

УДК 004.65

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ПОРТАЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ» – ИНТЕРНЕТ-РЕСУРС ДЛЯ ПОДДЕРЖКИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ В ОБЛАСТИ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ РАСТЕНИЙ, ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ

© 2012 г. **А.В. Кочетов, О.Г. Смирнова, С.М. Ибрагимова, Д.А. Рассказов,
Д.А. Афонников, М.А. Генаев, А.В. Дорошков, Т.А. Пшеничникова,
А.В. Симонов, Е.В. Морозова**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: ak@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 15 июля 2012 г. Принята к публикации 31 августа 2012 г.

Разработан Интернет-портал для информационной поддержки проведения НИР в области биотехнологии растений, содержащий специализированные модули (базы данных – БД) и программные компоненты), включая БД внешних информационных ресурсов, БД промоторов для трансгенеза растений, БД трансляционных энхансеров для трансгенеза растений, БД WheatPGE для поддержки экспериментов в области генной инженерии растений и селекционно-генетических экспериментов на пшенице. Модульная структура позволяет использовать этот ресурс в качестве платформы, к которой могут добавляться новые информационные и программные компоненты. Интернет-ресурс доступен на сайте ИЦиГ СО РАН (<http://bioagrotech.bionet.nsc.ru/>).

Ключевые слова: информационный ресурс, база данных, промотор, трансляционный энхансер, генная инженерия, пшеница, фенотипирование, селекция.

ВВЕДЕНИЕ

Биотехнология относится к приоритетным направлениям развития современной науки. В РФ для координации НИОКР в этой области была образована технологическая платформа (ТП) «Биоиндустрия и биоресурсы – Био-Тех2030», которая является формой реализации института частно-государственного партнерства и инструментом осуществления научно-технической и инновационной политики в области биотехнологий (<http://www.biotech2030.ru/>). В сферу компетенции ТП входит широкий круг задач, связанных с биоэнергетикой, источниками возобновляемого сырья, разработкой технологий биопroduкции новых материалов, биокализа, агробиотехнологий и т. д. Для решения этих задач должны применяться современные методы общей и молекулярной биологии, генетики, генной, хромосомной и клеточной инженерии. Эффективное проведение НИР и

ОКР на современном уровне в настолько широком спектре задач невозможно без адекватного информационного обеспечения.

Анализ подходов к информационной поддержке НИОКР в генной инженерии растений, селекционной генетике и биотехнологии

Генная инженерия растений используется для получения генетически модифицированных организмов (ГМО), обладающих новыми промышленно ценными свойствами. Генетические модификации позволяют получать штаммы бактерий и грибов – продуцентов ферментов, аминокислот, биологически активных веществ; также широко используются трансгенные растения. С помощью ГМО развиваются методы получения биотоплива (Ageitos *et al.*, 2011; Wiley *et al.*, 2011), разрабатываются технологии оптимизации трансгенеза (Abdeev *et al.*, 2009)

и наработки биопрепаратов в трансгенных растений (molecular pharming) (Komarova *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2011), наработки вторичных метаболитов оптимизированными культурами тканей (Bulgakov *et al.*, 2011).

В агробиологии увеличение стрессоустойчивости и устойчивости растений к фитопатогенам и, как считают, использование методов системной биологии может привести к быстрому прогрессу (Pritchard, Birch, 2011). Получение стрессоустойчивых растений за счет комбинации классической селекции и генной инженерии (molecular breeding) позволит расширить площади их выращивания и решить продовольственную проблему (Varshney *et al.*, 2011). Обсуждаются перспективы использования ГМ растений в сельском хозяйстве – рассматривается возможность 40–80 % увеличения продуктивности при их использовании (Skryabin, 2010).

Одним из перспективных подходов, лежащих в основе получения новых сортов в генетике и селекции растений, считается картирование локусов, отвечающих за хозяйственно ценные признаки (Kumar *et al.*, 2010). Современный селекционно-генетический эксперимент использует данные о тысячах и десятках тысяч растений (Ajajawi *et al.*, 2010; Brachi *et al.*, 2010). Очевидно, что для выборок такого размера традиционные способы определения большинства фенотипических характеристик малоэффективны. Для повышения эффективности решения указанных выше задач в последнее время в мире все более интенсивно используются информационные и телекоммуникационные технологии.

Подход для поддержки генетических коллекций, основанный на информационной поддержке селекционно-генетических экспериментов у растений, предложен в базе данных Germinate (Lee *et al.*, 2005). Интересным проектом является база данных Sol Genomic Network (<http://solgenomics.net/>), которая содержит информацию о фенотипе, генотипе, полногеномных данных и генных и метаболических сетях для растений семейства пасленовых. Эта база данных позволяет производить поиск фенотипа, результатов анализа количественных признаков (QTL), списка маркеров, генов, метаболических сетей. Она тесно интегрирована с геномными данными.

Следует отметить, что большинство этих систем используют поддержку хранения информации о фенотипе в виде изображений. Кроме того, методы анализа изображений используются при анализе фенотипа растения все более интенсивно (Eberius, Lima-Guerra, 2009). Наиболее перспективный подход – создание систем для поддержки лабораторных экспериментов. Высокопроизводительное фенотипирование, эффективный сбор, хранение большого объема данных, их интеграция с геномными данными позволили создать прорывную технологию анализа взаимосвязи между генотипом и фенотипом у *Arabidopsis thaliana* (Lu *et al.*, 2008). Однако данная система не позволяет учитывать влияние окружающей среды на развитие фенотипа растения. Другим интересным проектом является система PHENOME для сбора, хранения и анализа данных о фенотипе у томата (Vankadavath, 2009).

Одним из подходов, позволяющих существенно ускорить фенотипирование, является использование анализа цифровых изображений. Например, они были успешно применены для оценки биомассы растения (Hartmann *et al.*, 2011; Golzarian *et al.*, 2011), анализа морфологии и развития корня у риса (Iyer-Pascuzzi *et al.*, 2010), анализа морфологии опушения листа (Kaminuma *et al.*, 2008).

Использование мобильных устройств позволяет существенно повысить эффективность решения задач в области селекционно-генетических экспериментов, особенно для полевых наблюдений. Например, в информационной системе PHENOME (Vankadavath, 2009) для сбора информации о признаках растений используются карманные компьютеры (PDA). Это позволяет собирать большое количество данных в полевых условиях (результаты измерений анатомических признаков растений, их плодов, устойчивости к заболеваниям). Затем эта информация заносится в центральную базу данных.

В мире активно развивается специализированная информационная поддержка биотехнологических исследований. Помимо специфических (узконаправленных) разработок, существуют научно-исследовательские институты (государственные и частные), оказывающие услуги по информационной поддержке и

проработке проектов (Biotechnology Information Institute, <http://www.bioinfo.com/>; Information System for Biotechnology, <http://www.isb.vt.edu/> (правительство США); Bioinformatics Information System Network, <http://www.btisnet.gov.in/index.asp> (правительство Индии); ArgosBiotech, <http://www.argosbiotech.de/> – компания, обеспечивающая информационный портал и маркетинг для бизнеса и научного сообщества в области биотехнологий.

Однако специализированные ресурсы для поддержки биотехнологических экспериментов в открытом доступе отсутствуют. В качестве примера можно рассмотреть планирование НИР с применением методов геной инженерии растений. Получение технологически эффективных ГМО требует грамотного планирования, которое может включать следующие этапы (рассматривается ситуация создания биопродукта технологически значимого белка или вторичного метаболита):

Выбор организма для создания биопродукта. Выбор организма в ряде случаев задан изначально, если речь идет о специфическом вторичном метаболите, характерном для определенного организма. Однако в некоторых случаях требуется создание продуцента белка (фермента или фармакологического препарата), для чего могут быть использованы различные подходы. Разные биопродуценты имеют свои преимущества и недостатки, среди которых следует выделить степень близости продукта к природному варианту (для белков важны посттрансляционные модификации), отсутствие токсичных примесей, сложность выделения и очистки, количественные характеристики синтеза и себестоимость продукции. Например, белки человека можно производить с помощью культур соответствующих клеток, и полученный продукт будет практически идентичен натуральному. Однако стоимость такой продукции будет высокой вследствие требований к стерильности, отсутствию в культуре вирусов или прионов, а также из-за низкого выхода. С другой стороны, культуры микроорганизмов могут давать высокий уровень биопroduкции, однако полученный белок может характеризоваться конформацией, отличной от природного варианта, в частности, это касается посттрансляционных модификаций. Выбор организма-биопродукта в дан-

ном случае зависит от экспертной оценки его особенностей, определяющих преимущества и недостатки в рамках решения конкретной технологической задачи.

Выбор генов-мишеней. При создании ГМО глубина собственно модификаций может варьировать и зависит от поставленной задачи. Существующие технологии позволяют как усиливать экспрессию определенного белка (за счет внесения трансгена в геном), так и снижать или выключать экспрессию (например, с помощью использования нокаутных штаммов, генетического сайленсинга или РНК-интерференции). Процесс выбора прост в тех случаях, когда он задан изначально и планируется получение ГМО, которые несут один трансген, например, при биопroduкции фармакологически значимого (чужеродного) белка или применяемого в биотехнологическом производстве фермента. Однако может ставиться более сложная задача получения вторичного метаболита либо ГМО должен характеризоваться дополнительными параметрами (например присутствием дополнительных специфических белков, участвующих в процессинге основного продукта). В качестве примера можно привести разработки, в которых для повышения выхода определенного метаболита у ГМО выключают метаболические цепи, конкурирующие за субстрат или интермедиаты. В этих случаях необходимы моделирование биохимических контуров и расчет параметров, обеспечивающих оптимальный уровень синтеза.

Выбор векторной системы. Выбор векторной системы обычно определяется спецификой поставленной технологической задачи и организмом-реципиентом генетической конструкции, с помощью которого будет реализовываться проект. Этот выбор весьма разнообразен (вирусные векторы, плазмиды разных типов, интегрирующиеся в геном конструкты и т. п.).

Дизайн генетической конструкции. Этот этап включает выбор адекватного промотора, при необходимости – подбор энхансера трансляции и поли(А)-сигнала, оптимизацию кодонного состава. Также необходимо удостовериться в отсутствии ложных сигналов экспрессии: поскольку ДНК трансгена часто относится к организму другой таксономической принадлежности, она характеризуется нуклеотидным составом, отличным от геномной ДНК организ-

ма-хозяина (например, ДНК млекопитающих обогащена G+C в сравнении с двудольными растениями). Это, в свою очередь, может привести к образованию комбинаций нуклеотидов, которые будут распознаваться в клетках организма-хозяина как сигналы экспрессии.

Выбор метода трансгенеза. В большинстве случаев метод трансгенеза определяется организмом, использованным для получения ГМО, и особенностями векторной системы. Однако в некоторых случаях существует выбор: так, трансгенные растения можно получать с помощью агробактериальной трансформации, бомбардировки частицами с сорбированной на них ДНК, трансфекции протопластов с помощью электропорации или ПЭГ и т. п. Каждый из методов имеет преимущества и недостатки: например, получение трансгенных растений с помощью агробактериальной трансформации позволяет получать ГМО с одной инсерцией чужеродной ДНК (это важно для предотвращения генетического сайленсинга), но обычно связано с необходимостью регенерации растений из каллусов (успех которой связан с особенностями генотипа и часто требует трудоемкого подбора условий для индукции морфогенеза). С другой стороны, бомбардировка микрочастицами с сорбированной на них ДНК (particle bombardment) часто позволяет регенерировать трансгенные растения с меньшими сложностями, но при этом в геном обычно встраивается большое число копий ДНК трансгена.

Выбор метода культивирования ГМО. Этот этап связан с особенностями как ГМО, так и технологического процесса. Например, трансгенные растения можно выращивать в теплице, но также можно и культивировать *in vitro* в виде культуры каллусов или корней (например, при трансгенезе с помощью *Agrobacterium rhizogenes*).

Выбор системы очистки продукта. Этот этап практически полностью определяется особенностями собственно продукта.

Таким образом, как можно видеть, процедура планирования НИР представляет собой сложный процесс, требующий работы с большим объемом постоянно обновляющихся литературных данных. Эффективность такой работы может быть существенно увеличена при наличии соответствующих информационных ресурсов

(экспертных систем). В открытом доступе нет ресурсов, позволяющих решать такие задачи в комплексе.

В статье представлен информационный ресурс, содержащий специализированные модули для решения следующих задач:

- дизайн генетической конструкции для получения трансгенных растений (выбор промотора и трансляционного энхансера);
 - сбор, хранение и анализ данных о фенотипических параметрах растений пшеницы в селекционного-генетическом эксперименте.
- Интернет-портал «Биотехнология растений» представляет собой информационный ресурс модульного типа, т. е. к этой платформе могут добавляться новые компоненты, предназначенные для решения других задач.

Структура информационного портала «Биотехнология растений»

Информационный портал «Биотехнология растений» (ИП БР) доступен по адресу <http://bioagrotech.bionet.nsc.ru/> и включает:

- 1) базу данных промоторов (БДП), содержащую 289 учетных записей;
- 2) базу данных трансляционных энхансеров (БДТЭ), содержащую 58 учетных записей;
- 3) базу внешних информационных ресурсов (БВИР), содержащую 15 записей;
- 4) базу данных WheatPGE (БWPGE), содержащую 30 информационных полей для описания фенотипических признаков растения пшеницы и 5 информационных полей для описания мест произрастания растений пшеницы;
- 5) модуль интерфейса внешнего уровня (МИВУ), обеспечивающий через Интернет доступ к информационным ресурсам портала и внешних Web-источников, навигацию по ИП БР;
- 6) модуль интерфейса для базы данных промоторов (МИБДП), обеспечивающий взаимодействие пользователя с БДП;
- 7) модуль интерфейса для базы данных трансляционных энхансеров (МИБТЭ), обеспечивающий взаимодействие пользователя с БДТЭ;
- 8) модуль интерфейса для базы внешних информационных ресурсов (МИБВИР), обеспечивающий взаимодействие пользователя с БВИР;

9) модуль интерфейса для базы WheatPGE (МИБWPGE), обеспечивающий взаимодействие пользователя с BWPGE.

Модуль интерфейса верхнего уровня (МИВУ) приведен на рис. 1. Он обеспечивает доступ к БД внешних информационных ресурсов, к специализированным БД промоторов и трансляционных энхансеров для экспериментов с трансгенными растениями, а также для информационной поддержки селекционно-генетических экспериментов на пшенице.

Базы данных БДВИР, БДП и БДТЭ разработаны на платформе Sequence Retrieval Systems 6.1, которая развернута на сервере баз данных под управлением Red Hat Enterprise Linux 5.7.

Информационно-поисковая система SRS позволяет осуществлять автоматическую индексацию поисковых полей, что дает возможность пользователю применять различные комбинации запросов для гибкого поиска.

База данных БВИР предоставляет возможность для поиска внешнего информационного ресурса, который может быть использован для решения конкретной задачи, стоящей перед пользователем. Формат этой неспециализированной БД максимально прост: одна таблица включает четыре поля (идентификатор, адрес, комментарий и ключевые слова). Поиск по

ключевым словам позволяет отобрать потенциально подходящие варианты ресурсов, после чего дополнительная информация может быть получена из комментария, поле «address» содержит ссылку непосредственно на описываемый ресурс. Пример поиска по полю «ключевые слова» (запрос «вектор») приведен на рис. 2.

На рис. 3 в качестве примера показан скриншот результатов выполнения этого запроса к базе данных БВИР – результат поиска по данному запросу.

База данных промоторов (БДП), детально описанная в работах Смирновой с соавт. (Smirnova *et al.*, 2012; Смирнова и др., 2012a), содержит три типа взаимосвязанных таблиц: описание гена, промоторных участков, нуклеотидных последовательностей промоторов. Особенность этой БД заключается в том, что в ней содержится информация о транскрипционной активности делеционных вариантов промоторов, определенная в экспериментах с трансгенными растениями. Такие эксперименты используются для выявления структуры промоторов генов растений и их транскрипционного контроля. БДП позволяет применить эти данные для планирования опытов в области биотехнологии и генной инженерии растений. Текущий выпуск базы содержит информацию

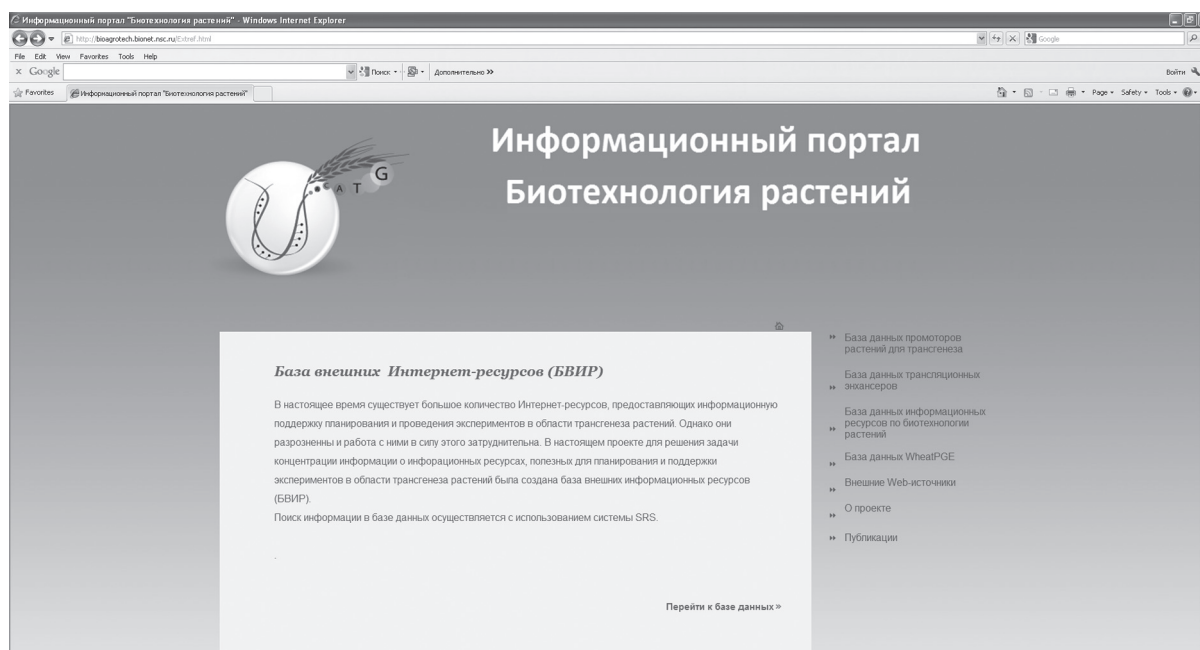


Рис. 1. Модуль интерфейса верхнего уровня (МИВУ) информационного портала «Биотехнология растений». Страница доступа к БВИР.

Рис. 2. Страница формы для составления запроса к БВИР (типовая форма системы SRS). В качестве примера использован поисковый запрос «вектор».

Рис. 3. Страница вывода результата поиска в БВИР: пример записи БВИР, в ключевых словах которой содержится слово «вектор». Приведены краткое описание (DESCRIPTION) и ссылка на информационный ресурс (ADDRESS).

о 289 промоторах, 289 нуклеотидных последовательностях и 158 генах. Представленные промоторы принадлежат 27 видам растений. Их активность описана более чем в 40 различных органах и тканях трансгенных растений. Список видов трансгенных растений, использованных для изучения активности промоторов, включает 33 наименования. Описано действие более 40 видов регуляторов на активность промоторов.

Типичные примеры запросов для БД TGP:

- найти промоторы, работающие в конкретном виде растений (поиск в поле Target species);
- найти промоторы, на которые влияет конкретный регулятор (поиск в поле Regulator);
- найти промоторы, работающие в конкретном виде растений и на которые влияет кон-

кретный регулятор (поиск в полях Target species и Keywords и/или Regulator);

- найти промоторы, выделенные из определенного вида растений (поиск в поле PromoterID);
- найти промоторы, на которые влияют несколько различных регуляторов;
- найти промоторы, активные в определенном органе или ткани (поиск в полях STAGE_ORGAN_TISSUE и/или COMMENT);
- найти промоторы, которые активны в определенном органе или ткани (поиск в полях REGULATOR и STAGE_ORGAN_TISSUE или COMMENT).

База данных БДТЭ, детально описанная в работе Смирновой с соавт. (2012б), содержит структурированную информацию о локализованных в мРНК регуляторных сигналах, кото-

рые контролируют экспрессию генов на пост-транскрипционном уровне. Эта информация полезна для планирования генно-инженерных экспериментов, поскольку трансляционные энхансеры нельзя заменить другими функциональными элементами в структуре генетической конструкции.

База WheatPGE (Генаев, 2011, 2012; Генаев и др., 2012а, б) ориентирована на изучение взаимоотношений фенотип–генотип–окружающая среда у пшеницы и предназначена для обеспечения проведения высокопроизводительного фенотипирования в ходе селекционно-генетических экспериментов.

Логическая модель данных включает таблицу растения, связанную с 4 блоками информации – генотипом, фенотипом, местом произрастания и экспериментом. Всего в текущей версии БД содержит 32 таблицы и 55 отношений между ними.

Генотип растения описывается 9 таблицами, включающими информацию о сорте растения или линии. Генотип связан с рядом таблиц, описывающих генетические маркеры. Такая привязка позволяет документировать эксперименты на пшенице, которые направлены на выявление мест локализации генов, контролирующих фенотипические признаки пшеницы, на хромосомных картах.

Фенотип растения описывается 15 таблицами: таблица, описывающая базовые признаки растения (длина стебля, число колосьев, урожайность); таблицы, описывающие структуру урожая (колосья); таблицы описывающие характеристики листьев; таблицы, описывающие опушение листа; таблица, описывающая длительность стадий развития растения.

Место произрастания описано 2 таблицами, основная информация в которых содержит название места произрастания, широту, долготу, тип климата, климатические характеристики (среднегодовую температуру, среднегодовую влажность, средние температуры января и июля).

Блок информации, связанный с проведением эксперимента, содержит 2 таблицы, описывающие событие и их список для растения. Событие содержит поля названия, типа и значения.

Функции интеграции базы данных и различных методов массового фенотипирования расте-

ний выполняет модуль интерфейса, обеспечивающий взаимодействие пользователя с BWPGЕ. Нами использована методология разработки программного обеспечения MVC, поддержку которой обеспечивает Catalyst – свободный кроссплатформенный программный каркас для создания Web-приложений, написанных на языке Perl.

МИBWPGЕ обеспечивает работу с базой через мобильные устройства (планшетные компьютеры и смартфоны), для которых доступ в Интернет сейчас возможен практически из любой точки страны. Это обеспечивает ввод данных в BWPGЕ в полевых условиях, что позволяет существенно ускорить процесс фенотипирования растений. Для удобства взаимодействия с базой данных с мобильных устройств для идентификации растений мы используем систему QR кодов, которые являются матричными штрих-кодами и могут быть сканированы камерой мобильного устройства. QR-код присваивается в базе каждому растению, может быть распечатан на плотной бумаге и прикреплен к его стеблю. В дальнейшем при измерении параметров растения в процессе эксперимента достаточно считать этот код, открыть в браузере ссылку для этого растения и занести параметры в базу.

Решение задач в области биотехнологий с использованием ресурсов информационного портала «Биотехнология растений»

Рассмотрим несколько примеров решения задач, связанных с устойчивостью растений пшеницы (*Triticum aestivum*) к засухе, с использованием ресурсов информационного портала «Биотехнология растений». Одним из возможных решений может являться создание трансгенных растений, которые несут целевые гены под управлением промоторов, активирующихся в ответ на засушливые условия среды. Для поиска таких промоторов можно использовать базу данных промоторов (БДП). Для этого требуется отобрать гены, которые активизируются у пшеницы в условиях засухи, т. е. содержат ключевое слово «drought-induced» и не индуцируются, например, в условиях солевого стресса. Для этого в базу данных можно внести запрос по таблице генов на странице

«Results» в поле расширенного запроса «(((tgp_gene-Species:wheat*) & [tgp_gene-Keywords:drought-induced*]) ! ([tgp_gene-Keywords:salt-induced*]))» (рис. 4, а) и нажать кнопку «Expression». В результате запроса будут получены 4 записи, одна из которых (TGP_GENE:Ta:Ltp1) приведена на рис. 4, б.

Последовательности этих промоторов можно найти по ссылкам, приведенным в записи (SEQUENCE_ID Ta:Ltp1_P1S).

Обеспечить высокий уровень наработки целевого белка в условиях засухи можно не только за счет регуляции транскрипции, но и усилив уровень трансляции его мРНК. Для этого можно подобрать фрагменты вставок в последовательность гена, которые бы усиливали процесс трансляции его мРНК. Такие фрагменты можно найти с помощью базы БДТЭ. Для этого необхо-

димо на странице запроса по таблице объектов БДТЭ (рис. 5, а) ввести название организма («Triticum aestivum», пшеница) и нужный тип локализации энхансера, например, «5'UTR» (5' нетранслируемый район).

По данному запросу в БДТЭ получено 10 записей. Пример одной из записей, TRANSIG_OBJ:ART5ENH03, приведен на рис. 5, б. В записи указаны последовательность энхансера («tagatatccgcgctt»), а также его краткое описание.

Отметим, что одним из важных фенотипических признаков у пшеницы, который проявляется в связи с ответом на стресс в условиях засухи, является опущение листьев. Опушение покровов растения яровой мягкой пшеницы влияет на их влагоудерживающую способность (Лихенко, 2007). Сильное, «войлочное»,

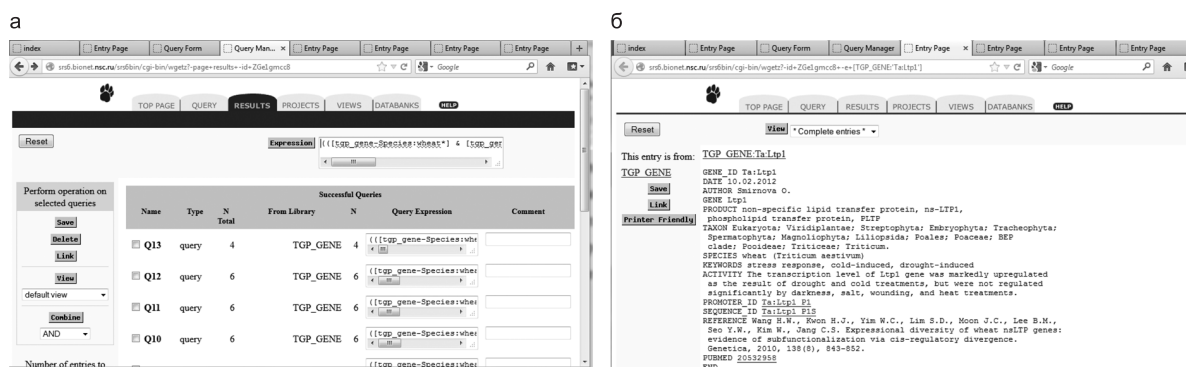


Рис. 4. Поиск в БДП промоторов генов, имеющих повышенную экспрессию в ответ на засушливые условия среды.

а – ввод запроса; б – пример записи TGP_GENE:Ta:Ltp1 для гена, имеющего высокий уровень экспрессии в условиях засухи.

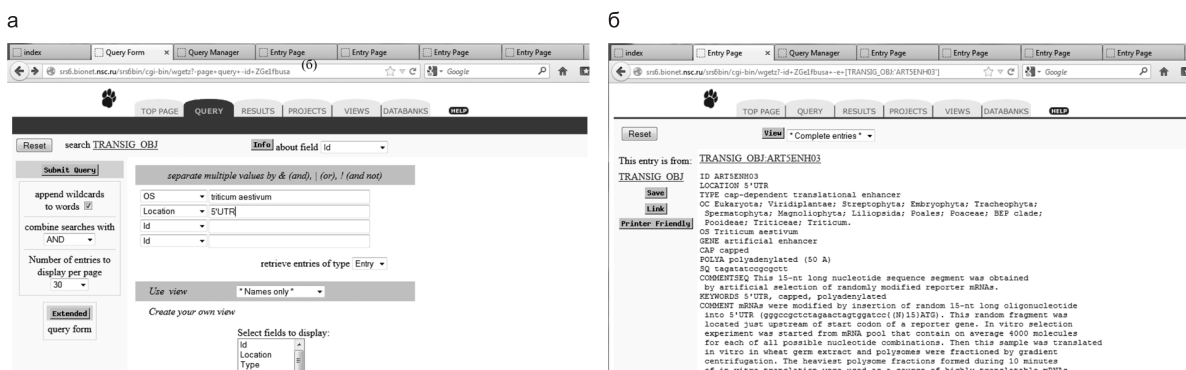


Рис. 5. Поиск в БДТЭ трансляционных энхансеров, расположенных в 5'-нетранслируемом районе генов пшеницы.

а – ввод запроса; б – пример записи TRANSIG_OBJ:ART5ENH03 для трансляционного энхансера.

«мохнатое» опушение характерно для ряда засухоустойчивых сортов, относящихся к степной экологической группе; для сортов, произрастающих во влажном климате, напротив, характерно очень слабое опушение (Крупнов, Цапайкин, 1990). Поэтому анализ наследования количественных характеристик опушения листа у пшеницы поможет в идентификации генов, контролирующих этот признак. Это

сделает возможным целенаправленное создание линий и сортов пшеницы с повышенной плотностью опушения, которое может обеспечить дополнительную устойчивость растений к засухе. Для проведения подобных работ можно использовать систему BWPGE в составе ИП БР. С ее помощью можно исследовать количественные характеристики опушения листа пшеницы у родительских сортов и линий, а также

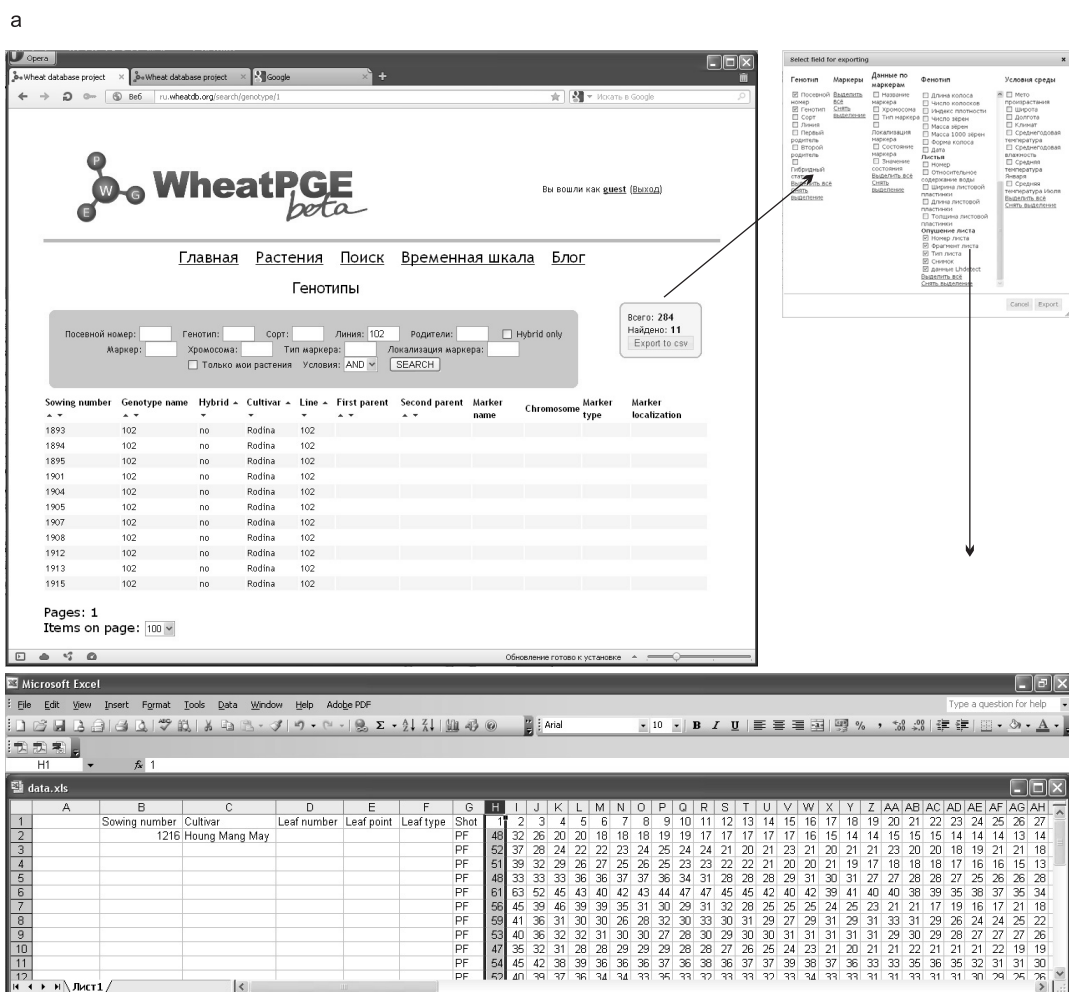
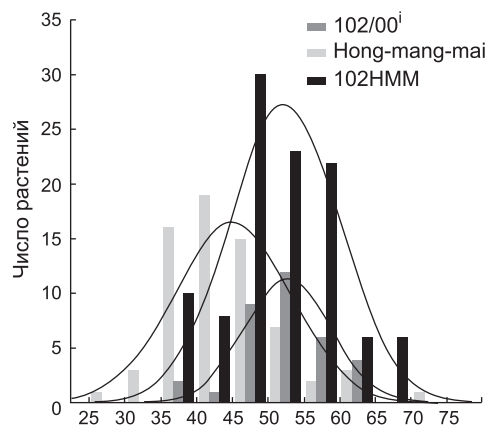


Рис. 6. Сравнение плотности опушения для растений сорта Hong-mang-mai и линии 102/00ⁱ и потомков от их скрещивания во втором поколении.

а – поиск растений линии в BWPGE и экспорт данных об опушении листа в таблицу Excel; б – гистограмма распределений значений числа трихом N для родительских форм и потомков.



у потомков от их скрещивания. Оценка числа трихом на листовой пластинке для растений проводится при помощи технологии высокопроизводительного фенотипирования на основе анализа изображений (Genaev *et al.*, 2012).

В качестве примера применения BWPGE для решения подобных задач рассмотрим сравнение числа трихом на поверхности листовой пластинки у родительских форм и потомков от их скрещивания в поколении F_2 на примере сорта Hong-mang-mai и линии 102/00ⁱ. Для этого необходимо провести поиск растений указанных сортов в BWPGE. В результате выполнения этой операции отображается список записей растений (рис. 6, а). Для этих растений информацию об опушении листа необходимо экспортировать в формате CSV и загрузить в таблицу Excel. Аналогичную процедуру необходимо провести и для потомков от скрещивания Hong-mang-mai и линии 102/00ⁱ во втором поколении.

Из сопоставления распределений числа трихом у родительских растений и потомков видно (рис. 6, б), что опушение растений во втором поколении от скрещивания сортов Hong-mang-mai с линией 102/00ⁱ более интенсивно по сравнению с родительскими генотипами. Таким образом, разработанный нами подход к анализу можно использовать для создания гибридов пшеницы, имеющих повышенную плотность опушения, что может обеспечить им устойчивость в стрессовых условиях среды, в частности при засухе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан информационный Интернет-портал «Биотехнология растений», который в настоящее время может использоваться для решения ряда задач в областях геномной инженерии растений и планирования селекционно-генетических экспериментов на пшенице. Модульная структура ресурса позволяет рассматривать его в качестве прототипа платформы, на которой могут интегрироваться новые специализированные модули, направленные на решение конкретных задач и востребованные специалистами в области биотехнологии.

Работа поддержана грантом Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Ис-

следования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.» (07.514.11.4052).

ЛИТЕРАТУРА

- Генаев, М.А., Дорошков А.В., Морозова Е.В. и др. Компьютерная система WheatPGE для анализа взаимосвязи фенотип–генотип–окружающая среда у пшеницы // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. С. 784–793.
- Генаев М.А., Дорошков А.В., Пшеничникова Т.А. и др. Информационная поддержка селекционно-генетического эксперимента у пшеницы в системе WheatPGE // Матем. биология и биоинформатика. 2012. Т. 7. № 2. С. 410–424.
- Крупнов В.А., Цапайкин А.П. Опушение листьев пшеницы: генетические и экологические аспекты // С.-х. биология. Сер. «биология растений». 1990. № 1. С. 51–57.
- Лихенко И.Е. О взаимосвязи опушения органов растений яровой мягкой пшеницы с хозяйственно и биологически ценными признаками в условиях Западной Сибири // Растениеводство и селекция. 2007. № 6. С. 25–31.
- Смирнова О.Г., Рассказов Д.А., Афонников Д.А., Кочетов А.В. TGP – база данных промоторов для трансгенеза растений // Матем. биология и биоинформатика. 2012а. Т. 7. № 2. С. 444–460.
- Смирнова О.Г., Рассказов Д.А., Кочетов А.В. Информационная поддержка экспериментов по трансгенезу растений: база данных трансляционных энхансеров // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012б. Т. 16. № 4/1. С. 766–773.
- Abdeev R.M., Abdeeva I.A., Bruskin S.S. *et al.* Bacterial thermostable beta-glucanases as a tool for plant functional genomics // Gene. 2009. V. 436. P. 81–89.
- Ageitos J.M., Vallejo J.A., Veiga-Crespo P., Villa T.G. Oily yeasts as oleaginous cell factories // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2011. V. 90. P. 1219–1227.
- Ajjawi I., Lu Y., Savage L.J. *et al.* Large-scale reverse genetics in Arabidopsis: case studies from the Chloroplast 2010 Project // Plant Physiol. 2010. V. 152. P. 529–540.
- Brachi B., Faure N., Horton M. *et al.* Linkage and association mapping of *Arabidopsis thaliana* flowering time in nature // PLoS Genet. 2010. V. 6. P. e1000940.
- Bulgakov V.P., Inyushkina Y.V., Fedoreyev S.A. Rosmarinic acid and its derivatives: biotechnology and applications // Crit. Rev. Biotechnol. 2011.
- Eberius M., Lima-Guerra J. High-Throughput Plant Phenotyping – Data Acquisition, Transformation, and Analysis // Bioinformatics: Tools and Applications / Ed. D. Edwards *et al.* Springer Science+Business Media, LLC, 2009. P. 259–278.
- Genaev M.A., Doroshkov A.V., Pshenichnikova T.A. *et al.* Extraction of quantitative characteristics describing wheat leaf pubescence with a novel image processing technique // Planta. 2012. In press.
- Golzarian M.R., Frick R.A., Rajendran K. *et al.* Accurate inference of shoot biomass from high-throughput images of cereal plants // Plant Methods. 2011. V. 7. 2.

- Hartmann A., Czauderna T., Hoffmann R. *et al.* HTPheno: an image analysis pipeline for high-throughput plant phenotyping // *BMC Bioinformatics*. 2011. V. 12. P. 148.
- Hassan S.W., Waheed M.T., Lössl A.G. New areas of plant-made pharmaceuticals // *Expert Rev. Vaccines*. 2011. V. 10. P. 151–153.
- Iyer-Pascuzzi A.S., Symonova O., Mileyko Y. *et al.* Imaging and analysis platform for automatic phenotyping and trait ranking of plant root systems // *Plant Physiol*. 2010. V. 152. P. 1148–1157.
- Kaminuma E., Yoshizumi T., Wada T. *et al.* Quantitative analysis of heterogeneous spatial distribution of *Arabidopsis* leaf trichomes using micro X-ray computed tomography // *Plant J*. 2008. V. 56. P. 470–482.
- Komarova T.V., Baschieri S., Donini M. *et al.* Transient expression systems for plant-derived biopharmaceuticals // *Expert Rev. Vaccines*. 2010. V. 9. P. 859–876.
- Kumar G.R., Sakthivel K., Sundaram R.M. *et al.* Allele mining in crops: prospects and potentials // *Biotechnol. Adv.* 2010. V. 28. P. 451–461.
- Lee J.M., Davenport G.F., Marshall D. *et al.* GERMINATE: a generic database for integrating genotypic and phenotypic information for plant genetic resource collections // *Plant Physiol*. 2005. V. 139. P. 619–631.
- Lu Y., Savage L.J., Ajjawi I. *et al.* New connections across pathways and cellular processes: industrialized mutant screening reveals novel associations between diverse phenotypes in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2008. V. 146. P. 1482–1500.
- Pritchard L., Birch P. A systems biology perspective on plant-microbe interactions: biochemical and structural targets of pathogen effectors // *Plant Sci*. 2011. V. 180. P. 584–603.
- Skryabin K. Do Russia and Eastern Europe need GM plants? // *N. Biotechnol.* 2010. V. 27. P. 593–595.
- Smirnova O.G., Ibragimova S.M., Kochetov A.V. Simple database to select promoters for plant transgenesis // *Transgenic Res*. 2012. 21. P. 429–437.
- Vankadavath R.N., Hussain A.J., Bodanapu R. *et al.* Computer aided data acquisition tool for high-throughput phenotyping of plant populations // *Plant Methods*. 2009. V. 5. 18.
- Varshney R.K., Bansal K.C., Aggarwal P.K. *et al.* Agricultural biotechnology for crop improvement in a variable climate: hope or hype? // *Trends Plant Sci*. 2011. V. 16. P. 363–371.
- Wiley P.E., Campbell J.E., McKuin B. Production of biodiesel and biogas from algae: a review of process train options // *Water Environ. Res*. 2011. V. 83. P. 326–338.

INFORMATIONAL PORTAL «PLANT BIOTECHNOLOGY» – INTERNET RESOURCE TO SUPPORT EXPERIMENTS IN PLANT GENE ENGINEERING, GENETICS AND WHEAT BREEDING

**A.V. Kochetov, O.G. Smirnova, S.M. Ibragimova, D.A. Rasskazov, D.A. Afonnikov,
M.A. Genaev, A.V. Doroshkov, T.A. Pshenichnikova, A.V. Simonov, E.V. Morozova**

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: ak@bionet.nsc.ru

Summary

New Internet-resource to support the research in plant biotechnology is presented. This Internet portal contains specialized modules (databases and software) and allows users to combine these modules to solve various tasks as well as it permits the further resource development by addition of new modules. Currently the resource contains the database of external informational sources, the database on promoters for plant transgenesis, the database on translational enhancers for plant transgenesis, and the database WheatPGE to support the experiments in a wheat breeding. The resource is available at ICG www-site (<http://bioagrotech.bionet.nsc.ru/>).

Key words: informational resource, database, promoter, translational enhancers, genetic engineering, bread wheat, phenotyping, breeding.