

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

Аннотация к дипломной работе

**ШИШКИНА**

Антонина Викторовна

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА**  
**CRN В ИЗОЛЯТАХ *P. INFESTANS* И ТИПОВ СПАРИВАНИЯ**

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

Минск, 2022

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 43 с., 2 рис., 3 табл., 45 источников.

**Ключевые слова:** *Phytophthora infestans*, А1-, А2-типы спаривания, эффекторы, гены *crn*-семейства.

**Объект исследования:** изоляты *Phytophthora infestans*, гены *crn1* и *crn2*, типы половой совместимости.

**Цель:** проведение сравнительного анализа между особенностями структуры генов семейства CRN в изолятах *P. infestans* и типами половой совместимости.

**Методы исследования:** микробиологические (культивирование оомицетов), морфологические (чашечный метод определения типов спаривания, микроскопирование) молекулярно-генетические (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, рестрикционный анализ).

С использованием тестерных штаммов А1- и А2-типов спаривания проведён эксперимент по определению типов половой совместимости изолятов *P. infestans*, представленных в коллекции кафедры молекулярной биологии БГУ, в результате которого установлено, что два изолята (5ж, 1Гом 2) относятся к А2-типу, а изоляты 2В11, Вол3(2), 2017 Том2, Том1-18, 3. имеют тип половой совместимости А1. С геномной ДНК, выделенной из 9 исследуемых изолятов *P. infestans*, получены ампликоны участков генов *crn1* и *crn2* размером 680 и 710 п.н. В результате рестрикционного анализа ампликонов гена *crn1* с помощью эндонуклеаз *PvuII* и *Bsu15I* происходил полный гидролиз амплифицированных фрагментов с образованием продуктов, размеры которых соответствовали 550 п. н. и 150 п.н. (для *PvuII*) и 448 п. н. и 233 п. н. (для *Bsu15I*), в ДНК всех исследованных изолятов, независимо от типа спаривания.

Рестрикционный анализ ампликонов участка гена *crn2*, полученных с геномной ДНК исследованных изолятов, выявил различие в характере рестрикции лишь в одном из 3-х изолятов, относящихся ко II типу спаривания. Он проявлялся в наличии негидролизованного продукта, несмотря на увеличение степени глубины гидролиза, что свидетельствовало об отсутствии сайта рестрикции в ампликонах, которые могли отжигаться с использованными праймерами на комплементарных последовательностях ДНК в области кластера генов *crn2*-семейства. Все ампликоны гена *crn2*, полученные из изолятов А1 типа спаривания, полностью гидролизовались с образованием фрагментов размером 461 и 249 п. н.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 43 старонкі, 2 малюнка, 3 табліцы, 45 крыніц.

**Ключавыя словы:** *Phytophthora infestans*, A1-, A2-тыпы палавой сумяшчальнасці, эфектары, гены *crn*-сямейства.

**Аб'ект даследавання:** ізаляты *Phytophthora infestans*, гены *crn1* і *crn2*, тыпы палавой сумяшчальнасці.

**Мэта:** правядзенне параўнальнага аналізу паміж асаблівасцямі структуры генаў сямейства CRN у ізалятах *P. infestans* і тыпамі палавой сумяшчальнасці.

**Метады даследавання:** мікрабіялагічныя (культываванне ааміцэтаў), марфалагічныя (чашачны метады вызначэння тыпаў спарвання, мікраскапіраванне) малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, рэстрыкцыйны аналіз).

З выкарыстаннем тэстарных штамаў A1- і A2-тыпаў спарвання праведзены эксперымент па вызначэнні тыпаў палавой сумяшчальнасці ізалятаў *P. infestans*, прадстаўленых у калекцыі кафедры малекулярнай біялогіі БДУ, у выніку якога ўстаноўлена, што два ізаляты (5ж, 1Гом 2) адносяцца да A2-тыпу, а ізаляты 2В11, Вол3(2), 2017 Том2, Том1-18, 3. маюць тып палавой сумяшчальнасці A1. З геномнай ДНК, выдзеленай з 9 доследных ізалятаў *P. infestans*, атрыманы ампліконы участкаў генаў *crn1* і *crn2* памерам 680 і 710 п.н. У выніку рэстрыкцыйнага аналізу ампліконаў гена *crn1* з дапамогай эндонуклеаз *PvuII* і *Bsu15I* адбываўся поўны гідроліз ампліфікаваных фрагментаў з утварэннем прадуктаў, памеры якіх адпавядалі 550 п. н. і 150 п.н. (для *PvuII*) і 448 п. н. і 233 п. н. (для *Bsu15I*), у ДНК ўсіх даследаваных ізалятаў, незалежна ад тыпу спарвання.

Рэстрыкцыйны аналіз ампліконаў ўчастка гена *crn2*, атрыманых з геномнай ДНК даследаваных ізалятаў, выявіў адрозненне ў характары рэстрыкцыі толькі ў адным з трох ізалятаў, якія адносяцца да II тыпу спарвання. Ён выяўляўся ў наяўнасці негідролізованнага прадукта, нягледзячы на павелічэнне ступені глыбіні гідролізу, што сведчыла аб адсутнасці сайта рэстрыкцыі ў ампліконах, якія маглі адпавядаць з скарыстанымі праймер на камплементарных паслядоўнасцях ДНК у вобласці кластара генаў *crn2*-сямейства. Усе ампліконы гена *crn2*, атрыманыя з ізалятаў A1 тыпу спарвання, цалкам гідролізаваліся з утварэннем фрагментаў памерам 461 і 249 п. н.

## ABSTRACT

Diploma work 43 pages, 2 figures, 3 tables, 45 sources.

**Key words:** *Phytophthora infestans*, A1-, A2 mating types, effectors, *crn*-family genes.

**Object of the study:** isolates of *Phytophthora infestans*, *crn1* and *crn2* genes, types of sexual compatibility.

**Objective:** to conduct a comparative analysis between the peculiarities of CRN family gene structure in *P. infestans* isolates and types of sexual compatibility.

**Research methods:** microbiological (oomycete cultivation), morphological (cup method of mating types determination, microscopy) molecular-genetic (DNA isolation, polymerase chain reaction, restriction analysis).

Using A1- and A2-type mating tester strains, an experiment was carried out to determine sex compatibility types of *P. infestans* isolates represented in the collection of the Department of Molecular Biology of BSU. As a result, two isolates (5zh, 1Gom 2) were determined to be A2-type, and isolates 2B11, Vol3(2), 2017 Tom2, Tom1-18, 3. have A1 type of sexual compatibility. Amplicons of 680-bp and 710-bp *crn1* and *crn2* gene regions were obtained from genomic DNA isolated from 9 *P. infestans* isolates under study. Endonucleases *PvuII* and *Bsu15I* were used for restriction analysis of the *crn1* gene amplicons, which resulted in complete hydrolysis of the amplified fragments to yield products equal to 550 bp and 150 bp (for *PvuII*) and 448 bp and 233 bp (for *Bsu15I*) in the DNA of all the isolates studied, regardless of the mating type.

Restriction analysis of the amplicons of the *crn2* gene region obtained from the genomic DNA of the studied isolates revealed a difference in the restriction pattern only in one of the 3 isolates belonging to the mating type II. This difference was manifested in the presence of an unhydrolyzed product, despite the increased degree of hydrolysis, which indicated the absence of a restriction site in the amplicons that could be annealed with the primers used on complementary DNA sequences in the *crn2*-family gene cluster region. All *crn2* gene amplicons obtained from mating type A1 isolates were completely hydrolyzed to form fragments sized 461 and 249 bp.

