

# Отчет

по практике по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности и научно-исследовательской деятельности на базе *Федерального государственного бюджетного учреждения науки*

*Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук  
Лаборатории экспрессии генома растений*

---

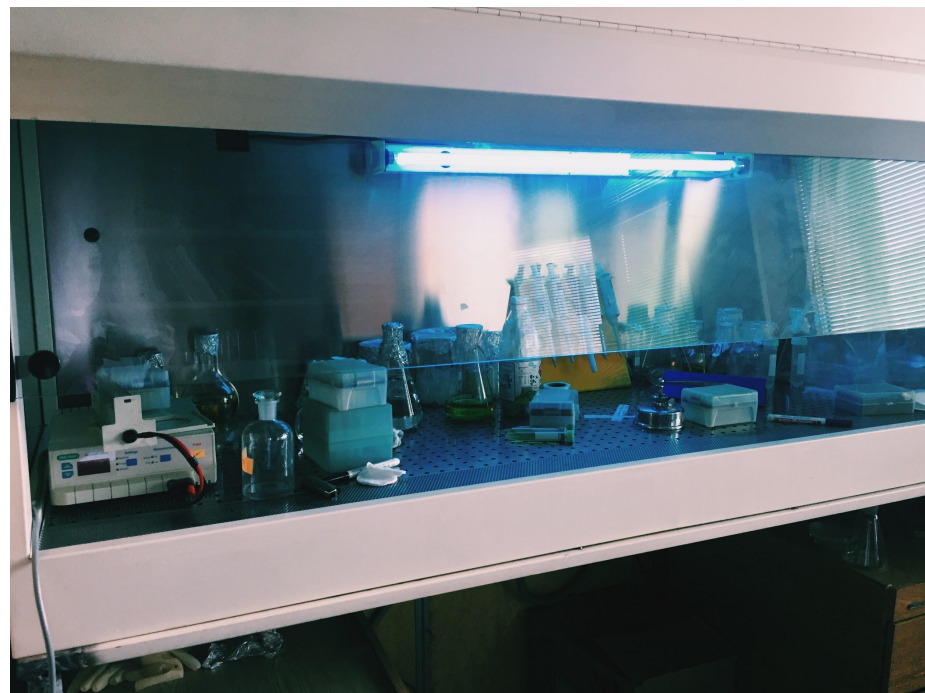
Студентки 403 группы  
факультета СиЛА  
Минаевой Виктории



**Институт физиологии растений им К. А. Тимирязева**

## Цели и задачи:

- Поиск и характеристика cis-регуляторных элементов в предполагаемой промоторной области ядерного гена пластидной РНК-полимеразы PpоTr (AT2G24120) SCA3 растения *Arabidopsis Thaliana*, вовлеченных в его регуляцию светом и цитокининами с помощью биоинформатических баз данных PlantCARE, PlacePAN и PLACE.
- Освоение методик выделения нуклеиновых кислот, измерение их концентрации и качества, синтез кДНК, ПЦР, электрофорез молекул ДНК в агарозном геле, ОТ-ПЦР, Real Time-PCR, уход за опытными растениями
- Знакомство с научной литературой



*Оборудование лаборатории*

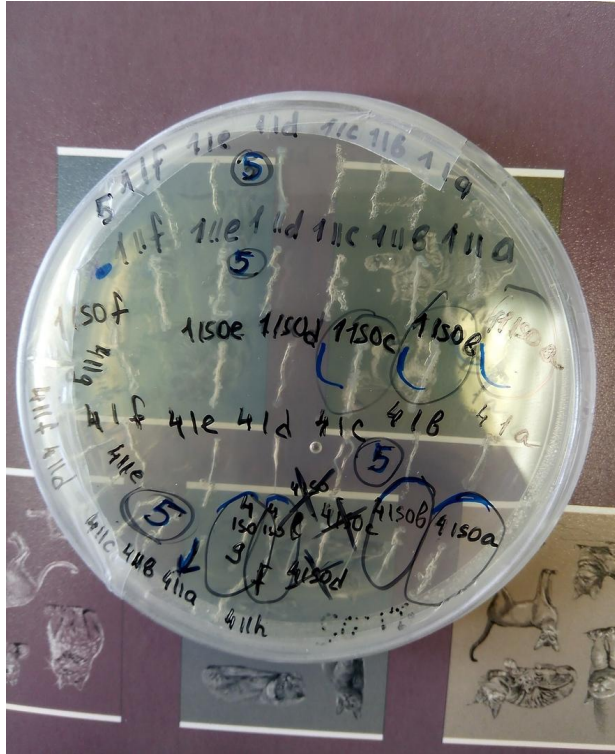
# Агробактериальная трансформация методом цветочного погружения



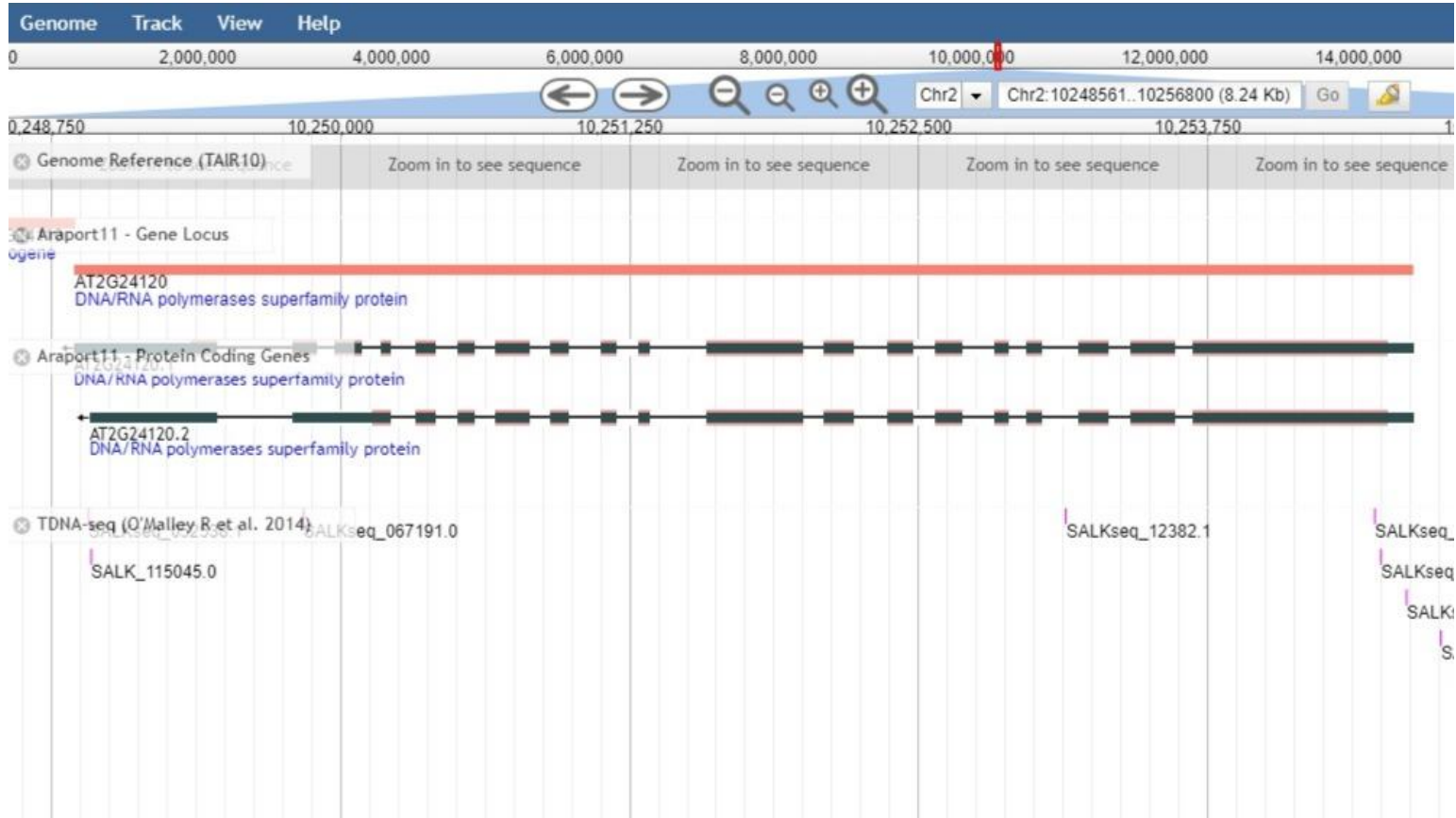
# Световая комната лаборатории и постановка опыта с листьями арабидопсиса



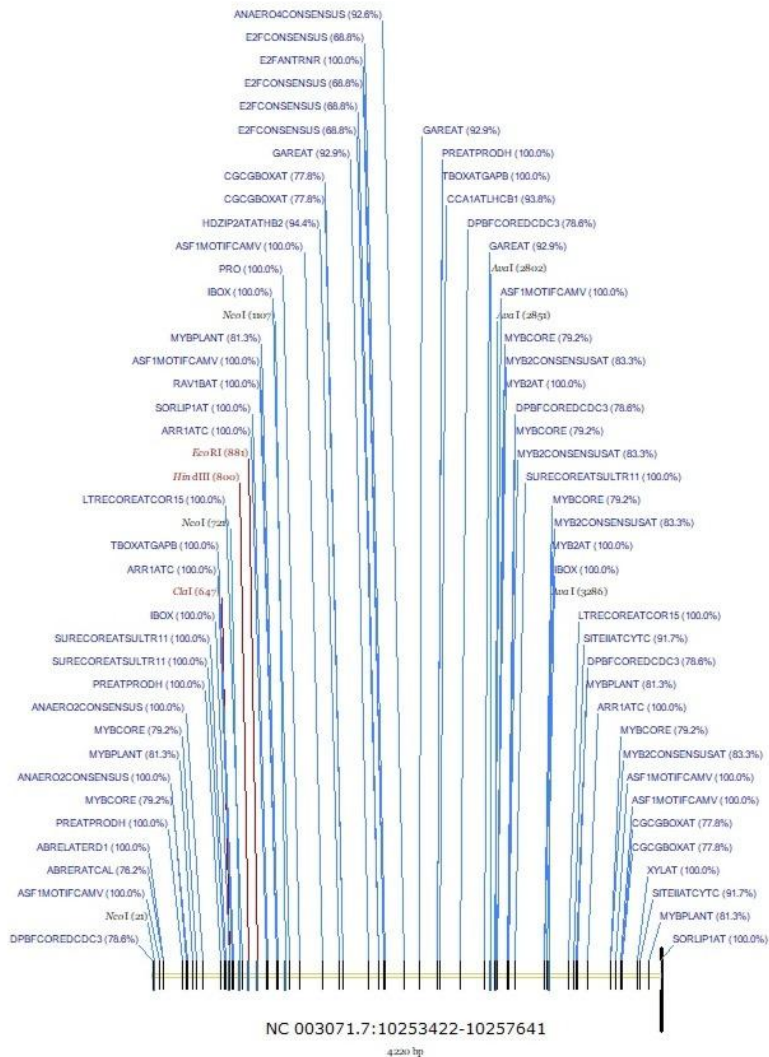
# Штрихи бактерий и процесс приготовления питательной среды LB



# Детальная карта гена AT2G24120







Отражение всех  
 мотивов найденных с  
 помощью ресурсов  
 PLANTPAN,  
 PLANCARE на участке  
 4.22 Kb с помощью  
 программы VectorNTI

1 TAGCTTGTGT AGCTGTGCC CRAIGSTTGG TACCTTCAC TITCACCAC TTTAATGGGT CAATGTTTTCCTCGAAGACTAT TAGGAGGTTT OCTAAGCAAT TGCCTTTTCTT TCAATTCCTC TTGTGATGCC CCTGCATTGT TCTTCTTAGT TCTTTTCAAS AGATATGTTG TGCCTTA AGAGATCAAC CAAAGAAC MYBIAT

ATCGAAGACA TGGAGCAGGG GTACCAAAACC ATGGAAAGTA AAGTGTGGTA AAATTACGCA GTTATGAGAA AAGAGAAAG TTGATA ATTGAGGAA GGATTCOTTA ACAGAAAGAA AGTTAAAGAG AACACTCAGG GGACGTAAACA AGAAGAAACA AGAGAAATTC TTTCAATA ATGTTGGAT TCTCTAGTGT GTTTTGG

DPBPCCOEDC 78.8% MYBIAT 91.7% APRIIAT 100.0% APRIIAT 100.0% ACCTA TERCI 100.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% APRIIAT 100.0%

ASPINDITH-CAMY 100.0% SURECOREAT-SULTRI 100.0% SURECOREAT-SULTRI 100.0% ACCTA TERCI 100.0%

---

251 TACTCATCTA TACCTCCTCG TCAATAGCTA TGCACATACT AACACAGACTT TGAACAACCT GSAATACACC ATCTCATGT CCAGACATAA CCAAAACCAT CATCTTATCG ATCACAATAA CCGCCATTAT ATCAGCAGCC AAAAGCTCAA FATGAGGAGC ATAACTCTCT CTAACTCTT TGCCTTATT CTCTGCAAC TCTCTCT

ATGAGTAAATG ATGGAGGAGC AGTTATCGAT ACGGTTATGA TTGTGTGGA ACTTGTGGAA CCTATGTGGG TAGAAGTACA GGCTCTGATT GGTTTGGGTA GTAGATACGG TAGTGTATT GGCGTAAA TAGCTCCGG TTTTCAGATT ATACTCTCG TATTCAGAGA GATTGGAGA ACAGAAATAA GAAGAGCTTG AAGAGCG

PREATPROOH 100.0% ANAEROICONSENSUS 100.0% GATABOX 100.0% MYBIAT 91.7% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% GATABOX 100.0% APRIIAT 100.0% ANAEROICONSENSUS 100.0%

MYCORE 79.2% GATABOX 100.0% GTICONSENSUS 75.0% ANAEROICONSENSUS 100.0%

---

501 CATAGTTTTC ACATAAAGCA AATTCGGAGC TCTC TGCACATCT CTTTCTCGA TGTATAC TCAATACCA TCTCTCCGA CCGTTGAGTC TCTCTCTGA CTGTGCTCT CCTCAAGG TAAATTC TCTTATCATG ATCTTTCCG TGTCA AAGCTGTATC AACCATTTTA CTCAAACCTT TGAAGAA

GTATACAAAG TGATTCCTG TTAAGCCTCG AAGS AGTGTGTAGA GGAAGAGGT TGTACG ACTAGTGTGT AGGAGAGGTT GCSAATCAG AAGAAGCAT TAGACAGAGA GAGTTCCTG TTAAGG AGAATAGCTA TAGAAAGGCG TAAAGT TCCAGACTA TGTSTAAAAT GAGTTTGGGA ACTCTTT

MYCCONSENSUSAT 75.0% APRIIAT 100.0% PREATPROOH 100.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% GATABOX 100.0% APRIIAT 100.0% ANAEROICONSENSUS 100.0%

MYCCONSENSUSAT 75.0% SURECOREAT-SULTRI 100.0% SURECOREAT-SULTRI 100.0% GATABOX 100.0% GATABOX 100.0% GTICONSENSUS 75.0%

---

751 CACACAGAAA GTCCATTCT TFGACAGGA TTCTCARGT CCTCAATCAA SCITTCCTCT TTAATGGTTC CAGCSTATGA AGAGTCTGCTCAGC TCTCGATG TCCGTGG AAGTGAACCG AATTCGAAAT GGGTTCCTCG TGAACGAGGA GGGAGTAGA AGAGGAAGAA GAAGAGAAAG AAGAAAGTGA

GCTGTCTTT CAGTAAAGA AAGCTGTCTC AAGATTCGA GGAGTTAGT CBAACAGAGA AATTACCAAG GTGCATACT TCTCAG TCAAGCTCAGG TCTCGATG TCCGTGG AAGTGAACCG AATTCGAAAT GGGTTCCTCG TGAACGAGGA GGGAGTAGA AGAGGAAGAA GAAGAGAAAG AAGAAAGTGA

LTRECPREATCORIS 100.0% APRIIAT 100.0% HindIII APRIIAT 100.0% APRIIAT 100.0% EcoRI APRIIAT 100.0%

MYCCONSENSUSAT 75.0% ASPINDITH-CAMY 100.0% GTICONSENSUS 75.0% BBOX 100.0% GATABOX 100.0% MYCCONSENSUSAT 75.0%

MYCCONSENSUSAT 75.0% RAYEAT 100.0% MYBIPLANT 81.2% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0%

---

1001 GGGCGAGGA GGGAGAGGT TTAAGC GSAATCAG AGTITGGT GSAATCAG AGTITGGT TAGAGAGA GAAGGAGA CCGCCGAGC GGAAGCATG GAGGAAGT GAGSATASTA GAGSATASTAG TATGTGCTT CCAATGACA TTTGAGAGA AGAAAGAAAT TTTGAGAGA AAACATG

CCCGCTCTC CCGTCTCCA AATTCGCTCT TCAACGCTTTACT TCCACCCAA ATTCCTCTCT CTCTCTCTC GGCGGCTCG CTTGTGGTAC CTCTCTCCA CTTCATCAT CTTCATCC ATACAGAA GGTACTGT AACTCTCTC TCTTTCTTA AACTCTGT TTTGAGAGA

MYCCONSENSUSAT 75.0% ASPINDITH-CAMY 100.0% GTICONSENSUS 75.0% BBOX 100.0% GATABOX 100.0% MYCCONSENSUSAT 75.0%

MYCCONSENSUSAT 75.0% RAYEAT 100.0% MYBIPLANT 81.2% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0%

---

1251 AAAAAAGAA ATTTGT ATTTCTAGAA TATAA AATATTACA AAACACAAATA CAITTAATA AAACACAAA TATAGGAAAT ATGAACATA AATATCCCT TGTATTTTT AGTTGATGT TTAGACCATG TAAAAATTA TTAGTGTGA CAAATATAA TATTTTCTTT GTTTTATC CAGTAGAAA AATGCA

TTTTTTTCTT TTTTCA TAAAGATCT TATAIAT TATATAGCT TTTTGTAT GTAATTAAT TTTTGTIT ATATCCCTTA TACTGTAA TATAGGGA ACATAAAAA TCAACTACA AATCTGTAC ATTTTAAT AATCTCAAT GCITTATAT ATCAATATA CAAATATA GTACTTTTT TTAGTGT

GTICONSENSUS 75.0% APRIIAT 100.0% ANAEROICONSENSUS 100.0% ANAEROICONSENSUS 100.0% WEONATNPI 100.0% ASPINDITH-CAMY 100.0% APRIIAT 100.0% GTICONSENSUS 75.0%

APRIIAT 100.0% GATABOX 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0% RAYEAT 100.0%

---

1501 ACTCTAAG ACTAATAA AATACAGAAG GATATATT TTGTTGGT AATATATT AGCCATTAGA TGATCATCC GCTIACGCTG CCGTTTTTC GAATTTTTTC GTATGTGTTA ATTTAAATAT AATTTCTCTAATTA CTTATCATG CAATAGAAA TCTA ATGCCCTTT CATGATGCC TTTTCTA

TGAGAATTT TGATGATT TTATGTCTC CTATAATAA AACAAACCA TTAATAATA TGGTATCT ACTAATAGC GCGATGCGAC GCCAAAAG CTTAAAAAG CATACAAAT TAAATTTATA TTAATTTCTAAT TATAGTAT GATATGATC GTATCTTTT TCTA ATGCCCTTT CATGATGCC TTTTCTA

ANAEROICONSENSUS 100.0% COCBOAT 77.8% COCBOAT 77.8% GTICONSENSUS 75.0% GTICONSENSUS 75.0% POLASIGI 100.0% GATABOX 100.0% POLASIGI 100.0% POLASIGI 100.0% POLASIGI 100.0%

PREPTATAT 94.4% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0%

---

1751 AITTTTAAAG ACCATTTC CCGATTGCA AANTGTATT AGGTTAACA AAGAAATAT TATATTTTT CGCTAAAT ATTCMA TTTCTCG CCAAAAAAT TTGGAAAAA AATTCOCCG AAAAAATTC AAAAAAT CACTCTCTA TAGTTTTT TGCGGAAA AAGTTGCGG GAAATTTTT TTTGGG

TAAAAAATC TGTAATAAG GGGATAACT TTAACATAA TCCAATGTT TTACTTTATA ATTATAAAA CGGATTTAA TAGGTTTCTT AAGAGC GTTTTTTA AAGCTTTTT TTAAGGGGG TTTTAAAAA TTTTCTCTA TAGTTTTT TGCGGAAA AAGTTGCGG GAAATTTTT TTTGGG

GTICONSENSUS 75.0% GAREAT 82.8% POLASIGI 100.0% EFCONSENSUS 68.8% MYCCONSENSUSAT 75.0% GTICONSENSUS 75.0% EFCONSENSUS 68.8%

MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0% MYCCONSENSUSAT 75.0%

## Итоги:

В ходе работы были освоены современные компьютерные базы данных, программы для промоторного анализа и методы выявления регуляторных мотивов ДНК. С помощью бионформатических методов был проведён поиск и локализация cis-регуляторных мотивов в предполагаемых промоторных зонах гена *RpoTr*, кодирующих пластидную РНК-полимеразу.

В дальнейшем полученные результаты предстоит экспериментально подтвердить. С этой целью планируется создать стабильные трансформанты *Arabidopsis thaliana*, несущих 5'-делеционные варианты промотора *RpoTr*. На основании выявленной локализации цис-регуляторных элементов pro-*RpoTr* при помощи *in silico* анализа планируется выделить области, содержащие отдельные элементы, потенциально ответственные за регуляцию экспрессии гена прежде всего цитокинином и светом.

В ходе работы была освоена методика выращивания семян *Arabidopsis thaliana* в стерильных условиях, методика выделения РНК, работа с нуклеиновыми кислотам по определению их количества и качества, очищению, ПЦР, электрофорез, ПЦР с обратной транскрипцией, ПЦР в реальном времени, были затронуты такие методы как агробактериальная трансформация, трансформация с помощью электропорации компетентных клеток бактерий, посев, приготовление питательной среды LB для бактерий, выращивание бактерий, выделение, встраивание в вектор участков ДНК. Эти методы не имели прямого отношения к научно-исследовательской основе практики, а имели характер чисто ознакомительный для предстоящей в будущем работы по теме анализа механизмов работы гена RpoTr.