

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ВАЙВАДАЙТЕ
Аурелия Аруно

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМИКРОБНОГО
ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА - 1В В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ
***ESCHERICHIA COLI* В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ**

Аннотация к дипломной работа

Научный руководитель:
ассистент, м.н.с. НИЛ
Биотехнологии
Конева О.М.

Минск, 2025

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа, 47 страниц, 13 рисунков, 10 таблиц, 40 источников.
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЭСКУЛЕНТИНА - 1В В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, эскулентин-1b, нуклеотидная последовательность *sumo*, нуклеотидная последовательность *cbmt*, *Escherichia coli*.

Объекты исследования: оптимизированная нуклеотидная последовательность гена эскулентина-1b (*esc-1bOpt*), нуклеотидная последовательность *sumo*, нуклеотидная последовательность *cbmt*, плазмида pET-24b(+), бактерии штаммов *E. coli* XL1-Blue, *E. coli* BL21-Gold(DE3).

Цель исследования: получение рекомбинантного антимикробного пептида эскулентина - 1b в клетках бактерий *Escherichia coli* в составе фьюжн-белков.

Методы исследования: микробиологические, молекулярно-биологические, биохимические, аналитические.

Полученные результаты: в ходе проделанной работы клонирован по сайтам рестрикции NdeI и EcoRI ген *esc-1bopt*, кодирующий антимикробный пептид эскулентин-1b в составе вектора pET24b(+) в клетках штамма *E. coli* XL1-Blue. Решением данной проблемы выступила рекомбинантная экспрессия в *E. coli* фьюжн-белка, включающего эскулентин-1b, который изолирован в тельцах включения.

Сконструирован гибридный ген *sumo-esc-1bopt1*, кодирующий фьюжн-белок, который на N-конце содержит растворимый анионный белок дрожжей SUMO с гистиридиновой меткой, а на C-конце – катионный пептид эскулентин-1b (*Esc-1bOpt1*).

Получен гибридный ген *cbmt-esc-1bopt1*, кодирующий белок содержащий углевод-связывающий модуль CBM9-2 термофильных бактерий вида *T. maritima*, короткий пролин-треониновый линкер (PT) и сайт для TEV-протеазы (TEV).

После индукции экспрессии в полученных клонах *E. coli* BL21-Gold(DE3) pSumo-Esc-1bOpt и *E. coli* BL21-Gold(DE3) pCBMT-Esc-1bOpt обнаружен синтез целевого фьюжн-белка *cbmt-esc-1bopt1* (29,5 кДа). Синтез белка белка *sumo-esc-1bopt1* (19,4 кДа), не обнаружен, в связи с чем требуются дополнительные исследования.

Практическая значимость исследования: полученные результаты могут использоваться для разработки медицинских препаратов.

АННАТАЦЫЯ

Дыпломная праца, 47 старонак, 13 малюнкаў, 10 табліц, 40 крыніц.

АТРЫМАННЕ РЭКАМБІНАНТНАГА АНТЫМІКРОБНАГА ПЕПТЫДА ЭСКУЛЕНТЫНА - 1b Ў КЛЕТКАХ БАКТЭРЫЙ *ESCHERICHIA COLI* Ў СКЛАДЗЕ ФЬЮЖН-БЯЛКОЎ.

Аб'екты даследавання: аптымізаваная нуклеотыдная паслядоўнасць гена эскулентына-1b (*esc-1bopt*), нуклеотыдная паслядоўнасць *sumo*, нуклеотыдная паслядоўнасць *cbmt*, плазміды *pet-24b (+)*, бактэрыі штамаў *E.coli* XL1-Blue, *E.coli* BL21-Gold (DE3).

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, малекулярна-біялагічныя, біяхімічныя, аналітычныя.

Атрыманыя вынікі: у ходзе праведзенай работы кланаваны па сайтах рэстрыкцыі NdeI і EcoRI ген *esc-1bopt*, які кадуе антымیکробны пептыд эскулентын-1b ў складзе вектара *pet24b(+)* у клетках штаму *E.coli* XL1-Blue. Рашэннем дадзенай праблемы выступіла рэкамбінантная экспрэсія ў *E.coli* фьюжн-бялку, які ўключае эскулентын-1b, які ізаляваны ў цялятах ўключэння.

Сканструяваны гібрыдны ген *sumo-esc-1bopt1*, які кадуе фьюжн-бялок, на n-канцы якога змяшчае растваральны аніённы бялок дрожджаў *sumo* з гистидиновой пазнакай, а на c – канцы-катыённы пептыд эскулентын-1b (*esc-1bopt1*).

Атрыманы гібрыдны ген *cbmt-esc-1bopt1*, які кадуе бялок які змяшчае углеводсвязывающий модуль CBM9-2 термофильных бактэрыі віду *T. maritima*, кароткі пралін-трэанінавы лінкер (PT) і сайт для TEV-протеазы (TEV).

Пасля індукцыі экспрэсіі ў атрыманых клонах *E.coli* BL21-Gold (DE3) *pSumo-Esc-1bOpt* і *E.coli* BL21-Gold (DE3) *pCBMT-Esc-1bOpt* выяўлены сінтэз мэтавага фьюжн-бялку *cbmt-esc-1bopt1* (29,5). Сінтэз бялку бялку *sumo-esc-1bopt1* (19,4 кДа), не выяўлены, у сувязі з чым патрабуюцца дадатковыя даследаванні.

Практычная значнасць даследавання: атрыманыя вынікі могуць выкарыстоўвацца для распрацоўкі медыцынскіх прэпаратаў.

ANNOTATION

Graduation work, 47 pages, 13 figures, 10 tables, 40 sources.

PRODUCTION OF RECOMBINANT ANTIMICROBIAL PEPTIDE ESCULENTIN - 1B IN *ESCHERICHIA COLI* BACTERIAL CELLS AS PART OF FUSION PROTEINS.

Objects of research: optimized nucleotide sequence of esculentin-1b (*esc-1bOpt*) gene, *sumo* nucleotide sequence, *cbmt* nucleotide sequence, pET-24b(+) plasmid, *E. coli* XL1-Blue and *E. coli* BL21-Gold(DE3) bacterial strains.

Purpose of research: obtain the recombinant antimicrobial peptide esculentin - 1b in the cells of *E. coli* bacteria as part of fusion proteins.

Research methods: microbiological, molecular biological, biochemical, analytical.

The results obtained: in the course of the work performed, the *esc-1bopt* gene encoding the antimicrobial peptide esculentin-1b as part of the pET24b(+) vector was cloned at the NdeI and EcoRI restriction sites in cells of the *E. coli* XL1-Blue strain. The solution to this problem was the recombinant expression of a fusion protein in *E. coli*, including esculentin-1b, which is isolated in inclusion bodies.

The *sumo-esc-1bopt1* hybrid gene encoding a fusion protein has been constructed, which contains a soluble SUMO yeast anionic protein with a histidine label at the N-terminus, and the cationic peptide esculentin-1b (Esc-1bOpt1) at the C-terminus.

The *cbmt-esc-1bopt1* hybrid gene encoding a protein containing the CBM9-2 carbohydrate binding module of *T. maritima* thermophilic bacteria, a short proline threonine linker (RT), and a site for TEV protease (TEV) was obtained.

After induction of expression in the obtained *E. coli* BL21-Gold(DE3) pSumo-Esc-1bOpt and *E. coli* BL21-Gold(DE3) pCBMT-Esc-1bOpt, synthesis of the target fusion protein cbmt-esc-1bopt1(29.5 kDa) was detected. Synthesis of the protein sumo-esc-1bopt1(19.4 kDa) was not detected, therefore, additional studies are required.

Practical significance of the study: the results obtained can be used for the development of medicines.