

AZƏRBAYCANIN YERLİ BUĞDA GENOTİPİNDƏN DREB GENİNİN AYRILMASI VƏ MOLEKULAR XARAKTERİZƏ OLUNMASI

Abdullayeva G.R., Rüstəmovə S.M., Hüseynova İ.M.*

AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiya İnstitutu, Mətbuat prospekti 2A, Bakı AZ1073,
E-mail: huseynova-i@botany-az.org

AP2/ERF bitki transkripsiya faktorları superailəsinə aid olan DREB2 faktoru geninin spesifik praymer cütü ilə əldə olunan amplifikasiya məhsullarının elektroforetik analizi zamanı 300 və 500 bp uzunluğunda iki fraqment müəyyən edilmişdir. Amplikonlar ISOLATE II PCR & Gel Kit vasitəsilə təmizlənmiş və nukleotid ardıcılığı oxunmuşdur. BLASTn analizi nəticəsində məlum olmuşdur ki, 500 bp fraqmenti nukleotid ardıcılığına görə GenBank verilənlər bazasında yerləşdirilmiş 2 Hindistan yumşaq buğda (PBW-175) və HD-2932) sortunun Dreb2 geni ilə 95%, digər 20 buğda genotipi ilə isə 94% identiklik təşkil edir. Bu fraqmentə uyğun amin turşu ardıcılığında DREB transkripsiya faktoru zülalları üçün spesifik olan AP2 domen (14-cü vəziyyətdə valin (V14), 19-cu vəziyyətdə qlutamin amin turşusu(E19)) və nüvə lokalizasiya signalı (NLS) sahəsi aşkar edilmişdir. FGESH genlərin axtarışı üzrə proqramla aparılan yoxlama zamanı 500 bp fraqmentində 2 ekzondan ibarət 1 genin olduğu güman edilmişdir. Alınan ekzon sahələrinə uyğun amin turşu ardıcılığının BLASTp axtarışı zamanı T. dicoccoides və T. urartu ilə 70%, 13 sayda T.aestivum ilə ≤ 71% identiklik müşahidə olunmuşdur. 300 bp fraqmentinin nukleotid ardıcılığının BLAST-n axtarışı nəticəsində bu ardıcılığın genomu oxunmuş Chinese Spring yumşaq buğda sortunun 3B xromosomunun müəyyən sahələri ilə 99% identiklik təşkil etdiyi aşkar edilmişdir.

Açar sözlər: Buğda, transkripsiya faktorları, Dreb geni, FGESH, BLAST

Giriş

Bitkilərin stress şəraitinə adaptasiyası bütöv gen ansambllarının koordinasiya olunmuş ekspressiyası ilə həyata keçən mürəkkəb genetik proqramların reallaşmasını tələb edir. Hal-hazırda dünyada genlərin stres-spesifik tənzimlənməsinə cəlb olunmuş transkripsiya faktorlarının müəyyənləşdirilməsi istiqamətində ciddi tədqiqatlar aparılır. Requlyator zülallara aid olan transkripsiya faktorları abiotik streslə əlaqədar müxtəlif genlərin promotor hissələrində mövcud olan cis-elementlərlə qarşılıqlı təsirdə olur. Bu gen kaskadını stimullaşdıraraq, bir çox genlərin ekspressiyasını artırır ki, nəticədə abiotik streslərə davamlılıq yaranır. Bitki genomunun kodlaşdırma ardıcılığının təqribən 7%-ini transkripsiya faktorları müəyyən edir [10].

DREB (Dehydration Element Binding Factor) transkripsiya faktorları AP2/ERF bitki transkripsiya faktorları superailəsinin nümayəndələridir və bir çox stresslərə, o cümlədən, quraqlıq, şoranlıq, istiliyə və s. cəlb olunması ilə xarakterizə olunurlar [2, 9]. Bütün DREB genlərinin əsas xüsusiyyəti onlarda 3 konservativ sahənin olmasıdır: EREBP/AP2 DNT-birləşdirən domen, nüvədə lokalizasiyasını müəyyənləşdirən N-sonluqlu signal və EREBP/AP2 domeninə söykənən Ser/Thr ilə zəngin konservativ sahə. ERF/AP2 domenində 2 ədəd amin turşusu, 14-cü vəziyyətdə valin və 19-cu mövqedə isə qlutamin turşusu kifayət qədər konservativdir və dehidratasiyaya qarşı reaksiyaya cavabdeh olan elementlərə (DRE) birləşmə zamanı əhəmiyyətli rol oynayır[5]. Bu domen kifayət qədər konservativdir və onun tərkibinə daxil olduğu transkripsiya faktorları arabidopsis, pomidor, tütün və qarğıdalı daxil olmaqla, bir çox bitkidə (həm birləpəllilərdə, həm də ikiləpəllilərdə) aşkar edilmişdir. Bu domen ~60 amin turşusundan ibarətdir və bitkilər üçün unikal hesab edilir [11]. ERF/AP2 domeninin sonunda yerləşən DSAW motivi, C-terminal hissədə olan LWSY motivi isə bir çox DREB1-tipli zülallarda qorunub saxlanılır. Bu domenin üçölçülü quruluşunun analizi zamanı onun bir α-spiral və antiparalel olaraq birləşmiş 3 ədəd β-təbəqəli quruluşa malik olduğu müəyyən edilmişdir [1]. Hesab edilir ki, ERF/AP2 domeninin yaxınlığında qorunub saxlanılan Ser/Thr-zəngin hissə DREB zülallarının fosforlaşmasına cavabdehdir. Transkripsiya faktorları

yalnız nüvədə fəaliyyət göstərir və onların nüvəyə girişini təmin edən nüvə lokalizasiyası siqnalıdır (NLS). DREB/CBF1 tipli NLS konsensusu - PKRPAGRTKFKRETRHP həmin zülalları digər ERF/AP2 zülallarından fərqləndirir. NLS-i olmayan transkripsiya faktoru nüvəyə bu siqnala malik olan transkripsiya faktoru ilə zülal-zülal qarşılıqlı əlaqəsi vasitəsilə daxil olur [6].

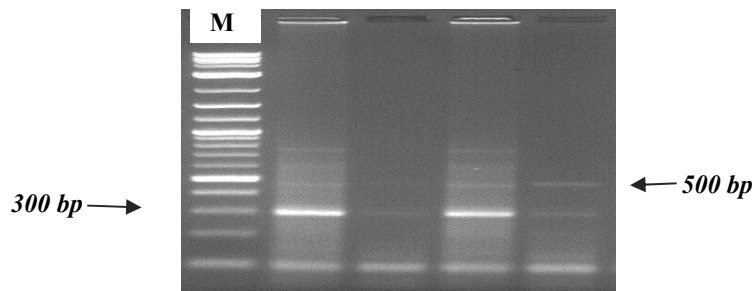
Tədqiqat işinin əsas məqsədi yüksək məhsuldarlığına, keyfiyyətinə və ekstremal amillərə davamlılığına görə fərqlənən yerli bərk buğda sortu olan Bərəkətli-95 genotipindən DREB geninin izolyasiyası və onun molekulyar xarakterizə edilməsi olmuşdur.

Material və metodlar

Tədqiqat obyektini kimi bərk buğda (*Triticum durum* Desf.) genotipi olan Bərəkətli-95 sortu götürülmüşdür. Bərəkətli-95 - intensiv tipli sort olub, yerli Qırmızı buğda sortu ilə Qaraqılıq-2 sortunun növdaxili hibridləşməsindən yüksək məhsuldarlığına, keyfiyyətinə və ekstremal amillərə davamlılığına görə fərdi seçmə apararaq akademik Cəlal Əliyev tərəfindən Azərbaycan Elmi-Tədqiqat Əkinçilik İnstitutunda (AzETƏİ) yaradılmışdır. Buğda cücərtilərindən CTAB metodu ilə nüvə DNT-si ayrılmışdır [4]. Ekstraksiya edilmiş DNT nümunələrinin qatılığı və təmizlik dərəcəsi spektrofotometriya metodu (ULTROSPEC 3300 PRO ("AMERSHAM", ABŞ)) ilə yoxlanılır. PZR spesifik PsDREB-F (5'-TATGGATTGCCTTGATGAACA-3') və PsDREB-R (5'-GACTCCGATTCATCCTTCCC-3') praymer cütündən istifadə etməklə "Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler" aparatında aşağıdakı şəraitdə aparılmışdır: tsikl 1 – 94°C-də 5 dəq; 35 amplifikasiya tsikli: hər tsikl 1 dəq 94°C-də, 1 dəq 53,3°C-də və 1dəq 72°C-də; tamamlayıcı elonqasiya tsikli 72°C-də 10 dəq müddətində həyata keçirilmişdir. Amplifikasiya məhsulları 1.5% aqaroza gelində elektroforez apararaq analiz edilmişdir. PZR məhsulları ISOLATE II PCR & Gel Kit vasitəsilə təmizlənmişdir. Fraqmentlərin nukleotid ardıcılığı Senger metodu ilə ABI 3130xl Sequencer (Applied Biosystems, USA) aparatı vasitəsilə həyata keçirilmişdir. Növbəti mərhələdə sekvens olunmuş ardıcılıqlar NCBI BLAST, FGESH və s. bioinformatik proqramlar vasitəsilə analiz edilmişdir.

Nəticələr və onların müzakirəsi

Bərəkətli-95 genotipinin genomunda DREB transkripsiya faktorunun geni üçün gen-spesifik praymer cütündən istifadə etməklə yoxlama aparılmışdır. PsDREB-F və PsDREB-R spesifik praymer cütündən istifadə etməklə əldə olunan PCR məhsullarının elektroforetik profilləri Şəkil 3-də təsvir edilmişdir. Bu praymer cütü üçün diaqnostik hesab olunan 500 bp fraqment tədqiq olunan genotipdə müvəfəqiyyətlə sintez olunmuşdur. It was the most interesting point that Bərəkətli-95 genotipində nəinki gözlənilən 500 bp-lik fraqment, eyni zamanda yeni 300 bp fraqment də amplifikasiya olunmuşdur.



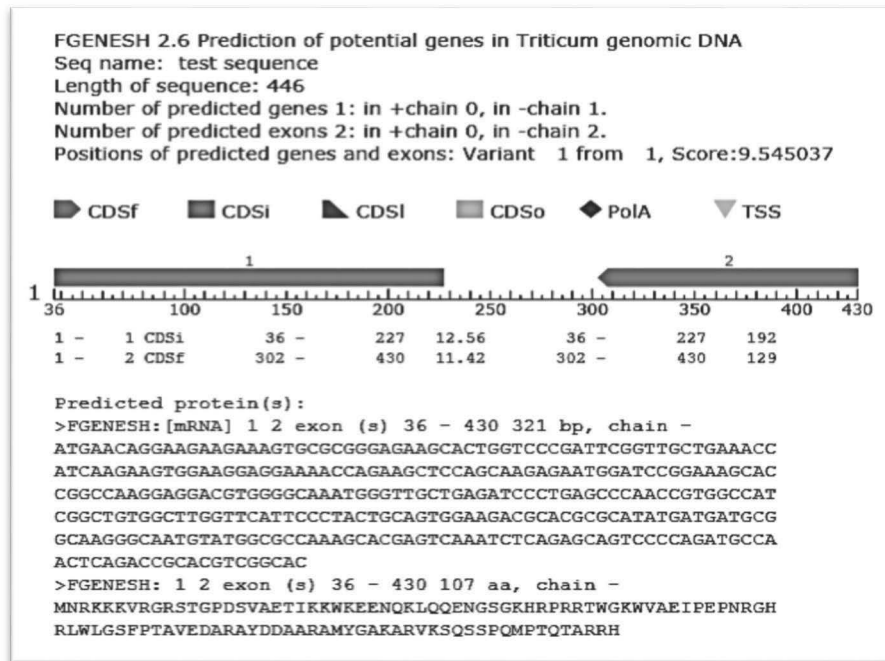
Şəkil 1. Amplifikasiya olunmuş fraqmentlərin elektroforetik profilləri

Yerli buğda genotipindən DREB geninin izolyasiyası məqsədilə preparativ PZR aparılmışdır. Amplifikasiya məhsulları 1,5% -li aqaroza gelində elektroforetik yolla ayrılaraq, 300 və 500 bp fraqmentlər xüsusi purification kit (ISOLATE II PCR & Gel Kit, BIOLINE) vasitəsilə gəldən təmizlənmişdir. İzolyasiya edilmiş DREB geni fraqmentləri sequenced using an ABI 3130xl DNA analyzer (Applied Biosystems, USA).

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <i>Leymus qinghaicus</i> DRE-binding protein 2 mRNA, complete cds	503	503	83%	2e-138	91%	JQ755246.1
<input type="checkbox"/> <i>Leymus mollis</i> DRE-binding protein 2 mRNA, complete cds	503	503	83%	2e-138	91%	JQ755243.1
<input type="checkbox"/> <i>Bromus japonicus</i> dehydration responsive element binding protein (DREB) mRNA, partial cds	496	496	85%	4e-136	90%	KF406596.1
<input type="checkbox"/> <i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i> dehydration responsive element binding protein 1 mRNA, complete cds	496	496	84%	4e-136	90%	KJ689390.1
<input type="checkbox"/> <i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i> mRNA for predicted protein, complete cds, clone: N1ASHV3121G09	496	496	84%	4e-136	90%	AK376344.1
<input type="checkbox"/> <i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i> dehydration responsive element binding protein 1 (DREB1) mRNA, complete cds	496	496	84%	4e-136	90%	DQ012941.1
<input type="checkbox"/> <i>Triticum aestivum</i> cultivar Raj-3765 dehydration-responsive element-binding protein (DREB2) gene, partial cds	453	453	67%	2e-123	94%	JF728300.1
<input type="checkbox"/> PREDICTED: <i>Brachypodium distachyon</i> dehydration-responsive element-binding protein 2A (LOC104582496), transcript variant X16, mRNA	435	435	83%	8e-118	88%	XM_024459847.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Triticum aestivum</i> cultivar PBW-175 dehydration-responsive element-binding protein (DREB2) gene, partial cds	431	431	62%	1e-116	95%	JF728301.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Triticum aestivum</i> cultivar HD-2932 dehydration-responsive element-binding protein (DREB2) gene, partial cds	329	329	47%	4e-86	95%	JF728296.1
<input type="checkbox"/> <i>Cynodon dactylon</i> DREB-like protein 2 mRNA, complete cds	259	259	87%	5e-65	79%	AY462118.1
<input type="checkbox"/> <i>Saccharum officinarum</i> DREB/CBF transcription factor mRNA, partial cds	171	171	26%	2e-38	93%	DQ231575.1
<input type="checkbox"/> PREDICTED: <i>Eutrema salsugineum</i> dehydration-responsive element-binding protein 2F (LOC18019859), mRNA	60.2	60.2	14%	5e-05	84%	XM_006402799.2

Şəkil 2. BLASTn proqramı vasitəsilə nulleotid ardıcılıqlarının müqayisəsi.

Nukleotid ardıcılıqları oxunan fraqmentlər bioinformatik proqramlar vasitəsilə analiz olunmuşdur. BLASTn (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch) analizi nəticəsində məlum olmuşdur ki, 500 n.c. fraqmenti nukleotid ardıcılığına görə GenBank verilənlər bazasında yerləşdirilmiş iki Hindistan yumşaq buğda - PBW-175 (Accession number: [JF728301.1](#)) və HD-2932 ([JF728296.1](#)) sortlarının DREB2 geni ilə 95%, digər 21 buğda genotipinin DREB geni ilə isə 94% identiklik təşkil edir (Şəkil 2). Həmin potensial polipeptidin BLASTp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>) proqramı vasitəsilə GenBank verilənlər bazasındakı müqayisəli analizi zamanı *T.dicoccoides* və *T.urartu* genotiplərində dehidratasiyaya cavabdeh elementi birləşdirən zülal ilə 70%, 13 sayda *T.aestivum*-un həmin zülalı ilə \leq 71% identiklik müşahidə olunur.



Şəkil 3. FGENESH potensial genlərin axtarışı proqramı vasitəsilə proqnozlaşdırılan ekzonların mövqeləri. Qeyd: Şəkildə göstərilən CDSf – start kodon və ya ilk ekzon, CDSi – daxili ekzon, CDSl – terminal ekzon, CDSo – yalnız bir ekzonu ifadə edir.

500 n.c uzunluqlu fraqmentin FGENESH (<http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=fgenes&group=programs&subgroup=gfind>) proqramında analizi zamanı bu fraqmentdə 2 ekzondan ibarət potensial polipeptid kodlaşdırən genin olduğu müəyyən edilmişdir (Şəkil 3). Proqnozlaşdırılmış genlərdən 1-i, ekzonlardan 2-i bir zəncirdə (- chain) yerləşir. Birinci gen 36-430-cu vəziyyətlər aralığında yerləşir, 321 n.c. uzunluğunda olub, 107 amin turşusundan ibarət zülal kodlaşdırır. Bu genin ilk ekzonu 302-430 aralığında olub, 129 n.c. uzunluğundadır. Daxili ekzon isə 36-227-ci vəziyyətlər aralığında yerləşib, 192 n.c. uzunluğundadır.

Bərəkətli-95 buğda genotipindən ayrılaraq sekvens olunan partial DREB geninin FGENESH proqramı vasitəsilə analizi zamanı müəyyən edilən müvafiq amin turşu ardıcılığı Şəkil 4 –də göstərilmişdir. Göründüyü kimi, yerli buğda genotipinin sekvens olunmuş hissəvi DREB geninə uyğun amin turşu ardıcılığında DREB transkripsiya faktoru zülalları üçün spesifik olan AP2 domen, yəni 14-cü vəziyyətdə valin (V₁₄), 19-cu vəziyyətdə qlutamin amin turşusu (E₁₉) və nüvə lokalizasiya siqnalı (NLS) sahəsi aşkar edilmişdir. Eyni zamanda bəzi tədqiqatlar zamanı belə nəticəyə də gəlinmişdir ki, E₁₉ DNT-birləşdirən ardıcılığın tanınması üçün V₁₄ qədər əhəmiyyətli olmaya da bilər [8].

300 n.c. uzunluqda olan fraqmentin GenBank verilənlər bazasındakı nukleotid ardıcılıqları ilə BLAST müqayisəsi zamanı aşkar edilmişdir ki, bu ardıcılıq genomu oxunmuş Chinese Spring yumşaq buğda sortunun 3B xromosomunun müəyyən sahələri ilə 99% identiklik təşkil edir.

MNRKKKVRGRSTGPDSVAETIKKWKEENQKLOQENGSGKHRPRRTWGKWVAEIPENRG HRLWLGSPPTAVEDARAYDDAARAMYGAKARVKSQSSPQMPTQTARRH
--

Şəkil 4. Sekvens olunmuş hissəvi DREB geninin AP2 domeninə uyğun amin turşu ardıcılığı. Altından bütöv xətt çəkilmiş sahə siqnal peptid ardıcılığını, qırıq-qırıq xətlər olan sahə isə DREB geninin EREBP/AP2 DNT birləşdirici domenini göstərir. AP2 domenə məxsus 14-cü vəziyyətdə valin (V₁₄) və 19-cu vəziyyətdə qlutamin amin turşusu (E₁₉) kursivlə göstərilmişdir.

Müxtəlif alimlər tərəfindən DREB genlərlə əlaqədar çoxsaylı təcrübələr aparılmışdır. İran buğda sortları üçün də TaDREB DNT ardıcılıqları 500 n.c. uzunluğuna malik olmuşdur. BLAST proqram təminatı vasitəsilə aparılan axtarışlar göstərmişdir ki, *T.aestivum* genomunda dehidratasiyaya cavabdeh element birləşdirici zülalının (DREB1) geni və AP2-domeninə malik zülal (DREB1) mRNT-si yüksək dərəcədə (99%) identikliyə malikdir [1]. Soyuğa davamlı və soyuğa qarşı həssas buğda sortlarının hər birinin genomunun DREB geninə malik olduğunu göstərilmişdir. Latının və onun əməkdaşları tərəfindən vurğulanmışdır ki, stres olmayan vəziyyətdə ekspressiya olunan DREB geni, stresin təsirindən induksiya oluna bilən genlərin digər funksiyaları ilə əlaqəli ola bilər [3]. Eyni zamanda, İran təbii yumşaq buğdanın (*Triticum aestivum* L.) sortları arasında stresə qarşı yüksək davamlı Sardari sortu 4 saatlıq soyuq stresinə məruz qaldıqdan sonra RNT ayrılmış və kDNT sintez edilmişdir. Tədqiqat zamanı uzunluğu 1286 n.c. olan WDREB fraqmenti xüsusi praymer vasitəsilə izolyasiya edilmiş və sekvenslə təsdiqini tapmışdır. NCBI BLASTn tərəfindən nukleotid oxşarlıqlara əsaslanan homoloji ardıcılıq axtarışı göstərmişdir ki, *Triticum aestivum*da izolyasiya edilmiş fraqment üçün $\geq 95\%$ oxşarlıq və $\geq 90\%$ örtülmə ilə 10 ardıcılıq mövcuddur. Düzəldirmə zamanı ardıcılıqların müqayisəsi göstərmişdir ki, izolyasiya edilmiş fraqmentin və 10 homoloji ardıcılığın daxil olduğu, bütün ardıcılıqlar, iki 53 və 91 n.c. insersiyalar istisna olmaqla, oxşardılar. İzolyasiya edilmiş fraqmentin və homoloji ardıcılıqlardan 4 ədədinin ((Giriş No (Accession No AY781357, AY781356, AY781351 və AY781349)) yalnız 53 n.c. uzunluğunda insersiyası mövcud olmuşdur (Sazegari and Niyazi, 2012). Digər maraqlı nəticə NL 897/NL 714// BL 2218 və BAW 969/SHATABDI buğda sortlarında müxtəlif praymer cütlərindən istifadə edilməklə fərqli uzunluqlu fraqmentlərin əldə edilməsi ilə bağlı idi. Belə ki, DREB-F2/R1 oliqo praymer cütlərindən istifadə olunduqda NL 897/NL 724//BL 2281 sortlarında DREB geni 350 n.c. uzunluqda, lakin DREB-F3/R1 praymer cütlərinin tətbiqi zamanı C-306, NL 897/NL 714//BL 2281, NL 781/NL 724//BL 2017, NL 897/NL 714//BL 2218 və BAW 969/SHATABDI sortlarında 250 n.c. uzunluğunda fraqmentlər aşkar

olunmuşdur [7].

Azərbaycanın yerli buğda genotipindən DREB geninin ayrılması və onun molekulyar xarakterizə edilməsi stress amillərinə davamlı yeni buğda genotiplərinin yaradılması baxımından onların genom materialının qiymətləndirilməsi və fəaliyyət effektivliyinin müəyyənləşdirilməsi üçün əhəmiyyət kəsb edir.

Minnətdarlıq. Bu iş Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun maliyyə dəstəyi ilə yerinə yetirilmişdir (Qrant №EIF-KEPTL-2-2015-1(25)-56/35/3).

Ədəbiyyat

1. **Andeani, J. K.**, Mohsenzadeh, S., & Mohabatkar, H. (2009) Isolation and characterization of partial DREB gene from four Iranian Triticum aestivum cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(5), 561-566.
2. **Chen, W. J.**, & Zhu, T. (2004) Networks of transcription factors with roles in environmental stress response. *Trends in plant science*, 9(12), 591-596.
3. **Murray, M. G.**, & Thompson, W. F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids research*, 8(19), 4321-4326.
4. **Mwadzingeni, L.**, Shimelis, H., Dube, E., Laing, M. D., & Tsilo, T. J. (2016) Breeding wheat for drought tolerance: Progress and technologies. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(5), 935-943.
5. **Pandey, B.**, Sharma, P., Saini, M., Pandey, D. M., & Sharma, I. (2014) Isolation and characterization of dehydration-responsive element-binding factor 2 (DREB2) from Indian wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 8(1), 44.
6. **Rana B.**, Kumar S., Kumar S., Yadav M.K. (2013). Isolation and sequence analysis of drought induced DREB2a in Indian wheat cultivars under water stress condition. *Vegetos-AnInternationalJournalofPlantResearch*, 26(2): 331-334.
7. **Sakuma Y.**, Liu Q., Dubouzet J.G., Abe H., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (2002) DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration-and cold-inducible gene expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 290 (3): 998-1009.
8. **Saibo, N. J.**, Lourenço, T., & Oliveira, M. M. (2008) Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of botany*, 103(4), 609-623.
9. **Udvardi, M. K.**, Kakar, K., Wandrey, M., Montanari, O., Murray, J., Andriankaja, A., Zhang, J.Y., Benedito, V., Hofer, J.M., Chueng, F., Town, C. D. (2007) Legume transcription factors: global regulators of plant development and response to the environment. *Plant Physiology*, 144(2), 538-549.
10. **Xu, Z. S.**, Chen, M., Li, L. C., & Ma, Y. Z. (2008) Functions of the ERF transcription factor family in plants. *Botany*, 86 (9), 969-977.

Абдуллаева Г.Р., Рустамова С.М., Гусейнова И.М.

ВЫДЕЛЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА DREB ГЕНА ИЗ МЕСТНОГО ГЕНОТИПА ПШЕНИЦЫ АЗЕРБАЙДЖАНА

Ген транскрипционного фактора *DREB2*, относящегося к суперсемейству AP2/ERF растительных транскрипционных факторов, был амплифицирован с помощью ген-специфического праймера и проведен электрофоретический анализ. При этом были обнаружены два фрагмента длиной 300 и 500 п.н. Ампликоны были вырезаны из агарозного

геля и очищены при помощи ISOLATE II PCR & Gel Kit, была определена нуклеотидную последовательность. В результате анализа BLASTn выявлена идентичность с генами Dreb2 2-х сортов Индийской мягкой пшеницы (PBW-175) и (HD-2932) и 94% идентичности с другими 20-ю генотипами пшеницы, помещенными в базу данных GenBank на основе фрагментов нуклеотидных последовательностей длиной 500 п.н. В аминокислотной последовательности, соответствующей этому фрагменту обнаружен домен AP2 (в частности валин (V14) в 14-м положении, глутаминовая аминокислотная группа (E19) в 19-й позиции) и сигнал ядерной локализации (NLS), специфический для белков транскрипционного фактора DREB. Во время анализа по поиску генов в программе Softberry в фрагменте длиной 500 п.н. предположено наличие 1-го гена, содержащего 2 экзона. BLASTp поиск аминокислотной последовательности, соответствующей полученным экзонным участкам, показал наличие 70% соответствия с *T. dicoccoides* и *T. urartu* и $\leq 71\%$ с 13-ю образцами *T. aestivum*. При BLASTn-анализе нуклеотидной последовательности фрагмента длиной 300 п.н. выявлена идентичность на 99% с определенными участками 3В хромосомы сорта мягкой пшеницы *Chinese Spring*.

Ключевые слова: Пшеница, факторы транскрипции, *DREB* ген, *FGENESH*, *BLAST*

Abdullayeva G.R., Rustamova S.M., Huseynova I.M.

ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF DREB GENE FROM LOCAL AZERBAIJAN WHEAT GENOTYPE

DREB2 gene belonging to the superfamily of AP2/ERF plant transcription factors was amplified with the gene-specific primer pair and electrophoretic analysis revealed two fragments of 300bp and 500 bp. Amplicons were cut from agarose gel, purified with ISOLATE II PCR & Gel Kit and the nucleotide sequence was read. According to the results of the BLASTn analysis the nucleotide sequence of the 500bp fragment is 95% identical to Dreb2 gene of 2 Indian bread wheat varieties (PBW-175, HD-2932) placed in GenBank and 94% identical to other 20 wheat genotypes. In the amino acid sequence corresponding to this fragment, AP2 domain (valine in 14th (V₁₄) and glutamine in 19th position (E₁₉)) specific for proteins of the DREB transcription signal and a nuclear localization signal (NLS) area were detected. Analysis using the Softberry program suggests the existence of one gene consisting of two exons in the 500 bp fragment. BLAST search of the respective amino acid sequences of the obtained exon areas revealed 70% identity with *T. dicoccoides* and *T. urartu*, and $\leq 71\%$ identity with 13 varieties of *T. aestivum*. BLASTn analysis of the nucleotide sequence of 300bp fragment revealed 99% identity with certain areas of 3B chromosome of the *Chinese Spring* variety of bread wheat.

Keywords: Wheat, transcription factors, *DREB* gene, *FGENESH*, *BLAST*

Redaksiyaya daxil olma tarixi: 4.XII.2018