

6. Schmitt, F.-J.; Kreslavski, V.D.; Zharmukhamedov, S.K.; Friedrich, T.; Renger, G.; Los, D.A.; Kuznetsov, V.V.; Allakhverdiev, S.I. The multiple roles of various reactive oxygen species (ROS) in photosynthetic organisms. In *Photosynthesis: A New Approach to the Molecular, Cellular, and Organismal Levels*; Allakhverdiev, S.I., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 4–82.

Разработка праймеров для молекулярно-генетического анализа ДНК-маркеров *DHN1* и *DHN2 Beta vulgaris* L.

Бахметова А. Ф.^{А*}, Можаровская Л. В.^Б

^А *Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: bahmetovaarina@gmail.com*

^Б *Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Беларусь.*

Растения, как организмы, ведущие прикрепленный образ жизни, в большей степени подвержены действию абиотических стресс-факторов (засуха, засоление почв, гипо- и гипертермия, загрязнение атмосферного воздуха и т.п.), что приводит к накоплению в растительных клетках активных форм кислорода (АФК). АФК участвуют во многих физиологических процессах регуляции роста и развития растений, однако их избыточное накопление вызывает повреждение и нарушение работы практически всех клеточных структур [1]. Специфическим защитным механизмом от накопления АФК для растений является повышение функциональной активности комплекса белков дегидринов, выступающих в качестве антиоксидантов [2]. Антиоксидантная активность дегидринов связана с их способностью к непосредственной нейтрализации свободных радикалов, образующихся в результате стрессовых воздействий, и с их способностью к образованию хелатных комплексов с ионами тяжелых металлов, которые в свою очередь являются индукторами АФК [1,3].

Объектом данного исследования являлись растения ценной сельскохозяйственной культуры – *Beta vulgaris* L. С использованием баз данных WGS и EST GeneBank NCBI *B. vulgaris* осуществлялся поиск и идентификация генов-кандидатов, кодирующих белки дегидрины. К отобранным генам *DHN1* (*COR410*) и *DHN2* (*Rab18*) были сконструированы специфичные олигонуклеотидные праймеры (прямой и обратный) с помощью онлайн-ресурса Primer BLAST NCBI. Проверка специфичности работы праймеров проводилась на основе ПЦР-анализа с последующим электрофоретическим фракционированием продуктов амплификации.

При идентификации ДНК-локусов генов *DHN1* (*COR410*) и *DHN2* (*Rab18*) с помощью онлайн-ресурса Conserved domains NCBI была пока-

зана принадлежность продуктов данных генов к семейству белков дегидринов, идентифицирован структурно-функциональный домен Dehydrin (CDD ID: pfam00257). Для конструирования праймеров (таблица 1) использовались проаннотированные последовательности соответствующих генов *DHN1* и *DHN2* базы данных GeneBank NCBI.

Таблица 1

Характеристика сконструированных праймеров для ДНК-маркеров генов, кодирующих дегидрины

ДНК-маркер	Последовательность праймеров	Длина, п.н.	Температура, °С	ГЦ-состав, %	Продукт, п.н.
<i>DHN1</i>	F: 5'-TAGCTCATCAGAGGAAGAGGTG-3'	22	58,70	50,00	244
	R: 5'-ATTCCCGGGCAATTTCTCCAA-3'	21	60,27	47,62	
<i>DHN2</i>	F: 5'-TGAGTATGGAAACCCAGTTCGT-3'	22	59,36	45,45	210
	R: 5'-ACACCTGTGTCATAGCTGCC-3'	20	60,04	55,00	

При отборе наиболее подходящих и качественных праймеров учитывался тот факт, что разница в температуре отжига прямого (F) и обратного (R) праймеров должна быть минимальна, поскольку это позволяет исключить вероятность неспецифического отжига. Для того чтобы оценить пригодность полученных праймеров для каждого из двух ДНК-маркеров генов *DHN1* и *DHN2* использовался онлайн-ресурс UNAFold. При помощи данного ресурса проверялась температура, при которой каждый из отобранных праймеров будет формировать вторичные структуры при отжиге. Дополнительно была проведена проверка, на определение температуры, при которой праймеры будут гибридизоваться друг с другом. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Температуры неспецифического отжига, влияющие на образование вторичных структур и гибридизацию сконструированных праймеров

Праймер	Температура, при которой происходит образование вторичных структур, °С	Температура, при которой происходит гибридизация праймеров, °С
DHN1 - F	44,9	7,7
DHN1 - R	26,0	
DHN2 - F	33,2	0,1
DHN2 - R	37,7	

Как следует из таблицы 2, установлено, что полученные праймеры пригодны для использования: образование вторичных структур не происходит и их гибридизация при отжиге не наблюдается, поскольку отображенные температуры меньше рекомендованных температур отжига. В

ходе апробации праймеров к ДНК-локусам генов, кодирующих белки дегидрины, была продемонстрирована их высокая специфичность, поскольку полученные ПЦР продукты при постановке горизонтального гель-электрофореза имели ожидаемую массу по отношению к стандартному ДНК маркеру молекулярного веса 100 bp (Праймтех, Беларусь).

Дегидрины представляют собой семейство мультифункциональных протекторов, способных защищать растение от множества абиотических стрессоров, не только подавляя активность АФК, но и предотвращая их образование в растительных клетках. Разработанные праймеры для ДНК-маркеров *DHN1* и *DHN2* в дальнейшем могут быть использованы для изучения изменения активности экспрессии генов, кодирующих дегидрины, при действии стресс-факторов, что позволит селекционерам создавать и отбирать наиболее устойчивые к неблагоприятным условиям среды генотипы *V. vulgaris*.

Библиографические ссылки

1. Вклад дегидринов в антиоксидантную защиту растений / Ч.Р. Аллагулова, Ф.М. Шакирова // Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений. Роль активных форм кислорода в жизни растений: Материалы II Международного симпозиума и международной научной школы, Уфа, 26 июня – 01 июля 2017 года / Редактор И.В. Максимов [и др.] – Уфа: ООО «Первая типография», 2017. – С. 48-51.

2. Дегидрины растений / Боровский Г.Б., Коротаева Н.Е., Уколова И.В. // ББК 28.58 Ф18. – 2016. – С. 16-18.

3. Перспективы генетической трансформации древесных растений генами дегидринов с целью очистки почв от тяжёлых металлов / Скороходова К.В. [и др.] // Биоразнообразие, состояние и динамика природных и антропогенных экосистем России. – 2021. – С. 293-297.

Изменения в антиоксидантной системе корней трансгенных растений табака со сверхэкспрессией гена ксилоглюканэндотрансгликозилазы *PtrXTH1* в условиях кадмиевого стресса

Бережнева З. А.^{А*}, Мусин Х. Г.^А, Кулуев Б. Р.^А

^А *Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, лаборатория геномики растений, Уфа, Россия. *E-mail: berezhneva-z@yandex.ru*

Ксилоглюканэндотрансгликозилазы (XTHs) являются апопластическими гидролитическими ферментами, осуществляющими реакции трансгликозилирования и расщепления связующих гликанов (ксилоглюканов), что способствует разрыхлению клеточной стенки корневой системы растений, что необходимо для роста клеток, особенно в условиях дефицита