

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

КОЛУБАКО
Анастасия Вячеславовна

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТЕНИЙ
СЕМЕЙСТВА *SOLANACEAE* С ПАТОГЕНОМ *PESTOBACTERIUM
CAROTOVORUM***

Научный руководитель:
доцент Е.А. Николайчик, Ph.D.

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 42 с., 13 рис., 3 табл., 45 источников.

Pectobacterium carotovorum, система секреции III типа, эффектор, DspE, вирус-индуцированный сайленсинг генов, *Solanaceae*, иммунитет растений, NDR1.

Объекты исследования: растения семейства *Solanaceae* (*Solanum bulbocastanum*, *Nicotiana benthamiana*) и компоненты их сигнальных путей, штаммы бактерий *Pectobacterium carotovorum*.

Цель исследования: изучить молекулярные механизмы взаимодействия растений семейства *Solanaceae* с патогеном *Pectobacterium carotovorum*.

Методы исследования: микробиологические, спектрофотометрические, генетические (трансформация) и молекулярно-генетические методы (выделение РНК, обратная транскрипция, полимеразная цепная реакция в реальном времени, вирус-индуцированный сайленсинг генов), а также методы биоинформатики.

Результаты работы:

1. Уровень экспрессии генов *HSR203j*, *EAS*, *GST1*, *HIN1*, *SABP* и *LOX* растений *N. benthamiana* значительно возрастает при контакте с *P. carotovorum* и для трех последних генов этот эффект зависит от эффекторного белка DspE патогена.

2. В растениях *N. benthamiana* экспрессия генов *RLK2* и *RLK5*, *FLS2*, *COI* и *QPT* в ответ на внедрение *P. carotovorum* снижается, причем штамм дикого типа вызывает более значительную супрессию этих генов по сравнению с *dspE*-мутантом. Снижение же экспрессии гена *RLK5* в листьях растений *S. bulbocastanum* не зависит от эффектора DspE.

3. У растений *N. benthamiana* выявлен сходный характер экспрессии генов иммунитета при локальном и системном ответе, однако для большинства генов при системном ответе интенсивность индукции или репрессии была ниже.

4. У обоих видов растений семейства *Solanaceae*, *N. benthamiana* и *S. bulbocastanum*, зафиксирован сходный характер экспрессии двух связанных с иммунитетом *PR*-генов при локальной реакции на заражение *P. carotovorum*.

5. Растения дикого вида *S. bulbocastanum* реагируют на контакт с *Pectobacterium carotovorum* аналогично растениям *Solanum tuberosum*, пригодны для инактивации генов с помощью вирус-индуцированного сайленсинга и поэтому могут быть использованы в качестве модельного объекта для исследования взаимодействия пектобактерий с растениями картофеля.

6. Мембранный белок NDR1 является компонентом сигнальной системы растений, ответственной за детекцию *Pectobacterium carotovorum*.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 42 старонкі, 13 малюнкаў, 3 табліцы, 45 крыніц.

Pectobacterium carotovorum, сістэма сакрэцыі III тыпу, эфектар, DspE, вірус-індукаваны сайленсінг генаў, *Solanaceae*, імунітэт раслін, NDR1.

Аб'екты даследвання: расліны сямейства *Solanaceae* (*Solanum bulbocastanum*, *Nicotiana benthamiana*) і кампаненты іх сігнальных шляхоў, штамы бактэрыі *Pectobacterium carotovorum*.

Мэта даследвання: усталяваць малекулярныя механізмы ўзаемаадносін раслін сямейства *Solanaceae* з патагенам *Pectobacterium carotovorum*.

Метады даследвання: мікрабіялагічныя, спектрафотаметрычныя, генетычныя (трансфармацыя) і малекулярна-генетычныя метады (выдзяленне РНК, зваротная транскрыпцыя, палімеразная ланцужковая рэакцыя ў рэальным часе, вірус-індукаваны сайленсінг генаў), а таксама метады біяінфарматыкі.

Вынікі працы:

1. Узровень экспрэсіі генаў *HSR203j*, *EAS*, *GST1*, *HIN1*, *SABP* і *LOX* раслін *N. benthamiana* значна ўзрастае пры кантакце з *P. carotovorum* і ў выпадку апошніх трох генаў гэты эфект залежыць ад эфектара DspE патагена.

2. У раслінах *N. benthamiana* экспрэсія генаў *RLK2* і *RLK5*, *FLS2*, *COI* і *QPT* ў адказ на пранікненне *P. carotovorum* зніжаецца, прычым штамп дзікага тыпу выклікае больш значную супрэсію гэтых генаў у параўнанні з *dspE*-мутантам. Зніжэнне ж экспрэсіі гена *RLK5* ў лісці раслін *S. bulbocastanum* не залежыць ад эфектара DspE.

3. У раслін *N. benthamiana* выяўлены падобны характар экспрэсіі генаў імунітэту пры лакальным і сістэмным адказе, аднак для большасці генаў пры сістэмным адказе інтэнсіўнасць індукцыі або рэпрэсіі была ніжэй.

4. У абодвух відаў раслін сямейства *Solanaceae*, *N. benthamiana* і *S. bulbocastanum*, зафіксаваны падобны характар экспрэсіі двух звязаных з імунітэтам *PR*-генаў пры лакальнай рэакцыі на заражэнне *P. carotovorum*.

5. Расліны дзікага віду *S. bulbocastanum* рэагуюць на кантакт з *Pectobacterium carotovorum* аналагічна раслінам *Solanum tuberosum*, з'яўляюцца прыдатнымі для інактывацыі генаў з дапамогай вірус-індукаванага сайленсінга і таму могуць выкарыстоўвацца ў якасці мадэльнага аб'екта для даследавання ўзаемадзеяння пектабактэрыі з раслінамі бульбы.

6. Мембранны бялок NDR1 з'яўляецца кампанентам сігнальнай сістэмы раслін, адказнай за дэтэкцыю *Pectobacterium carotovorum*.

ABSTRACT

Diploma project 42 p., 13 fig., 3 tables, 45 sources

Pectobacterium carotovorum, type III secretion system, effector, DspE, virus-induced gene silencing, *Solanaceae*, plant immunity, NDR1.

Research objects: plants of *Solanaceae* family (*Solanum bulbocastanum*, *Nicotiana benthamiana*), their components of the signal chains and *Pectobacterium carotovorum* strains.

Purpose of research: to study the molecular mechanisms of interaction between plants of *Solanaceae* family with *Pectobacterium carotovorum* pathogen.

Research methods: microbiological, spectrophotometric, genetic (transformation) and molecular-genetic techniques (RNA extraction, quantitative real-time polymerase chain reaction, virus-induced gene silencing) as well as bioinformatics methods.

Following results were obtained:

1. The expression level of *N. benthamiana* *HSR203j*, *EAS*, *GST1*, *HIN1*, *SABP* and *LOX* genes increases significantly in response to *P. carotovorum* invasion and for the last three genes, this effect depends on the pathogen effector protein DspE.
2. In *N. benthamiana* plants, the expression of the *RLK2* and *RLK5*, *FLS2*, *COI* and *QPT* genes is reduced in response to the introduction of *P. carotovorum*. The wild type *P. carotovorum* strain causes more significant gene suppression. Loss of the *RLK5* gene expression is independent of DspE effector in *S. bulbocastanum* plants.
3. *N. benthamiana* immunity genes showed a similar pattern of local and systemic expression, however, the intensity of induction or repression was lower for most genes in the systemic response.
4. In both plant species, *N. benthamiana* and *S. bulbocastanum*, a similar pattern of expression of two immunity-related *PR*-genes was detected in a local reaction to *P. carotovorum* infection.
5. Wild species *S. bulbocastanum* plants react to *Pectobacterium carotovorum* invasion in a similar way with *Solanum tuberosum* plants; it is susceptible to virus-induced gene silencing and therefore can be used as a model object for studying the interaction between *Pectobacterium* and potato plants.
6. The membrane protein NDR1 is a component of plant signaling system that is responsible for *Pectobacterium carotovorum* detection.