

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

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.03.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
Дипломная работа

САЛИЦИЛАТ-ЗАВИСИМЫЕ ХИТИНАЗЫ И ХИТИНАЗА-ПОДОБНЫЕ  
БЕЛКИ В КОРНЯХ ГОРОХА

Работа завершена:

« 9 » 06 2023 г.



(И.Е. Найданова)

Работа допущена к защите:

Научные руководители:

к.б.н., ст.преподаватель кафедры генетики

« 9 » 06 2023 г.



(Н.Б. Баранова)

к.б.н., с.н.с. лаб. оксипипинов КИББ ФИЦ КазНЦ РАН

« 9 » 06 2023 г.



(А.М. Егорова)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

« 9 » 06 2023 г.



(А.Р. Каюмов)

Казань – 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	6
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	8
1.1 Модель иммунитета растений .....	8
1.2 Салициловая кислота и иммунитет растений .....	10
1.2.1 Биосинтез салициловой кислоты .....	10
1.2.2 Восприятие салициловой кислоты .....	11
1.2.3 Системная приобретенная устойчивость .....	12
1.3 Защитные белки растений .....	13
1.5 Растительные хитиназа-подобные белки .....	17
<b>Заключение</b> .....	21
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	23
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	23
2.1 Обработка и выращивание растений .....	23
2.2 Выделение РНК из растительной ткани .....	23
2.3 Подготовка образцов РНК к секвенированию .....	24
2.4 Выделение белков из растительной ткани и их разделение методом одномерного электрофореза .....	25
2.5 Очистка хитиназ и хитиназа-подобных белков методом элюции из геля .....	26
2.6 Определение активности хитиназ и хитиназа-подобных белков .....	26
2.7 Определение способности хитиназа-подобных белков связывать субстрат.....	26
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	28

3.1 Оценка экспрессии генов хитиназ и хитиназа-подобных белков под влиянием салициловой кислоты.....	28
3.2 Биоинформатический анализ доменной организации хитиназ и хитиназа-подобных белков .....	30
3.3 Выделение и очистка хитиназ и CLPs.....	33
3.4 Оценка активности хитиназ и хитиназа-подобных белков .....	34
3.5 Определение способности CLPs связывать субстрат .....	36
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	40
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	41

1. ...

2. ...

3. ...

4. ...

5. ...

6. ...

7. ...

8. ...

9. ...

10. ...

11. ...

12. ...

13. ...

14. ...

15. ...

16. ...

17. ...

18. ...

19. ...

20. ...

21. ...

22. ...

23. ...

24. ...

25. ...

26. ...

27. ...

28. ...

29. ...

30. ...

31. ...

32. ...

33. ...

34. ...

35. ...

36. ...

37. ...

38. ...

39. ...

40. ...

41. ...

42. ...

43. ...

44. ...

45. ...

46. ...

47. ...

48. ...

49. ...

50. ...

51. ...

52. ...

53. ...

54. ...

55. ...

56. ...

57. ...

58. ...

59. ...

60. ...

61. ...

62. ...

63. ...

64. ...

65. ...

66. ...

67. ...

68. ...

69. ...

70. ...

71. ...

72. ...

73. ...

74. ...

75. ...

76. ...

77. ...

78. ...

79. ...

80. ...

81. ...

82. ...

83. ...

84. ...

85. ...

86. ...

87. ...

88. ...

89. ...

90. ...

91. ...

92. ...

93. ...

94. ...

95. ...

96. ...

97. ...

98. ...

99. ...

100. ...

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CBD	Хитин-связывающий домен (англ. Chitin-binding domain)
CLP	Хитиназа-подобный белок (англ. Chitinase-like protein)
DAMP	Ассоциированный с повреждением молекулярный паттерн (англ. Damage-associated molecular pattern)
ETI	Иммунитет, запускаемый эффектором (англ. Effector-triggered immunity)
ETS	Опосредованная эффекторами реакция восприимчивости (англ. Effector-triggered susceptibility)
GH18	Гликозидгидролаза семейства 18 (англ. Glycoside hydrolase 18)
GH19	Гликозидгидролаза семейства 19 (англ. Glycoside hydrolase 19)
HR	Реакция сверхчувствительности (англ. Hypersensitive response)
ICS	Изохоризматсинтаза (англ. Isochorismate synthase)
PAL	Фенилаланинаммиаклиаза (англ. Phenylalanine-ammonia-lyase)
PAMP	Патоген-ассоциированный молекулярный паттерн (англ. Pathogen-associated molecular pattern)
PR	Белок, связанный с патогенезом (англ. Pathogenesis-related protein)
PRR	Рецептор распознавания паттернов (англ. Pattern recognition receptors)
PTI	Иммунитет, запускаемый PAMP (англ. PAMP-triggered immunity)
SA	Салициловая кислота (англ. Salicylic acid)

SAR	Системная приобретенная устойчивость (англ. Systemic acquired resistance)
SDS	Лаурилсульфат натрия (англ. Sodium dodecyl-sulfate)
ДТТ	Дитиотреитол
ПААГ	Полиакриламидный гель
ЭДТА	Этилендиаминтетрауксусная кислота

## ВВЕДЕНИЕ

Растения ведут прикрепленный образ жизни и поэтому постоянно вынуждены сталкиваться с различными патогенными организмами. Чтобы эффективно защищаться и продолжать рост и развитие, растения развили сложную иммунную систему [Li *et al.*, 2020]. Салициловая кислота является одним из ключевых факторов иммунитета растений. Активация салицилат-зависимого сигнального каскада приводит к репрограммированию экспрессии генов и синтезу защитных соединений, в том числе PR-белков [Ali *et al.*, 2018; Kaur *et al.*, 2022].

Ранее нами был идентифицирован ряд салицилат-зависимых хитиназ и хитиназа-подобных белков (CLPs), секретирующихся в апопласт корней гороха. В растениях экспрессируются хитиназы и CLPs, которые участвуют в ранних событиях взаимодействия хозяина и патогена [Martínez-Caballero *et al.*, 2014; Pusztahelyi, 2018].

Защитные реакции надземных и подземных органов растений могут отличаться из-за значительных отличий в условиях окружающей среды, в которых они растут. При этом внимание исследователей больше уделяется защитным механизмам, реализуемым в надземных органах, хотя подземные органы имеют не менее важное значение в жизнедеятельности растений. Получение информации о салицилат-зависимых хитиназах и CLPs как о важных PR-белках, участвующих в иммунном ответе растений, может помочь в понимании механизмов устойчивости подземных органов растений к различным стрессам и в разработке новых подходов для биоконтроля и защиты растений, а также создания высокоустойчивых сельскохозяйственных культур.

**Целью** работы было охарактеризовать салицилат-зависимые хитиназы и хитиназа-подобные белки корней гороха.

Для достижения поставленной цели в работе решались следующие задачи:

- 1) Оценить экспрессию генов хитиназ и хитиназа-подобных белков под влиянием салициловой кислоты;
- 2) Провести биоинформатический анализ доменной организации хитиназ и хитиназа-подобных белков;
- 3) Выделить и произвести очистку хитиназ и хитиназа-подобных белков методом элюции из геля;
- 4) Оценить активность хитиназ и хитиназа-подобных белков;
- 5) Оценить способность хитиназа-подобных белков связывать субстрат.

## СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Найданова Ирина Евгеньевна  
Самоцитирование рассчитано для: Найданова Ирина Евгеньевна  
Название работы: Салицилат-зависимые хитиназы и хитиназа-подобные белки в корнях гороха  
Тип работы: Выпускная квалификационная работа  
Подразделение:

### РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ	2.02%	СОВПАДЕНИЯ	2.02%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	97.98%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	97.98%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%	ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 01.06.2023

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 01.06.2023 14:34

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-28  
Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс\*; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley; eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Коллекция НБУ; Перефразирование по eLIBRARY.RU; Перефразирование по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирование по Интернету; Перефразирование по Интернету (EN); Перефразирование по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Каюмов Айрат Рашитович

ФИО проверяющего

Дата подписи:

  
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.