

Клонирование гена *DAT* из *Euonymus europaeus*

Научный руководитель – Голденкова-Павлова Ирина Васильевна

Акашкина Юлия Владимировна

Студент (магистр)

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Агрономии и биотехнологии, Генетики и биотехнологии, Москва, Россия

E-mail: Wwwwulia@mail.ru

Основными компонентами растительных масел являются триацилглицерины (ТАГ). Биосинтез ТАГ у растений сводится к ацилированию молекулы глицерина тремя остатками жирных кислот. Бересклеты (*Euonymus* L.) представляют интерес для изучения, так как основной формой хранения липидов являются необычные ТАГ, у которых 3 атом С в молекуле глицерина этерифицирован остатком уксусной кислоты (3-ацетил-sn-1,2-диацилглицерины, АцДАГ) [1]. Наличие ацетильного остатка в молекуле АцДАГ на 30% снижает вязкость масла. АцДАГ обладают пониженной на 30% вязкостью и почти вдвое меньшей калорийностью по сравнению с ТАГ. Масла, в состав которых входят такие триацилглицерины обладают высокой ценностью как в пищевой, так и в технической промышленности [3]. Поскольку для промышленного производства масла использовать бересклеты довольно затруднительно, важно изучить синтез липидов и механизмы его регуляции и контроля у этих растений. Запасные липиды семян большинства исследованных видов бересклетов на 80-98% состоят из АцДАГ и лишь на 2-15% - из ТАГ обычного состава. При этом, в липидном составе ариллусов наблюдается обратная картина, поскольку присемянники содержат преимущественно ТАГ. Следует отметить, что семена и ариллусы могут сильно отличаться между собой по составу запасных липидов, а разные виды бересклета характеризуются специфической динамикой накопления ТАГ и их аналогов на разных этапах созревания плода [2].

За синтез АцДАГ у бересклетов отвечает фермент диацилглицерин ацетилтрансфераза. Поскольку функционально активные домены данного фермента не определены, целью нашей работы стало клонирование гена *DAT* из бересклета европейского (*Euonymus europaeus*) и последующий анализ его последовательности.

Клонирование гена осуществляли методом RACE - Rapid Amplification of cDNA Ends, позволяющим идентифицировать 5'- и 3'-концевые фрагменты целевых транскриптов при наличии информации о фрагменте его нуклеотидной или аминокислотной последовательности. Определение нуклеотидных последовательностей клонированных фрагментов проводили с помощью секвенирования по методу Сэнгера.

Для поиска гомологов кодирующей последовательности гена *DAT* из бересклета европейского и его белкового продукта, был проведен анализ с использованием интернет ресурса BLAST. Множественное выравнивание последовательностей из полученной выборки позволило определить потенциально значимые для функционирования фермента мотивы.

Таким образом, нами впервые был клонирован полноразмерный ген *DAT* бересклета европейского и проведен анализ его белковой последовательности.

Источники и литература

- 1) Durrett T.P., McClosky D.D., Tumaney A.W., Elzinga D.A., Ohlrogge J., Pollard M. A distinct DGAT with sn-3 acetyltransferase activity that synthesizes unusual, reduced-viscosity oils in *Euonymus* and transgenic seeds // Proc. Natl. Acad. Sci. 2010. № 107. P. 9464–9469.

- 2) Milkamps, A., Tumaney W., Paddock T., Pan D. A., Ohlrogge J., and Pollard M. A. Isolation of a gene encoding a 1,2-diacylglycerol-sn-acetyl-CoA acetyltransferase from developing seeds of *Euonymus alatus* // J. Biol. Chem. 2005. №280. P.5370–5377.
- 3) Сидоров Р.А. Бересклеты как перспективный источник сырья для биодизеля // Материалы IX международного симпозиума "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования". Т. III. М.: РУДН, 2011. – 229 с.