

Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад
Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

Российская академия наук
Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова



Russian Academy of Sciences



ИФРРАН



Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология

*Тезисы докладов XI Международной конференции,
которая знаменует полувековую историю по исследованию
культивируемых *in vitro* клеток высших растений
и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений
государственного научного учреждения
«Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

(г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.)

Минск
«Медисонт»
2018

УДК 58(4/5)(082)
ББК 28.5
Б63

XIth International conference
«The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology»
(September 23–27, 2018, Minsk, Republic of Belarus)

Редакционная коллегия:

В. Н. Решетников, д-р биол. наук, академик НАН Беларуси;
В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
А. М. Носов, д-р биол. наук, профессор;
А. В. Носов, д-р биол. наук

Рецензенты:

В. М. Юрин, д-р биол. наук, профессор;
Е. В. Спиридович, канд. биол. наук, доцент.

Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология = The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology : тезисы докладов XI Международной конференции, которая знаменует полувековую историю по исследованию культивируемых *in vitro* клеток высших растений и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» (г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.) / Национальная академия наук Беларуси; Центральный ботанический сад; Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований; Российская академия наук; Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева; Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова; редкол.: В. Н. Решетников [и др.]. — Минск : Медисонт, 2018. — 334 с.

ISBN 978-985-7199-23-5.

В материалы XI Международной конференции «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология» включены научные сообщения, посвященные молекулярно-биологическим, генетическим, биохимическим и генетическим особенностям культивируемых клеток растений. Рассматриваются вопросы регуляции морфогенеза клеток *in vitro*, формирования и содержания биотехнологических коллекций, микроклональное размножение, а также культура клеток растений в промышленной биотехнологии.

Сборник материалов предназначен для широкого круга специалистов в области физиологии и биохимии растений, биотехнологии растений, преподавателей и студентов соответствующего профиля.

УДК 58(4/5)(082)
ББК 28.5

ISBN 978-985-7199-23-5

© Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, 2018
© Оформление. ООО «Медисонт», 2018

Протеомика в биотехнологии растений

Чижик О. В.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, ул. Сурганова, 2 в, Минск, 220012, Беларусь,
факс: +375(17) 284-14-84, тел.: +375(17)284-14-74, e-mail: chizhikolga17@gmail.com

В настоящее время протеомика является 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 изменению уровней биосинтеза и функциональной активности белков. 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. Изменения структурного состояния хроматина (переходы транскрипционно активного хроматина — эухроматина — в неактивный компактизированный хроматин — гетерохроматин — и обратно) являются универсальным механизмом регуляции генной активности, в том числе и при дифференциации/дедифференциации клеток.

В отделе биохимии и биотехнологии растений разработаны методические подходы к изучению белков интерфазного клеточного ядра высших растений с использованием системы избирательной экстракции отдельных составных частей ядра (функциональных компартментов). На основе этих подходов изучено изменение белкового состава клеточных ядер растений при естественной экспрессии генома (прорастание) и под воздействием различных факторов (обработка КВЧ-излучением в области коротковолнового миллиметрового диапазона нетепловой интенсивности, препаратов, содержащих наночастицы — элиситоры синтеза БАВ), генетической трансформации, а также в ходе дифференциации и дедифференциации растительной ткани.

При генетической трансформации (встраивании в ДНК ядра табака *ipt*-гена) наблюдается изменение гетерогенности полипептидов в скелетных структурах ядра и кариоплазме. Проведены исследования белковых спектров и экспрессии белков генетически модифицированных линий клюквы крупноплодной (введен ген тауматина II) и исходного генотипа методом 2D-электрофореза.

Осуществляется поиск белковых маркеров для идентификации сортов голубики, что позволит расширить критерии паспортизации этого вида растений. Исследованы электрофоретические спектры солерастворимых (альбуминов и глобулинов) и спирторастворимых (глиадинов) белков семян голубики высокой. Определено, что среди солерастворимых белков существует набор полипептидов, который позволяет различать семена различных сортов голубики.

Выявлены особенности протеома растений голубики высокой на этапах стабилизации *in vitro* культуры при переходе из условий *in vitro* в условия естественного автотрофного питания и протеома исходных растений. Определены белки, претендующие на роль белков-маркеров физиологического состояния голубики высокой, культивируемой *in vivo* и *ex vitro*. Протеомы *in vivo* и *ex vitro* (адаптированных *in vitro* растений) образцов голубики в своей основе идентичны друг другу, однако выделяются зоны с дифференциально экспрессирующимися белками, которые могут рассматриваться как маркеры определенного возраста и состояния тканей голубики высокой.

Впервые для детекции аллергенов плодов применен протеомный анализ. Исследован аллергенный потенциал белорусских и молдавских сортов яблок после хранения и переработки. Методом 1D- и 2D-электрофореза на полученных протеомных картах идентифицированы основные белки-аллергены, содержащиеся в мякоти.

Таким образом, протеомика является необходимой методологией в различных областях биотехнологии.

Proteomics in plant biotechnology

Chizhik O. V.

Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, 2v Surganova st., 220012, Minsk, Republic of Belarus, fax +375(17) 284-14-84, tel.: +375(17)284-14-74, e-mail: chizhikolga17@gmail.com

.....

Proteomics is a necessary methodology in various fields of biotechnology. The effects of mutations, various impacts on the living organism, metabolic pathways alteration, the processes of plant cell's differentiation and dedifferentiation can be retraced by changing of protein's biosynthesis and the functional activity levels.

The improving of knowledges about the cell nuclei proteins structure is essential for cellular biotechnology and genetic engineering development because just the cell nucleus is the main target of such influences. Changes in the structural state of chromatin (transitions of transcriptionally active chromatin — euchromatin — into inactive compact chromatin — heterochromatin and vice versa) are the universal mechanism for gene activity regulating, including the process of cell's differentiation / dedifferentiation.

In the research works of the Department of biochemistry and biotechnology of plants the important place occupies the revelation of protein's heterogeneity and the participation of proteins in a supramolecular complex formation. Proteins play a very important role in the cell nuclei of higher plants functional activity during their expression and modification.

Methodical approaches for the proteins of interphase cellular nucleus studying have been developed: the technique of higher plants interphase cellular nuclei obtaining has been developed, the system of selective extraction of separate constituent parts of the nucleus (functional compartments) has been proposed.

On the base of these approaches the alteration in plant cell nuclei protein's composition has been studied: by the natural genome expression (germination), under the influence of various factors (treatment with short-wave frequency radiation in the short-wave millimeter range of nonthermal intensity, with preparations, containing nanoparticles — elicitors of BAS synthesis), genetic transformation and also during the process of tissue differentiation and dedifferentiation.

Genetic transformation (ipt-gene fusion in nucleus DNA) resulted in changes of polypeptid's heterogeneity in the skeletal structures of the nucleus (matrix) and in the karyoplasm.

We carried out studies of protein spectra and protein expression of genetically modified lines of American cranberries (after the thaumatin II gene fusion) and the initial genotype by 2D-electrophoresis method.

The protein markers searching for blueberry cultivars identification is being carried out. This approach will expand the criteria for high bush blueberry passportization. For this purpose, the electrophoretic spectra of soluble soluble (albumins and globulins) and alcohol soluble (gliadins) blueberry proteins have been studied. Among the soluble blueberry proteins a set of polypeptides which allows to distinguish the seeds of different blueberry varieties has been determined.

The specific features of high bush blueberry proteome at the stages of *in vitro* culture, *ex vitro* (after adaptation) and original plants were revealed, from *in vitro* conditions to conditions of autotrophic nutrition. The potential protein markers of the physiological state of blueberry (*in vivo* and *ex vitro*) have been identified.

It is the first time in Belarus when the allergenic potential of domestic apple cultivars is being investigated by means of proteomic analysis in order to reveal the least allergenic genotypes.

The allergenic potential of Belarusian and Moldavian apples cultivars has been studied after storage and processing. By the method of 1D- and 2D- electrophoresis on the obtained proteomic maps the main proteins-allergens contained in the pulp were identified.

Thus, methods of proteomic analysis are widely used in plant biotechnology.