ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КСИЛОГЛЮКАНАЗЫ ИЗ PENICILLIUM CANESCENS НА ФЕНОТИП ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ

Видягина Е.О.1,2, Ковалицкая Ю.А.2, Салмова М.А.1,2, Логинов Д.С.3, Королева О.В.3, Шестибратов К.А.2
1Пущинский государственный естественнонаучный институт
Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КСИЛОГЛЮКАНАЗЫ ИЗ PENICILLIUM CANESCENS НА ФЕНОТИП ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ

Видягина Е.О.1,2, Ковалицкая Ю.А.2, Салмова М.А.1,2, Логинов Д.С.3, Королева О.В.3, Шестибратов К.А.2
1Пущинский государственный естественнонаучный институт
2Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
3Институт биохимии имени А.Н.Баха РАН

Ксилоглюканы являются основными полисахаридами гемицеллюлозы, которые в значительной степени определяют механические характеристики клеточных стенок [1]. Разделение микрофибрилл при росте растения обеспечивают ферменты - ксилоглюканазы. Есть основания полагать, что суперэкспрессия ксилоглюканаз, может оказывать существенное влияние на рост и развитие растений [2]. Для доказательства этого предположения нами выбран подход создания трансгенных растений осины с конститутивной экспрессией рекомбинантной ксилоглюканазы.
Для проведения агробактериального переноса использовали штамм бактерий несущий бинарный вектор pBI-Xeg. В Т-ДНК вектора находился химерный ген sp-Xeg под транскрипционным контролем 35S промотора и нопалинсинтетазного терминатора. В результате, были получены 14 линий растений осины с экспрессией рекомбинантного гена ксилоглюконазы из гриба Penicillium canescens и охарактеризованы некоторые их свойства. Конститутивная экспрессия гена sp-Xeg на уровне транскрипции подтверждена ОТ-ПЦР. Анализ белковых экстрактов из листьев тепличных растений и микропобегов in vitro показал повышение ксилоглюканазной активности у трансгенных линий. В случае экстрактов из листьев максимальное повышение активности составило 1,6, а микропобегов in vitro – 2,1. У трансгенных растений отмечено также снижение удельного содержания пентозанов в древесине. В контрольных растениях оно составляло 148 мг/г сухого веса, тогда как в исследуемых клонах варьировало от 100 до 140 мг/г сухого веса. Сравнительный анализ морфологии листьев трансгенных клонов позволил обнаружить неожиданный эффект гена sp-Xeg. Выявлено увеличениие длины черешка и сокращение длины главной жилки у трансгенных линий. Отношение длины черешка и главной жилки у растений контрольной группы равнялось 0,49, тогда как у трансгенных растений оно варьировало от 0,51 до 0,66.
Полученные результаты служат основанием для дальнейшего изучения свойств трансгенных линий Xeg. Нами планируется определить содержание целлюлозы и лигнинов в данных растений, а также выявить возможные изменения в экспрессии нативных белков.
Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного контракта № 11.519.11.6043.
Список литературы:
Carpita N., McCann M. The cell wall. // Biochemistry and Molecular Biology of Plants / Eds. Buchanan B., Gruissem W., Jones R. Somerset, NJ: John Wiley & Sons. 2000. P. 52–108
Park Y.W., Baba K., Furuta Y., Iida I., Sameshima K., Arai M., Hayashi T. Enhancement of Growth and Cellulose Accumulation by Overexpression of Xyloglucanase in Poplar // FEBS Letters. 2004. V. 564. P. 183-187.