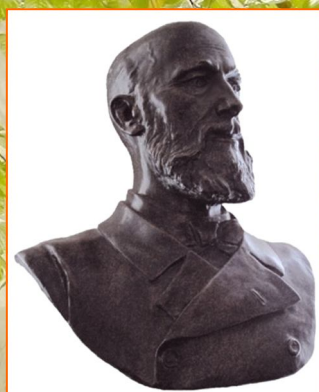
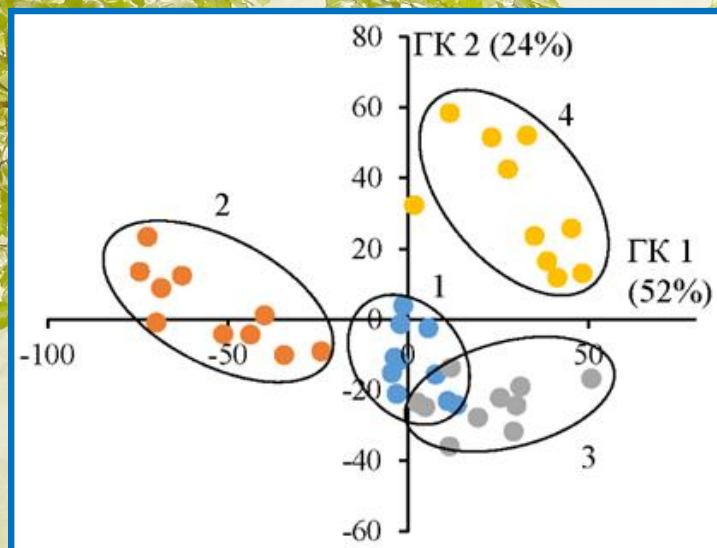


Бутлеровские сообщения

№11, том 64. 2020



ISSN 2074-0212



ISSN 2074-0948

International Edition in English:
Butlerov Communications



*Юридическим учредителем журнала “Бутлеровские сообщения” является
ООО “Инновационно-издательский дом “Бутлеровское наследие”*

Журнал является официальным печатным органом Научного фонда им. А.М. Бутлерова (НФБ), которому также делегировано право юридически представлять интересы журнала.

Организационно в журнале существует институт соучредительства, в рамках которого с соучредителем подписывается Договор или Соглашение о научно-техническом, инновационном и научном издательском сотрудничестве.

В 2020 году соучредителями журнала являются:

1. Бурятский государственный университет,
2. Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности,
3. Ивановский государственный университет,
4. Институт химии нефти СО РАН,
5. Кемеровский государственный университет,
6. Научный фонд им. А.М. Бутлерова,
7. Общественная организация Республиканское химическое общество им. Д.И. Менделеева Татарстана,
8. Пермская государственная фармацевтическая академия,
9. Пермский национальный исследовательский политехнический университет,
10. Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина,
11. Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
12. Самарский государственный технический университет,
13. Самарский государственный университет,
14. Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
15. Саратовский государственный университет,
16. Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,
17. Тульский государственный университет,
18. Федеральное казенное предприятие “НИИ химических продуктов” (г. Казань),
19. Челябинский государственный университет,
20. Казанский национальный исследовательский технологический университет.

Главные редакторы: Миронов Владимир Фёдорович и Самуилов Яков Дмитриевич

Исполнительный редактор: Курдюков Александр Иванович

Адрес редакции:

ул. Бондаренко, 33-44. г. Казань, 420066. Республика Татарстан. Россия.

Контактная информация:

Сот. тел.: 8 917 891 2622

Электронная почта: butlerov@mail.ru или journal.bc@gmail.ru

Интернет: <http://butlerov.com/>

Свободная цена.

Тираж – менее 1100 шт.

Тираж отпечатан 30 ноября 2020 г.

Участие *N*-гликозилирования белков в процессах роста *Linum usitatissimum* L

© Ларская Ирина Алексеевна, Абдрахимов Фарит Агитович
и Федина*[†] Евгения Олеговна

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.: (843) 231-90-69. E-mail: solo_nika@mail.ru

*Ведущий направление; [†]Поддерживающий переписку

Ключевые слова: *N*-гликозилирование белков, *Linum usitatissimum* L., ингибиторный анализ, туникамицин, конфокальная микроскопия, ЭПР, рост растений.

Аннотация

Исследовано влияние ингибитора *N*-гликозилирования белков туникамицина на рост корней и гипокотилей проростков льна (*Linum usitatissimum* L.). Известно, что туникамицин ингибирует первую стадию образования олигосахаридного предшественника, необходимого для инициации синтеза *N*-гликопротеинов, подавляя активность *N*-ацетилглюкозаминфосфотрансферазы. Блокирование туникамицином (25 мкМ) ранних стадий образования *N*-гликанов вызывало ингибирование ростовых процессов у проростков льна, которое зависело от возраста исследуемых растений. Так, у однодневных проростков туникамицин в исследуемой концентрации существенно подавлял рост гипокотилей и главного корня, причем ингибирующее влияние антибиотика на корни было более значительным. Эффект туникамицина на рост гипокотилей однодневных проростков начинал проявляться через 60 часов после воздействия ингибитором, тогда как корни практически полностью прекращали свой рост уже через 30 часов воздействия антибиотиком. В 2-х дневных проростках, обработанных туникамицином, удлинение гипокотилей проходило примерно с той же скоростью, как и у контрольных растений, а подавление роста корней проявлялось только на 60 ч. Прижизненное окрашивание ЭПР-структур красителем ER-TrackerTM Green контрольных и обработанных туникамицином однодневных проростков льна показало, что ингибирование ростовых процессов сопровождалось изменением морфологии ЭПР, что свидетельствует о накоплении неправильно свернутых белков в просвете эндоплазматического ретикулума, связанное с нарушением нормального протекания процесса *N*-гликозилирования белков.

Таким образом, очевидно, что процесс *N*-гликозилирования необходим для нормального роста и развития растений, а фенотип растения будет обусловлен изменением в статусе *N*-гликозилирования определенных гликопротеинов.

Введение

Гликозилирование – одна из наиболее распространенных пост-трансляционных модификаций белков у растений, которая контролирует различные процессы, такие как сворачивание белка, активность, стабильность или передача сигналов [1]. В зависимости от природы аминокислоты, с которой происходит связывание гликана, различают два основных типа гликозилирования белков – *N*- и *O*-гликозилирование [2]. *O*-связанные гликаны присоединяются через гидроксильную группу серина, треонина, гидроксизирина или гидроксипролина. При гликозилировании белков по *N*-типу связывание гликанов с белковой молекулой происходит через амидную связь с остатком аспарагина (Asn) в последовательности Asn-X-Ser/Thr формирующегося протеина (где X – любая аминокислота, кроме пролина). Реакции *N*-гликозилирования белков инициируются в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР): специфические олигосахарид-трансферазы катализируют образование связи между предшественником липид-связанного олигосахарида и зарождающимся полипептидом. Затем гликопротеин проходит несколько стадий созревания, включающие удаление остатков глюкозы и маннозы с образованием белков, содержащих *N*-гликаны высокоманнозного типа. Дальнейшее созревание гликозилированного белка происходит в аппарате Гольджи [3].

В синтез гликопротеинов вовлечено большое количество специфических гликозидаз и гликозилтрансфераз, что приводит к появлению в составе белков характерных для растений сложных *N*-гликановых структур [4], которым приписываются многие биологические функции, связанные как с устойчивостью к абиотическим стрессам [5], так и с ростом и развитием растений [6]. Известно, что нарушения в синтезе *N*-гликозилированных белков на разных этапах приводят к тяжелым ростовым дефектам, а в некоторых случаях – к гибели растений [7]. На примере *Arabidopsis thaliana* было показано, что отсутствие любой каталитической субъединицы комплекса олигосахарилтрансферазы приводит к гибели растения [8]. Нарушение первых двух стадий процессинга *N*-гликановых структур белка, а именно, отщепление концевых остатков глюкозы, опосредованное гликозидазами I и II, оказывает негативное влияние на развитие семян [9] и биосинтез целлюлозы [10]. Блокирование последующих этапов созревания *N*-гликанов, которые катализируются α -маннозидазами I, приводит к формированию коротких и радиально расширенных корней, однако не влияет на фертильность растений [11].

Основные исследования в функциональном анализе образования *N*-гликанов и роли *N*-гликозилирования белков в жизнедеятельности растений были проведены в основном на модельном растении *Arabidopsis thaliana* [8-11], и только в незначительном количестве работ были изучены иные объекты. Например, был охарактеризован мутант риса (*Oryza sativa* L.) по гену, кодирующему предполагаемую маннозил-олигосахарид гликозидазу (OsMOGS) – ортолог α -глюкозидазы I в *Arabidopsis thaliana*, которая катализирует отщепление концевого глюко-зильного остатка олигосахаридной цепи формирующегося гликозилированного полипептида в ЭПР [12]. Мутация по этому гену ингибирует образование *N*-гликана с высоким содержанием маннозы. Мутантные растения характеризовались серьезными дефектами в делении и удлинении клеток корня, что приводило к фенотипу короткого корня, нарушению формирования и удлинения корневых волосков, а также наблюдалось уменьшение толщины клеточной стенки клеток эпидермиса корня из-за снижения синтеза целлюлозы [12]. Приведенные данные показывают, что *N*-гликозилирование белков играет существенную роль в росте и развитии растений. Целью данной работы являлось изучение взаимосвязи процесса *N*-гликозилирования белков с ростовыми процессами *Linum usitatissimum* L.

Экспериментальная часть

Объектом исследования являлись корни и гипокотили одно- и двухдневных проростков льна. Для их получения семена льна (*Linum usitatissimum* L., сорт Могилевский) стерилизовали 10 мин в 2% растворе гипохлорита натрия, а затем проращивали на бумажных дисках, смоченных дистиллированной водой, при 25 °С в темноте. Обработку туникамицином в концентрации 25 мкМ осуществляли на 24 ч и 48 ч прорастания для однодневных и двухдневных проростков, соответственно. Ростовые показатели проростков оценивали путем измерения длины гипокотилей и корней с 10-часовым интервалом.

Для каждой временной точки брали не менее 10 растений. Статистическую значимость различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента. На графиках приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

Конфокальную микроскопию проводили на ручных продольных срезах гипокотилей и корней. Окраску срезов осуществляли на тефлоновой подложке в темноте в течение 30 мин. при 25 °С в растворе, содержащем 2 мкМ ER-Tracker™ Green (*Thermo Fisher Scientific*, USA), 25 мМ KH_2PO_4 , 0.15M сахарозы, 1 мМ MgCl_2 , 2 мМ ЭДТА, pH 7.2.

Образцы просматривали в инвертированном микроскопе *LSM510 META*, *Carl Zeiss MicroImaging*, Inc с объективом LD Plan-Neofluar 40x/0.6 Korr. Возбуждение красителя осуществляли аргоновым лазером на длине волны 488 нм при 10-20% от полной мощности излучения. Детектирование эмиссии красителя проводили с использованием фильтра с полосой пропускания в диапазоне от 505 до 560 нм.

Полученные стопки 2D изображений анализировали в пакете программ ImageJ (Fujii).

Результаты и их обсуждение

Полезными инструментами для исследований роли *N*-связанных гликанов в растениях являются специфические ингибиторы ферментов их биосинтеза и созревания [13]. Образование *N*-связанных гликопротеинов включает в себя ряд метаболических путей и ингибирование любого из них может повлиять на окончательный продукт, и как следствие, вызвать определенные фенотипические изменения или даже привести к гибели растения [8, 10, 11].

Для изучения влияния *N*-гликозилирования белков на рост проростков льна (*Linum usitatissimum* L.) в нашей работе был использован антибиотик туникамицин, который ингибирует первую стадию образования олигосахаридного предшественника, необходимого для инициации синтеза *N*-гликопротеинов [14]. Показано, что туникамицин подавляет активность *N*-ацетилглюкозаминфосфотрансферазы, осуществляющей перенос GlcNAc-1-P от UDP-GlcNAc к Dol-P с образованием Dol-PP-GlcNAc и не оказывает влияние на ферменты более поздних реакций [13].

Проведенные эксперименты выявили различный эффект ингибитора на рост гипокотилей и корней льна в зависимости от возраста проростков. Так, у однодневных проростков туникамицин в исследуемой концентрации 25 мкМ существенно ингибировал рост гипокотилей и главного корня, причем ингибирующее влияние антибиотика на корни было более значительным (рис. 1а, б). Эффект туникамицина на рост гипокотилей начинал проявляться через 60 часов после воздействия ингибитором и через 100 часов длина гипокотилей обработанных проростков была в 2 раза меньше, чем у контрольных образцов (рис. 1а), тогда как корни обработанных проростков практически полностью прекращали свой рост уже через 30 часов воздействия ингибитором и на четвертые сутки наблюдений (92 ч культивирования) были в 4 раза короче, чем корни контрольных растений (рис. 1б).

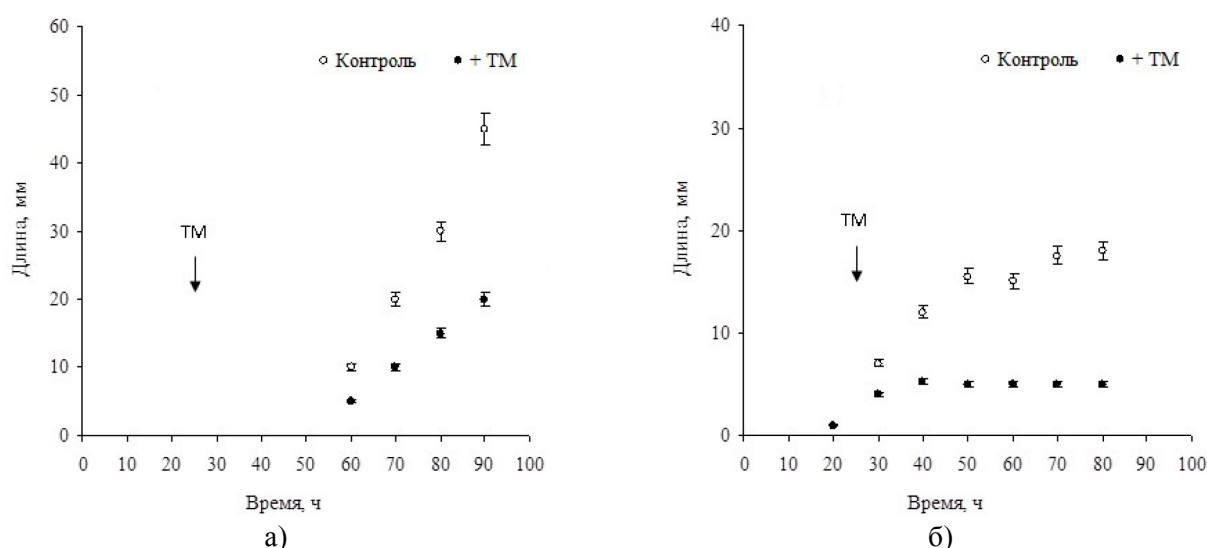


Рис. 1. Влияние туникамицина (Тм) на рост гипокотилей (а) и корней (б) однодневных проростков льна. Концентрация туникамицина – 25 мкМ. Стрелкой указано время внесения ингибитора.

Ингибирующий эффект туникамицина на рост 2-х дневных проростков был менее выражен: подавление роста корней проявлялось на 60 ч, причем длина корней опытных растений к концу исследуемого периода (80 ч) была только в 1.5 раза меньше контрольных (рис. 2б). Еще более слабое воздействие туникамицин оказывал на гипокотили 2-х дневных проростков льна: удлинение гипокотилей, обработанных антибиотиком, проходило примерно с той же скоростью, как и у контрольных проростков, с незначительным (в пределах ошибки) замедлением роста к 80 часам культивирования (рис. 2а). Таким образом, эффект туникамицина в концентрации 25 мкМ на рост гипокотилей и корней проявлялся сильнее у более молодых проростков.

Однако, рассматривая любые эффекты на физиологические процессы нельзя упускать из виду тот факт, что, как и большинство ингибиторов, туникамицин может подавлять синтез белков [15].

Ингибирующее влияние различных концентраций туникамицина на биосинтез белков было показано по включению радиоактивно-меченных аминокислот ^3H -лейцина и ^3H -пролина [16, 17]. Чтобы однозначно ответить на вопрос вызвано ли подавление ростовых процессов, наблюдаемое у гипокотилей и корней проростков льна действием туникамицина на начальные этапы процесса *N*-гликозилирования белков, или этот эффект обусловлен другими причинами, было решено провести оптическую визуализацию субклеточных органелл, которые задействованы в процессинге *N*-гликопротеинов. Поскольку туникамицин, ингибируя *N*-ацетилглюкозаминфосфотрансферазы, предотвращает *N*-связанное гликозилирование в просвете ЭПР, то было проведено прижизненное окрашивание этих структур красителем ER-TrackerTM Green. С

Полная исследовательская публикация _____ Ларская И.А., Абдрахимов Ф.А. и Федина Е.О. использованием конфокального микроскопа была визуализирована эндоплазматическая сеть на продольных срезах гипокотилей и корней контрольных и обработанных туникамицином однодневных проростков льна. По сравнению с контрольными вариантами в корнях и гипокотилиях проростков, обработанных антибиотиком, наблюдалось усиление окраски в мембранах ЭПР (рис. 3), что указывает на значительное влияние туникамицина на морфологию ЭПР.

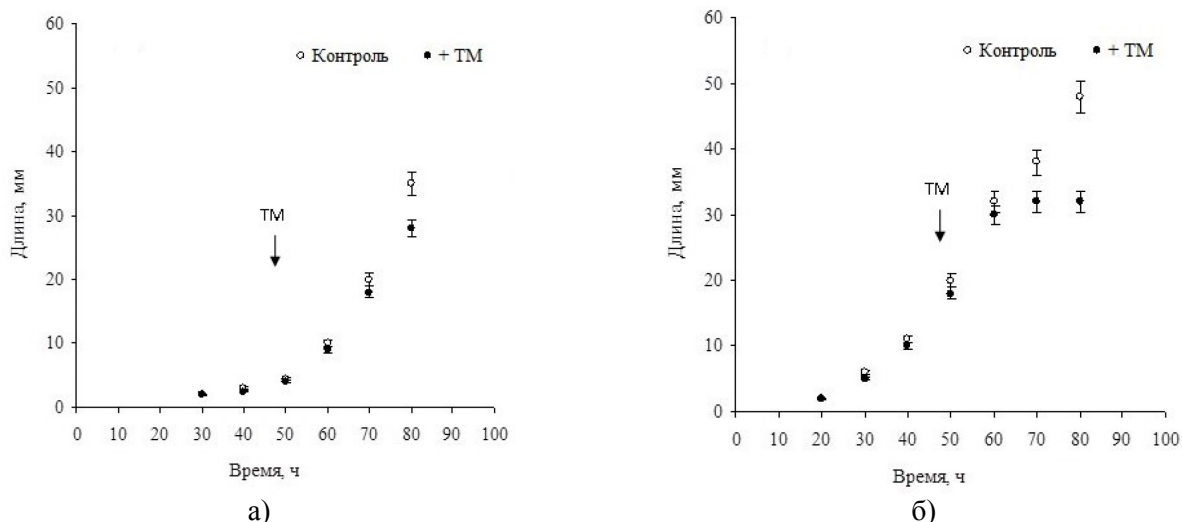


Рис. 2. Влияние туникамицина (ТМ) на рост гипокотилей (а) и корней (б) 2-х дневных проростков льна. Концентрация туникамицина – 25 мкМ. Стрелкой указано время внесения ингибитора.

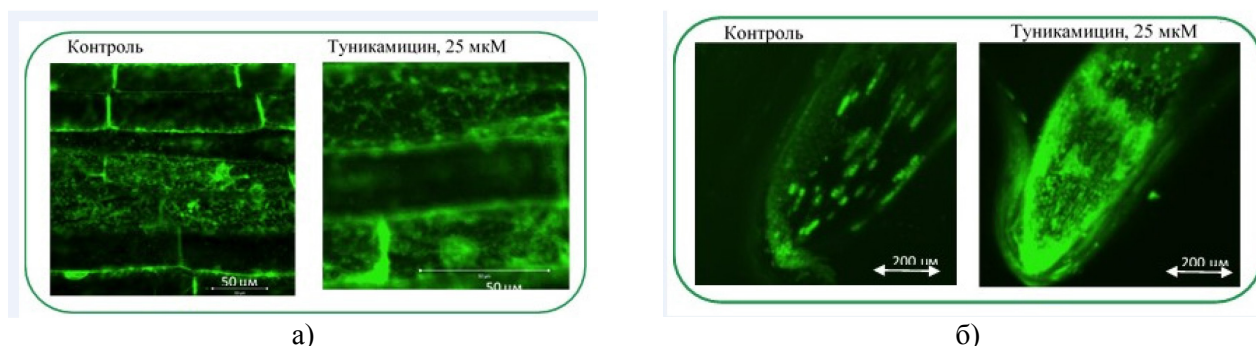


Рис. 3. Влияние туникамицина (25 мкМ) на морфологию эндоплазматической сети в тканях гипокотыля (а) и корня (б) 1-суточных проростков льна. Окрашивание осуществляли ER-Tracker™ Green.

ЭПР – это субклеточная органелла, где происходят посттрансляционная модификация, фолдинг и олигомеризация белков перед их доставкой в другие компартменты клетки или секрецией. Любое нарушение процесса, в том числе, изменение уровня гликозилирования белков, приводит к накоплению неправильно свернутых (абerrантных) белков в просвете ЭПР. Это влечет к нарушению нормальных функций органеллы с последующим разворачиванием клеточной стрессовой реакции (ЭПР-стресс), активирующей компенсаторный механизм, известной как развернутый белковый ответ (UPR – unfolded protein response) [13]. Активация UPR увеличивает ЭПР-структуры за счет расширения мембран с целью предотвращения белковой нагрузки [18].

Очевидно, что туникамицин, как ингибитор синтеза *N*-гликозилированных белков, является индуктором накопления в просвете ЭПР абerrантных белков, что, приводит к активации стрессовой реакции растений и ингибированию ростовых процессов. Это согласуется с результатами исследования взаимосвязи архитектуры корня с ЭПР-стрессом на проростках *Arabidopsis thaliana* [19].

Полученные данные указывают на очевидную взаимосвязь процессов *N*-гликозилирования с ростовыми реакциями проростков льна (*Linum usitatissimum* L.), что более ярко проявляется на ранних этапах развития растений, поскольку именно этот период отличается наиболее активными процессами деления и растяжения.

Использование в дальнейших исследованиях более широкого спектра ингибиторов, действующих на другие стадии N-гликозилирования белков, позволят получить новые результаты, которые помогут понять, как роль отдельных N-гликопротеинов, так и разных стадий N-гликозилирования белков в развитии растений.

Выводы

1. Процесс N-гликозилирования играет важную роль на ранних этапах развития проростков льна (*Linum usitatissimum* L.). Эффект ингибитора ранних этапов N-гликозилирования туникамицина (25 мкМ) на рост гипокотилей и корней был более значительным у более молодых проростков. Корни проростков более восприимчивы к действию туникамицина, чем гипокотили.
2. Ингибирование ростовых процессов в проростках льна под действием туникамицина связано с нарушением функций эндоплазматического ретикулума (ЭПР), так как обусловлено увеличением элементов ЭПР при накоплении aberrantных белков в просвете органеллы.

Благодарности

Авторы благодарят РФФИ за финансовую поддержку. Исследование выполнено в рамках научного проекта гранта РФФИ № 19-04-01077.

Литература

- [1] R.G. Spiro. Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease Implications of glycopeptide bonds. *Glycobiology*. **2002**. Vol.12. P.43R-56R. DOI: 10.1093/glycob/12.4.43r
- [2] E. Nguema-Ona, M. Vicré-Gibouin, M. Gotté, B. Plancot, P. Lerouge, M. Bardor, A. Driouch. Cell wall O-glycoproteins and N-glycoproteins: aspects of biosynthesis and function. *Front. Plant Sci.* **2014**. Vol.5. Art.499. DOI:10.3389/fpls.2014.00499
- [3] R. Strasser. Plant protein glycosylation. *Glycobiology*. **2016**. Vol.26. No.9. P.926-939. DOI:10.1093/glycob/cww023
- [4] A. Sturm. N-Glycosylation of plant proteins. *New Comprehensive Biochemistry*. **1995**. Vol.29. Part.A. P.521-541. DOI: 10.1016/S0167-7306(08)60603-1
- [5] R. Strasser. Biological significance of complex N-glycans in plants and their impact on plant physiology. *Front. Plant Sci.* **2014**. Vol.5. Art.363. DOI:10.3389/fpls.2014.00363
- [6] C. Veit, U. Vavra, R. Strasser. N-Glycosylation and plant cell growth. *In Plant Cell Expansion: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. **2015**. Vol.1242. P.183-194. DOI: 10.1007/978-1-4939-1902-4_16
- [7] Y. Nagashima, A. von Schaewen, H. Koiwa. Function of N-glycosylation in plants. *Plant Science*. **2018**. Vol.274. P.70-79. DOI:10.1016/j.plantsci.2018.05.007
- [8] H. Koiwa, F. Li, M. McCully, I. Mendoza, N. Koizumi, Y. Manabe, Y. Nakagawa, J. Zhu, A. Rus, J. Pardo, R. Bressan, P. Hasegawa. The STT3a subunit isoform of the *Arabidopsis* oligosaccharyltransferase controls adaptive responses to salt/osmotic stress. *Plant Cell*. **2003**. Vol.15. P.2273-2284. DOI:10.1105/tpc.013862
- [9] M. Boisson, V. Gomord, C. Audran, N. Berger, B. Dubreucq, F. Granier, P. Lerouge, L. Faye, M. Caboche, L. Lepiniec. Arabidopsis glucosidase I mutants reveal a critical role of N-glycan trimming in seed development. *EMBO J*. **2001**. Vol.20. P.1010-1019. DOI:10.1093/emboj/20.5.1010
- [10] S. Gillmor, P. Poindexter, J. Lorieau, M.M. Palcic, C. Somerville. α -Glucosidase I is required for cellulose biosynthesis and morphogenesis in *Arabidopsis*. *J. Cell Biol.* **2002**. Vol.156. P.1003-1013. DOI:10.1083/jcb.200111093
- [11] E. Liebming, S. Huttner, U. Vavra, R. Fischl, J. Schoberer, J. Grass, C. Blaukopf, G.J. Seifert, F. Altmann, L. Mach, R. Strasse. Class I α -mannosidases are required for N-glycan processing and root development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*. **2009**. Vol.21. P.3850-3867. DOI:10.1105/tpc.109.072363
- [12] S.K. Wang, Y.X. Xu, Z.L. Li, S.N. Zhang, J-M. Lim, K.O. Lee, C.Y. Li, Q. Qian, D.A. Jiang, Y.H. Qi. OsMOGS is required for N-glycan formation and auxin-mediated root development in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant J*. **2014**. Vol.78. No.4. P.632-645. DOI:10.1111/tpj.12497
- [13] A.D. Elbein. Inhibitors of the biosynthesis and processing of N-linked oligosaccharide chains. *Ann. Rev. Biochem.* **1987**. Vol.56. P.497-534. DOI: 10.1146/annurev.bi.56.070187.002433

- [14] M.E. McCormack, X. Liu, M.R. Jordan, K.M. Pajeroska-Mukhtar. An improved high-throughput screening assay for tunicamycin sensitivity in Arabidopsis seedlings. *Front. Plant Sci.* **2015**. Vol.6. Art.663. DOI:10.3389/fpls.2015.00663
- [15] D.K. Struck, P.B. Siuta, M.D. Lane, W.J. Lennarz. Effect of tunicamycin on the secretion of serum proteins by primary cultures of rat and chick hepatocytes. Studies on transferrin, very low-density lipoprotein, and serum albumin. *J. Biol. Chem.* **1978**. Vol.253. P.5332-5337.
- [16] R. Reljic, S. Barbaric, B. Ries, R. Buxton, R.C. Hughes. Expression, glycosylation and secretion of yeast acid phosphatase in hamster BHK cells. *Glycoconjugate Journal.* **1992**. Vol.9. P.39-44. DOI: 10.1007/BF00731176
- [17] R.W. McLawhon, D. Cermak, J.C. Ellory, G. Dawson. Glycosylation-dependent regulation of opiate (enkephaline) receptors in neurotumor cells. *J Neurochem.* **1983**. Vol.41. No.5. P.1286-1296. DOI:10.1111/j.1471-4159.1983.tb00823.x.
- [18] E. Bik, N. Mielniczek, M. Jarosz, J. Denbigh, R. Budzynska, M. Baranska, K. Majzner. Tunicamycin induced endoplasmic reticulum changes in endothelial cells investigated *in vitro* by confocal Raman imaging. *Analyst.* **2019**. Vol.144. P.6561-6569. DOI: 10.1039/C9AN01456J
- [19] R. Ozgur, I. Turkan, B. Uzilday, A.H. Sekmen. Endoplasmic reticulum stress triggers ROS signalling, changes the redox state, and regulates the antioxidant defense of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany.* **2014**. Vol.65. No.5. P.1377-1390. DOI:10.1093/jxb/eru034

The Reference Object Identifier – ROI-jbc-01/20-64-11-121

The Digital Object Identifier – DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/20-64-11-121

The involvement of protein *N*-glycosylation in growth processes of *Linum usitatissimum* L.

© Irina A. Larskaya, Farit A. Abdrahimov, and Evgenia O. Fedina*⁺

Laboratory of Plant Glycobiology. Kazan Institute of Biochemistry – Subdivision of FRC KazanSC of RAS.
Lobachevsky St., 2/31. Kazan, 420111. Tatarstan Republic. Russia. Phone: +7 (843) 231-90-69.

E-mail: solo_nika@mail.ru

*Supervising author; ⁺Corresponding author

Keywords: *N*-glycosylation of proteins, *Linum usitatissimum* L., inhibitory analysis, tunicamycin, confocal microscopy, ER, plant growth.

Abstract

The effect of tunicamycin, the inhibitor of protein *N*-glycosylation, on the root and hypocotyl growth of flax seedlings (*Linum usitatissimum* L.) was studied. It is known that tunicamycin inhibits the first stage of the formation of the oligosaccharide precursor, which is necessary to initiate the synthesis of *N*-glycoproteins by inhibiting the activity of *N*-acetylglucosamine phosphotransferase. The blocking by tunicamycin (25 μ M) the early stages of *N*-glycoprotein formation induced growth inhibition in flax seedlings depending on the age of the plants. So one-day-old seedlings, tunicamycin significantly suppressed the growth of hypocotyls and main roots but the inhibitory effect of the antibiotic on the roots was more significant. The tunicamycin effect on the hypocotyl growth began to appear 60 h after using the inhibitor, while the roots completely stopped growth after 30 h. In two-day-old tunicamycin-treated seedlings, hypocotyl elongation proceeded at approximately the same rate as in untreated plants and suppression of root growth was manifested only for 60 h. The vital staining of ER (Endoplasmic Reticulum)-structures of control and tunicamycin-treated one-day-old flax seedlings by using of ER-TrackerTM Green dye revealed the growth inhibition was accompanied by the changes in the ER morphology. These results indicate the accumulation of misfolded proteins in the ER-lumen, due to an interruption in *N*-glycosylation of proteins. Thus, it is obvious that the process of *N*-glycosylation is necessary for the normal growth and development of flax seedlings, and the plant phenotype will be determined by a change in the status of *N*-glycosylation of specific glycoproteins.