP analysis).

The relevance of the work lies in the constant need for sources of important industrial enzymes that are used in medicine and the food industry, in the production of cosmetics and textile products, and therefore the highest priority is given to obtaining chemically and physically stable enzymes characteristic of the exoenzymatic activity of microorganisms under stress conditions. In biotechnology, interest in representatives of the genus *Bacillus* has increased simultaneously with the use of molecular biology methods to obtain homologous and heterologous proteins. In early 1958, the first protocol using *B. subtilis* as a host for recombinant proteins was described.

During the study, 32 isolates of gram-positive spore-forming microorganisms were isolated from 7 natural sources. All samples were assessed for exoenzymatic activity. Analysis of the results showed that most samples exhibit proteolytic activity, the highest was in samples numbered 1A, 2A, 2B, 3B, 3D, 4C, 4D, 6B, 6E, 7C. More than half of the isolates exhibited amylolytic activity to varying degrees; the highest was observed in 1A, 2E, 3B, 4D, 6B and 6E. Pectolytic activity was manifested in the majority of the obtained isolates, samples 1A, 2A, 2E, 3B, 3D, 3E, 4D, 6E and 7C had the highest pectolytic activity. Colonies of isolates 2E, 6B and 7C had the greatest cellulolytic activity. Of the 32 samples, 10 (1A, 2A, 2E, 3B, 3D, 3E, 4D, 6B, 6D and 7C) with high biotechnological potential were selected. Using PCR-RFLP analysis, the obtained isolates were checked for belonging to the genus *Bacillus*.