

БЕЛОРУССКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ФОНД  
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ



*К 60-летию кафедры генетики*

**ГЕНЕТИКА  
И БИОТЕХНОЛОГИЯ  
XXI ВЕКА.  
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ  
И ПРИКЛАДНЫЕ  
АСПЕКТЫ**

МАТЕРИАЛЫ  
Международной научной конференции  
3–6 декабря 2008 г., Минск

Минск  
«Издательский центр БГУ»  
2008

УДК 575(063)+60(063)  
ББК 28.04я43+30.16я43  
Г34

Редакционная коллегия:

Н.П. Максимова (ответственный редактор);  
В. В. Гринев, С. С. Жардецкий, Ю. И. Кожуро, А. В. Лагодич

Г34 **Генетика** и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты : материалы  
Междунар. науч. конф., 3–6 дек. 2008 г., Минск \ редкол.: Н.П. Максимова (отв. ред.) [и др.]. —  
Минск : Изд. центр БГУ, 2008. — 364 с.  
ISBN 978-985-476-625-2.

В сборнике представлены материалы Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты» (3–6 декабря 2008 г., Минск, БГУ), посвященной 60-летию кафедры генетики биологического факультета БГУ. Тематика конференции охватывает актуальные вопросы и проблемы современной генетики и биотехнологии. В сборник включены материалы пленарных докладов, устных сообщений и постерной сессии.

Предусматривается широкая дискуссия о современном состоянии и перспективах развития генетики и биотехнологии, а также о методических аспектах преподавания предмета в высших учебных заведениях.

ISBN 978-985-476-625-2

УДК 575(063)+60(063)  
ББК 28.04я43+30.16я43

© БГУ, 2008

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ ГИПЕРВАРИАБЕЛЬНОЙ ОБЛАСТИ  
ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ЦЕЛЛЮЛОЗОСИНТАЗ ЛЬНА- ДОЛГУНЦА**

**Д.В. Галиновский, З.Е. Грушецкая, Л.В. Хотылева, В.В. Титок**

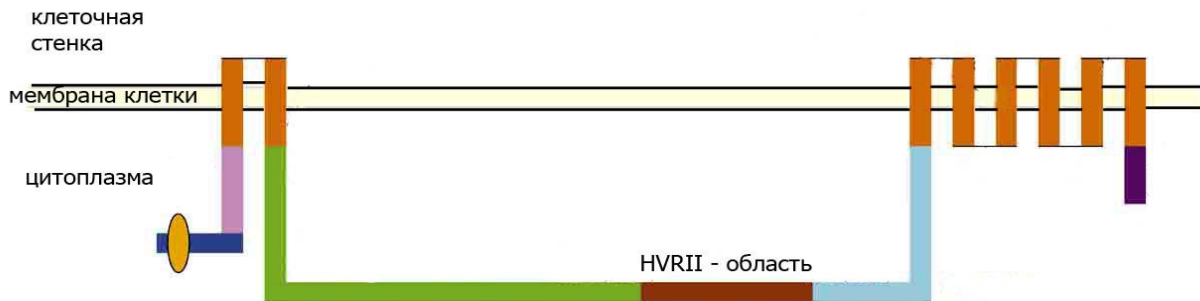
*ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь  
dimgal200@rambler.ru*

Особенностью строения растительных клеток является наличие первичной и вторичной клеточных стенок, существенно различающихся по структурным и механическим свойствам. Одним из важнейших полимеров, входящих в состав как первичной, так и вторичной клеточной стенки, является целлюлоза, в процессе синтеза которой работают несколько различных групп ферментов [1, 2]. Основные участники синтеза целлюлозной микрофибриллы – целлюлозосинтетазы (продукты различных представителей целого семейства *CesA*-генов), которые объединены в «розетку», связанную с мембраной [1, 3]. У арабидопсиса обнаружены две группы ферментов целлюлозосинтетаз, функционирующих при биосинтезе первичной или вторичной клеточной стенки [3]. Таким образом, от того какие именно целлюлозосинтазы вовлечены в процесс биосинтеза, зависят и физические свойства полимера.

В 2004 году X. Liang и С.Р. Joshi на основании филогенетического анализа HVRII-областей 56-ти *CesA*-генов различных видов растений обнаружили существование как минимум шести классов целлюлозосинтаз [4]. Кроме того, указанные авторы поддержали

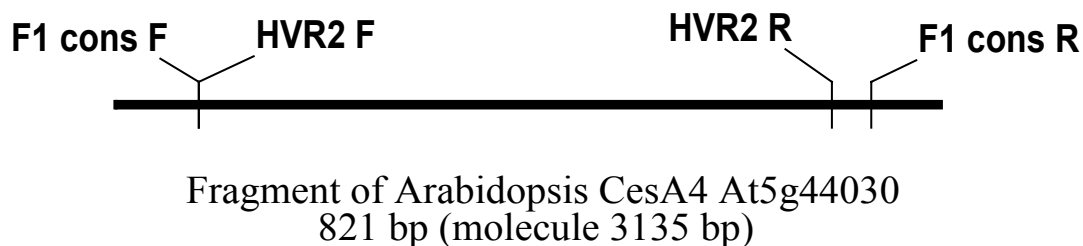
идею о том, что именно эта область генов целлюлозосинтаз является классоспецифическим регионом (рис. 1) и показали, что разработанная ими методика клонирования HVRII-региона может быть использована для злаковых культур, а также древесных растений [4].

Цель данной работы состояла в адаптации методики анализа гипервариабельных классоспецифических областей *CesA*-генов для льна-долгунца.



**Рис. 1.** Схематическое изображение *CesA*-белка высших растений [1].

В качестве растительного материала отбирали стебли растений льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L., сорт Блакит, Беларусь) на стадии быстрого роста. Общую растительную РНК выделяли по методике с использованием тризола. Синтез кДНК осуществляли со специфических праймеров к HVRII-области (рис. 2) с помощью набора RevertAid H Minus First Stand cDNA Synthesis Kit фирмы Fermentas (Литва). Амплифицированный фрагмент HVRII – региона (рис. 2), размером ок. 600 п.н., клонировали в плазмидный вектор pTZ57R в бактерии *E. coli* XL1-Blue с использованием InsTAclone™ PCR Cloning Kit фирмы Fermentas (Литва). Проверку на наличие необходимой вставки осуществляли с помощью ПЦР со стандартными праймерами к полилинкеру данной плазмиды. В результате было отобрано 113 клонов, которые несли вставку в плазмиду pTZ57R. Причем 98 клонов имели вставку размером 600 – 650 п.н., 12 – 350-150 п.н. и 3 клон несли плазмиду со вставкой размером около 800 п.н.



**Рис. 2.** Фрагмента гена *CesA4* из *Arabidopsis*, несущий HVRII-область. На рисунке отмечены праймеры: 1) F1 cons F/R – использовались для синтеза кДНК; 2) HVR2 F/R – использовались для последующей амплификации HVRII – региона.

Наличие фракции легких фрагментов в данном случае может свидетельствовать о полиморфизме HVRII – областей генов целлюлозосинтазы, однако при секвенировании трех случайно выбранных клонированных фрагментов (два из них были размером ок. 600 п.н., а третий – ок. 250 п.н.) оказалось, что нуклеотидные последовательности данных фрагментов являются практически идентичными. Это обстоятельство свидетельствует о том, что легкие фрагменты являются артефактом эксперимента, т.е. могут быть результатом прерванного по каким-либо причинам синтеза фрагментов большей длины. Идентичность фрагментов размером ок. 600 п.н. между собой составила 96% по нуклеотидной последовательности, и

64% (по нуклеотидной последовательности) с HVRII-областью *CesA4* из *Arabidopsis thaliana* (NM\_123770.3). При сравнении с последовательностями, содержащимися в базах данных при помощи программы nucleotide blast с использованием алгоритма discontinuous megablast, наибольшая идентичность (80%) была обнаружена с целлюлозосинтазой (*CesA1*) *Populus tremula* × *Populus tremuloides* (gb[AY573571.1]).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования анализа гипервариабельных классоспецифических областей *CesA*-генов для льна-долгунца. В дальнейшем планируется изучить органо- и стадийспецифичность экспрессии различных классов целлюлозосинтаз в растениях льна-долгунца и представителей других подвидов льна для молекулярно-генетической идентификации факторов, определяющих качество формирующегося льноволокна.

1. C.P. Joshi, S.D. Mansfield The cellulose paradox – simple molecule, complex biosynthesis // Current Opinion in Plant Biology – 2007. – V. 10. – P. 220-226.
2. В.В. Туток, В.Н. Леонтьев, И.В. Федоренко, С.В. Кубрак, З.Е. Грушецкая, С.И. Юренкова Биосинтез целлюлозы: современный взгляд и концепции // Труды БГУ «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». 2007. - Вып. 2. - С. 111-121.
3. R.A. Burton, N. Farrokhi, A. Bacic, G.B. Fincher Plant cell wall polysaccharide biosynthesis: real progress in the identification of participating genes // Planta – 2005. – V. 221. – P. 309-312.
4. X. Liang, C.P. Joshi Molecular cloning of ten distinct hypervariable regions from the cellulose synthase gene superfamily in aspen trees // Tree Physiology – 2004. - V. 24. – P. 543-550.