

УДК 577.2:633.11

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ В ОБРАЗЦАХ КОЛЛЕКЦИИ ПШЕНИЧНО-ПЫРЕЙНЫХ ГИБРИДОВ\*

М.Г. ДИВАШУК<sup>1</sup>, П.Ю. КРУПНЫ<sup>1</sup>, М.С. БАЖЕНОВ<sup>3</sup>, М.В. КЛИМУШИНА<sup>1</sup>,  
В.И. БЕЛОВ<sup>2</sup>, Е.В. СЕМЕНОВА<sup>2</sup>, Г.И. КАРЛОВ<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> РГАУ-МСХА имени КА. Тимирязева,

<sup>2</sup> Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина РАН)

*Цель исследования состояла в изучении генов запасных белков пырейного происхождения у пшенично-пырейных гибридов (ППГ). В работе использовали семена 26 форм пшенично-пырейных гибридов, полученных из коллекции отдела отдаленной гибридизации Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН, созданных с участием пырея среднего и пырея понтийского. Анализ проводили с использованием следующих методов: полимеразная цепная реакция (ПЦР), SDS-PAGE электрофорез запасных белков, клонирование ПЦР-продукта, секвенирование, BLAST-анализ. С помощью ПЦР выявлено 23 образца ППГ, несущих гены высокомолекулярных глютен иное (ВМГ) пырейного происхождения. Методом белкового электрофореза показано, что минимуму 15 из 23 образцов эти гены экспрессируются. Это может быть связано как с «молчанием» генов, так и с тем, что экспрессирующиеся субъединицы ВМГ пырейного происхождения близки или идентичны по своему молекулярному весу к субъединицам ВМГ пшеницы, и при проведении одномерного электрофореза запасных белков их невозможно отличить друг от друга. У двух образцов ППГ (1670 и 197/2-1-2trs) гены высокомолекулярных глютеинов пырейного происхождения были клонированы и секвенированы. В результате были получены две отличающиеся нуклеотидные последовательности размером 1152 п.н. у образца 1670 и 1352 п.н. у образца 197/2-1-2trs. BLAST-анализ полученных сиквенсов показал родство к генам ВМГ *Th. intermedium* и *Th. elongatum*. Ген, выявленный у образца 1670, дает наибольшую гомологию и кластеризуется с геном ВМГ *Th. intermedium*, а ген, выявленный у 197/2-1-2trs, с геном, принадлежащим *Lophopyrum elongatum* (синоним *Th. elongatum*). Выявленные формы интересны как объект для изучения влияния пырейных ВМГ на клейковину, состав запасных белков и качество хлеба.*

*Ключевые слова: пшенично-пырейные гибриды, высокомолекулярные глютеины, секвенирование, ПЦР, электрофорез белков.*

Генетическая эрозия пшеницы требует привлечения новых генетических ресурсов с помощью отдаленной гибридизации. Отдельные виды пырея с различной геномной конституцией — пырей средний (*Thinopyrum intermedium*, 2n=42, JSJS),

---

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках выполнения ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» ГК № 16.552.11.7032 от 29 апреля 2011 г. на оборудовании ЦКП «ВНИИСБ».

пырей удлиненный (*Th. elongatum*,  $2n=14$ , J), пырей понтийский (*Th. ponticum*,  $2n=70$ , JJJ<sup>SJ</sup>) — являются донорами хозяйственно ценных признаков и относительно хорошо скрещиваются с пшеницей, что позволило создать пшенично-пырейные гибриды [4]. В ходе селекции были созданы ценные формы промежуточных пшенично-пырейных гибридов, включающие в свою родословную несколько видов пырея, которые отличаются многолетним образом жизни, устойчивостью к болезням и вредителям, устойчивостью к засолению и морозостойкостью. Они могут использоваться как самостоятельный объект экологически устойчивых агросистем, так и в качестве эффективного селекционного мостика для передачи полезных генов пырея в геном пшеницы [7].

Созданные в России ППГ отличаются большим биоразнообразием и подробно охарактеризованы с точки зрения морфологии, биологии развития, агротехники, а ряд наиболее перспективных образцов — с цитогенетической и молекулярно-генетической точек зрения [1-3].

Одним из недостатков ППГ как самостоятельной культуры являются низкие хлебопекарные качества. Существенным фактором, влияющим на качество хлеба, являются глюteniны. Глюteniны состоят из высокомолекулярных и низкомолекулярных (НМГ) субъединиц. Эти глютениновые субъединицы полимеризуются межмолекулярными дисульфидными связями, которые играют главную роль в реологических свойствах теста пшеницы (упругость, растяжимость, эластичность, энергия теста, время его развития, стабилизации и начала разжижения).

В геноме ППГ одновременно могут находиться ВМГ как пшеницы, так и пырея. При этом влияние генов ВМГ различных видов пырея на качество может быть как положительным, так и отрицательным.

Большинство ВМГ, которые удалось обнаружить у отдаленных сородичей пшеницы по размеру меньше, чем таковые у самой пшеницы [8, 9], а соответственно теоретически они могут оказывать не только положительное, но и отрицательное влияние на хлебопекарные качества. Поэтому прямая интрогрессия без предварительной оценки влияния на качества является нецелесообразной. Несколько ортологов ВМГ с новой структурной характеристикой были идентифицированные у видов *Aegilops*, *Secctle*, *Hordeum* и *Pseudoroegneria* [5, 10, 11, 15, 14]. Однако до настоящего времени всего лишь несколько работ было посвящено изучению аллельного состава ВМГ у многолетних сородичей пшеницы [13].

Наиболее оптимальным подходом для оценки и последующего переноса уникальных для пшеницы аллелей ВМГ от ее дикорастущих сородичей являются ППГ. При использовании данных гибридов мы можем оценить влияние того или иного уникального для пшеницы аллеля ВМГ на хлебопекарные качества, что в случае выявления данного аллеля непосредственно у пырея сделать невозможно. Поддерживать и сохранять выявленный аллель в форме пшенично-пырейных гибридов намного проще, чем отслеживать его в популяциях пырея. Кроме того, ППГ сами являются мостиком для переноса ценных генов непосредственно в геном пшеницы.

Образцы изучаемой нами коллекции ППГ значительно отличаются друг от друга по хлебопекарным качествам. Выявление и изучение генов ВМГ у пырея и ППГ позволит понять взаимодействие генов пшеницы и пырея между собой, а также влияние их на качество хлеба.

Целью нашей работы было выявление уникальных компонентов и анализ запасных белков в образцах коллекции пшенично-пырейных гибридов.

## Методика

В работе использовали следующий растительный материал: семена 26 форм пшенично-пырейных гибридов, полученных из коллекции отдела отдаленной гибридизации Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН: Останкинская, Зернокормовая 169, Истра 1, Отрастающая 38, 67trs, 98trs, 116trs, 197/2-1-2trs, 207/2trs, 21 ltrs, 1405, 548, 12, 4082, 4015, 116, 1670, 237, 90, 33, 1689, 77, 1416, 2087, 5542, 4056. В качестве контролей использовали семена сортов Московская 39, Мироновская 808, Безостая 1, Chinese spring, Новосибирская 67, Лютеценс 62.

Запасные белки выделяли из индивидуальных семян. Зерновку измельчали и затем инкубировали в SDS-Tris-HCl буфере, содержащем 0,125 М Трис, 2,75% SDS, 10% глицерина, 1 % ДТТ и 0,005% бромфеноловош синего в течение 1 ч при 70 °С, центрифугировали 10 мин и отбирали экстракт для электрофореза в объеме 20  $\mu$ л [12].

Методом электрофореза SDS-PAGE белки разделяли в 12,5% полиакриламидном геле. Электрофорез проводили в буфере, содержащем 0,25 мМ Трис, 19,2 мМ глицин, 0,1 % додецилсульфат натрия в следующем режиме: 15 тА 60 мин.; 30 тА 4 ч. Окрашивали смесью Coomassie Brilliant Blue G-250 и R-250 [17].

ДНК выделяли из проростков по методу Bematzky и Tanksley, 1986 [6].

Для идентификации и последующего клонирования высокомолекулярных глютеинов использовали праймеры P1 и P2 [16].

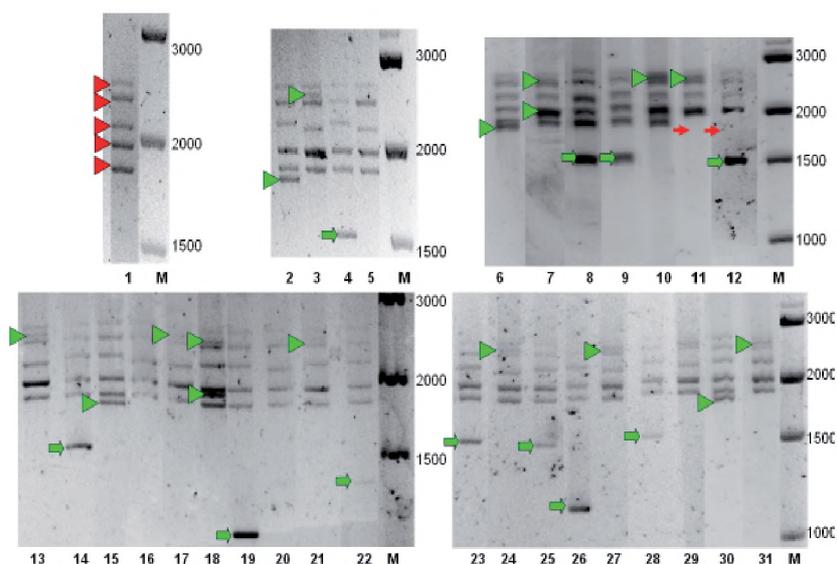
Полимеразную цепную реакцию проводили на Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler (Bio-Rad, США) при условиях рекомендуемых авторами праймеров; 25  $\mu$ л реакционной смеси содержали: IX Taq полимеразный буфер (Силекс, Москва), 1,0 U Taq ДНК полимеразы (Силекс, Москва), 200  $\mu$ М каждого dNTP (Promega), 0,2  $\mu$ М каждого праймера и 100-150 нг ДНК матрицы. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2%-м агарозном геле в трис-боратном буферном растворе (ТБЕ). В качестве маркера размеров использовали «100 bp Ladder» («Fermentas», Литва). Лигирование амплифицированной ДНК осуществляли в pGEM®-T Easy Vectors. Секвенирование осуществлялось с праймеров M13 на секвенаторе ABI-3130XL.

## Результаты и их обсуждения

Для характеристики генов высокомолекулярных глютеинов у пшенично-пырейных гибридов нами использовались праймеры P1 и P2, разработанные на основе нуклеотидной последовательности консервативных регионов на 5' и 3' концах открытых рамок считывания секвенированных последовательностей генов, кодирующих высокомолекулярные глютеины пшеницы [16]. Нами была проведена ПЦР с этими праймерами на ДНК образцов пшенично-пырейных гибридов, мягкой пшеницы, пырея понтийского, пырея удлинённого и пырея среднего. В результате анализа всех вышеуказанных образцов можно выделить два типа фрагментов по их размеру: в диапазоне 1800-3000 п.н. (рис. 1, обозначены зелеными треугольными стрелками) и менее 1800 п.н. (рис. 1, обозначены зелеными стрелками).

У образцов пыреев амплифицировались ДНК-фрагменты обоих типов. У сортов мягкой пшеницы амплифицировались пять бэндов размером от 1800 до 3000 п.н. (см. рис. 1, дорожка 1, обозначены красными треугольными стрелками). Эти пять бэндов амплифицировались и у всех анализируемых ИНГ.

У ППГ кроме фрагментов пшеничного типа наблюдалась амплификация дополнительных бэндов (см. рис. 1, табл. 1).



**Рис. 1.** Электрофореграммы продуктов амплификации с праймеров P1 и P2. Дорожки: 1 — мягкая пшеница Лютеценс 62, 2 — Останкинская, 3 — Зернокормовая 169, 4 — Истра 1, 5 — Отрастающая 38, 6 — 67trs, 7 — 98trs, 8 — 116trs, 9 — 197/2-1-2trs, 10, 11 — 207/2trs, 12 — 211trs, 13 — 1405, 14 — 548, 15-12, 16 — 4082, 17 — 4015, 18 — 116, 19-1670, 20—237, 21—90, 22—33, 23—1689, 24, 25—77, 26, 27—1416, 28, 29—2087, 30 — 5542, 31 — 4056, М — маркер размеров. Обозначение бэндов стрелками см. в тексте

Таблица 1

**Амплификация дополнительных пырейных бэндов у образцов ППГ при ПЦР с праймерами P1 и P2**

Размер пырейного бэнда, п.н.	1800-3000					Менее 1800 п.н.		
	2700	2500	1800	2700+2000	2500+2000	1500	1300	1100
Образец ППГ	Зернокормовая 169*, 207/2trs*, 1405*, 4015*, 77, 1416*, 4056	90*	Останкинская*, 67trs*, 12*, 5542*	98trs*	116*	Истра 1, 116trs*, 197/2-1-2trs*, 211trs, 548, 77, 2087, 4056	33	1670*, 1689, 1416

\* линии, показавшие наличие дополнительных компонентов на электрофорезе запасных белков (SDS-PAGE).

У образцов Останкинская, Зернокормовая 169, 67trs, 98trs, 207/2trs, 1405, 12, 4015, 116, 90, 77, 1416, 5542, 4056 размер этих фрагментов находился в диапазоне от 1800 до 3000 п.н. (рис. 1, обозначены зелеными треугольными стрелками). Образцы ППГ Зернокормовая 169, 207/2trs, 1405, 4015, 77, 1416 и 4056 имели дополнитель-

ный бэнд размером около 2700 п.н., при этом линии 77 и 1416 были полиморфны по наличию/отсутствию данного бэнда (см. рис. 1, дорожки 24-27). Линия 90 имела дополнительный бэнд размером около 2500 п.н. Образцы Останкинская, 67trs, 12 и 5542 несли дополнительный бэнд размером около 1800 п.н. Линии 98trs и 116 несли по два дополнительных бэнда: линия 98trs — в районе 2700 п.н. и 2000 п.н., 116 — в районе 2500 п.н. и 2000 п.н.

У образцов Истра 1, 116trs, 197/2-1-2trs, 21 ltrs, 548, 1670, 33, 1689, 77, 1416, 2087 были выявлены фрагменты меньше 1800 п.н. (рис. 1, обозначены зелеными стрелками). Бэнды размером приблизительно 1500 п.н. амплифицировались у Истры 1, 116trs, 197/2-1-2trs, 21 ltrs, 548, 77, 2087, 4056. При этом линии 77 и 2087 были полиморфны по наличию/отсутствию данного бэнда. У линии 33 был обнаружен дополнительный бэнд размером приблизительно 1300 п.н. У образцов ППГ 1670, 1689 и 1416 дополнительные бэнды имели размер около 1100 п.н. Таким образом, линии 77, 1416 несут бэнды двух типов: больше и меньше 1800 п.н.

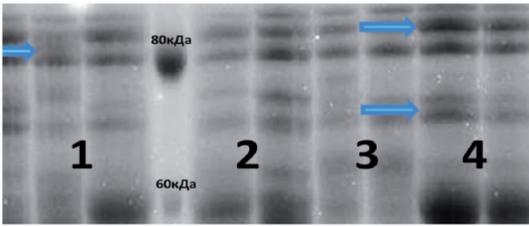
Описанные нами дополнительные фрагменты, амплифицируемые на ППГ, не характерны для пшеницы и, вероятно, амплифицируются с последовательностей ДНК пырея.

У линий 21 ltrs и 207/2trs отсутствовал бэнд пшеничного типа размером 2000 п.н. (см. рис. 1, дорожки 11, 12, обозначен красной стрелкой). Это может быть связано либо с делецией по данному локусу, либо с отсутствием соответствующей хромосомы пшеницы.

Таким образом, нами проанализировано 26 образцов ППГ, из которых у 23 выявлены фрагменты амплификации ДНК, характерные для генов высокомолекулярных глютеинов пырейного происхождения. При этом наблюдался полиморфизм по размеру амплифицируемых фрагментов между изучаемыми линиями.

Гексаплоидная пшеница может содержать 6 различных высокомолекулярных субъединиц глютеина, однако «молчание» генов приводит к образованию различных сочетаний субъединиц ВМГ — от 3 до 5 субъединиц у гексаплоидной мягкой пшеницы и от 1 до 3 — у твердой пшеницы. Следовательно, и выявленные нами гены ВМГ пырейного происхождения могут оказаться «молчащими» генами. Поэтому следующим этапом нашей работы был анализ коллекции пшенично-пырейных гибридов различных этапов селекции с помощью метода электрофореза запасных белков (SDS-PAGE). Примеры SDS-анализа высокомолекулярных глютеинов у ППГ представлены на рисунке 2. Выявление уникальных запасных белков пшеницы проводилось путем анализа полученных результатов с образцами контролей (сорта Chinese-spring, Мироновская 808, Новосибирская 67, Московская 39). Так как в родословных почти всех линий использовалось несколько различных видов пырея, то определить, к какому виду пырея принадлежит тот или иной компонент запасных белков, не представляется возможным. Произвести сопоставление размеров уникальных компонентов непосредственно с запасными белками пырея также затруднительно ввиду его чрезвычайно высокой полиморфности. В связи с этим выявленные компоненты, которые отличались от компонентов пшеницы, нами отмечались как дополнительные.

В результате проведенного SDS-PAGE анализа было выявлено, что образцы Останкинская, Зерноковская 169, 67trs, 98trs, 207/2trs, 1405, 12, 4015, 116, 90, 1416, 5542, у которых амплифицировались дополнительные бэнды в диапазоне от 1800 до 3000 п.н., также несут и компоненты субъединиц ВМГ, отличные по размеру от субъединиц ВМГ, свойственных пшенице. Среди образцов, показывавших амплификацию дополнительных бэндов с примерами на гены ВМГ меньше 1800 п.н., только



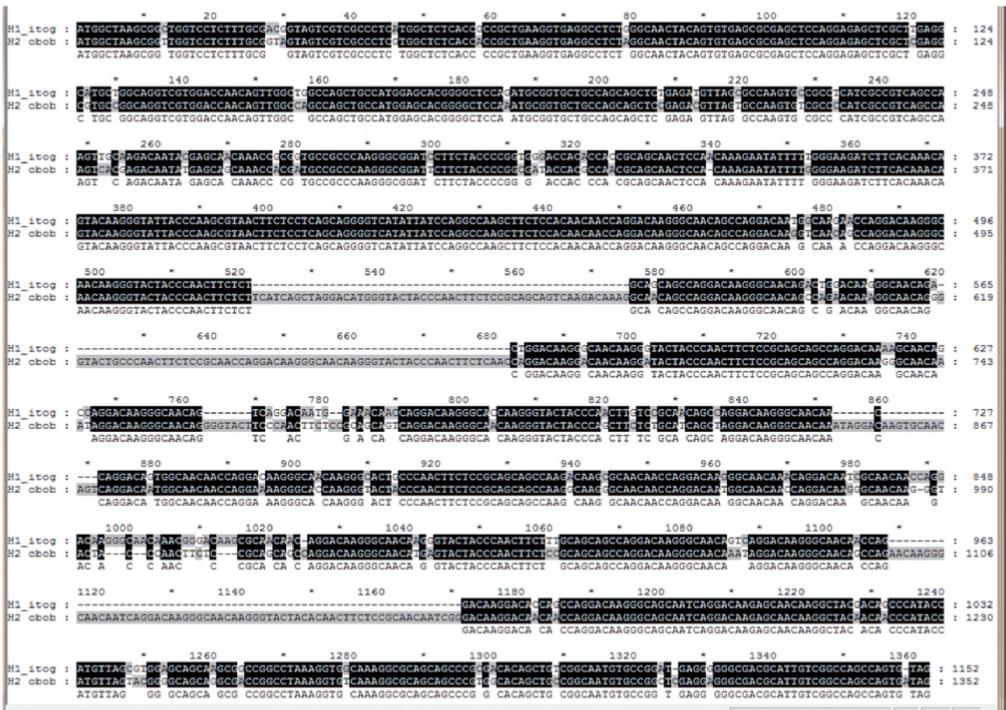
**Рис. 2.** Одномерный электрофорез запасных белков пшенично-пырейных гибридов. Стрелками обозначены уникальные для генома мягкой пшеницы запасные белки. 1 — Останкинская; 2 — Истра 1; 3 — Отрастающая 38; 4 — Зерно-кормовая 169

у 116trs, 197/2-1 -2trs, 1670 были выявлены компоненты запасных белков, отличные от пшеничных.

У образцов 4056, Истра 1, 21 ltrs, 548, 33,1689,77,1416,2087 обнаружить дополнительные компоненты ВМГ не удалось. Это может быть связано как с «молчанием» генов, так и с тем, что экспрессирующиеся субъединицы ВМГ пырейного происхождения близки или идентичны по своей молекулярной массе к субъединицам ВМГ пшеницы, и при проведении одномерного электрофореза запасных белков их невозможно отличить друг от друга.

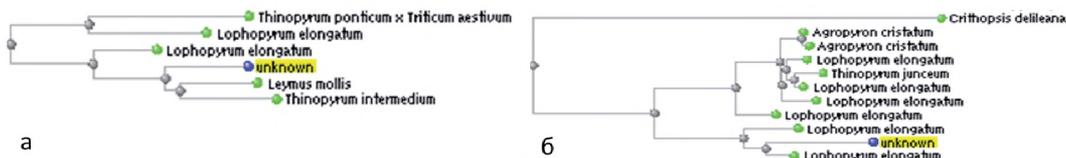
Для изучения выявленных нами генов и подтверждения полученных нами результатов (о принадлежности дополнительных амплифицируемых бэндов к генам ВМГ пырейного происхождения) нами были клонированы, трансформированы и секвенированы амплифицируемые с помощью пары праймеров P1/P2 дополнительные бэнды на образцах ППГ 1670 (размер около 1100 п.н.) и 197/2- 1-2trs (размер около 1500 п.н.).

В результате были получены две отличающиеся нуклеотидные последовательности: 1152 п.н. у образца 1670 и 1352 п.н. у образца 197/2-1-2trs (рис. 3).



**Рис. 3.** Выравнивание нуклеотидных последовательностей, полученных на образцах 1670 (верхняя) и 197/2-1 -2trs (нижняя)

Обе последовательности при BLAST-анализе показали высокую степень гомологии к генам высокомолекулярных глютеинов пырейного происхождения. Таким образом, эти данные полностью подтверждают, что дополнительно амплифицируемые с помощью праймеров P1 и P2 на ППГ бэнды относятся к генам ВМГ пырейного происхождения. Интересно отметить, что ген, выявленный у образца 1670, дает наибольшую гомологию и кластеризуется с геном ВМГ *Th. intermedium*, а ген, выявленный у 197/2-1-2trs, с геном, принадлежащим *Lophopyrum elongatum* (синоним *Th. elongatum*) (рис.4).



**Рис. 4.** Кластеризация (методом fast minimum evolution) генов ВМГ пырейного происхождения, выявленных у образцов 1670 (а) и 197/2-1-2trs (б) (изучаемые гены выделены желтым цветом)

Линии Останкинская, 12, 4015, 5542 по результатам многолетних испытаний в отдельные годы по ряду параметров (коэффициент седиментации, общая хлебопекарная оценка и прочие показатели) приближаются к стандарту (Московская 39). Эти формы считаются перспективными для селекции на качество (неопубликованные данные). Вместе с тем нами было показано наличие дополнительных фрагментов амплификации ДНК, характерных для генов высокомолекулярных глютеинов пырейного происхождения, и дополнительных компонентов запасных белков на одномерном электрофорезе. Следовательно, данные формы интересны как объект для изучения влияния пырейных ВМГ на клейковину, состав запасных белков и качество хлеба.

В ходе проведения исследований нами были выявлены уникальные компоненты запасных белков у следующих линий: Останкинская, Зернокармальная 169, 67trs, 98trs, 207/2trs, 1405, 12, 4015, 116, 90, 1416, 5542, 116trs, 197/2-1-2trs, 1670. При этом данные компоненты по своей абсолютной молекулярной массе были близки к высокомолекулярным глютеинам мягкой пшеницы, что повышает вероятность их благоприятного влияния на хлебопекарные качества пшеницы. С помощью праймеров, амплифицирующих целые гены высокомолекулярных глютеинов, нами проанализировано 26 образцов пшенично-пырейных гибридов, из которых у 23 выявлены фрагменты амплификации ДНК, характерные для генов высокомолекулярных глютеинов пырейного происхождения. При этом наблюдался полиморфизм по размеру амплифицируемых фрагментов между изучаемыми линиями. У двух образцов ППГ были клонированы и секвенированы гены высокомолекулярных глютеинов пырейного происхождения.

#### Библиографический список

1. Адаптация микросателлитных SSR-маркеров пшеницы для анализа геномов пырея среднего, пырея удлиненного и пшенично-пырейных гибридов / П.Ю. Крупин [и др.] // Известия ТСХА. 2011. № 3. С. 49-57.
2. Белов В.И., Иванова Л.П. Улучшение продуктивности октоплоидных промежуточных ППГ // Отдален, гибридизация. Результаты исследования / ред. В.И. Семёнов. М., 2001. С. 166-177.

3. Сравнительная молекулярно-цитогенетическая характеристика промежуточных пшенично-пырейных гибридов / П.Ю. Крупин [и др.] // Генетика. 2011. Т. 47. № 4. С. 492-498.
4. Цицин Н.В. Многолетняя пшеница. М.: Наука, 1978. 288 с.
5. Analysis of HMW glutenin subunits and their coding sequences in two diploid *AegHops* species / Z. Liu [et al.] // Theor. Appl. Genet. 2003. Vol. 106. № 8. P. 1368-1378.
6. Bernatzky R., Tanksley S.D. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random c DNA sequences // Genetics. 1986. Vol. 112. № 4. P. 887 -898.
7. Characterization of a partial *wlieat-Thinopyrum intermedium* amphiploid and its reaction to fungal diseases of wheat / Z.-J. Chang [et al.] // Hereditas. 2010. Vol. 147. № 6. P. 304-312.
8. Characterization of high-molecular-weight glutenin subunit genes from *Elvtrigia elongata* / J.R. Wang [et al.] // Plant Breeding. 2006. Vol. 125. № 1. P. 89-95.
9. Characterization of HMW prolamines and their coding sequences from *Crithopsis delilecma* / Z.-F. Guo [et al.] // Hereditas. 2005. Vol. 142. № 2005. P. 56-64.
10. Characterization of the HMW glutenin subunits from *iegilops sear si i* and identification of a novel variant HMW glutenin subunit / X. Sun [et al.] // Theor. Appl. Genet. 2006. Vol. 113. №4. P. 631-641.
11. De Bustos A., Jouve N. Characterisation and analysis of new HMW-glutenin alleles encoded by the Glu-R1 locus of *Secale cereale II* Theor. Appl. Genet. 2003. Vol. 107. № 1. P. 74-83.
12. Dekova T. The Gluten-a big natural biopolymer genetic determination and function // Biotechnology and Biotechnological Equipment. Supplement General and Applied Genetics. 2005. Vol. 19. P. 11-18.
13. Liu S., Gao X., Xia G. Characterizing HMW-GS alleles of dccaploid *Agropyron elongation* in relation to evolution and wheat breeding // Theor. Appl. Genet. 2008. Vol. 116. № 3. P. 325-334.
14. Pistón F., Shewry PR., Barro F. D hordeins of *Hordeum chilense*: a novel source of variation for improvement of wheat // Theor. Appl. Genet. 2007. Vol. 115. № 1. P. 77-86.
15. Structural organization of the barley D-hordein locus in comparison with its orthologous regions of wheat genomes / Y.Q. Gu [et al.] // Genome. 2003. Vol. 46. № 6. P. 1084-1097.
16. Structural variation and evolutionary relationship of novel HMW glutenin subunits from *Elymusglaucus* / Q.-T. Jiang [et al.] // Hereditas. 2010. Vol. 147. № 3. P. 136-141.
17. Wheat Applied Genomics — Gluten strength [Online]. URL: <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/gluten/index.htm> (accessed: 12.09.2012).

Рецензент — д. б. н. А.А. Соловьев

## MOLECULAR-GENETIC CHARACTERIZATION OF SEED STORAGE PROTEIN COMPOSITION IN PARTIAL WHEAT-WHEATGRASS HYBRIDS

M.G. DIVASHUK, P.YU. KRUPIN, M.S. BAZHENOV, M.V. KLIMUSHINA,  
V.I. BELOV, E.V. SEMYONOVA, G.I. KARLOV

(RTSAU named after K.A. Timiryazev, Moscow, main botanical garden named  
after N.V. Tsitsin, Russian Academy of Sciences)

*The aim of the paper is to study the genes of wheatgrass storage proteins in wheat-wheatgrass hybrids. The study was carried out using seeds of 26 lines of wheat-wheatgrass hybrids developed in the Department of Distance Hybridization of Tsitsin Main Botanical (Russian Academy of Sciences) using medium and ponticum wheatgrass. The analysis was performed using polymerase chain reaction (PCR), SDS-PAGE storage protein electrophoresis, PCR-product cloning, sequencing, and BLAST-analysis. 23 wheat-wheatgrass hybrids with the genes of wheatgrass high-molecular*

(HAIW) glutenins have been detected. The expression of these genes at least in 15 of 23 lines has been shown using protein electrophoresis. It can result from either the "silence" of the genes or the similarity or identity of the expressed wheat and wheatgrass protein subunits in molecular weight, so, they cannot be distinguished with one-dimensional electrophoresis. Wheatgrass storage protein genes of two wheat-wheatgrass lines (1670 and 197/2-l-2trs) were cloned and sequenced. As a result, two different nucleic sequences have been described: 1152 b.p. for 1670 and 1352 b.p. for 197/2-l-2trs. BLAST-analysis of the sequences showed the relation of them to HAIW glutenin genes of *Th. intermedium* and *Th. elongatum*. The gene revealed in 1670 is clustered with the HMW glutenin gene of *Th. intermedium*, and that of 197/2-l-2trs with *Lophopyrum elongatum* (syn. *Th. elongatum*). The found lines are interesting as an object to study the influence of wheatgrass HAIW glutenins on gluten, storage proteins compound and bread-making quality.

*Key words: partial wheat-wheatgrass hybrids, high molecular weight glutenins, sequencing, PCR, protein electrophoresis.*

**Дивашук Михаил Георгиевич** — к.б.н., с.н.с. Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49. Тел.: (499) 977-72-01; e-mail: divashuk@gmail.com).

**Крупин Павел Юрьевич** — к.б.н., м.н.с. Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 977-72-01; e-mail: pavel-krupin@yandex.ru.

**Карлов Геннадий Ильич** — д.б.н., руководитель Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 977-72-01; e-mail: karlov@timacad.ru.

**Климушина Марина Вячеславовна** — аспирант Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 977-72-01; e-mail: mklimushina@gmail.com.

**Баженов Михаил Сергеевич** — аспирант кафедры селекции и семеноводства полевых культур РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 977-12-72; e-mail: mikhbaj@yandex.ru.

**Белов Виталий Иванович** — к.с.-х.н., с.н.с. Отдела отдаленной гибридизации. Учреждение Российской академии наук Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН. (127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 31. Тел.: 8 (496) 315-91-17; e-mail: nex\_snegiri99@mail.ru).

**Семенова Елена Васильевна** — к.с.-х.н., с.н.с. Отдела отдаленной гибридизации. Учреждение Российской академии наук Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН. Тел.: 8 (496) 315-91-17; e-mail: nex\_snegiri99@mail.ru.