

эффективность дальнейшего использования биопрепарата в сельском хозяйстве, а также для получения на его основе лекарственных средств.

Литература

1. *Wainwright M.* Novel use for fungi in biotechnology // *Chem.* 1990. № . P. 131–134.
2. *Hobbs Ch.* Medicinal mushrooms an exploration of tradition healing and culture. – Botanica press. Santa Cruz , С.А. 1995. 251 p.
3. *Беккер З. Е.* Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. 260 с.
4. *Феофилова Е. П., Немцев Д. В., Терешина В. М., Козлов В. П.* Полиаминосахариды мицелиальных грибов: новые биотехнологии и перспективы практического использования // *Прикладная биохимия и микробиология.* — 1996. — 32, № 5. - С. 483–492.
6. *Билай В.И.* Методы экспериментальной микологии.-К.Наукова думка,1982 С.261-268.
7. *Донченко Г.В.* Биохимия убихинона Q. К.:Наук.думка, 1988.- 297 с.

Резюме

Разработана биотехнология получения биопрепарата при совместном культивировании штаммов микромицетов *Fusarium sambucinum* F-139 и *Fusarium sambucinum* F-10011, что позволило сократить сроки ферментации и повысить выход биологически активных веществ. Испытания грибного препарата с высоким содержанием витаминов, коферментов и других биологически активных веществ свидетельствуют о возможном применении его в качестве кормовой и пищевой добавки.

Розроблена біотехнологія отримання біопрепарату при сумісному культивуванні штамів мікроміцетів *Fusarium sambucinum* F-139 і *Fusarium sambucinum* F-10011, що дозволило скоротити терміни ферментації та підвищити вихід біологічно активних речовин. Випробування грибного препарату з високим вмістом вітамінів, коферментів та інших біологічно активних речовин свідчить про можливе застосування його в якості кормової та харчової добавки.

The biotechnology of obtaining of fungial preparation based on joint cultivations of micromycetes strains of *Fusarium sambucinum* and *Fusarium sambucinum* was developed. Joint cultivation of strains has allowed to reduce the terms of fermentation and augment the output of various biologically active substances. The preparation has high content of vitamins and other biologically active substances that suggest the possibility of its using as food and chow additives.

ФУРСОВА О.В., ОГАРКОВА О.А., ТАРАСОВ В.А.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН РФ,

Россия, 119991, Москва, ул. Губкина, 3, e-mail: oksfursova@yandex.ru

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФУНКЦИИ ДВУХ ГЕНОВ *ARABIDOPSIS THALIANA*, КАК НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ОТВЕТА НА ХОЛОДОВОЙ СТРЕСС У РАСТЕНИЙ.

Ранее методом агробактериальной трансформации прорастающих семян (Томилов и др., 1999) с использованием вектора pLD3 (Гапеева и др., 1995) был получен и описан инсерционный мутант *Arabidopsis thaliana*, характеризующийся нарушением морфогенеза семядолей на ранних стадиях развития растений (Томилова и др., 2001). Анализ ДНК с использованием ПЦР, блот-гибридизации и компьютерного анализа позволил определить, что геном мутанта несет одну инсерцию, сцепленную с

мутантным фенотипом и расположенную в первом экзоне гена *At1g12860*. Этот ген находится в левом плече первой хромосомы и состоит из пяти экзонов.

Известно, что F-бокс связан с протеканием процесса убиквитин-зависимой деградации белков. Оказалось, что, наряду с F-боксом в первом экзоне, этот ген во втором экзоне содержит MYC – подобный транскрипционный фактор типа «спираль-петля-спираль». Одновременное присутствие в пределах одного гена доменов, участвующих в регуляции процессов катаболизма и анаболизма, заставило нас предположить, что рассматриваемый ген потенциально является одним из ключевых регуляторов метаболизма растительной клетки (Фурсова и др., 2004). Компьютерный анализ показал, что ген *At1g12860* содержит два промотора, расположенных перед первым экзоном и между первым и вторым экзонами. Более того, каждая из отдельных частей этого гена (1-ый экзон и 2-5-ый экзоны) по доменному составу в геноме *A. thaliana* имеет гомологи, выступающие в качестве самостоятельных генов. При этом ген *At3g26744*, известный также под названием *ICE1*, содержит в своей структуре домен транскрипционного активатора, полностью идентичный по нуклеотидному составу, соответствующему домену рассматриваемого нами гена *At1g12860*, и является ключевым регулятором ответа на холодостресс у *A. thaliana* (Chinnusamy et al., 2003). Свою функцию ген *ICE1* осуществляет не непосредственно путем влияния на эффекторные гены, названные *COR* – генами (Thomashow, 1999), которые непосредственно участвуют в детерминации особенностей метаболизма клеток в условиях холодостресса, а путем активации транскрипции вторичных транскрипционных активаторов, в частности гена *CBF3*.

Следует подчеркнуть, что изучение генетического контроля ответа растительной клетки на абиотические стрессы, в частности, на холодостресс, интенсивно проводится лишь в последние несколько лет и многие вопросы, связанные с идентификацией генов, детерминирующих этот процесс, их регуляция, еще далеки от своего решения. В этой связи данная работа посвящена идентификации нового гена, являющегося транскрипционным активатором, экспрессия которого зависит от активности исследуемого нами гена *At1g12860*.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись растения *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia). В работе использовались традиционные методы анализа. Амплифицированные копии исследуемого гена (и его частей) под конститутивным промотором в геном трансгенных растений вводились путем агробактериальной трансформации с использованием вектора pMLBart. Анализ экспрессии гена *At5g61270* проводился путем амплификации по стандартному протоколу фирмы «Изоген».

Результаты и обсуждение

Для исследования функции двух биологически значимых доменов (транскрипционного активатора и F-бокса) гена *At1g12860* были получены три трансгенные линии *A. thaliana*. Структура Т-ДНК, интегрированной в геном этих линий, содержит полноразмерную копию гена *At1g12860*, а также копии его 1-го экзона и 2-5-го экзонов, находящихся под сильным конститутивным промотором. При исследовании функциональной организации этого гена, проводимой на линии, содержащей полноразмерную копию гена, был обнаружен неожиданный факт – в этой линии в отличие от растений дикого типа, наблюдается суперэкспрессия гена *At5g61270*. Этот факт был подтвержден в специальных экспериментах (рис. 1).

Видно, что суперэкспрессия полной копии гена *At1g12860* (*superICE2*) либо его части, содержащей домен транскрипционного активатора (*superHALF2-ICE2*), приводит к экспрессии гена *At5g61270*. Компьютерный анализ этого гена показал, что его структура также содержит домен транскрипционного активатора типа «спираль-петля-спираль».

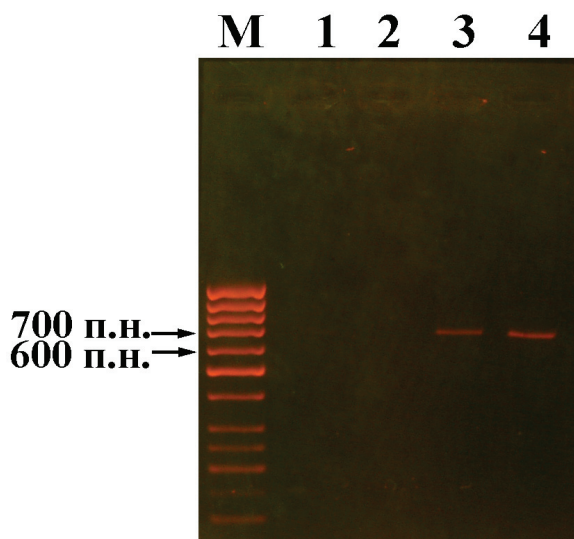


Рисунок 1. Анализ экспрессии гена *At5g61270*.

М - маркеры размера ДНК;

1), 2) растения дикого типа расы Columbia;

3) трансгенные линии с суперэкспрессией части гена *At1g12860*(*superHALF2-ICE2*), содержащей 2-5 экзоны;

4) трансгенные линии с суперэкспрессией полноразмерной копии гена *At1g12860* (*superICE2*) .

Выводы

Таким образом, полученные данные позволяют предполагать, что ген *At1g12860*, наряду с контролем морфогенеза, участвует в детерминации ответа клеток *A. thaliana* на холодовой стресс. При этом, так же как ген *ICE1*, исследуемый нами ген включен в каскад регуляторных событий, когда под его контролем находится вторичный активатор транскрипционной активности- ген *At5g61270*. Функция этого гена до последнего времени оставалась неизвестной.

Литература

1. Томилов А.А, Томилова Н.Б., Огаркова О.А., Тарасов В.А. Инсерционный мутагенез *Arabidopsis thaliana*: Увеличение эффективности трансформации прорастающих семян в результате предобработки их ультразвуком // Генетика. 1999. Т. 35. № 9. С. 1214-1222.
2. Ганеева Т.А., Огаркова О.А., Тарасов В.А., Вологовский И.Д. Новые вектора для трансформации двудольных растений // Генетика. 1995. Т. 31. № 8. С. 1085-1091.
3. Томилова Н.Б., Томилов А.А, Огаркова О.А., Тарасов В.А. Идентификация гена, мутация в котором обуславливает возникновение некрозов семядолей при развитии проростков *Arabidopsis thaliana* // Генетика. 2001. Т. 37. №1. С. 36-45.
4. Фурсова О.В., Погорелко Г.В., Авсюк А.Ю., Томилова Н.Б., Томилов А.А., Тарасов В.А., Огаркова О.А. Идентификация потенциального гена – регулятора развития семядолей у проростков *Arabidopsis thaliana*. Докл. Акад. Наук. 2004. Т. 395. №. 5. С. 1-3.
5. Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, Lee BH, Hong X, Agarwal M, Zhu JK. ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis* // *Genes Dev.* 2003. V. 17. No. 8. P. 1043-54.
6. Thomashow MF. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999,50:571-599

ШЕМЕТУН О.В., ТАЛАН О.О.

Науковий Центр радіаційної медицини АМН України

Україна, 040050, Київ, вул. Мельникова, 53, e-mail: lshem@ukr.net

МОДЕЛЮВАННЯ РАДІАЦІЙНО ІНДУКОВАНОГО ЕФЕКТУ СВІДКА В УМОВАХ IN VITRO

Різномічне вивчення ефекту свідка є одним з пріоритетних напрямків сучасної медичної генетики. Актуальність його дослідження зумовлюється необхідністю