

## ПРОТЕОМНЫЕ МЕТОДЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

*Чижик Ольга Владимировна, к.б.н.  
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

В настоящее время протеомика стала необходимой методологией в различных сферах клеточной биологии. Эффекты мутаций, различного рода воздействия на живой организм, изменения путей метаболизма, процессы дифференциации и дедифференциации клеток растений можно проследить по тому, как они сказываются на уровнях биосинтеза и функциональной активности белков.

Протеом, в отличие от генома, который является статическим по своей природе, обладает динамическими возможностями. Он постоянно меняется, реагируя на воздействия целого ряда экзогенных и эндогенных факторов (условия произрастания, стрессы, регуляция экспрессии генов и т.д.) и поддерживая физиологическое равновесие в клетке. Углубление знаний о структуре белков клеточных ядер остро необходимы для развития клеточной биотехнологии и генетической инженерии, поскольку именно клеточное ядро является основной мишенью такого рода воздействий и знание структуры и свойств его компонентов (функциональных компартментов) необходимо для разработки биотехнологических приемов регуляции функциональной активности этого информационного центра растительного организма [1, 2].

В отделе биохимии и биотехнологии растений важное место в исследованиях занимает выявление гетерогенности и участия белков в формировании надмолекулярного комплекса и функциональной активности клеточных ядер высших растений при их экспрессии и модификации генома [3].

Учитывая то обстоятельство, что конкретным объектом генно-инженерных работ является ДНК клеточного ядра, можно ожидать, что включение чужеродного гена приведет к изменению экспрессии синтеза соответствующих белков.

Введение гена изопентилтрансферазы (ipt), изменяя баланс фитогормонов, оказало влияние на свойства клеточного ядра, что привело к изменению синтеза соответствующих белков и проявилось в изменении гетерогенности белкового состава при электрофорезе (отличия по количеству и интенсивности зон).

При встраивании в ядро табака (*Nicotiana tabacum* L.) бактериальной ДНК, несущей ipt-ген, наблюдалось увеличение гетерогенности эухроматина I в листовой ткани (с 30 до 32 зон) и ядерного матрикса (с 18 до 23 зон), тогда как в кариоплазме и гетерохроматине число зон сократилось (на 4 и 3) (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о влиянии чужеродного ipt-гена на перераспределение белков в структурных частях ядра, поскольку общая гетерогенность белков ядра контрольных и ipt-растений осталась одинаковой – 130 зон.

Таблица 1 – Число зон при электрофорезе ядерных белков из листовой ткани контрольных и ipt-растений *Nicotiana tabacum* L.

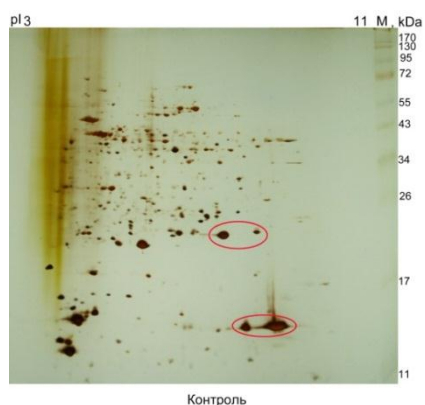
№ Фракции белков ядра	экстракция ядерных белков, лист	
	число белковых зон	
	контроль	ipt-растение
1 (кариоплазма)	29	25
2 (эухроматин I)	30	32
3 (эухроматин II)	29	29
4 (гетерохроматин)	24	21
5 (ядерный матрикс)	18	23
всего	130	130

Электрофоретическое разделение ядерных белков каллусов контрольных и модифицированных растений табака также показало их значительную гетерогенность, подобную листовой ткани (табл. 2). В каллусах ipt-растений имелись дополнительные зоны, наиболее отчетливо проявляющиеся во фракции № 3 (с 23 до 28 зон), тогда как в листовой ткани наибольшие изменения наблюдались во фракциях № 1 и № 5.

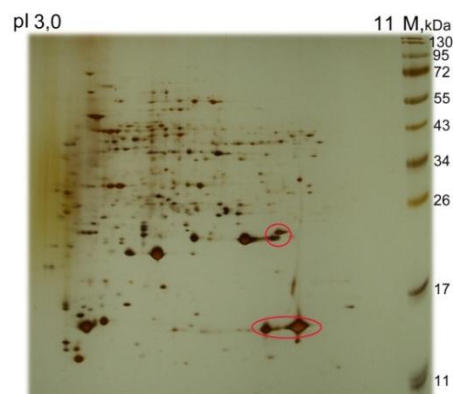
Таблица 2 – Число зон при электрофорезе ядерных белков каллусов контрольных и ipt-растений *Nicotiana tabacum* L.

№ фракции ядерных белков	контроль	ipt-каллусы	% по отношению к контролю
1	28	27	96
2	29	30	103
3	23	28	122
4	22	22	100
5	13	13	100
всего	115	120	104

Проведены исследования белковых спектров и экспрессии белков генетически модифицированных линий клюквы крупноплодной (введен ген тауматина II) и исходного генотипа методом 2D-электрофореза (рис.1).



Контроль



Линия № 15

## 2–Д протеомные карты контрольных и генетически модифицированных растений клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon* Ait.)

Полученные протеомные карты имели сходную картину белковых пятен, только в области Мм 13,0 – 14,0 ; 19,0– 19,5; 23,3 – 24,0 и 65,6 – 70,0 кДа зафиксированы изоформы, отличные от таковых контроля. В дальнейшем для идентификации полученных изоформ будет проведен масс-спектрометрический анализ.

Отсутствие значительных изменений в спектре общих белков в трансгенных растениях, на наш взгляд, связано с тем, что вставка гетерологичного гена *thaa II* не затронула функциональной области генома. Полученные экспериментальные данные о составе белков ядра и их участии в организации его структуры создают теоретическую базу для целенаправленных биотехнических работ по созданию форм растений с заданными свойствами.

### Список использованных источников

1. Клеточные ядра растений – экспрессия и реконструкция: Сб. науч. тр. I Региональной науч. конф. Минск, 28–29 мая 2001 г. / Минск, РУПП «Барановичская укрупненная типография, 2001. – 187 с.
2. Решетников, В.Н. Клеточные ядра высших растений / В.Н.Решетников – Мн.: Наука и техника, 1992.– 82 с.
3. Чижик, О.В., Спиридович Е.В., Решетников В.Н. Клеточные ядра растений – экспрессия и реконструкция / О.В.Чижик, Е.В.Спиридович Е.В., В.Н.Решетников // Сб. науч. тр. I Региональной науч. конф. – Мн., 2001. – С. 143 – 151.
4. Решетников, В.Н. Геномика, протеомика и генетическая инженерия растений: перспективы практического использования / В. Н. Решетников, и др. // Центральный ботанический сад НАН Беларуси: сохранение, изучение и использование биоразнообразия мировой флоры / [В. В. Титок и др. ; под ред. В. В. Титка, В. Н. Решетникова] ; Нац. акад. наук Беларуси, Центр. ботан. сд. – Минск, 2012. – Гл. 17. – С. 298–313.