

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

Аннотация к дипломной работе

ЗУЕВА
АЛИСА ВЯЧЕСЛАВОВНА

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЭЛИСИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ГЕНА
ФЕНИЛАЛАНИН-АММИАК-ЛИАЗЫ У *SOLANUM LYCOPERSICUM L.*

Научный руководитель:
старший преподаватель кафедры
генетики О.В. Лагодич

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 51 с., 12 рис., 6 табл., 54 источника.

Ключевые слова: ЭЛИСИТОРЫ, ЭПИН, ЯНТАРИН, ИНДУЦИРОВАННАЯ СИСТЕМНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, ФЕНИЛАЛАНИН-АММИАК-ЛИАЗА, PAL5, СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ, ТОМАТ.

Объекты исследования: томаты сорта «Доходный», коммерческие растворы элиситоров «Эпин» и «Янтарин», фитопатогенный гриб *B.cinerea*.

Цель: изучить влияние экзогенных элиситоров на активность гена фенилаланин-аммиак-лиазы у *Solanum lycopersicum* L.

Методы исследования: молекулярно-генетические (выделение РНК, синтез кДНК, полимеразная цепная реакция), биохимические (измерение концентрации белка, анализ активности фермента).

В ходе проделанной работы было изучено влияние растворов экзогенных элиситоров «Эпин» и «Янтарин» на активность гена Pal в образцах растений *S.lycopersicum*, семена которых подвергались обработке данными элиситорами. Для проведения ПЦР и ПЦР-РВ были написаны праймеры для гена Pal5. Из листьев томата, замороженных в жидком азоте, удалось успешно выделить РНК из почти 70 проб растительного материала. Далее на матрице РНК была получена кДНК, которая была использована для проведения ПЦР и RealTime ПЦР.

По результатам электрофоретического анализа ПЦР продуктов было показано, что в большинстве проб были получены ампликоны гена EF-1 α . Пробы, в которых успешно прошла амплификация референсного гена были использованы для изучения экспрессии гена Pal5. Анализ результатов ПЦР-РВ показал повышение экспрессии гена Pal5 в зараженных растениях, предварительно обработанных элиситорами. При этом уровень экспрессии в растениях, обработанных «Янтарином» был выше, чем в растениях, обработанных «Эпином». В пробах контрольных растений, не подвергшихся обработке уровень экспрессии целевого гена Pal был существенно ниже.

Далее была изучена активность фенилаланин-аммиак-лиазы, которую определяли спектрофотометрически, измеряя образование транс-коричной кислоты из L-фенилаланина. Было замечено, что при обработке растений томата экзогенными элиситорами происходит увеличение активности фенилаланин-аммиак-лиазы. При последующем заражении растений наблюдается дальнейшее увеличение активности фермента, что может быть связано с увеличением стрессовых факторов на растение.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 51 с., 12 мал., 6 табл., 54 крыніцы.

Ключавыя словы: ЭЛІСІТАРЫ, ЭПІН, БУРШТЫН, ІНДУКАВАНАЯ СІСТЭМНАЯ ЎСТОЙЛІВАСЦЬ, ФЕНІЛАЛАНІН-АМІЯК-ЛІАЗА, PAL 5, СІГНАЛЬНЫЯ МАЛЕКУЛЫ, ТАМАТ.

Аб'екты даследавання: таматы гатунку "Даходны", камерцыйныя растворы элісітараў «Эпін» і «Янтарын», фітопатогенны грыб *B.cinerea*.

Мэта: вывучыць уплыў экзагенных элісیتаров на актыўнасць гена фенілаланін-аміяк-ліаз у *Solanum lycopersicum L.*

Метады даследавання: малекулярна-генетычныя (вылучэнне РНК, сінтэз кДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя), біяхімічныя (вымярэнне канцэнтрацыі бялку, аналіз актыўнасці фермента).

У ходзе праведзенай працы былі вывучаны ўплыў раствораў экзагенных элісітараў «эпін» і «Янтарин» на актыўнасць гена Pal ва ўзорах раслін *S.lycopersicum*, насенне якіх падвяргаліся апрацоўцы дадзенымі элісітарамі. Для правядзення ПЛР і ПЛР-РЧ былі напісаныя праймеры для гена Pal5. З лісцяў таматаў, замарожаных ў вадкім азоце, удалося паспяхова вылучыць РНК з амаль 70 спроб расліннага матэрыялу. Далей на матрыцы РНК была атрымана кДНК, якая была выкарыстаная для правядзення ПЛР і RealTime ПЛР.

Па выніках электрофарэтычнага аналізу ПЛР прадуктаў было паказана, што ў большасці спроб былі атрыманы ампліконы гена EF-1 α . Прабы, у якіх паспяхова прайшла ампліфікацыя реферэнснана гена былі выкарыстаныя для вывучэння экспрэсіі гена Pal5. Аналіз вынікаў ПЛР-РЧ паказаў падвышаныя экспрэсіі гена Pal5 ў заражаных раслінах, папярэдне апрацаваных элісітарамі. Пры гэтым узровень экспрэсіі ў раслінах, апрацаваных "Янтарынам" быў вышэй, чым у раслінах, апрацаваных «Эпінам». У пробах кантрольных раслін, якія не падвергліся апрацоўцы ўзровень экспрэсіі мэтавага гена Pal быў істотна ніжэй.

Далей была вывучана актыўнасць фенілаланін-аміяк-ліазы, якую вызначалі спектрофотамэтрычна, вымераючы стварэнне транс-карычнай кіслаты з L-фенілаланіну. Было заўважана, што пры апрацоўцы раслін тамата экзагеннымі элісітарамі адбываецца павелічэнне актыўнасці фенілаланін-аміяк-ліазы. Пры наступным заражэнні раслін назіраецца далейшае павелічэнне актыўнасці фермента, што можа быць звязана з павелічэннем стрэсавых фактараў у раслін.

SUMMARY

Bachelor thesis: 51 p., 12 fig., 6 tables., 54 sources.

Key words: ELICITORS, EPIN, YANTARIN, INDUCED SYSTEMIC RESISTANCE, PHENYLALANINE-AMMONIA-LYASE, PAL 5, SIGNALING MOLECULES, TOMATO.

Objects of research: tomatoes of the "Dohodniy" variety, commercial solutions of the elicitors "Epin" and "Yantarin", phytopathogenic fungus *B.cinerea*

Aim of work: to study the effect of exogenous elicitors on the activity of the phenylalanine-ammonia-lyase gene in *Solanum lycopersicum* L.

Research methods: molecular genetic (RNA isolation, cDNA synthesis, polymerase chain reaction), biochemical (measurement of protein concentration, analysis of enzyme activity).

In the course of this work, the effect of solutions of exogenous elicitors "Epin" and "Yantarin" on the activity of the Pal gene in samples of *S.lycopersicum* plants whose seeds were treated with these elicitors was studied. Primers for the Pal5 gene were written for PCR and RealTime - PCR. From tomato leaves frozen in liquid nitrogen, it was possible to successfully isolate RNA from almost 70 samples of plant material. Next, cDNA was obtained on the RNA matrix, which was used for PCR and RealTime PCR.

According to the results of electrophoretic analysis of PCR products, it was shown that amplicons of the EF-1a gene were obtained in most samples. Samples in which the reference gene was successfully amplified were used to study the expression of the Pal5 gene. Analysis of the results of PCR-RV showed increased expression of the Pal5 gene in infected plants pretreated with elicitors. At the same time, the expression level in plants treated with "Yantarin" was higher than in plants treated with "Epin". In the samples of control plants that were not treated, the expression level of the target Pal gene was significantly lower.

Next, was studied the activity of phenylalanine-ammonia-lyase, which was determined spectrophotometrically by measuring the formation of trans-cinnamic acid from L-phenylalanine. It has been observed that when tomato plants are treated with exogenous elicitors, there is an increase in the activity of phenylalanine-ammonia-lyase. With subsequent infection of plants, there is a further increase in the activity of the enzyme, which may be associated with an increase in stress factors on the plant.