

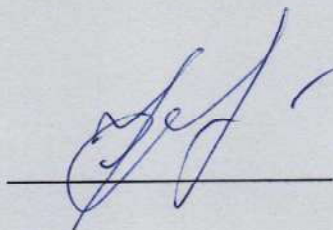
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКА ДЕЛЕНИЯ FtsZ С МАЛЫМ
БЕЛКОМ ТЕПЛОВОГО ШОКА IbpA ИЗ *ACHOLEPLASMA*
LAIDLAWII

Студент 4 курса

«6» мая 2020 г.

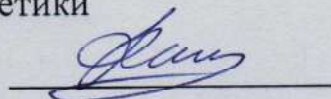


(М.С. Федорова)

Научные руководители:

д.б.н., доцент кафедры генетики

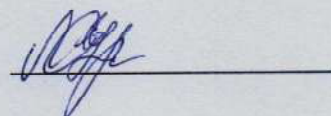
«6» мая 2020 г.



(А.Р. Каюмов)

м.н.с.

«6» мая 2020 г.



(Л.С. Чернова)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«6» мая 2020 г.



(В.М. Чернов)

Казань-2020

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Бактериальный цитокинез, как основа деления	7
1.2 Бактериальные гены деления.....	8
1.2.1 Структура белка FtsZ	10
1.2.2 Образование Z-кольца.....	12
1.2.3 ГТФ - зависимая регуляция FtsZ	15
1.2.4 Белок FtsZ в микоплазмах.....	17
1.3 Характеристика малых белков теплового шока	19
1.3.1 Функции малых белков теплового шока.....	19
1.3.2 Структура малых белков теплового шока.....	19
1.3.3 Регуляция мБТШ	20
1.3.4 Малые белки теплового шока у микоплазм.....	22
Заключение	24
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	25
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	25
2.1 Штаммы и плазмиды.....	25
2.2 Питательные среды и условия культивирования бактерий	26
2.3 Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	27
2.4 Трансформация клеток <i>E. coli</i>	28
2.5 Электрофорез ДНК.....	28
2.6 Гиперпродукция белков в клетках <i>E. coli</i> и получение клеточных экстрактов.....	29
2.7 Очистка белков на Ni-NTA сефарозе	29
2.8 Очистка белков на Strep-tactin сефарозе	30
2.9 Диализ белков.....	30
2.10 Электрофорез белков в денатурирующих условиях.....	31
2.11 Окрашивание белковых гелей кумасси синим	31

2.12 Анализ поверхностного плазмонного резонанса.....	31
2.13 Определение активности β -галактозидазы	32
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	33
3.1 Верификация взаимодействия белка IbrA с белком FtsZ <i>in vitro</i> с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса.....	33
3.2 Участие N- и C- концевых мотивов A/IbrA при взаимодействии с белком FtsZ <i>in vitro</i>	Ошибка! Закладка не определена.
3.3 Верификация взаимодействия белка A/IbrA с белком FtsZ <i>in vivo</i> с помощью бактериальной двугибридной системы.....	37
ВЫВОДЫ	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	42

ВВЕДЕНИЕ

Деление клетки является одним из самых сложных биологических процессов, в котором участвует огромное количество белков. В бактериальном цитокинезе участвуют гены кластера *dcw*. С упрощением организации бактериальной клетки, количество генов кластера *dcw*, участвующих в цитокинезе, уменьшается, однако ген *ftsZ* обнаружен в геномах даже тех бактерий, которые утратили практически всё содержимое кластера. Таким примером служит микоплазма *Acholeplasma laidlawii*, в геноме которой присутствует лишь один белок деления с ГТФазной активностью - FtsZ. У сложно организованных прокариот FtsZ способен формировать дивисому с участием вспомогательных белков (FtsA, ZipA, FtsW и др.).

В геноме всех бактерий присутствуют специальные механизмы для выживания в неблагоприятных условиях, которые приводят к нарушению структур и функций белков, а порой и клеточной гибели. В клетках существуют молекулярные механизмы защиты - малые белки теплового шока (мБТШ), которые представляют собой первую линию защиты. Взаимодействуя с неправильно свёрнутыми белками и стабилизируя их структуру, они предохраняют частично денатурированные белки от дальнейшей агрегации. Размер мБТШ варьирует от 12 кДа до 42 кДа, чаще - в диапазоне 15–22 кДа, поэтому их еще называют семейством БТШ20. Большую активность мБТШ проявляют при взаимодействии с другими шаперонами, обеспечивая таким образом рефолдинг белка и восстановление его функциональной активности.

Присутствие IbpA и FtsZ у микоплазм со значительно редуцированным геномом указывает на их фундаментальное значение для устойчивости данных бактерий к неблагоприятным факторам и способности к размножению. Вероятно, IbpA участвует в стабилизации и защите белковых молекул, участвующих в цитокинезе. Ранее была показана ко-элюция белков IbpA и FtsZ из клеточного экстракта ахолоплазмы.

Целью данной работы было охарактеризовать взаимодействие белков FtsZ и *AlpA* *in vitro*.


В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Получить штаммы-продуценты *E. coli* рекомбинантных белков FtsZ и *AlpA* и очистить белки с помощью аффинной хроматографии
- 2) Оценить взаимодействия рекомбинантных FtsZ и *AlpA* с помощью плазмонного поверхностного резонанса и установить значение N- и C-концевых мотивов *AlpA* для взаимодействия с белком FtsZ *in vitro*.
- 3) Охарактеризовать закономерности взаимодействия белков FtsZ и *AlpA* *in vivo* с помощью бактериальной двугибридной системы



СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.Структура

Автор работы	Фёдорова Марина Сергеевна
Подразделение	
Тип работы	Не указано
Название работы	ДипломАнтиплагиат
Название файла	PlagiatDPLM .docx
Процент заимствования	5.63 %
Процент самоцитирования	0.00 %
Процент цитирования	0.54 %
Процент оригинальности	93.84 %
Дата проверки	19:20:44 16 мая 2020г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по elibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по Wiley (RuEn); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов; Коллекция Wiley
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович ФИО проверяющего
Дата подписи	16.05.2020  Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.