

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

СТЕЛЬМАШЕНКО
Дарья Владимировна

**АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО *ASDS*-ГЕНА В
ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ *NICOTIANA TABACUM*, ВЫРАЩЕННЫХ
В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е.А. Храмцова

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 44 страницы, 10 рисунков, 7 таблиц, 35 использованных источников.

Ключевые слова: СТРЕСС, АБИОТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, АЦК-ДЕЗАМИНАЗА, *NICOTIANA TABACUM*, *ACDS*-ГЕН, ЭТИЛЕН.

Объект исследования: трансгенные линии *N. tabacum* 10.46, 10.38 и 4.12.

Цель работы: исследовать устойчивость трансгенных *N. tabacum* к воздействию абиотических факторов (тяжелые металлы и засоление).

Методы исследования: выращивание растений *in vitro*, электрофорез в агарозном геле, выделение ДНК с помощью Plant DNA preparation kit, выделение РНК с помощью Plant RNA Purification Kit PP-2105, ПЦР, ПЦР-RealTime, анализ удельной активности АЦК-дезаминазы, измерение ростовых характеристик *N. tabacum*.

Полученные результаты: ранее на базе биологического факультета были получены трансгенные растения *Nicotiana Tabacum*, с бактериальным *acdS*-геном, экспрессирующие АЦК-дезаминазу. Синтез данного фермента снижает концентрацию этилена, который является основным посредником при ответе на стрессовое воздействие. С помощью методов, изложенных выше, была изучена устойчивость трансгенного табака к абиотическим стрессам, таким как тяжелые металлы и засоление.

В ходе дипломной работы были выявлены концентрации, при которых трансгенные растения показали наибольшую устойчивость к стрессовым факторам, а следовательно экспрессия гена, кодирующего АЦК-дезаминазу, была на уровне сопоставимом с геном домашнего хозяйства. Активный синтез целевого фермента обеспечил снижение количества синтезируемого растениями стрессового этилена, что привело к повышению устойчивости растений табака.

Трансгенные растения показали улучшенные ростовые характеристики в сравнении с нетрансгенными, так как синтез АЦК-дезаминазы является основополагающим фактором в повышении устойчивости растений к стрессу.

Таким образом, было доказано, что *acdS*-ген, экспрессирующийся в *N. tabacum* действительно повышает устойчивость трансгенных растений к абиотическим факторам, таким как засоление и загрязнение среды тяжелыми металлами.

РЕФЕРАТ

Дыпломная работа ўтрымлівае 44 старонкі, 10 малюнкаў, 7 табліц, 35 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: СТРЕС, АБІЯТЫЧНЫЯ ФАКТАРЫ, АЦК-ДЭЗАМІНАЗА, NICOTIANA TABACUM, ACDS-ГЕН, ЭТЫЛЕН.

Аб'ект даследавання: трансгенныя лініі *N. tabacum* 10.46, 10.38 і 4.12.

Мэта працы: даследаваць устойлівасць трансгенных *N. tabacum* да ўздзеяння абіятычных фактараў (цяжкія металы і засаленне).

Метады даследавання: вырошчванне раслін *in vitro*, электрофарэз у агарозном гелі, вылучэнне ДНК з дапамогай Plant DNA preparation kit, вылучэнне РНК з дапамогай Plant RNA Purification Kit PP-2105, ПЦР, ПЦР-RealTime, аналіз удзельнай актыўнасці АЦК-дезаминазы, вымярэнне роставых характарыстык *N. tabacum*.

Атрыманыя вынікі: раней на базе біялагічнага факультэта былі атрыманы трансгенныя расліны *Nicotiana tabacum*, з бактэрыяльным *acdS*-генам, экспрэсуючыя АЦК-дезаминазу. Сінтэз дадзенага фермента зніжае канцэнтрацыю этылену, які з'яўляецца асноўным пасярэднікам пры адказе на стрэсавае ўздзеянне. З дапамогай метадаў, выкладзеных вышэй, была вывучана ўстойлівасць трансгеннага тытуню да абіятычнымі стрэсаў, такім як цяжкія металы і засаленне.

У ходзе дыпломнай працы былі выяўлены канцэнтрацыі, пры якіх трансгенныя расліны паказалі найбольшую ўстойлівасць да стрэсавых фактараў, а такім чынам экспрэсія гена, кадавальныя АЦК-дезаминазу, была на ўзроўні супастаўным з геном хатняй гаспадаркі. Актыўны сінтэз мэтавага фермента забяспечыў зніжэнне колькасці сінтэзаванага раслінамі стрэсавага этылену, што прывяло да павышэння ўстойлівасці раслін тытуню.

Трансгенныя расліны паказалі палепшаныя роставыя характарыстыкі ў параўнанні з нетрансгеннымі, так як сінтэз АЦК-дезаминазы з'яўляецца асноватворным фактарам у павышэнні ўстойлівасці раслін да стрэсу.

Такім чынам, было даказана, што *acdS*-ген, экспрэсуючыся ў *N. tabacum* сапраўды павышае ўстойлівасць трансгенных раслін да абіятычнымі фактараў, такім як засаленне і забруджванне асяроддзя цяжкімі металамі.

ABSTRACT

Diploma work contains 44 pages, 10 figures, 7 tables, 35 used sources.

Keywords: STRESS, ABIOTIC FACTORS, ACC-DESAMINASE, NICOTIANA TABACUM, ACDS-GENE, ETHYLENE.

Object of study: transgenic lines *N. tabacum* 10.46, 10.38 and 4.12.

Objective: to investigate the resistance of transgenic *N. tabacum* to abiotic factors (heavy metals and salinisation).

Research methods: in vitro cultivation of plants, electrophoresis in agarose gel, DNA isolation using Plant DNA preparation kit, RNA isolation using Plant RNA Purification Kit PP-2105, PCR, PCR-RealTime, analysis of specific activity of ACC-deaminase, measurement of growth characteristics of *N. tabacum*.

Results: previously, transgenic *Nicotiana tabacum* plants with the bacterial *acdS*-gene expressing ACC-deaminase were obtained based on the Faculty of Biology. The synthesis of this enzyme reduces the concentration of ethylene, which is the main mediator in the response to stress. The resistance of transgenic tobacco to abiotic stresses such as heavy metals and salinization has been studied using the methods described above.

During the thesis, concentrations were identified at which transgenic plants showed the greatest resistance to stress factors, and therefore the expression of the gene encoding ACC-deaminase was at a level comparable to the gene of a household. The active synthesis of the target enzyme ensured a decrease in the amount of stress ethylene synthesized by plants, which led to an increase in the resistance of tobacco plants.

Transgenic plants showed improved growth characteristics in comparison with non-transgenic plants since the synthesis of ACC-deaminase is a fundamental factor in increasing plant resistance to stress.

Thus, it has been proven that the *acdS* gene expressed in *N. tabacum* increases the resistance of transgenic plants to abiotic factors such as salinization and heavy metal pollution.