

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

Аннотация к дипломной работе

ЦАРЬ
Анастасия Ивановна

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОВ
ЭФФЕКТОРНЫХ БЕЛКОВ CRN1 И CRN2 В ГЕНОМАХ
РАЗЛИЧНЫХ ИЗОЛЯТОВ *RHYTORHTHORA INFESTANS***

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент кафедры А.М. Ходосовская

Минск, 2018

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 45 с., 23 рис., 5 табл., 24 источника.

Ключевые слова: гены *crn1*, *crn2* *Phytophthora infestans*, цитоплазматические эффекторные белки, биоинформационный анализ, ПДРФ.

Объекты исследования: штаммы *P. infestans* из коллекции кафедры молекулярной биологии БГУ.

Цель исследования: выявление генов *crn1* и *crn2* в различных изолятах *P. infestans* и их сравнительная характеристика с помощью ПДРФ-анализа и методов.

Методы исследования: молекулярно-генетические методы (выделение тотальной ДНК, полимеразная цепная реакция, анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов), а также методы биоинформатики.

Результаты работы:

1. Обработка рестриктазой *PvuII* ампликонов гена *crn1* приводила к образованию фрагментов размером примерно 550 и 150 п.н., а гидролиз данных последовательностей с помощью эндонуклеазы *ClaI* выявил фрагменты ожидаемого размера в области 450 и 250 п.н. для геномной ДНК большинства исследованных штаммов. Ампликоны гена *crn1*, полученные с ДНК из штаммов А1, 2 Тд, Мог-2 и 723/03, имели отличия в характере рестрикции данными ферментами.

2. В двенадцати исследуемых штаммах *P. infestans* выявлен однотипный характер рестрикции амплифицированных участков гена *crn2* с помощью рестриктазы *Eco RI*.

3. Анализ последовательностей исследуемых участков генов *crn1* и *crn2* *P. infestans* с привлечением методов биоинформационного анализа позволил выявить в референсном геноме *P. infestans* Т-30-4 семь генов, имеющих комплементарные последовательности в области отжига праймеров для гена *crn1* и образующих конечные продукты одинакового размера. Гены сосредоточены в области *crn*-семейства и собраны в 3 кластера. С праймерами к участку гена *crn2* возможна амплификация шести различных генов с одинаковыми размерами конечного продукта, которые также сосредоточены в области *crn*-семейства и собраны в 4 кластера.

4. Построены рестрикционные карты, которые объясняют полученный однотипный характер рестрикции генов *crn2*-семейства с помощью рестриктазы *Eco RI* и допускают отличия в спектре образующихся продуктов гидролиза генов *crn1*-семейства эндонуклеазами *PvuII* и *ClaI*.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 45 старонак, 23 малюнкаў, 5 табліц, 24 крыніцы.

Ключавыя словы: гены *crn1*, *crn2* *Phytophthora infestans*, цытаплазматычныя эфектарныя бялкі, біяінфарматычны аналіз, ПДРФ.

Аб'екты даследавання: штамы *P. infestans* з калекцыі кафедры малекулярнай біялогіі БДУ.

Мэта даследавання: выяўленне генаў *crn1* і *crn2* у розных ізалятах *P. infestans* і іх параўнальная характарыстыка з дапамогай ПДРФ-аналізу і метадаў біяінфарматычнага аналізу.

Метады даследавання: малекулярна-генетычныя метады (выдзяленне татальнай ДНК, палімеразная ланцужковая рэакцыя, аналіз палімарфізму даўжынь рэстрыкцыйных фрагментаў), а таксама метады біяінфарматыкі.

Вынікі працы:

1. Апрацоўка рэстрыктазай *Pvu* II ампліконаў гена *crn1* прыводзіла да узнікнення фрагментаў памерам прыкладна 550 і 150 п.н., а гідроліз дадзеных паслядоўнасцёў з дапамогай эндонуклеазы *Cla* I выявіў фрагменты чаканага памеру даўжынёй прыкладна 450 і 250 п.н. для геномнай ДНК большасці даследаваных штамаў. Ампліконы гена *crn1*, атрыманыя з ДНК з штамаў A1, 2 Тд, Мог-2 і 723/03, мелі адрозненні ў характары рэстрыкцыі дадзенымі ферментамі.

2. У дванаццаці даследаваных штамах *P. infestans* выяўлены аднатыпны характар рэстрыкцыі ампліфікаваных участкаў гена *crn2* з дапамогай рэстрыктазы *Eco* RI.

3. Аналіз паслядоўнасцёў даследаваных участкаў генаў *crn1* і *crn2* *P. infestans* з далучэннем метадаў біяінфармацыйнага аналізу дазволіў выявіць у рэферэнсным геноме *P. infestans* Т-30-4 сем генаў, якія маюць камплементарныя паслядоўнасці ў адным з участкаў адпалу праймераў для гена *crn1* і ўтвараюць канчатковыя прадукты аднолькавага памеру. Гены сканцэнтраваны ў часцы *crn*-сямейства і сабраны ў 3 кластары. З праймерамі да ўчастку гена *crn2* магчыма ампліфікацыя шасці розных генаў з аднолькавымі памерамі канчатковага прадукту, якія таксама сканцэнтраваны ў галіне *crn*-сямейства і сабраны ў 4 кластара.

4. Пабудаваны рэстрыкцыйныя карты, якія тлумачаць атрыманы аднатыпны характар рэстрыкцыі генаў *crn2*-сямейства з дапамогай рэстрыктазы *Eco* RI і дапускаюць адрозненні ў спектры ўтварэння прадуктаў гідролізу генаў *crn1*-сямейства эндануклеазамаі *Pvu* II і *Cla* I.

ABSTRACT

Diploma work 45 p., 23 pic., 5 tables, 24 sources.

Keywords: genes *crn1*, *crn2* *Phytophthora infestans*, cytoplasmic effector proteins, bioinformatic analysis, RFLP.

Objects of research: *P. infestans* strains from the collection of the Department of Molecular Biology of the Belarusian State University.

The aim of the study was to identify the genes *crn1* and *crn2* in various isolates of *P. infestans* and to compare them with the help of RFLP analysis and bioinformatic analysis methods.

Methods of research: molecular genetic methods (isolation of total DNA, polymerase chain reaction, analysis of restriction fragment length polymorphism) and bioinformatics methods.

Results of work:

1. Treatment of the *crn1* gene amplicons with the help of restriction enzyme *Pvu* II resulted in the formation of fragments of approximately 550 and 150 bp length, and the hydrolysis of these sequences with *Cla* I endonuclease revealed fragments of the expected size in the 450 and 250 bp for the genomic DNA of most of the strains studied. The amplicons of the *crn1* gene, obtained from DNA from strains A1, 2ТД, Mo2-2 and 723/03, had differences in the pattern of the restriction by these enzymes.

2. Twelve investigated strains of *P. infestans* revealed the same type of restriction of amplified site of the gene *crn2* with the help of the restriction enzyme *Eco* RI.

3. Analysis of the sequences of the investigated sites of the *crn1* and *crn2* genes of *P. infestans* by using of bioinformatic analysis methods made it possible to identify seven genes in the reference genome of *P. infestans* T-30-4 having complementary sequences in the annealing region of primers for the *crn1* gene and forming final products of the same size. Genes are concentrated in the region of the *crn*-family and are collected in 3 clusters. With the primers to the site of the *crn2* gene, it is possible to amplify six different genes with the identical sizes of the final product, which are also concentrated in the region of the *crn*-family and are assembled into 4 clusters.

4. Constrained restriction maps explain the obtained one-type character of the restriction of the genes of the *crn2*-family with the help of the restriction enzyme *Eco* RI and allow existence of differences in the resulting products spectrum of the hydrolysis of the *crn1*-genes family by *Pvu* II and *Cla* I endonucleases.