

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
“ПОЛЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ”

Кафедра биотехнологии

Допущено к защите

Заведующий кафедрой

_____ Е.М. Волкова

_____ 2022

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

на тему:

Антибактериальная активность рекомбинантного лактоферрина человека (на базе РУП “Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству”)

Студент

5 курс, гр. 17БТ-2

(подпись)

Ксения Александровна Минюк

_____ 2022

Научный руководитель

Доцент кафедры

биотехнологии, кандидат

сельскохозяйственных наук

(подпись)

Александр Викторович Шашко

_____ 2022

ПИНСК 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 69 страниц, 23 таблицы, 1 формула, 33 рисунка, 91 источник.

Ключевые слова: ЛАКТОФЕРРИН, РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ.

Объекты исследования:

1. рекомбинантный человеческий лактоферрин, полученный из свежей сыворотки трансгенных коз;
2. рекомбинантный человеческий лактоферрин, полученный из замороженной сыворотки трансгенных коз;
3. лактоферрин, полученный из козьей сыворотки.

Цель работы: изучение антибактериальной активности рекомбинантного лактоферрина человека.

Методы исследований: органолептические, микробиологические, биохимические, статистические.

Задачи работы:

1. Выделение и очистка из молочного сырья козьего и человеческого рекомбинантного лактоферринов;
2. Экспериментальное исследование козьего и человеческого рекомбинантного лактоферрина в отношении тест-штаммов *Bacillus pumilis* БИМ-171, *Pseudomonas fluorescens* БИМ-184, *Micrococcus luteus* В-159.

Полученные результаты. Был изучен спектр антибактериальной активности препаратов лактоферрина на стандартных штаммах: *Bacillus pumilis* БИМ-171, *Pseudomonas fluorescens* БИМ-184, *Micrococcus luteus* В-159 с использованием визуальной, спектрофотометрической и потенциометрической оценки.

Практическая значимость: Полученные данные подтверждают антибактериальную активность препаратов лактоферрина, что может служить основой для создания лекарственных препаратов с антимикробными, ранозаживляющими, и дезинфицирующими свойствами.

Область применения: медицинская и пищевая биотехнология, фармацевтика, физиология и биохимия бактерий

ABSTRACT

Graduate work: 69 pages, 23 tables, 1 formula, 33 figures, 91 sources.

Key word: LACTOFERRIN, RECOMBINANT HUMAN LACTOFERRIN, ANTIBACTERIAL ACTIVITY.

Objects of research:

1. recombinant human lactoferrin obtained from fresh serum of transgenic goats;
2. recombinant human lactoferrin obtained from frozen serum of transgenic goats;
3. lactoferrin obtained from goat whey.

The purpose of the work: study of the antibacterial activity of recombinant human lactoferrin.

Methods of research: organoleptic, microbiological, biochemical, statistical.

Tasks of the work:

1. Isolation and purification of goat and human recombinant lactoferrins from dairy raw materials;
2. Experimental study of goat and human recombinant lactoferrin against test strains of *Bacillus pumilis* BIM-171, *Pseudomonas fluorescens* BIM-184, *Micrococcus luteus* B-159.

The results obtained. The spectrum of antibacterial activity of lactoferrin preparations was studied on standard strains: *Bacillus pumilus* BIM-171, *Pseudomonas fluorescens* BIM-184, *Micrococcus luteus* B-159 by using visual, spectrophotometric and potentiometric assessment.

Practical significance. The obtained data confirm the antibacterial activity of lactoferrin. This information can be used as a basis for the creation of drugs with antimicrobial, wound healing, and disinfecting properties.

Scope of application: medical and food biotechnology, pharmaceuticals, physiology and biochemistry of bacteria.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ И ТЕРМИНОВ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1 Общая характеристика лактоферрина	8
1.2 Функции и механизм действия лактоферрина	11
1.3 Способы получения рекомбинантного лактоферрина человека	17
1.3.1 Прокариотические системы для получения рекомбинантного лактоферрина	17
1.3.2 Эукариотические системы для получения рекомбинантного лактоферрина	18
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	26
2.1 Организационно-научная характеристика РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».....	26
2.2 Методика выделения лактоферрина из молочной сыворотки.....	28
2.2.1 Ионообменная хроматография	28
2.2.2 Диализ.....	31
2.2.3 Лиофильная сушка	32
2.3 Методика проведения белкового электрофореза	33
2.4 Количественная оценка лактоферринов по методу Bradford	39
2.5 Методика исследования антибактериальной активности лактоферрина	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	43
3.1 Результаты исследования штамма <i>Bacillus pumilis</i> БИМ-171	43
3.2 Результаты исследования штамма <i>Pseudomonas fluorescens</i> БИМ-184	49
3.3 Результаты исследования штамма <i>Micrococcus luteus</i> В-159	55
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	63
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	64