

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

Аннотация к дипломной работе

ПАРШУТА
София Сергеевна

ПОЛУЧЕНИЕ БЕЛКА E2 ВИРУСА ДИАРЕИ КРУПНОГО
РОГАТОГО СКОТА 1-ГО ТИПА В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ
ESCHERICHIA COLI

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент кафедры микробиологии
Кулешова Ю.М.

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 50 с., 15 рис., 10 табл., 49 источников.

Ключевые слова: вирусная диарея КРС, *Pestivirus*, BVDV-1, белок E2.

Объект исследований: ген *e2p1*, кодирующий белок E2 оболочки вируса диареи крупного рогатого скота 1-го типа.

Цель: клонирование гена, кодирующего белок E2 вируса диареи крупного рогатого скота 1-ого типа, и анализ его экспрессии в клетках бактерий *Escherichia coli*.

Материалы и методы: микробиологические (культивирование микроорганизмов), молекулярно-генетические (выделение ДНК, ПЦР, рестрикция, лигирование, электрофорез в агарозном геле, кальциевая трансформация, индуцибельная экспрессия, ДСН-ПААГ электрофорез).

В результате исследовательской работы на основе вектора pET-24b(+) получены гибридные плазмиды pBVDV1-E2 и pBVDV1-SUMO-E2, несущие в своем составе ген *e2p1* и ген *e2p1*, объединенный с последовательностью *sumo*, кодирующей белок малый убиквитин-подобный модификатор дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, соответственно. Полученными рекомбинантными конструкциями трансформировали ряд экспрессионных штаммов *Escherichia coli*. В результате индукции экспрессии гена *e2p1* и фьюжн-конструкции *sumo-e2p1* в клетках штаммов *E. coli* BL21(DE3), *E. coli* BL21(DE3)pLysS, *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL, *E. coli* BL21-Gold(DE3) при различных условиях культивирования целевой белок не выявлен.

Полученные результаты подтверждают успешное клонирование гена и создание рекомбинантных конструкций, однако указывают на необходимость дальнейшей оптимизации условий экспрессии или выбора альтернативных систем для получения полноценного белка E2.

Результаты и методы данной дипломной работы являются достоверными.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 50 старонкі, 15 малюнкаў, 10 табліц, 49 крыніц.

Ключавыя словы: вірусная дыярэя КРС, *Pestivirus*, BVDV-1, бялок E2.

Аб'ект даследавання: ген *e2p1*, які кодаваць бялок E2 абалонкі віруса дыярэі крупнага рогатага скота 1-га тыпу.

Мэта даследвання: кланаванне гена, кадавальнага бялок E2 віруса дыярэі буйнай рагатай жывёлы 1-га тыпу, і аналіз яго экспрэсіі ў клетках бактэрыі *Escherichia coli*.

Матэрыялы і метады: мікробіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), малекулярна-генетычныя (выдзяленне ДНК, ПЦР, рэстрыкцыя, лігаванне, электрофорез у агарозным геле, кальцыевая трансфармацыя, індцыруемая экспрэсія, ДНК-ПААГ электрофорез).

У выніку даследчай работы на аснове вектара pET-24b(+) атрыманы гібрыдныя плазміды pBVDV1-E2 і pBVDV1-SUMO-E2, якія нясуць у сваім складзе ген *e2p1* і ген *e2p1*, аб'яднаны з паслядоўнасцю *sumo* — кодуючай малую убівіцін-падобную мадзіфікацыю дрожджаў *Saccharomyces cerevisiae*. Атрыманымі рэкамбінантнымі канструкцыямі трансфармавалі шэраг экспрэсійных штаммаў *Escherichia coli*. У выніку індукцыі экспрэсіі гена *e2p1* і ф'южн-канструкцыі *sumo-e2p1* у клетках штаммаў *E. coli* BL21(DE3), *E. coli* BL21(DE3)pLysS, *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL, *E. coli* BL21-Gold(DE3) пры розных умовах культывавання цэльны бялок не быў выяўлены.

Атрыманныя вынікі пацвярджаюць паспяховае кланіраванне гена і стварэнне рэкамбінантных канструкцый, аднак указваюць на неабходнасць далейшай аптымізацыі ўмоў экспрэсіі або выбару альтэрнатыўных сістэм для атрымання поўнацэннага бялка E2.

Вынікі і метады дадзенай дыпломнай працы з'яўляюцца дакладнымі.

ABSTRACT

Diploma thesis 50 pages, 15 figures, 10 tables, 49 references.

Keywords: Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Pestivirus, BVDV-1, E2 protein.

Object of the research: The *e2p1* gene encoding the E2 envelope protein of BVDV-1 (Bovine Viral Diarrhea Virus, type 1).

The aim of the reaserch: cloning of the gene encoding the E2 protein of bovine diarrhea virus type 1 and analysis of its expression in *Escherichia coli* bacterial cells.

Materials and Methods: Microbiological methods (microorganism cultivation), molecular genetic techniques (DNA extraction, PCR, restriction digestion, ligation, agarose gel electrophoresis, calcium chloride transformation, inducible expression, DNA-PAGE electrophoresis).

As a result of the research work based on the pET-24b(+) vector, hybrid plasmids pBVDV1-E2 and pBVDV1-SUMO-E2 were obtained, carrying the *e2p1* gene and the *e2p1* gene fused with the sumo sequence — encoding a small ubiquitin-like modifier from *Saccharomyces cerevisiae*. These recombinant constructs were used to transform several expression strains of *Escherichia coli*. However, induction of *e2p1* gene expression and the fusion construct *sumo-e2p1* in cells of strains *E. coli* BL21(DE3), *E. coli* BL21(DE3)pLysS, *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL, and *E. coli* BL21-Gold(DE3) under various cultivation conditions did not result in detectable target protein.

The obtained results confirm successful cloning of the gene and creation of recombinant constructs but indicate that further optimization of expression conditions or selection of alternative systems is necessary to produce full-length E2 protein.

The results and methods of this thesis are reliable.