

УДК 582.951.4:581.143.6:577.1

## **РАЗНОУРОВНЕВАЯ ЭКСПРЕССИЯ ТРАНСГЕНА CEL7 В NICOTIANA TABACUM И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЕ И МОРФОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ**

Т.И. ФОМЕНКО, А.А. КУЗОВКОВА (ЛЕНЕЦ),  
Л.Г. БЕРДИЧЕВЕЦ, В.Н. РЕШЕТНИКОВ

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»  
Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2В  
e-mail: fomenko\_ti@mail.ru

*Исследована экспрессия бактериального гена cel7, кодирующего β-1,4-глюканазу, в дифференцированных, де- и редиференцированных тканях табака. Обнаружена разноуровневая экспрессия трансгена в линии re4: установлена репрессия гена cel7 в листовой ткани, индуцирование экспрессии в каллусе и сохранение ее в адвентивных побегах, образованных из каллусных клеток. Разная экспрессия бактериальной β-1,4-глюканазы в листовых тканях табака сказалась на фитогормональном статусе этих тканей и, как следствие, отразилась на их каллусогенной активности и морфогенном потенциале.*

*Ключевые слова: трансгенные растения табака, бактериальный ген cel7, β-1,4-глюканаза, дифференцированные/дидифференцированные ткани.*

**В**ведение. Благодаря использованию растений-мутантов и трансгенных растений в последние 20 лет значительно продвинулось понимание механизмов различных физиологических процессов растений, например, фотосинтеза и индуцированной резистентности к патогенам [1, 2]. Вместе с тем, трансгенные растения могут использоваться в качестве модельного объекта для исследования влияния чужеродного гена как на генотип и фенотип, так и на изменение экспрессии отдельных генов. Подобные работы единичны и поэтому весьма актуальны. Ранее нами исследовано влияние бактериального гена *nahC* из плазмиды биодеградации нафталина *Pseudomonas putida*, кодирующего фермент 1,2-дигидрокси-нафталиндиоксигеназу, на экспрессию растительных генов табака. Показано, что экспрессия чужеродного гена привела к модификациям в белок-синтезирующей и протеолитической системах, а также отразилась на структурном состоянии фотосинтетического аппарата 3-х линий трансгенных *NahC* растений [3]. Настоящая работа посвящена оценке экспрессии бактериального гена *cel7*, кодирующего β-1,4-глюканазу, в дифференцированных, де- и редиференцированных тканях табака. Листовая ткань, полученный из нее каллус и индуцированные из него адвентивные побеги представляют собой ткани разной степени дифференцированности, и их клетки являются носителями разных эпигенетических изменений генома, что может модифицировать экспрессию трансгена. В свою очередь, трансген способен изменить каллусогенную активность и морфогенный потен-

© Т.И. ФОМЕНКО, А.А. КУЗОВКОВА (ЛЕНЕЦ), Л.Г. БЕРДИЧЕВЕЦ, В.Н. РЕШЕТНИКОВ. 2010

циал растений, например, через изменения в фитогормональном статусе растений.

### Материалы и методы

Объектами исследований являлись 3 линии трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, экспрессирующие бактериальный модифицированный ген *cel7* из анаэробной грамположительной термофильной бактерии *Clostridium thermocellum*. Ген кодирует фермент  $\beta$ -1,4-эндоглюканазу. В растениях ре2 ген *cel7* контролируется индуцибельным промотором Tr2' гена нопалинсинтетазы (ген *nos*) и сильным конститутивным промотором 35S вируса мозаики цветной капусты (CaMV 35S-промотором), а также последовательностью, кодирующей сигнальный пептид экстенсина моркови. Данный лидерный пептид способен направлять транспорт синтезированного белка в гранулы эндоплазматического ретикулума, где он подвергается матурации и секретуруется в матрикс клеточной стенки. В линии ре3 ген *cel7* обладает индуцибельным промотором Tr2' гена *nos* и последовательностью, кодирующей сигнальный пептид экстенсина моркови. Растения ре4 несут ген *cel7* под индуцибельным промотором Tr2' гена *nos*. Данные растения были получены к.б.н. Василевко В.Т. под руководством проф. Пирузян Э.С. на базе Института молекулярной генетики РАН (г. Москва) [4]. Растения *in vitro* выращивали на 1/2 среде Мурасиге – Скуга (МС) при температуре 22°C, освещенности 4 тыс.лк. Световой день – 16 ч. Для анализов использовали листья 40-дневных растений. Каллусообразование из листовых эксплантов инициировали на средах МСА (1 мг/л ИУК и 0,1 мг/л БАП), МСВ (3 мг/л ИУК и 0,1 мг/л БАП) и RMKU (1 мг/л  $\alpha$ ИУК, 1 мг/л кинетина), основу которых составляла среда МС. Каллусогенную активность листовых экс-

плантов оценивали по индексу роста по сырой массе. Активно растущие каллусы переносили на среду для индуцирования органогенеза – среда МС с 0,1 мг/л ИУК и вариациями БАП (2 мг/л – среда МСI, 1 мг/л БАП – среда МСII). Культивирование проводили в течение 4-х недель в термостате при 24,5 °С. Частоту регенерации оценивали каждую неделю. Экспрессию в растительных тканях бактериального гена *cel7* тестировали по уровню активности его белкового продукта методом выявления в полиакриламидном геле изоформ глюканаз по Schwarz et al. [5] с нашими модификациями.

### Результаты и обсуждение

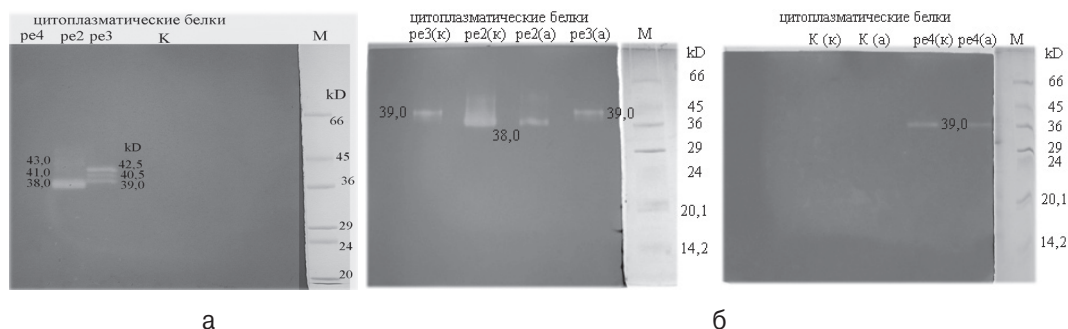
Анализ морфометрических параметров растений-рекомбинантов показал, что трансгенные растения отличались замедленным в сравнении с контролем ростом. Очевидно, что такие морфофизиологические изменения были опосредованы активной экспрессией трансгена в геноме табака. Действительно (рисунок, а), в листьях табака ре2 и ре3 обнаружены глюканазы, термостабильные при +80 °С и проявляющие максимальную активность при +60 °С, что характерно исключительно для термостабильного бактериального модифицированного фермента. При этом активность глюканазы на мг внесенного в гель белка в линии ре3 была существенно выше, чем у рекомбинантов ре2. Данный результат оказался неожиданным, поскольку предполагалось, что экспрессия трансгена под контролем 2-х промоторов (индуцибельного Tr2' и конститутивного CaMV 35S) должна быть выше, чем под контролем одного индуцибельного Tr2' промотора. В природе этот промотор, как известно, контролирует экспрессию гена *nos*, который является частью Т-ДНК плазмиды почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, индуцирующей у большинс-

тва двудольных и некоторых однодольных растений образование галлов в местах поранения [6]. Поскольку ген *nos* показал конститутивную активность в различных тканях растений [7], в 1980-х годах промотор этого гена стали широко использовать при конструировании трансгенных растений [8]. Однако позже было обнаружено, что активность *nos*-промотора в трансгенных растениях слабая (в 30 раз ниже, чем активность интактного конститутивного *CaMV 35S*-промотора) [9, 10] и значительно варьирует в разных органах и на разных стадиях развития растений [10]. При этом, как было установлено, активность *nos*-промотора сильно индуцируется поранением и связанной с ним жасмоновой кислотой, а также салициловой кислотой [11],  $H_2O_2$  [12] и усиливается ауксином в вегетативных и репродуктивных органах растений [13]. Интересно, что такие фитогормоны, как БАП, кинетин, абсцизовая и гибберелловая кислоты не оказывали значительного эффекта [13]. Эти факты позволили утверждать, что интактный *nos*-промотор является индуцибельным и сигналами индукции выступают поранение и ауксин [13]. В экспериментах Wei et al. [14] NOS-промотор во всех исследуемых органах (побегах, листьях, стеблях и корнях) трансгенных растений тополя проявил

себя значительно более сильным промотором, чем *CaMV 35S*-промотор в своем минимальном рабочем размере (от -72 до +5, состоящий только из TATA-боксов и пары CAAT-боксов и функционирующий как слабый конститутивный промотор), слитый с таким трансляционным энхансером, как омега-элемент вируса табачной мозаики, а также – чем цветочный промотор *PTLF* (за исключением экспрессии трансгена под контролем *PTLF* в побегах). Интересно, что активность *CaMV 35S*-промотора не модифицируется ауксином, БАП, кинетином, абсцизовой и гибберелловой кислотой [13].

Можно предположить, что в исследуемых нами растениях табака линии *re3*, вероятно, произошло наиболее сильное индуцирование активности промотора *Tr2'* олигосахаридами – продуктами гидролиза полиглюканов, который осуществляет бактериальная  $\beta$ -1,4-глюканаза. Известно [15], что данные олигосахарины в концентрациях  $10^{-6}$  М способны имитировать действие ауксинов, в частности увеличивать активность целлюлаз, стимулировать растяжение клеточной стенки и удлинение растения, индуцировать ризогенез.

Контрольные растения, а также линия *re4* не проявляли глюканазную активность при данных условиях тестирования даже



**Рисунок.** Зимограммы бактериальной  $\beta$ -1,4-глюканазы из листовых дифференцированных (а), дедифференцированных и редифференцированных (б) тканей трансгенных и контрольных растений табака при 20-кратной концентрации белка в пробах (инкубация при +60 °С): *re2*, *re3*, *re4* – линии трансгенных растений; *K* – контроль, *k* – каллус, *a* – адвентивные побеги, *M* – белки-метки молекулярных масс в кДа

при 20-кратном увеличении концентрации белка в пробе. Понятно, что контрольные растения табака не должны обладать бактериальной термостабильной глюконазой активностью, а растительные глюконазы при данной температуре полностью ингибируются. Неясно, почему не детектировалась активность  $\beta$ -1,4-глюконазы в растениях линии ре4. Вероятно, в данных растениях по каким-то причинам не произошло индуцирования активности промотора Tr2', наблюдаемого в линии ре3. Другой возможной причиной отсутствия в растениях линии ре4 активности  $\beta$ -1,4-глюконазы может быть замолкание трансгена. Данный феномен отмечен с конца 80-х – начала 90-х годов, при создании первых трансгенных растений. Позже было установлено, что феномен замолкания генов, хотя и может наследоваться при половом размножении и последующем развитии семени, является обратимым и может находиться под контролем факторов развития [16].

Какие именно механизмы вовлечены в эпигенетический контроль экспрессии трансгена *cel7* в табаке, можно только предполагать. Возможно, репрессия гена *cel7* в растениях табака обусловлена присутствием множественных копий трансгена и гомологичных ему последовательностей в растительных генах, которые могут взаимодействовать между собой, образуя гибридную ДНК, и таким образом корепрессировать друг друга. К сожалению, нам не известно, сколько копий трансгена *cel7* находится в геноме растений линии ре4. Трансген также может корепрессироваться вследствие наличия гомологичных последовательностей в его промоторе Tr2' и в промоторах эндогенных генов. Другой способ репрессии генов определяется хроматиновым состоянием генных локусов, в которые встраивается трансген, и их позицией в хромосоме и/или ядре (воз-

можность прикрепления к определенным зонам ядерного матрикса), т.е. связан с непосредственным влиянием на трансген его окружения. В этом значительная роль принадлежит процессам модификации гистонов (метилованию / деметиллованию, ацетилованию / деацетилованию, фосфорилированию / дефосфорилированию) [17].

Возможные изменения в эндогенном балансе гормонов у трансгенных растений, экспрессирующих бактериальный ген  $\beta$ -1,4-глюконазы, нами были проанализированы с помощью физиологического теста. Листовые экспланты контрольных и 3-х линий рекомбинантов культивировали на среде МС, не содержащей гормонов. После 4 недель культивирования на листовых эксплантах всех типов растений наблюдалось образование корней. При этом частота ризогенеза в контроле (66,7%) была в 2 раза выше, чем у линии ре2 (33,3%), и сравнима с таковой у линии ре4. В то же время линия ре3 характеризовалась более интенсивной инициацией ризогенеза (на 73,3%), чем контроль. Полученные данные являются неоднозначными. Можно предположить, что у линии ре3, отличающейся самой высокой глюконазой активностью, эндогенный баланс гормонов наиболее сильно сдвинут в сторону ауксинов за счет накопления олигосахаридов с ауксиноподобным эффектом, которые и простимулировали корнеобразование. Линия ре2, по-видимому, обладает особым фитогормональным статусом, определяющим существенное снижение ризогенеза по сравнению с контролем и линией ре3, при том, что характеризуется довольно высокой бактериальной глюконазой активностью. Линия ре4, которая не проявляет бактериальной активности  $\beta$ -1,4-глюконазы, имеет тот же фитогормональный фон, что и контрольные растения.

Индукция активности промотора Tr2' поранением и высоким содержанием ауксина в культуральной среде или же обратимость замолкания трансгена были выявлены нами при анализе экспрессии трансгена *cel7* в дедифференцированной (каллусной) ткани, полученной из листовых дисков от растений линии ре4 (рисунок, б). В отличие от листовой ткани, в каллусах линии ре4 (при 20-кратном концентрировании белка) была обнаружена активность термостабильных бактериальных глюканаз. Следует отметить, что каллусная ткань линий ре2 и ре3 сохраняла данную активность. Что касается каллусогенной активности листовых эксплантов трансгенных растений при культивировании на разных культуральных средах, то у линий ре3 и ре4 на средах RMKU и MCA она была сравнима с таковой контрольных растений, тогда как прирост каллусной массы на листовых дисках ре2 был достоверно ниже. Добавление в среду культивирования MCB 3 мг/л ИУК (против 1 мг/л ИУК в MCA и 1 мг/л ИУК в RMKU) способствовало увеличению каллусогенной активности как в контрольном варианте, так и у линии ре3 (табл. 1). В то же время у линий ре2 и ре4 наблюдалась более низкая, чем в контроле, каллусогенная активность. Таким образом, особый фитогормональный статус рекомбинантов ре3 никак не сказался на их каллусогенной активности по отношению к контролю, даже при увеличении в 3 раза содержания ауксинов в среде. При этом линия ре2 при всех исследуемых концентрациях экзогенных ауксинов демонстрировала ингибирование инициации каллусообразования, что косвенно может говорить о пониженном содержании в клетках ре2 эндогенных ауксинов (либо о блокировке их действия), которых даже вкуче с экзогенными фитогормонами было недостаточно для нормального каллусообразования. Линия ре4 с неста-

**Таблица 1.** Каллусогенная активность листовых эксплантов контрольных и трансгенных растений табака, экспрессирующих бактериальный ген  $\beta$ -1,4-глюканазы

Растение	Среда	Индекс роста по сырой массе
Контроль	MCA	86,92 ± 3,08
	MCB	110,48 ± 2,75
	RMKU	337,29 ± 43,39
ре2	MCA	67,57 ± 1,71
	MCB	63,33 ± 1,61
	RMKU	221,94 ± 38,61
ре3	MCA	87,83 ± 7,33
	MCB	80,35 ± 4,88
	RMKU	261,77 ± 27,40
ре4	MCA	89,42 ± 6,63
	MCB	87,86 ± 4,06
	RMKU	256,29 ± 1,39

бильной экспрессией гена *cel7* характеризовалась такой же нестабильной каллусогенной активностью на средах с разной концентрацией ауксинов.

Интересно, что активность бактериальной глюканазы, индуцированная в трансформантах ре4 при каллусогенезе, сохранялась, но на низком уровне, и в редифференцированных клетках адвентивных побегов, образованных при переносе каллуса со среды RMKU на морфогенные среды MC1 и MCII. Адвентивные побеги ре2 и ре3 также проявляли данную активность (рисунок, б). Что касается уровня морфогенного потенциала исследуемых трансгенных растений табака, то после недели культивирования во всех вариантах, включая контроль, наблюдалось нарастание каллусной массы без инициации побегообразования, что связано с накоплением в клетках ауксина при наращивании каллуса. Через 2 недели культивирования на каллусных тканях контроля и трансформантов отмечена регенерация побегов, но частота регенерации была не одинаковой и зависела как от типа растения, так и от среды культивирования (табл. 2). Так, при культивировании каллусных тканей на сре-



**Таблица 2.** Динамика морфогенной активности первичной каллусной ткани листа контрольного и трансгенных растений табака, экспрессирующих бактериальный ген  $\beta$ -1,4-глюканазы

Вариант	Среда	Частота регенерации, %		
		2 недели	3 недели	4 недели
Контроль	MC I	14,29	57,14	92,86
	MC II	21,43	85,71	100,00
pe2	MC I	23,81	66,67	95,24
	MC II	4,76	71,43	76,19
pe3	MC I	14,29	57,14	95,24
	MC II	9,52	71,43	10,00
pe4	MC I	19,05	66,67	85,71
	MC II	28,57	76,19	80,95

де MC I только у линии pe3 частота регенерации не отличалась от контрольного варианта и составляла 14,3%, тогда как у остальных линий трансгенных растений морфогенная активность была значительно выше (до 33,4%). Подобная зависимость наблюдалась и через 3 недели культивирования на фоне общего увеличения морфогенной активности. Через 4 недели культивирования на среде MC I частота регенерации у трансгенных линий увеличи-

лась до 85-95%, при этом у линий pe2 и pe3 она была выше, а у линии pe4 ниже, чем в контроле. Данный факт подтверждает особый фитогормональный статус трансгенных растений табака. Об этом говорит и изменение морфогенной активности каллусных тканей трансформантов при увеличении в среде культивирования concentra-

ции БАП до 2 мг/л. Увеличение содержания в среде экзогенного цитокинина повлияло на морфогенную активность как контрольного, так и трансгенных растений табака, экспрессирующих ген бактериальной  $\beta$ -1,4-глюканазы. Частота регенерации в контроле через 2 недели культивирования на среде MC II была в 1,5 раза выше, чем на среде MC I, тогда как у трансформантов наблюдали обратную зависимость. Морфогенная активность у линии pe2 в течение всего периода культивирования на среде MC II была ниже, чем на среде MC I. У линии pe4 на начальном этапе культивирования частота регенерации на среде MC II была выше, чем на среде MC I, и выше, чем в контроле, но через 4 недели культивирования наблюдалась обратная зависимость. Морфогенная активность каллусной ткани линии pe3 на среде MC II через две недели культивирования была ниже, чем на среде MC I. При дальнейшем культивировании на среде MC II частота регенерации у этой линии постепенно увеличивалась и достигала 100%, как и в контрольном варианте. При оценке морфогенетического потенциала растений также проводили сравнение размера побегов,

**Таблица 3.** Морфогенная активность каллусной ткани листа контрольного и трансгенных растений табака, экспрессирующих бактериальный ген  $\beta$ -1,4-глюканазы

Вариант	Среда	Среднее число побегов на эксплант, шт.	Соотношение регенерантов разной степени развития, %		
			от 3 до 10 мм	от 11 до 30 мм	выше 31 мм
Контроль	MC I	7,00±1,07	72,43	22,43	5,14
	MC II	10,57±1,23	78,43	18,92	2,74
pe2	MC I	5,91±0,82	72,59	25,04	2,37
	MC II	5,91±0,81	78,17	20,14	1,69
pe3	MC I	6,71±0,70	86,59	13,41	0
	MC II	10,14±1,07	87,77	12,23	0
pe4	MC I	4,95±0,58	89,49	10,51	0
	MC II	4,72±0,55	90,89	9,11	0

что отражено в табл. 3, и линии трансгенных растений ре2 и ре4 на среде МСII отличались от контроля по среднему числу побегов на эксплант и соотношению регенерантов разной степени развития. Таким образом, на среде с более высоким содержанием цитокинина у всех исследуемых трансформантов отмечена общая тенденция снижения морфогенной активности каллусов.

### Выводы

Обнаружена разноуровневая экспрессия трансгена в линии ре4, обусловленная или разной активностью промотора Tr2', или эпигенетической регуляцией экспрессии гена: показана репрессия гена *cel7* в листовой ткани, индуцирование экспрессии в каллусе и сохранение ее в адвентивных побегах, индуцированных из каллусной ткани.

Разноуровневая экспрессия бактериальной  $\beta$ -1,4-глюканазы в листовых тканях табака сказалась на фитогормональном статусе этих тканей и далее, как следствие, отразилась на их каллусогенной активности и морфогенном потенциале. Особым фитогормональным фоном обладают все исследуемые линии трансформантов.

Частота регенерации адвентивных побегов на каллусных тканях трансформантов на морфогенных средах была не одинаковой и зависела как от типа растения, так и от среды культивирования. Увеличение содержания в среде экзогенного цитокинина повлияло на морфогенную активность растений, увеличив частоту регенерации в контроле и уменьшив – в трансгенных растениях, что косвенно подтверждает повышенный ауксиновый статус трансформантов.

### Список литературы

1. Бурьянов Я.И. Успехи и перспективы генно-инженерной биотехнологии растений // Физи-

ология растений.– 1999. – Т. 46, № 6. – С. 930–944.

2. Пирузян Э.С., Кобец Н.С., Метт В.Л., Серебрянская Т.С., Неумывакин Л.В., Ализаде Х., Ленец А.А., Симонова М.Л., Шевелуха В.С., Голденкова И.В. Трансгенные растения с экспрессируемыми чужеродными генами как модель для изучения стрессовых ответов и источник создания устойчивых форм // Физиология растений. – 2000. – Т. 47, № 3. – С. 370–381.
3. Lenets A.A., Reshetnikov V.N. Occurrence of the three various phenotypes of tobacco plants after the introduction of the new gene / Plant genefund, accumulation, evaluation and protection in the botanical gardens: Proceeding of internat. sci. conference, Vilnius, 1-2 July 1999 / Vilnius University, Botan. Garden, Lithuanian State Found. For Sci. and Studies. – Vilnius, 1999. – P. 130–132.
4. Василевко В.Т. Модель переноса гена бактериальной полиглюкангидролазы ( $\beta$ -1,4-глюканаза) в растения табака как способ защиты растений от фитопатогенов / Дис. на соискан. уч. степ. канд. биол. наук. – Минск. – 2002. – 84 с.
5. Schwarz W.H., Bronnenmeier K., Grabnitz F., Staudenbauer W.L. Activity staining of cellulases in polyacrylamide gels containing mixed linkage  $\beta$ -glucans // Analytical biochemistry. – 1987. – Vol. 164. – P. 72–77.
6. Nester E.W., Kosuge T. Plasmids specifying plant hyperplasias // Annu. Rev. Microbiol. – 1981. – Vol. 35. – P. 531–565.
7. An G., Ebert P.R., Yi B.Y., Choi C.H. Both TATA box and upstream regions are required for nopaline synthase promoter activity in transformed tobacco cells // Mol. Gen. Genet. – Vol. 203. – P. 245–250.
8. Lichtenstein C.P., Fuller S.L. Vectors for the genetic engineering of plants // Genet. Eng. – 1987. – Vol. 6. – P. 103–183.
9. Sanders P.R., Winter J.A., Zarnason A.R., Rogers S.G., Farley R.T. Comparison of cauliflower mosaic virus 35S and nopaline synthase promoters in transgenic plants // Nucleic Acids Res. – 1987. – Vol. 15. – P. 1543–1558.
10. An G., Costa M., Mitra A., Ha S.B., Marton L. Organ-specific and developmental regulation of nopaline synthase promoter in transgenic tobacco plants // Plant Physiol. – 1988. – Vol. 88. – P. 547–552.
11. Kim S.-R., Kim Y., An G. Identification of methyl jasmonate and salicylic acid response elements from the nopaline synthase (nos) promoter // Plant Physiol. – 1993. – Vol. 103. – P. 97–103.
12. Dai Z., An C. Induction of nopaline synthase promoter activity by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> has no direct correlation

- with salicylic acid // *Plant Physiol.* – 1995. – Vol. 109. – P. 1191–1197.
13. An G., Costa M.A., Ha S. Nopaline synthase promoter is wound inducible and auxin inducible // *Plant Cell.* – 1990. – Vol. 2. – P. 225–233.
  14. Wei H., Meilan R., Brunner A. M., Skinner J. S., Ma C., Strauss S.H. Transgenic sterility in *Populus*: expression properties of the poplar *PTLF*, *Agrobacterium NOS* and two minimal 35S promoters in vegetative tissues // *Tree Physiology.* – 2006. – Vol. 26. – P. 401–410.
  15. Fry S.C. Cellulases, hemicelluloses and auxin-stimulated growth: a possible relationship // *Physiol. Plantar.* – 1989. – Vol. 75. – P. 532–536.
  16. Flavell R.B. Inactivation of gene expression in plants as a consequence of specific sequence duplication // *PNAS USA.* – 1994. – Vol. 91. – P. 3490–3496.
  17. Назаренко С.А. Эпигенетическая регуляция активности генов и ее эволюция // Из книги: Эволюционная биология. Материалы II Международной конференции “Проблема вида и видообразование”. – Томск: Томский государственный университет. – 2002. – Т. 2. – С. 82–93.

Представлена Н.В. Кучуком  
Поступила 26.07.2010

#### РІЗНОРІВНЕВА ЕКСПРЕСІЯ ТРАНСГЕНА *CEL7* У *NICOTIANA TABACUM* І ЇЇ ВПЛИВ НА КАЛЮСОГЕНЕЗ І МОРФОГЕННИЙ ПОТЕНЦІАЛ

Т.І. Фомєнко, А.А. Кузовкова (Льєнец), Л.Г. Бєрдїчєвец, В.Н. Рєшєтнїков

ДНУ «Центральний ботанїчний сад НАН Бїлорусї»  
Бїлорусь, 220012, м. Мїнськ, вул. Сурганова, 2В  
e-mail: fomenko\_ti@mail.ru

Дослїджено експресїю бактерїального гена *cel7*, що кодує  $\beta$ -1,4-глюканазу, у диференцїюваних, де- і редиференцїюваних тканинах тютюну. Виявлено рїзнорївнєву експре-

сїю трансгена в лїнії ре4: встановлено репресїю гена *cel7* у листковїй тканинї, їндукування експресїї в калюсї й збереження її в адвєнтивних пагонах, утворених їз калюсних клїтин. Рїзна експресїя бактерїальної  $\beta$ -1,4-глюканазї в листкових тканинах тютюну позначилася на фїтогормональному статусї цих тканин ї, як наслїдок, вїдбилася на їх калюсогеннїй активностї й морфогенному потенцїалї.

*Ключовї слова:* трансгеннї рослини тютюну, бактерїальний ген *cel7*,  $\beta$ -1,4-глюканаз, диференцїюванї/ дедиференцїюванї тканини.

#### THE DIFFERENT-LEVEL EXPRESSION OF THE *CEL7* TRANSGENE IN *NICOTIANA TABACUM* AND ITS INFLUENCE ON THE CALLUSOGENESIS AND MORPHOGENIC POTENTIAL

Т.І. Fomenko, А.А. Kuzovkova (Lenets), L.G. Berdichevets, V.N. Reshetnikov  
GSI «Central botanical gardens of NAS of Belarus»  
Belarus, 220012, Minsk, Surganov str., 2V  
e-mail: fomenko\_ti@mail.ru

The expression of bacterial gene *cel7*, coding  $\beta$ -1,4- glucanase in differentiated, de- and re-differentiated tobacco tissues has been studied. Different-level expression of the *cel7* transgene was revealed in line ре4: the repression of the *cel7* gene in the leaf tissue, inducing the expression in callus and its retention in the adventitious shoots, derived from callus cells was found. Differing expression of bacterial  $\beta$ -1,4-glucanase in the tobacco leaf tissues affected the phytohormone status of these tissues and as a result reflected in their callusogenic activity and morphogenic potential.

*Key words:* tobacco transgenic plants, bacterial *cel7* gene,  $\beta$ -1,4-glucanase, differentiation / dedifferentiation tissues.