

УДК 631.53

В. Е. Падутов, зав. отделом, д-р биол.наук, чл.-корр.;
И. Н. Третьякова, вед. науч.сотр., д-р биол.наук, проф.;
Л. В. Можаровская, научн. сотр.; А. В. Константинов, научн. сотр.;
Д. В. Кулагин, научн. сотр.; М. П. Кусенкова, асп., магистр
(Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель;
Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН)

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ПРОФИЛЕЙ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ С РАЗЛИЧНЫМ ЭМБРИОГЕННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ

Соматический эмбриогенез – это один из наиболее перспективных способов микрклонального размножения растений. Основное его преимущество – высокая скорость размножения: в течение двух-трех месяцев из одного грамма каллусной ткани можно получить до 500-1000 микрорастений. В настоящее время такой подход широко используется для размножения ценных форм декоративных хвойных растений, а в США, Канаде, Новой Зеландии и некоторых других странах – при производстве посадочного материала для плантационного лесовыращивания.

В настоящее время в Институте леса НАН Беларуси совместно с коллегами из Красноярского Института леса им. Сукачева ведутся работы по разработке методов размножения ели европейской и лиственницы сибирской посредством соматического эмбриогенеза. Одной из наиболее сложных проблем при этом является этап инициации эмбрионной каллусной культуры. По этой причине актуальным является изучение генетических и физиологических механизмов названного процесса. Цель наших исследований – определение физиологических и генетических различий между каллусными культурами, полученными в одинаковых условиях, но имеющих контрастный эмбриогенный потенциал.

Объектом исследований являлись каллусные культуры лиственницы сибирской, полученные в одинаковых условиях из незрелых зиготических эмбрионов и контрастно отличающиеся по способности к продукции соматических зародышей.

Методика генетического анализа заключалась в следующем. Проводили выделение тотальной РНК и ее последующую очистку. В подготовленном образце выполняли реакцию обратной транскрипции с получением двухцепочечной кДНК. Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформе Ion PGM System (ThermoScientific, США). Кодированные последовательности иденти-

фицировали посредством базы данных нуклеотидных последовательностей и консервативных доменов GenBank NCBI.

В результате проведенного высокопроизводительного секвенирования библиотек кДНК исследуемых образцов с последующей сборкой было проанализировано 679693 ридов для неэмбриогенной каллусной культуры и 400939 для эмбриогенной. Среднее покрытие составило 11 прочтений. Общее количество полученных контиг для эмбриогенной и неэмбриогенной клеточных линий – 16386 и 32636 соответственно.

Проведенное сравнение экспрессирующихся локусов показало, что около 40% из них встречаются только в одном из образцов, и только 6-11% имеют схожий характер экспрессии. Все это говорит о больших физиологических различиях между клеточными линиями, несмотря на то, что в обоих случаях происхождения материала и условия культивирования были одинаковы.

Изучение транскриптома является высокоинформативным методом, позволяющим одновременно определять генетические и физиологические характеристики тканей и совокупностей клеток. Проведенное определение функциональной принадлежности генов, которым принадлежат последовательности EST-локусов, показало, что наибольший уровень экспрессионной активности характерен для локусов, детерминирующих синтез полиубекветинов, белков теплового шока, некоторых ферментов азотного обмена, специфичных для эмбриогенеза транскрипционных факторов и макромолекул, участвующих в молекулярном транспорте.

Таким образом, сопоставление транскрипционных профилей эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий показало наличие больших различий в экспрессии генетического материала и, соответственно, их физиологических характеристиках.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
БРФФИ (проект Б18Р-281).*