

## Роль N-гликозилирования белков в процессах формирования клеточной стенки *Linum usitatissimum* L

© Ибрагимова Надежда Николаевна, Ларская Ирина Алексеевна  
и Федина Евгения Олеговна\*<sup>+</sup>

Лаборатория гликобиологии растений. Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН. ул. Лобачевского, 2/31. г. Казань, 420111. Республика Татарстан. Россия. Тел.: +7 (843) 231-9069-30. E-mail: solo\_nika@mail.ru

\*Ведущий направление; <sup>+</sup>Поддерживающий переписку

**Ключевые слова:** N-гликозилирование белков, *Linum usitatissimum* L., 2D-электрофорез, иммуноблоттинг, фукозилирование, ксилозилирование, рост растений.

### Аннотация

В стеблях льна исследован уровень N-гликозилирования белков клеточной стенки на разных этапах ее формирования. В качестве образцов были использованы ксилемная и флоэмная части стебля, содержащие волокна, обогащенные вторичной клеточной стенкой (XYL), а также третичной клеточной стенкой на ранней (MID) и поздней (BOT) стадиях утолщения. Для выявления гликопротеинов из образцов MID, BOT, XYL получали белковые фракции путем обработки гомогенатов тканей солями лития (2 М LiCl) и кальция (0.2 М CaCl<sub>2</sub>) с последующим использованием стандартных наборов для получения гликопротеинов из сложных белковых смесей с лектином конкавалин А (ConA) в качестве аффинной матрицы. Полученные гликопротеины изофокусировали на стрипах (полоски геля, 7 см длиной) с иммобилизованным градиентом pH (3-10 ед. pH). Разделение белков во втором направлении (по молекулярным массам) проводили с использованием электродного буфера, содержащего 25 мМ Трис-HCl, 192 мМ глицина, 0.1% додецилсульфат натрия. Для оценки вклада N-гликозилирования белков в процессы формирования клеточной стенки льна проводили иммуноблоттинг с использованием моноклональных антител к β1,2-ксилозе и коровой α1,3-фукозе – специфичным остаткам N-гликанов белков растений. При разделении гликозилированных белков флоэмной и ксилемной части стебля методом 2D-электрофореза было показано, что молекулярные массы протеинов располагаются преимущественно в диапазоне от 11 до 35 кДа, а их изоэлектрические точки находятся в щелочной области. Результаты наших исследований также показали, что гликаны, выявленные на блоттах N-глико-протеинов, содержат больше остатков α1,3-фукозы, чем β1,2-ксилозы. Полученные нами различия в связывании N-гликанами антител к α1,3-фукозе и β1,2-ксилозе указывают на возможность существования двух независимых путей N-гликозилирования белков в растениях льна. Мы впервые охарактеризовали профили N-гликозилированных белков растений льна и выявили, что наибольшим содержанием N-гликопротеинов отличалась флоэмная часть стебля, содержащая волокна со зрелой утолщенной третичной клеточной стенкой.