

Министерства здравоохранения Республики Беларусь в иммунохимических средствах пренатального скрининга, а также диагностики и мониторингирования ряда онкологических заболеваний.

КЛОНИРОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ СНАР-ДОМЕНА ЭНДОЛИЗИНА БАКТЕРИОФАГА К

С. Г. ГОЛЕНЧЕНКО (асп.), В. А. ПРОКУЛЕВИЧ (д. биол.н.), БГУ

Проблематика. Одной из наиболее острых проблем современной терапии бактериальных инфекций является повсеместное распространение мультирезистентных штаммов патогенных микроорганизмов, в частности, одного из основных инфекционных агентов человека и животных – *Staphylococcus aureus*. Перспективным способом решения данной проблемы является использование лизирующих ферментов (эндолизин) бактериофагов. Из множества известных фаговых эндолизин, активных в отношении *S. aureus*, одним из наиболее изученных является лизирующий фермент бактериофага К (LisK). Известно, что основным носителем активности данного белка является N-концевой домен, представленный цистеин, гистидин-зависимой аминогидролазой/пептидазой (СНАР).

Цель работы. Получить устойчиво наследуемую генетическую конструкцию и штамм *Escherichia coli*, для высокоэффективной экспрессии последовательности детерминирующей синтез СНАР-содержащего белка.

Объект исследования. Последовательность гена эндолизина бактериофага К и её производные.

Использованные методики. ПЦР, электрофорез в агарозном геле и ПААГ-SDS электрофорез, турбидиметрия, хроматография.

Научная новизна. Экспрессия чужеродных последовательностей в клетках *E. coli* связана с рядом проблем, в число которых входят низкая эффективность экспрессии из-за использования редких кодонов и низкий выход активного продукта из-за образования телец включения. Методы, применяемые для преодоления данных препятствий, индивидуальны для каждой отдельной последовательности.

Полученные научные результаты и выводы. Последовательность, детерминирующая синтез N-концевого участка LisK из 174-х аминокислотных остатков (СНАР-домен), была получена путём обратной трансляции с наилучшим для *E. coli* использованием кодонов, синтезирована посредством ПЦР из отдельных праймеров и клонирована в составе экспрессионного вектора pET24b(+) в клетках *E. coli* BL21 (λDE3). После индукции клетки разрушали на проточном дезинтеграторе EmulsiFlex-C5. Тельца включения собирали центрифугированием, отмывали, растворяли в буфере с 6 М гуанидингидрохлоридом, далее, постепенно понижая концентрацию гуанидингидрохлорида до 1М, проводили рефолдинг, после чего белок очищали на колонке, заполненной Sephadex G25. Полученный таким образом продукт обладал высокой активностью, обеспечивая за 30 мин. более чем десятикратное падение ОП600 (с 0,31 до 0,029). Таким образом, получен высокоактивный антистафилококковый пептид.

Практическое применение полученных результатов. Полученный антибактериальный пептид может быть использован в составе как моно-, так и комплексных препаратов для терапии вызываемых *S. aureus* заболеваний животных и человека, в частности маститов у КРС.

ПОИСК ЦИТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РЯДУ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ 11-ДЕЗОКСИ-ПРОСТАГЛАНДИНА E₁

С. В. ГРИНЕВИЧ (студ. 5 к.), О. И. ГУБИЧ (к. биол. н.), БГУ

Проблематика. Данная работа направлена на исследование гепатопротекторных свойств новой коллекции синтетических простаноидов группы Е и биохимических механизмов их реализации in vitro.

Цель работы. Изучение цитопротекторного действия аналогов 11-дезоксипростагландина E₁ на клеточной модели повреждения печени хлороформом.

Объект исследования. Синтетические простаноиды группы Е, модифицированные по альфа- и омега-цепям.

Использованные методики. Перфузионный метод выделения гепатоцитов, спектрофотометрические методы определения активности внутриклеточных ферментов, триеновых конъюгатов и сульфгидрильных групп, метод световой микроскопии, статистические методы.

Научная новизна. В работе использована новая коллекция модифицированных простаноидов, изучение свойств которых проведено на оригинальной клеточной модели.

Полученные научные результаты и выводы. Установлены дозозависимые защитные эффекты 8 аналогов 11-дезоксипростагландина E₁ на плазматические и внутриклеточные мембраны гепатоцитов. Максимально эффективными оказались концентрации простаноидов равные 1×10^{-8} - 1×10^{-6} моль/л. Максимально выраженными защитными свойствами обладали соединения, характеризующиеся наличием C₁₄-циклогександионового фрагмента или C₄-пиридиновой группы и C₁₅-фенила, соединенного в ω-цепи с изоксазольной группой. Замена фенильной структуры в ω-цепи на C₁₅-пиридильную, как и замена оксогрупп в положениях 9 и 15 на гидроксигруппы приводила к снижению защитных свойств простаноидов. Показана способность исследованных простаноидов снижать накопление триеновых конъюгатов в мембранах гепатоцитов и достоверно повышать внутриклеточный уровень восстановленных SH-групп, предотвращая, таким образом, свободнорадикальные процессы в гепатоцитах после их обработки хлороформом.

Практическое применение полученных результатов. Полученные результаты могут оказаться полезными для дальнейшего планирования направленного органического синтеза высокоактивных и