

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Амплификация и клонирование гена PtXET *Populus tremula*

Сафиуллина Милляуша Галимъяновна

Аспирант

Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы,

Естественно-географический, Уфа, Россия

E-mail: 583301419@mail.ru

Растения ведут прикрепленный образ жизни и поэтому процессы деления клеток и растяжения клеточной стенки играют важную роль в регуляции его роста и развития. Идентифицировано множество факторов влияющих на процессы клеточного роста растительного организма, одним из которых является фермент ксилоглюканэндотрансгликозилаза (ХЕТ). Данный фермент может выступать в качестве трансгликозилазы, объединяя синтезированные ксилоглюканы с оставом клеточной стенки и реконструируя уже имеющиеся ксилоглюканы путем процесса трансгликозилирования, либо выступать в качестве гидролазы, расщепляя молекулы ксилоглюканов в зависимости от характера субстрата [1]. ХЕТы играют важную роль в процессах реструктуризации клеточной стенки, удлинения гипокотиляй, инициации роста корневых волосков, роста листа, образования аэренихимы и размягчения плодов [2].

В рамках наших работ по получению трансгенных растений с увеличенными органами возникло предположение, что повышенный уровень экспрессии генов ХЕТ может привести к возрастанию размеров вегетативных и генеративных органов. Особый интерес представляет получение трансгенных древесных растений, сверхэкспрессирующих ген ксилоглюканэндотрансгликозилазы. Исходя из этого, нами при помощи программы BLAST был проведен поиск гена ХЕТ в геноме *Populus trichocarpa*, так как из древесных растений лишь его геном секвенирован полностью. В итоге было обнаружено несколько гомологов гена ХЕТ, один из которых нами был отобран в качестве целевого гена. Для амплификации этого гена были подобраны прямой и обратный праймеры PtXETF CGTCTTATGCGTGTCAAAA и PtXETR TAAAATGTATCCAGCACCAA. Так как *Populus trichocarpa* отсутствует в нашей флоре, ген ХЕТ был нами амплифицирован из осины (*Populus tremula*), поэтому он получил название PtXET, а размер его составил приблизительно 2500 пн. Полученный ампликон был клонирован в бинарных векторах pCambia 1301 с 35S промотором и pER8 с индуциальным эстрadiоловым промотором. Направленность гена определяли при помощи ПЦР с прямым и обратным праймерами гена PtXET, а также праймеров подобранных к промотору и к сайту полиаденилирования. На основе полученных генно-инженерных конструкций планируется создание трансгенных растений табака. Морфофизиологический анализ полученных растений позволит приблизиться к пониманию регуляции клеточного растяжения и его взаимодействию с процессом регуляции роста органа в целом.

Литература

1. Xyloglucan endotransglucosylase and cell wall extensibility, E. Miedes a,1 , I. Zarra b , T. Hoson c , K. Herbers d , U. Sonnewald e , E.P. Lorences a, , 2010;

2. 2. Petal abscission in rose is associated with the differential expression of two ethylene-responsive xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase genes, RbXTH1 and RbXTH2, Amar Pal Singh, Siddharth Kaushal Tripathi, Pravendra Nath, and Aniruddha P. Sane, 2011.