**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра биохимии**

РЫДЕВСКАЯ

Ирина Николаевна

**АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО (*TRIFOLIUM PRATENSE*L.) И ИХ АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ МОДЕЛЬНЫХ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ**

Дипломная работа

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,

заведующий сектором метаболизма

и функций белков растений

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича

НАН Беларуси»

О.А. Иванов

Допущена к защите

«––––» ––––––––––––––––––––– .2019 г.

Зав. кафедрой биохимии

Кандидат биологических наук,

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_И.В. Семак

Минск, 2019

**РЕФЕРАТ**

Дипломная работа, 52 страницы, 9 рисунков, 4 таблицы, 80 источников, 1 приложение.

**Ключевые слова:**АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ, КЛЕВЕР ЛУГОВОЙ*(TRIFOLIUM PRATENSE*L.*),IN SILICO*АНАЛИЗ, ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИЯ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.

**Цель работы:**поиск потенциальных антимикробных пептидов, закодированных в геноме клевера лугового (*Trifoliumpratense*L.*),* с использованием биоинформатических инструментов, а также экспериментальная оценка антимикробного потенциала экстрактов клевера лугового на модельных микроорганизмах.

**Методы исследования:**биоинформатические, биохимические, спектрофотометрические, микробиологические, статистические.

**Объекты исследования:**геном и короткие экспрессирующиеся последовательности (EST) клевера лугового, экстракты вегетативных тканей и семян *Trifoliumpratense*L.

Поиск потенциальных антимикробных пептидов (АМП) проводили в текущей версии генома клевера лугового(получен на ресурсе EnsemblPlants), гаплоидный набор которого представлен 7 хромосомами, а также в коротких экспрессируемых последовательностях EST, предоставленных на порталеPlantGDB.

В результате анализа библиотек коротких экспрессирующихся последовательностей (EST), отражающих состояние транскриптома клевера лугового, удалось найти 22 уникальные последовательности, которые с высоким уровнем значимости соответствуют АМП. В геноме было выявлено 95 предполагаемых последовательностей антимикробных пептидов и белков, среди них 65% являются продуктами определённых, локализованных в конкретных участках хромосом, генов; остальные представляют собой продукты протеолитической деградации более крупных молекул (убиквитинов, гистонов, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназ).

Данные распределения молекул-кандидатов по их физико-химическим свойствам коррелируют со статистической информацией об антимикробных пептидах, представленной как в общих крупнейших базах данных, так и в узко специализированных по растительным АМП.

Экстракт вегетативных тканей *Trifoliumpratense*L.не проявил антимикробной активности в отношении модельных микроорганизмов *Bacillussubtilis*и*Pseudomonasaeruginosa,* однако было показано ингибирование роста*Escherichiacoli*при воздействии экстракта семян *Trifoliumpratense*L.

**РЭФЕРАТ**

Дыпломнаяпраца, 52старонкі, 9малюнкаў, 4табліцы, 80крыніц, 1 дадатак.

**Ключавыясловы:** АНТЫМІКРОБНЫЯ ПЕПТЫДЫ, КАНЮШЫНА ЛУГАВАЯ*(TRIFOLIUM PRATENSE*L.*)*, *IN SILICO* АНАЛІЗ, ГЕЛЬ-ХРАМАТАГРАФІЯ, МІКРАБІЯЛАГІЧНЫ АНАЛІЗ.

**Мэта працы:**пошукпатэнцыйныхантымікробныхпептыдаў, закадаваныхyгеноме канюшынылугавой (*Trifoliumpratense*L.), з выкарыстаннембіяінфарматычныхінструментаў, а таксамаэксперыментальнаяацэнкаантымікробнагапатэнцыялуэкстрактаўканюшынылугавойна мадэльныхмікраарганізмах.

**Метадыдаследавання:**біяінфарматычныя, біяхімічныя, спектрафотаметрычныя, мікрабіялагічныя, статыстычныя.

**Аб'ектыдаследавання:**геном і кароткія экспрэсіраваныя паслядоўнасці (EST) канюшыны лугавой, экстракты вегетатыўных тканін і насення *Trifolium pratense*L.

Пошук патэнцыйных антымікробных пептыдаў (АМП) праводзілі ў актуальнайверсіі геному канюшыны лугавой (атрымана на рэсурсе Ensembl Plants), гаплоідны набор якой прадстаўлены 7 храмасомамі, а таксама ў кароткіх экспрэсіраваных паслядоўнасцях EST, прадстаўленых на партале PlantGDB.

У выніку аналізу бібліятэк кароткіх экспрэсіраваных паслядоўнасцяў (EST), якія адлюстроўваюць стан транскрыптому канюшыны лугавой, удалося знайсці 22 унікальныя паслядоўнасці, якія з высокім узроўнем значнасці адпавядаюць АМП. У геноме было выяўлена 95 меркаваных паслядоўнасцяў антымікробных пептыдаў і бялкоў, сярод іх 65% з'яўляюцца прадуктамі вызначаных, лакалізаваных ў канкрэтных участках храмасом, генаў; астатнія ўяўляюць сабой прадукты пратэялітычнай дэградацыі большых малекул (убіквітынаў, гістонаў, гліцэральдэгід-3-фасфат дэгідрагеназ).

Дадзеныя размеркавання малекул-кандыдатаў па іх фізіка-хімічным уласцівасцям карэлююць са статыстычнай інфармацыяй пра антымікробныя пептыды, прадстаўленай як у агульных глабальных базах дадзеных, так і ў вузка спецыялізаваных па раслінным АМП.

Экстракт вегетатыўных тканін *Trifolium pratense*L.не паказаў антымікробнай актыўнасці ў дачыненні да мадэльных мікраарганізмаў *Bacillus subtilis* і *Pseudomonas aeruginosa*, аднак было паказанаінгібіраванне росту *Escherichia coli* пры ўздзеянні экстракту насення *Trifolium pratense*L.

**ABSTRACT**

Diploma work, 52 pages, 9 figures, 4 tables, 80 sources, 1 appendix.

**Key words:**ANTIMICROBIAL PEPTIDES, RED CLOVER *(TRIFOLIUM PRATENSE*L.*)*, *IN SILICO* ANALYSIS, GEL CHROMATOGRAPHY, MICROBIOLOGICAL ANALYSIS.

**Objective:**search for potential antimicrobial peptides encoded in the red clover (*Trifoliumpratense*L.) genome using bioinformatics tools, as well as experimental evaluation of the antimicrobial potential of red clover extracts on model microorganisms.

**Methods of research:**bioinformatical, biochemical, spectrophotometric, microbiological, statistical.

**Objects of the study:**genome and expressed sequence tags (EST) ofthered clover, extracts of vegetative tissues and seeds of *Trifoliumpratense*L.

Search for potential antimicrobial peptides (AMP) was performed in the current version of the red clover genome (obtained from Ensembl Plants), the haploid set of which is represented by 7 chromosomes, as well as in the EST sequences provided in PlantGDB.

As a result of the analysis of expressed sequence tags libraries (EST), reflecting the state of the red clover transcriptome, 22 unique sequences that with a high level of significance correspond to the AMP were found. 95 putative sequences of antimicrobial peptides and proteins were identified in the genome, among them 65% are products of certain chromosomes and genes localized in specific regions; the rest are products of proteolytic degradation of larger molecules (ubiquitins, histones, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases).

Data on the distribution of candidate molecules by their physicochemical properties correlate with statistical information on antimicrobial peptides, presented in both the largest databases and the narrowly specialized on plant AMPs.

Vegetative tissues extract of *Trifoliumpratense*L.did not demonstrate antimicrobial activity against the model microorganisms *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*, however, the inhibitory effect of seed extract *Trifoliumpratense*L.on the growth of *Escherichia coli* was shown.