

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

САРЫЧЕВ
АЛЕКСЕЙ ЮРЬЕВИЧ

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ
НУКЛЕАЦИИ ЛЬДА СРЕДИ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*,
ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Л.Н. Валентович

Минск, 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 53 с., 20 рис., 23 табл., 59 источников.

Ключевые слова: ПЦР, белок нуклеации льда, фитопатогены, льдонуклеация, секвенирование нуклеиновых кислот по методу Сэнгера, измерение концентрации белка методом Бредфорда.

Объекты исследования: коллекционные штаммы бактерий из фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси.

Цель: поиск генов, кодирующих белки нуклеации льда, среди изолятов бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных на территории Республики Беларусь.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов, окраска клеток, микроскопирование), спектрофотометрические, генетические (трансформация), молекулярно-генетические (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, клонирование, секвенирование нуклеиновых кислот по методу Сэнгера), физиологические (нуклеация льда бактериальными клетками), биохимические (измерение концентрации общего белка по методу Бредфорда).

В результате исследовательской работы были отобраны 18 штаммов бактерий из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. При помощи ПЦР-анализа с использованием праймеров, специфичных к генам, кодирующим БНЛ, было установлено наличие генов, кодирующих БНЛ, у штаммов бактерий *Ps. syringae* БИМ В-266, *Ps. syringae* БИМ В-267, *Ps. syringae* БИМ В-268, *Ps. syringae* БИМ В-280, *Ps. amygdali* БИМ В-695, *X. phaseoli* БИМ В-279, *Xanthomonas* sp. БИМ В-772, *X. campestris* БИМ В-1587. Наличие БНЛ у исследуемых штаммов бактерий было косвенно подтверждено в ходе постановки физиологических экспериментов с заморозкой воды в присутствии клеток бактерий. Было установлено, что штаммы *Ps. syringae* БИМ В-266 и *Ps. syringae* БИМ В-268 замораживали воду при температуре $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, *Ps. syringae* БИМ В-267 при $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$, *Ps. syringae* БИМ В-280 при $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Заморозка воды в присутствии штаммов бактерий рода *Pseudomonas* наблюдалась при большей температуре, чем в присутствии штаммов бактерий рода *Xanthomonas*. Корреляции между общей концентрацией белка и морфологии клеток на активность нуклеации обнаружить не удалось.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 53 старонкі, 20 малюнкаў, 23 табліцы, 59 крыніц.

Ключавыя словы: ПЦР, бялок нуклеацыі лёду, фітапатагены, нуклеацыя лёду, секвеніраванне нуклеінавых кіслот метадам Сэнгера, вымярэнне канцэнтрацыі бялку метадам Брэдфарда.

Аб'екты даследвання: калекцыйныя штамы бактэрыі з фонду Беларускай калекцыі непатагенных мікраарганізмаў Інстытута мікрабіялогіі НАН Беларусі.

Мэта даследвання: пошук генаў, якія кадуюць бялкі нуклеацыі лёду, сярод ізалятаў бактэрыі роду *Pseudomonas*, выдзеленых на тэрыторыі Рэспублікі Беларусь.

Метады даследвання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў, афарбоўка клетак, мікраскапіяванне), спектрафотаметрычныя, генетычныя (трансфармацыя), малекулярна-генетычныя (выдзяленне ДНК, палімеразная ланцужковая рэакцыя, кланіраванне, секвеніраванне нуклеінавых кіслот метадам Сэнгера), фізіялагічныя (нуклеацыя лёду бактэрыяльнымі клеткамі), біяхімічныя (вымярэнне канцэнтрацыі агульнага бялку метадам Брэдфарда).

У выніку даследчай працы былі адабраны 18 штамаў бактэрыі з Беларускай калекцыі непатагенных мікраарганізмаў Інстытута мікрабіялогіі НАН Беларусі. Пры дапамозе ПЛР-аналізу з выкарыстаннем праймераў, спецыфічных да генаў, якія кадуюць БНЛ, былі выяўлены гены, якія кадуюць БНЛ, у штамаў бактэрыі *Ps. syringae* БІМ В-266, *Ps. syringae* БІМ В-267, *Ps. syringae* БІМ В-268, *Ps. syringae* БІМ В-280, *Ps. amygdali* БІМ В-695, *X. phaseoli* БІМ В-279, *Xanthomonas* sp. БІМ В-772, *X. campestris* БІМ В-1587. Наяўнасць БНЛ у штамаў бактэрыі была ўскосна пацверджана падчас пастаноўкі фізіялагічных эксперыментаў з замарозкай вады ў прысутнасці клетак бактэрыі. Было выяўлена, што штамы *Ps. syringae* БІМ В-266 і *Ps. syringae* БІМ В-268 замарожвалі ваду пры тэмпературы $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, *Ps. syringae* БІМ В-267 пры $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$, *Ps. syringae* БІМ В-280 пры $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Замарозка вады ў прысутнасці штамаў бактэрыі роду *Pseudomonas* назіралася пры большай тэмпературы, чым у прысутнасці штамаў бактэрыі роду *Xanthomonas*. Карэляцыі паміж агульнай канцэнтрацыяй бялку і марфалогіяй клетак на актыўнасць нуклеацыі выявіць не ўдалося.

ABSTRACT

Diploma project 53 p., 20 fig., 23 tables, 59 sources.

Key words: PCR, ice nucleation protein, phytopathogens, ice nucleation, Sanger nucleic acid sequencing, measurement of protein concentration by the Bradford method.

The aim of the research: search for genes encoding ice nucleation proteins among *Pseudomonas* bacterial isolates isolated in the Republic of Belarus.

The research methods: microbiological (cultivation of microorganisms, cell staining, microscopy), spectrophotometric, genetic (transformation), molecular-genetic (DNA extraction, polymerase chain reaction, cloning, nucleic acid sequencing by Sanger method), physiological (ice nucleation of bacterial cells), biochemical (measurement of total protein concentration by Bradford method).

As a result of the research work, 18 bacterial strains from the Belarusian collection of nonpathogenic microorganisms of the Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus were selected. By PCR-analysis using primers specific to BNL-encoding genes, the presence of BNL-encoding genes was established in bacterial strains *Ps. syringae* BIM B-266, *Ps. syringae* BIM B-267, *Ps. syringae* BIM B-268, *Ps. syringae* BIM B-280, *Ps. amygdali* BIM B-695, *X. phaseoli* BIM B-279, *Xanthomonas* sp. BIM B-772, *X. campestris* BIM B-1587. The presence of BNL in the studied bacterial strains was indirectly confirmed during physiological experiments with water freezing in the presence of bacterial cells. *Ps. syringae* BIM B-266 and *Ps. syringae* BIM B-268 strains were found to freeze water at -2.5 °C, *Ps. syringae* BIM B-267 at -3 °C, and *Ps. syringae* BIM B-280 at -8 °C. Water freezing in the presence of bacterial strains of the genus *Pseudomonas* was observed at a higher temperature than in the presence of bacterial strains of the genus *Xanthomonas*. Correlation between total protein concentration and cell morphology on nucleation activity couldn't be found.