

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

Аннотация к дипломной работе

**ВЫЧИК  
ПАВЕЛ ВЛАДИМИРОВИЧ**

**ВЕРИФИКАЦИЯ АЛГОРИТМА DE NOVO ПОИСКА САЙТОВ  
СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ  
ПРОГРАММНОГО КОНВЕЙЕРА SIGMOID**

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук  
доцент Е.А. Николайчик

**Минск, 2021**

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 47 с., 18 рис., 4 табл., 54 источника

**Ключевые слова:** регуляция транскрипции, операторные мотивы, SigmoID, *Pectobacterium versatile*

**Объект исследования:** бактерии *Pectobacterium versatile* 3-2

**Цель:** верификация результатов применения алгоритма поиска операторных мотивов транскрипционных факторов программы SigmoID v2 в геноме *Pectobacterium versatile* 3-2

**Методы исследования:** биоинформационные, молекулярно-генетические (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, молекулярное клонирование), генетические (трансформация, конъюгация, направленный мутагенез), микробиологические (культивирование микроорганизмов, чашечные тесты на определение ферментативной активности)

В результате проведенного исследования был получен штамм *P. versatile* PVI, мутантный по гену *cbl*, продуктом которого является транскрипционный регулятор LysR-семейства. С помощью конвейера *de novo* поиска сайтов связывания транскрипционных факторов (ТФ) программы SigmoID v2, были идентифицированы предполагаемые операторы ТФ Cbl в геноме *P. versatile*. Путем анализа локализации операторов были определены возможные члены регулона Cbl. На основании анализа предполагаемых членов регулона Cbl и данных о дифференциальной экспрессии генов *phoP*-мутанта *P. versatile* UK1 была выдвинута гипотеза о фенотипе впервые полученного *cbl*-мутантного штамма.

Экспериментальная характеристика фенотипа штамма *P. versatile* PVI, полученного в ходе данной работы, по уровню пектолитической, протеолитической, целлюлолитической активностей и степени вирулентности, не противоречила результатам исследования дифференциальной экспрессии генов в штамме *P. versatile* UK и поддерживает гипотезу об участии ТФ Cbl в регуляции генов *pelX*, *OA04\_07070*, *kdgF-kduD*, *OA04\_21050*, *OA04\_21060*, *cbl*, выдвинутую на основании данных *in silico* поиска потенциальных членов регулона ТФ Cbl.

Автор работы подтверждает, что работа выполнена самостоятельно и ее результаты являются достоверными. Все заимствованные из литературных и других источников положения сопровождаются ссылками на их авторов.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ УНІВЕРСІТЭТ  
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ  
Кафедра малекулярнай біялогіі**

Анатацыя да дыпломнай работы

**ВЫЧЫК  
ПАВЕЛ УЛАДЗІМІРАВІЧ**

**ВЕРЫФІКАЦЫЯ АЛГАРЫТМУ DE NOVO ПОШУКА САЙТАЎ  
ЗВЯЗВАННЯ ТРАНСКРЫПЦЫЙНЫХ ФАКТАРАЎ  
ПРАГРАМНАГА КАНВЕЙЕРУ SIGMOID**

Навуковы кіраўнік:  
кандыдат біялагічных навук  
дацэнт Е.А. Нікалайчык

**Мінск, 2021**

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 47 с., 18 мал., 4 табл., 54 крыніцы

**Ключавыя словы:** рэгуляцыя транскрыпцыі, аператарныя матывы, SigoID, *Pectobacterium versatile*

**Аб'ект даследавання:** бактэрыі *Pectobacterium versatile* 3-2

**Мэта:** Верыфікацыя вынікаў выкарыстання алгарытма пошука аператарных матываў транскрыпцыйных фактараў праграмы SigoID V2 у геноме *Pectobacterium versatile* 3-2

**Метады даследавання:** біяінфармацыйныя, малекулярна-генетычныя (выдзяленне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, малекулярнае кланаванне), генетычныя (трансфармацыя, кан'югацыя, накіраваны мутагенез), мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў, чашачныя тэсты на выяўленне ферментатыўнай актыўнасці)

У выніку праведзенага даследавання быў атрыман штаб *P. versatile* PV1, мутантны па гену *cbl*, прадукт якога з'яўляецца транскрыпцыйным рэгулятарам LysR-сямейства. З дапамогай канвейеру *de novo* пошука сайтаў звязвання транскрыпцыйных фактараў (ТФ) праграмы SigoID v2, былі ідэнтыфікаваны магчымыя аператары ТФ Cbl у геноме *P. versatile*. Шляхам аналізу лакалізацыі аператараў былі вызначаны магчымыя члены рэгулона Cbl. На падставе аналізу гіпатэтычных членаў рэгулона і звесткаў аб дыферэнцыяльнай экспрэсіі генаў *phoP*-мутанта *P. versatile* была прапанавана гіпотэза аб фенатыпу ўпершыню атрыманага *cbl*-мутантнага штабу.

Эксперыментальная характарыстыка фенатыпу штаба *P. versatile* PV1, атрыманага ў гэтай рабоце, па ўзроўню пекталітычнай, пратэалітычнай, целюлалітычнай актыўнасцей і ўзроўню вірулентнасці не супярэчыла вынікам даследавання дыферэнцыяльнай экспрэсіі генаў у штаме *P. versatile* UK1 і падтрымлівае гіпотэзу аб удзеле ТФ Cbl у рэгуляцыі генаў *pelX*, *OA04\_07070*, *kdgF-kduD*, *OA04\_21050*, *OA04\_21060*, *cbl*, прапанаваную на падставе звестак *in silico* пошука патэнцыйных членаў рэгулона ТФ Cbl.

Аўтар працы пацвярджае, што праца выканана самастойна і яе вынікі з'яўляюцца дакладнымі. Усе запазычаныя з літаратурных і іншых крыніц палажэнні суправаджаюцца спасылкамі на іх аўтараў

**MINISTRY OF EDUCATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS  
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY  
THE FACULTY OF BIOLOGY  
The department of molecular biology**

Diploma annotation

PAVEL VYCHYK

**VERIFICATION OF THE DE NOVO TRANSCRIPTION FACTORS  
BINDING SITES SEARCH ALGORITHM IN SIGMOID  
SOFTWARE CONVEYOR**

Supervisor:  
Yevgeny Nikolaichik  
Ph.D, assistant professor

**Minsk, 2021**

## SUMMARY

Diploma project: 47 p., 18 fig., 4 tab., 54 sources.

**Key words:** transcription regulation, operator motifs, Sigmoid, *Pectobacterium versatile*

**The object of the research:** bacteria *Pectobacterium versatile* 3-2

**The aim of the research:** to verify application of *de novo* transcription factors operator motifs search algorithm in Sigmoid v2 software tool for *Pectobacterium versatile* 3-2 genome.

**The research methods:** bioinformatical, molecular-genetic (DNA extraction, polymerase chain reaction, molecular cloning), genetic (transformation, conjugation, directed mutagenesis), microbiological (cultivation of microorganisms, plate assays for enzymatic activities)

As the result of the study, a *cbl*-mutant strain *P. versatile* PV1 was created, whose disrupted *cbl* gene codes for LysR-family transcriptional regulator. Using *de novo* transcription factors (TF) binding sites search conveyor in Sigmoid v2 software, plausible Cbl binding sites were identified in *P. versatile* genome. From the analysis of operator locations, potential members of Cbl regulon were defined. The hypothesis about the phenotype of obtained *cbl*-mutant strain was postulated, based on *in silico* analysis of plausible Cbl regulon members and data for differentially expressed genes in *phoP*-mutant *P. versatile* UK1 stain.

Assays for enzymatic activities showed increased pectolytic and initial levels of proteolytic and cellulolytic activities. At the same time, virulence assay showed increased activity of obtained strain. These results didn't contradict the investigation of differentially expressed genes in the *phoP*-mutant *P. versatile* UK1 stain and support the hypothesis of Cbl involvement in *pelX*, *OA04\_07070*, *kdgF-kduD*, *OA04\_21050*, *OA04\_21060*, *cbl* genes regulation, based on *in silico* identification of plausible Cbl regulon members.

The author confirms that the work has been carried out on his account and the obtained results are authentic. All concepts adopted from other sources are provided with appropriate references to their authors.