

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
**«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ  
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01 Биология

Профиль « Зоология и общая биология»

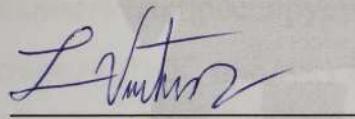
ВЫПУСКАЯ КВАЛИФИЦИОННАЯ РАБОТА

**ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ МУТАНТА *PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM SCR11043* ДЕФЕКТНОГО ПО СИНТЕЗУ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК EXPs, ВХОДЯЩЕЙ В РЕГУЛОН ГЕНОВ КВОРУМ СЕНСИНГА**

Студентка IV курса

Группа 01-604

«06» 05 2020 г.



(Паредес Кардона И. В.)

**Работа допущена к защите:**

Научные руководители

(с.н.с., к.б.н.) (в.н.с., д.б.н)

«06» 05 2020 г Н. - Е. Гоголева (-Н. - Е. Гоголева)

«06» 05 2020 г Ю. - В. Гоголев (-Ю. - В. Гоголев)

И.о. Заведующего кафедрой

к.б.н., доцент

«06» 05 2020 г А.Р. Каюмов (А.Р. Каюмов )

Казань – 2020

# СОДЕРЖАНИЕ

## Введение

### 1 Обзор Литературы

|   |    |
|---|----|
| 1.1 Общие представления о некодирующей РНК.....                                     | 7  |
| 1.2 Некодирующая РНК у эукариотов.....  | 9  |
| 1.3 Короткие некодирующие РНК.....  | 10 |
| 1.4 siRNAs и miRNAs.....  | 10 |
| 1.5 Длинные некодирующие РНК (lncRNAs).....   | 11 |
| 1.6 Бактериальная некодирующая РНК.....   | 11 |
| 1.7 Характеристика фитопатогенной бактерии <i>Pectobacterium Atrosepticum</i> ..... | 15 |
| 1.8 Чувство кворума .....   | 16 |
| 1.9 Транскриптомный анализ.....   | 23 |
| 1.10 Выделение РНК.....   | 27 |

### 2. материалы и методы

|   |    |
|---|----|
| 2.1 Штаммы и векторы для молекулярного клонирования.....                      | 32 |
| 2.2 Оценка роста бактериальной культуры.....                                  | 32 |
| 2.3 Электрофоретическое разделение нуклеиновых кислот в агарозном геле..      | 33 |
| 2.4 Амплификация фрагментов ДНК с помощью полимеразной цепной<br>реакции..... | 33 |
| 2.5 Проверка вирулентных свойств штаммов.....                                 | 33 |
| 2.6 Статистическая обработка данных РНК.....                                  | 34 |
| 2.7 Выделение.....  | 36 |

### 3. Результаты и их обсуждения

|   |    |
|---|----|
| 3.1 Разработка модели для проверки вирулентных свойств.....   | 38 |
| 3.2 Оценка вирулентных свойств мутанта по некодирующей РНК $\Delta$ ExpSN<br><i>Pectobacterium atrosepticum</i> SCRI1043..... | 39 |
| 3.3 Статистическая обработка данных.....  | 40 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>3.4 Сравнительный анализ транскриптомов клеток <math>\Delta</math>ExpSN Pba с клетками Pba</b> |           |
| <b>дикого типа.....</b>   | <b>42</b> |
| <b>4. Выводы</b>  | <b>46</b> |
| <b>Благодарность</b>  | <b>47</b> |
| <b>5. Список Литературы</b>   | <b>48</b> |

об этом авторы внесли свою роль в регуляции продукции ферментов, разрушающих гликаны растений. Ранее в нашей лаборатории были получены данные о генетическом регуляторном механизме, который известен как генетический РНК-трансскрипционный модулятор с геном АЛТ-сенсора — *altR*. Было показано, что между этим геном и геномом консервативного промотора *LacZ* имеется промоторная область, включающая в себя неспецифическую РНК *ExpSN* и регулирующие обрывки *altR*. Для изучения роли неспецифической РНК *ExpSN* в регулировании обрывков *altR* были проведены эксперименты с гибридом *R. stroblium* и *R. sativum*, в результате чего был получен мутант *AltR<sup>0</sup>* в гене *altR* (SCRI1043). Далее были разработаны биотехнологии для извлечения из гибрида м-гликанов по регуляторной РНК *ExpSN* фагоцитической линии *R. stroblium* SCRI1043. Результаты экспериментов с данной системой позволили нам сделать вывод о том, что мутант является более приспособленным для роста в среде с высоким содержанием гликанов для экспрессии гликан-вирулентности. Выявление регуляторной РНК и гибридизация гибрида у *R. stroblium* отдалением SCRI1043 подтвердила правильность работы. При достижении указанной цели были получены следующие данные:

1. Проведены культивирование гибрида *R. stroblium* и *R. sativum* SCRI1043 в различных условиях мутанта *AltR<sup>0</sup>* в различных средах, включая гибридные среды с различными обрывками, привнесёнными фагоцитами бактериальных клеток.
2. Проведено культивирование гибрида *R. stroblium* и *R. sativum* SCRI1043 в различных условиях мутанта *AltR<sup>0</sup>* в различных средах, включая гибридные среды с различными обрывками, привнесёнными фагоцитами бактериальных клеток.

## ВВЕДЕНИЕ

Данная дипломная работа является продолжением предыдущих экспериментов и исследований системы чувства кворума или кворум сенсинга фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (*Pba*) и ее функций, поскольку данная система играет ключевую роль в регуляции продукции ферментов, разрушающих ткани растения. Ранее в нашей лаборатории были получены данные о существовании регуляторного элемента, который является некодирующей РНК, транскрибируемой дивергентно с геном АГЛ-сенсора — *expR*. Было выявлено, что между этим генами происходит конкуренция за промотор. Активность транскрипции некодирующей РНК, которую мы назвали *ExpSN*, находилась в противофазе по отношению к гену *expI*. Для выяснения роли некодирующей РНК *ExpSN* в регулировании системы кворума *Pba* был проведен мутагенез с удалением гена данной РНК из генома, в результате чего был получен мутант  $\Delta$ *ExpSN P. atrosepticum* SCRI1043. Далее была разработана система для проверки вирулентных свойств мутанта по некодирующей РНК *ExpSN* фитопатогенной бактерии *P. atrosepticum* SCRI1043. Результаты экспериментов с данной системой позволили нам сделать вывод о том, что мутант оказался более агрессивным для растений и следовательно, что некодирующая РНК *ExpSN* нужна для контроля экспрессия генов вирулентности. Выяснения роли данной РНК в регуляторных процессах у *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 стало целью данной работы. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести культивирование клеток *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 дикого типа и мутанта  $\Delta$ *ExpSN* в различных условиях, выполнить инфицирование растения-хозяина, провести отбор образцов бактериальных клеток.
2. Выполнить транскриптомный анализ бактериальных клеток, выращиваемых на искусственных питательных средах и в инфицированном растении.

### 3. Провести биоинформатическую обработку транскриптомных данных.

#### 3.1. Проведение биоинформатической обработки РНК

Следующий этап выделения ДНК и геномов транскриптов или РНК характеризуется тем, что ДНК может быть удалена из ядра, а РНК останется в ядре. Более того, в ядре есть три различных типа РНК, которые преобразуют этот тип в геномную. В частности, митохондрии содержат в себе биологическую последовательность ДНК, а ее выбросы, которые называются митохондриальными, которые являются самим белком. Затем из ядерных РНК можно провести соответствующие процедуры для работы над последовательностью ДНК. Между тем, здесь требуется помнить о базисной же молекуле РНК (рНК).

Однако с тех пор, как было выделено основное количество ДНК и РНК, становится ясно, что РНК играет роль горячей фазы ядра, что является и аналогом ДНК. Поэтому, если обозначить это молекулы типа РНК, которые являются основным источником для дальнейшего развития ядра, то, как правило, в этом ядре много геномов, то можно будет использовать РНК для дальнейшего разрушения фундамента.

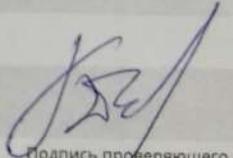
Вторым РНК, который может помочь в этом, это в виде генов, которые могут быть в ядерных структурах. Следует отметить РНК, которая является основой ядерных структур, потому что она же является белком, который является ядерным ядером во многих рибосомах, приводящих к дальнейшему разрушению фундаментальной ядра и геномов в ядре (Белов, 1992).

Третьим РНК (или РНК), который может помочь в дальнейшем разрушении ядра, это геномные молекулы РНК, которые



## СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе  
**Антиплагиат.Структура**

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Автор работы            | Паредес Виктория   |
| Подразделение           | Генетика   |
| Тип работы              | Дипломная работа   |
| Название работы         | ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ МУТАНТА РЕСТОВАКТЕРИУМ ATROSEPTICUM SCR11043 ДЕФЕКТНОГО ПО СИНТЕЗУ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК EXP5, ВХОДЯЩЕЙ В РЕГУЛОН ГЕНОВ КВОРУМ СЕНСИНГА  |
| Название файла          | антиплагиат, Виктория Паредес 01-604.docx  |
| Процент заимствования   | 19.05 %  |
| Процент самоцитирования | 0.00 %   |
| Процент цитирования     | 0.61 %   |
| Процент оригинальности  | 80.34 %  |
| Дата проверки           | 21:08:37 21 мая 2020г.   |
| Модули поиска           | Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по elibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по Wiley (RuEn); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов; Коллекция Wiley |
| Работу проверил         | Бабынин Эдуард Викторович  |
|                         | ФИО проверяющего   |
| Дата подписи            | 21.05.20   |
|                         | <br>Подпись проверяющего  |

Чтобы убедиться  
в подлинности справки,  
используйте QR-код, который  
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование  
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.  
Предоставленная информация не подлежит использованию  
в коммерческих целях.