

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ПЛАСТИНИНА Оксана Викторовна

**ПОЛУЧЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО БЕЛКА E2 ВИРУСА
ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В КЛЕТКАХ
*ESCHERICHIA COLI***

Магистерская диссертация
Специальность 7-06-0511-03 Микробиология

Научный руководитель:
Мандрик Мария Ивановна
к.б.н., доцент

Допущена к защите
«___» _____ 2024 г.
Зав. кафедрой микробиологии
Василенко Светлана Леонидовна
кандидат биологических наук

Минск, 2024

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Ключевые слова: *ESCHERICHIA COLI*, РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ, ГЛИКОПРОТЕИН E2, DADB, КЛОНИРОВАНИЕ, ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЭКСПРЕССИИ, ИНДУКЦИЯ, ИОННООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

Цель и задачи исследования

Целью работы является создание технологии получения модифицированного белка E2 (DADB) вируса диареи КРС в клетках *E. coli*.

Задачи исследования:

- 1) оптимизировать условия получения белка DADB в клетках *E. coli*;
- 2) разработать протокол солюбилизации и рефолдинга белка DADB;
- 3) разработать протокол хроматографической очистки белка DADB.

Объект исследования: иммунодоминантные домены А и В белка E2 вирусной диареи крупного рогатого скота.

Предмет исследования: экспрессия последовательности, кодирующей главные антигенные домены белка E2 вируса диареи КРС, солюбилизация, рефолдинг и хроматографическая очистка белка DADB.

Методы исследования: микробиологические, биохимические, молекулярно-генетические, биоинформатические.

В результате проведенных исследований получен белок DADB, разработаны схемы экспрессии рекомбинантного гена и очистки целевого белка, что в совокупности составляет технологию производства целевого рекомбинантного белка по признакам «С12Q – генноинженерные технологии», относящуюся к VI технологическому укладу.

В первой части диссертации представлен аналитический обзор литературы, включающий части о распространении, вариабельности, патогенезе и морфологии вируса диареи КРС. Вторая часть диссертационной работы включает сведения об использованных материалах и методах исследования. В третьей части представлены результаты работы и сформулированы выводы.

Полный объем магистерской диссертации составляет 40 страниц, в их состав включены 14 иллюстраций и 8 таблиц. Для написания работы использовано 44 библиографических источника.

АГУЛЬНАЯ ХАРАКТЕРЫСТЫКА ПРАЦЫ

Ключавыя словы: *ESCHERICHIA COLI*, РЭКАМБІНАНТНЫЯ БЯЛКІ, ГЛКАПРАТЭІН E2, DADB, КЛАНАВАННЕ, АПТЫМІЗАЦЫЯ УМОЎ ЭКСПРЭСІІ, ІНДУКЦЫЯ, ІЁННААБМЕННАЯ ХРАМАТАГРАФІЯ.

Мэта і задачы даследавання

Мэтай працы з'яўляецца стварэнне тэхналогіі атрымання мадыфікаванага бялку E2 (DADB) віруса дыярэі буйной рагатай жывёлы (БРЖ) ў клетках *Escherichia coli*.

Задачы даследавання:

- 1) аптымізаваць ўмовы атрымання бялку DADB ў клетках *E. coli*;
- 2) распрацаваць пратакол салюбілізацыі і рэфолдынга бялку DADB;
- 3) распрацаваць пратакол храматаграфічнай ачысткі бялку DADB.

Аб'ект даследавання: імунадамінантныя дамены А і В бялку E2 віруснай дыярэі буйной рагатай жывёлы.

Прадмет даследавання: экспрэсія паслядоўнасці, кадавальныя галоўныя антыгенныя дамены бялку E2 віруса дыярэі БРЖ, салюбілізацыя, рэфолдынг і храматаграфічная ачыстка бялку DADB.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, біяхімічныя, малекулярна-генетычныя, біяінфарматычныя.

У выніку праведзеных даследаванняў атрыманы бялок DADB, распрацаваны схемы экспрэсіі рэкамбінантныя гена і ачысткі мэтавага бялку, што ў сукупнасці складае тэхналогію вытворчасці мэтавага рэкамбінантнага бялку па прыкметах «C12Q – генноинженерные тэхналогіі», якая адносіцца да VI тэхналагічнага ўкладу.

У першай частцы дысертацыі прадстаўлены аналітычны агляд літаратуры, які ўключае часткі аб распаўсюдзе, варыябельнасці, патагенезе і марфалогіі віруса дыярэі БРЖ. Другая частка дысертацыйнай працы ўключае звесткі аб выкарыстаных матэрыялах і метадах даследавання. У трэцяй частцы прадстаўлены вынікі працы і сфармуляваны высновы.

Поўны аб'ём магістарскай дысертацыі складае 40 старонак, у іх склад уключаны 14 ілюстрацый і 8 табліц. Для напісання працы выкарыстана 44 бібліяграфічных крыніцы.

GENERAL CHARACTERISTICS OF THE WORK

Keywords: *ESCHERICHIA COLI*, RECOMBINANT PROTEINS, GLYCOPROTEIN E2, DADB, CLONING, OPTIMIZATION OF EXPRESSION CONDITIONS, INDUCTION, ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY.

The aim and objectives of the research

The aim of the work is to create a technology for the production of modified protein E2 (DADB) of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in *Escherichia coli* cells.

Research objectives:

- 1) to make the proper conditions for obtaining the modified protein in *E. coli* cells;
- 2) to develop a procedure for solubilization and refolding of the modified protein;
- 3) to develop a procedure for chromatographic purification of the modified protein.

The object of the study: immunodominant domains A and B of the E2 protein of Bovine Viral Diarrhea Virus.

The subject of the study: expression of the sequence encoding the main antigenic domains of BVDV protein E2, solubilization, refolding and chromatographic purification of the DADB protein.

Research methods: microbiological, biochemical, molecular genetic, bioinformatic.

As a result of the conducted research, the DADB protein was obtained, schemes for the expression of the recombinant gene and purification of the target protein were developed, which together makes up the technology for the production of the target recombinant protein according to the characteristics of "C12Q – genetic engineering technologies", related to the VI technological order.

The first part of the dissertation presents an analytical review of the literature, including parts on the prevalence variability, pathogenesis and morphology of the BVDV. The second part of the dissertation work includes information about the used materials and research methods. In the third part, the results of the work are presented and conclusions are formulated.

The full volume of the degree work is 40 pages, which include 14 illustrations and 8 tables. 44 bibliographic sources were used to write the work