

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

БОНДАРЕВОЙ
Кристины Савельевны

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МУТАНТОВ PSEUDOMONAS
CHLORORAPHIS SUBSP. AURANTIACA, УСТОЙЧИВЫХ К
ПЕРОКСИДУ ВОДОРОДА

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е. Г. Веремеенко

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 58 страниц, 24 рисунка, 8 таблицы, 69 использованных источников.

Ключевые слова: ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ, ПЦР-РВ, ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС, АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА, ФЕНАЗИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ.

Объект исследования: клетки штаммов дикого типа (В-162) и мутантов (В-162/255, В-162/2, В-162/255/15) бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*.

Цель работы: молекулярно-генетическая характеристика мутантов *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*, устойчивых к пероксиду водорода.

Методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические, биохимические, биоинформатические.

Полученные результаты: установлено, что штаммы-продуценты более устойчивы к действию пероксида водорода, в отличие от дикого типа. Ингибирование роста штамма дикого типа происходит при концентрации пероксида водорода, равной 3,75 мМ, штаммы-продуценты растут в концентрации превышающих таковую в 3 раза. Проведен ПЦР-скрининг на наличие в геноме *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* генов каталазы, пероксидазы, глутатионпероксидаза. Проанализирована удельная активность ключевых ферментов антиоксидантного комплекса – СОД и каталазы, у исследуемых штаммов. Анализ уровней экспрессии генов, кодирующих ферменты, разрушающие пероксид водорода, показал, что разные штаммы активируют разные механизмы защиты. При невысоких уровнях продукции феназинов основную защитную роль играют СОД и пероксидазы (*per* и *gluper*). Секвенированы, собраны, аннотированы и проанализированы геномы мутантных штаммов В-162/2 и В-162/255/15. В геноме штамма В-162/2 обнаружено 39 мутаций, из которых: 5 – локализованы в межгенных областях, 34 – затрагивают кодирующие последовательности. В геноме штамма В-162/255/15 обнаружено 16 мутаций из которых: 3 – локализованы в межгенных областях, 13 – в области кодирующих последовательностей. У обоих штаммов установлены мутации, которые потенциально могли повлиять на активность белков, либо полностью ее заблокировать.

РЭФЭРАТ

Дыпломная праца ўтрымлівае 58 старонак, 24 малюнка, 8 табліцы, 69 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: ГЕНОМНЫ АНАЛІЗ, ПЛР-РЧ, АКСІДАТЫЎНЫ СТРЭС, АНТЫАКСІДАНТНАЯ АБАРОНА, ФЕНАЗІНАВЫЯ ЗЛУЧЭННІ.

Аб'ект даследавання: клеткі штамаў дзікага тыпу (B-162) і мутантаў (B-162/255, B-162/2, B-162/255/15) бактэрыі *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*.

Мэта працы: малекулярна-генетычная характарыстыка мутантаў *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*, устойлівых да пераксіду вадароду.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, малекулярна-генетычныя, біяхімічныя, біяінфарматычныя.

Атрыманыя вынікі: устаноўлена, што штамы-прадцэнты больш устойлівыя да дзеяння пераксіду вадароду, у адрозненні ад дзікага тыпу. Падаўленне росту штаму дзікага тыпу адбываецца пры канцэнтрацыі пераксіду вадароду, роўнай 3,75 мМ, штамы-прадцэнты растуць пры канцэнтрацыі пераксіду вадароду, якая перавышае папярэднюю ў 3 разы. Праведзены ПЛР-скрынінг на прысутнасць у геноме *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* генаў каталаз, пераксідазы, глутаціёнпераксідазы. Прааналізавана ўмоўная актыўнасць вядучых ферментаў антыаксідантнага комплексу, СОД і каталазы, у даследаваных штамах. Ааналіз узроўняў экспрэсіі генаў, кадуемых ферменты, знішчаючыя пераксід вадароду, паказаў, што розныя штамы актывізуюць розныя механізмы абароны. Пры невысокіх узроўнях прадукцыі феназінаў асноўную ахоўную ролю выконваюць СОД і пераксідазы (*per* і *gluper*). Секвеніраваны, сабраны, ааналізаваны і прааналізаваны геномы мутантных штамаў B-162/2 і B-162/255/15. У геноме штаму B-162/2 знойдзена 39 мутацый, з якіх: 5 – знаходзяцца ў міжгенных вобласцях, 34 – закранаюць кадуемых паслядоўнасці. У геноме штаму B-162/255/15 знойдзена 16 мутацый з якіх: 3 – знаходзяцца ў межгенных вобласцях, 13 – у кадуемых паслядоўнасцях. У абодвух штамах знойдзены мутацыі, якія патэнцыйна маглі паўплываць на актыўнасць бялкоў, альбо цалкам яе заблакаваць.

ABSTRACT

The graduation project includes: 58 pages, 24 figure, 8 tables, 69 sources.

Key words: GENOMIC ANALYSIS, PCR-RT, OXIDATIVE STRESS, ANTIOXIDANT PROTECTION, PHENAZINE COMPAUNDS.

Object of investigation: cells of wild-type strains (B-162) and mutants (B-162/255, B-162/2, B-162/255/15) of *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*.

Aim of work: molecular-genetic characterization of *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* mutants that resistant to hydrogen peroxide.

Methods: microbiological, molecular-genetical, biochemical, bionformational.

The results: it was found that the producing strains are more resistant to the action of hydrogen peroxide, in contrast to the wild type. Inhibition of the growth of the wild type strain occurs at a concentration of hydrogen peroxide equal to 3,75 mm, producing strain grow in concentration exceeding that by 3 times. PCR-screening was performed for the presence of catalase, peroxidase and glutathione peroxidase genes in the genome of *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*. The specific activity of the key antioxidant enzymes – SOD and catalase, in the studied strains was analyzed. Analysis of the expression levels of genes encoding enzymes that destroy hydrogen peroxide showed that different strains activate different defense mechanisms. At low levels of phenazine production Sod and peroxidases (*per* and *gluper*) play the main protective role. The genomes of mutant strain B-162/2 and B-162/255/15 were sequenced, collected, annotated and analyzed. 39 mutations were found in the genome of strain B-162/2, of which: 5 are localized in intergenic regions, 34 affect coding sequences. 16 mutations were found in the genome of strain B-162/255/15 of which 3 were localized in intergenic regions, 13 in the area of coding sequences. Both strains have mutations that could potentially affect the activity of proteins, or completely block it.