

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ТОМАШОВА
Анна Юрьевна

**ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОВ
АЗОТНОГО ОБМЕНА В КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ СОИ
(*GLYCINE MAX.*), РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СОДЕРЖАНИЮ БЕЛКА В
СЕМЕНАХ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Е. В. Воронкова

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 63 страниц, 31 рисунок, 5 таблиц, 54 источников.

Ключевые слова: СОЯ, *GLYCINE MAX*, *GLYCINE SOJA*, NO-СИНТАЗА ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЙ БЕЛОК, НИТРАТРЕДУКТАЗА, НИТРИТРЕДУКТАЗА, СЕКВЕНИРОВАНИЕ, СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА, БЕЛОК.

Объект исследования: выборка сортов сои (*Glycine max*), имеющих различное содержание белков в семенах, образец дикорастущей сои (*G. soja*) взятый для сравнения. Для анализа использованы 30 сортов, из них 18 высокобелковых и 12 низкобелковых. Все сорта взяты из коллекции лаборатории нехромосомной наследственности ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси». Материал исследования – тотальная ДНК (тотДНК).

Цель работы: изучить изменчивость последовательностей ДНК генов, связанных с ассимиляцией азота, в коллекции различающихся по содержанию белка сортов сои.

Методы исследования: молекулярно-генетические, аналитические.

Полученные результаты: выявлены отличия в последовательностях ДНК изучаемых генов, в сортах различающихся по содержанию белка, а также между сортами *G. max* и *G. soja*:

В гене NO-синтаза ассоциированный белок обнаружена трансверсия (С → А) в промоторной области. Замена находится за пределами кодирующей последовательности гена.

В гене нитратредуктазы, замены выявлены в *G. soja*. Замена С → G в 1 районе гена приводит к замене полярной незаряженной аминокислоты глицин на неполярную аминокислоту аланин. Замена (Т → А) в 5 районе не приводит к замене аминокислоты.

В гене нитритредуктазы выявлено ряд отличий сразу по нескольким районам: 1 район – произошла вставка (ТС) в образце *G. soja*. В 3 районе произошла крупная вставка (ТТТАСААСААГТСААСААСТАТА) и одна однонуклеотидная вставка (А), а также 2 замены (Т → А). Все отличия находятся в интроне, в образце *G. soja*. Замена Т → G в 4 районе так же находится в интронной области в образце *G. soja*. Замена А → G в 5 области находится в экзоне образца *G. soja*, но не привела к замене аминокислоты (валина).

В 6 районе наблюдается замена ТТ → АА сразу в нескольких сортах, различающихся по уровню белковости: высоко белковые – Ствига; низкобелковые – Maple Donovan, ES Carnor, Хуторяночка, Alta; и *G. soja*. Так

же, в данном районе есть отличие у образца Alta (транзиция Т → С), в следствии чего произошла замена изолейцина на валин, однако это не повлияло на структурные изменения белка.

Полученные на данном этапе исследования сведения не дают оснований для определения функциональной значимости выявленных нуклеотидных замен. Ее нам предстоит оценить в последующих исследованиях. По-видимому, поиск функционально-значимых областей генов, связанных с утилизацией азота в растениях сои следует проводить за пределами кодирующих последовательностей, в промоторных и терминаторных областях.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца змяшчае 63 старонак, 31 малюнак, 5 табліц, 47 крыніц.

Ключавыя словы: СОЯ, GLYCINE MAX, GLYCINE SOJA, NO-СІНТАЗА ЎЗАЕМАДЗЕЙНІЧАЕ БЯЛОК, НІТРАТРЕДУКТАЗА, НІТРІТРЕДУКТАЗА, СЕКВЕНІРОВАНИЕ, УТРЫМАННЕ БЯЛКУ, БЯЛОК.

Аб'ект даследавання: выбарка гатункаў соі (*Glycine max*), якія маюць рознае ўтрыманне бялкоў у насенні, ўзор дзікарослай соі (*G. soja*) узяты для параўнання. Для аналізу выкарыстаны 30 гатункаў, з іх 18 высокабялковых і 12 нізкабялковых. Усе гатункі ўзятыя з калекцыі лабараторыі нехрамасомнай спадчыннасці ДНУ «Інстытут генетыкі і цыталогіі НАН Беларусі». Матэрыял даследавання-татальная ДНК (тотДНК).

Мэта працы: вывучыць зменлівасць паслядоўнасцяў ДНК генаў, звязаных з асіміляцыяй азоту, у калекцыі адрозніваюцца па змесце бялку гатункаў соі.

Метады даследавання: малекулярна-генетычныя, аналітычныя.

Атрыманыя вынікі: выяўлены адрозненні ў паслядоўнасцях ДНК вывучаемых генаў, у гатунках якія адрозніваюцца па змесце бялку, а таксама паміж гатункамі *G. max* і *G. soja*:

У гене NO-сінтаза асацыіраваны бялок выяўленая трансверсія (C → A) у проматорнай вобласці. Замена знаходзіцца за межамі кадавальных паслядоўнасці гена.

У гене нітратредуктазы, замены выяўлены ў *G. soja*. Замена C → G у 1 раёне гена прыводзіць да замены палярнай незараджанай амінакіслоты гліцын на непалярную амінакіслату аланін. Замена (T → A). У 5 раёне не прыводзіць да замены амінакіслоты.

У гене нітрітрעדуктазы выяўлена шэраг адрозненняў адразу па некалькіх раёнах: 1 раён – адбылася ўстаўка (TC) ва ўзоры *G. soja*. У 3 раёне адбылася буйная ўстаўка (TTTACAACAAGTCAACAATA) і адна аднануклеатыдная ўстаўка (A), а таксама 2 замены (T → A). Усе адрозненні знаходзяцца ў інтроне, ва ўзоры *G. soja*. Замена T → G у 4 раёне гэтак жа знаходзіцца ў інтроннай вобласці ва ўзоры *G. soja*. Замена A → G у 5 вобласці знаходзіцца ў экзоне, але не прывяла да замены амінакіслоты (валіна).

У 6 раёне назіраецца замена TT → AA адразу ў некалькіх гатунках, якія адрозніваюцца па ўзроўні бялковасці: высокабяловыя – Сцвіга; нізкабяловыя – Maple Donovan, ES Capnor, Хуторяночка, Alta; і *G. soja*. Гэтак жа, у дадзеным раёне ёсць адрозненне ў ўзоры Alta (транзіцыя T → C), у выніку чаго адбылася замена непалярнай аліфатычнай амінакіслоты ізалейцын на непалярныя аліфатычную амінакіслату валін, аднак гэта не паўплывала на структурныя змены бялку.

Атрыманыя на дадзеным этапе даследавання звесткі не даюць падстаў для вызначэння функцыянальнай значнасці выяўленых нуклеатыдных замен. Яе нам трэба будзе ацаніць у наступных даследаваннях. Па-відаць, пошук функцыянальна-значных абласцей генаў, звязаных з утылізацыяй азоту ў раслінах соі варта праводзіць за межамі кадавальных паслядоўнасцяў, у промоторных і тэрмінатарных абласцях.

ABSTRACT

The thesis contains 63 pages, 31 figures, 5 tables, 47 sources.

Keywords: SOYBEAN, *GLYCINE MAX*, *GLYCINE SOJA*, NO-SYNTHASE INTERACTING PROTEIN, NITRATE REDUCTASE, NITRITE REDUCTASE, SEQUENCING, PROTEIN CONTENT, PROTEIN.

The object of the study: a sample of soybean varieties (*Glycine max*) with different protein content in seeds, a sample of wild soybeans (*G. soja*) taken for comparison. 30 varieties were used for the analysis, 18 of them with high protein content and 12 with low protein content. All varieties were taken from the collection of the Laboratory of Cytoplasmic heredity of the National Research University «Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus». The research material was total DNA (totDNA).

The purpose of the work: to study the variability of DNA sequences of genes associated with nitrogen assimilation in a collection of soybean varieties differing in seed protein content.

Research methods: molecular genetics, analytical methods.

The results differences in the DNA sequences of the studied genes between cultivars, differing in protein content, as well as in the sample of *G. soja*, were revealed.:

A transversion (C → A) in the promoter region was detected in the NO-synthase associated protein gene. The substitution is outside the coding sequence of the gene.

In the nitrate reductase gene, substitutions were detected in *G. soja* in the 1st and 5th regions. Substitution of C → G in the 1st region of the gene leads to the replacement of the polar uncharged amino acid glycine with the nonpolar amino acid alanine. Substitution (T → A) in the 5th region does not result in amino acid substitution.

A number of differences were found in the nitrite reductase gene in several regions at once: 1 region – insertion (TC) occurred in the *G. soja* sample. A large insertion (TTTACAACAAGTCAACAATA) and one single nucleotide insertion (A) occurred in the 3rd region, as well as 2 substitutions (T → A). All the differences are in the intron in the *G. soja* sample. The T → G substitution in the 4th region is also located in the intronic region in the *G. soja* sample. The A → G substitution in the 5 region is located in the exon, but did not lead to a replacement of the amino acid (valine).

In region 6, there is a substitution of TT → AA in several varieties at once, differing in protein content: high-protein – Stviga; low-protein – Maple Donovan, ES Capnor, Khutoryanochka, Alta; and *G. soja*. Also, there is a difference in the Alta sample in this area (transit T → C), as a result of which the nonpolar aliphatic

amino acid isoleucine was replaced by the nonpolar aliphatic amino acid valine, but this did not affect the structural changes of the protein.

The information obtained at this stage of the study does not provide grounds for determining the functional significance of the identified nucleotide substitutions. We will have to evaluate it in subsequent studies. Apparently, the search for functionally significant regions of genes related to nitrogen utilization in soybean plants should be carried out beyond the coding sequences, in the promoter and terminator regions.