



# Transgeneza sorgo i tytoniu na cele bioenergetyczne

Małgorzata Marszałek, Joanna Zeyland,  
Aleksandra Luwańska, Karolina Wielgus, Ryszard  
Słomski, Daniel Lipiński



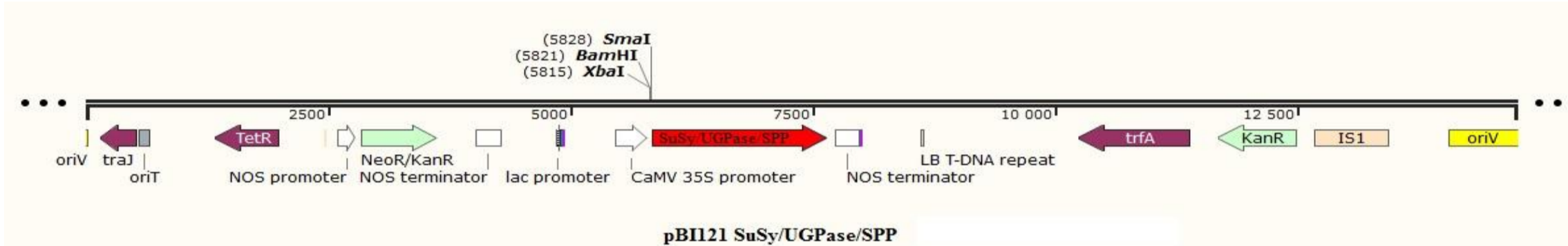
SORMISOL

Katedra Biochemii i Biotechnologii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

## Wprowadzenie

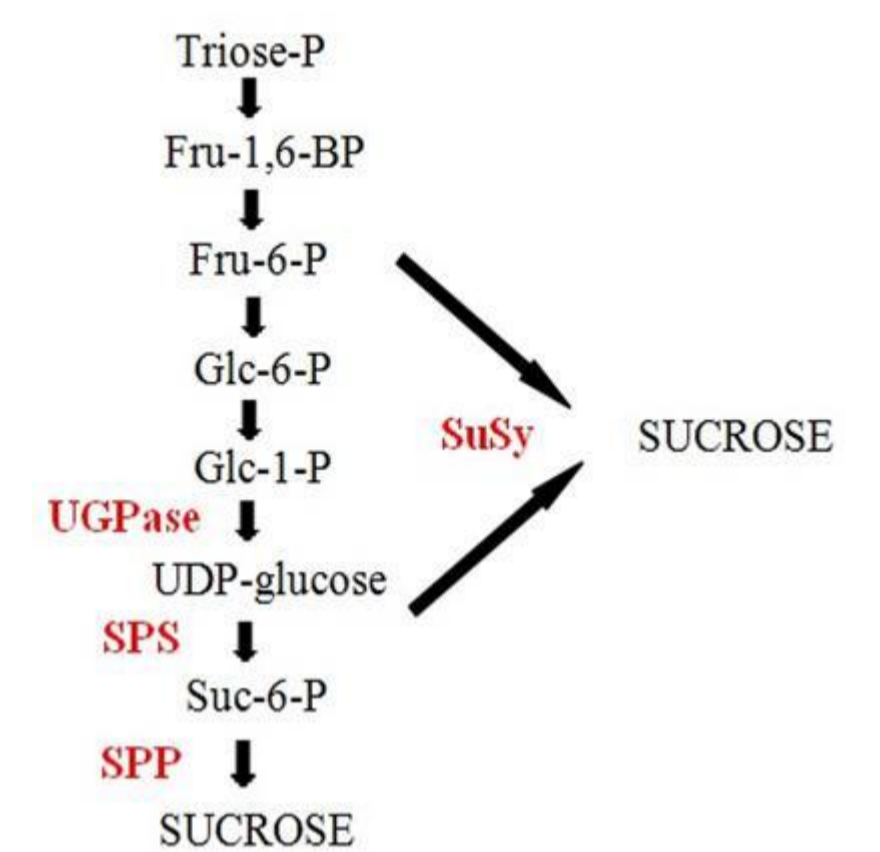
Do produkcji bioetanolu wykorzystuje się głównie ziarna zbóż, buraki cukrowe, trzcinę cukrową oraz ziemniaki. Wykorzystanie tych roślin na cele bioenergetyczne napotyka w Polsce na szereg dyskusji, ze względu na pomniejszenie arealu ich upraw przeznaczanych na produkcję żywności. Rozwiązaniem tego problemu jest produkcja bioetanolu II-generacji z surowców ligninocelulozowych. Dodatkową alternatywą jest wykorzystywanie roślin sorgo na cele bioenergetyczne. Dlatego zaprojektowanie i charakterystyka konstrukcji genetycznych do modyfikacji sorgo i tytoniu jako rośliny modelowej, w kierunku zwiększenia wydajności produkcji bioetanolu wydaje się bardzo interesujące.

Sacharoza jest głównym prekursorem związków organicznych wykorzystywanych w metabolizmie roślin podczas ich wzrostu i rozwoju. Jej rola nie ogranicza się jedynie do dostarczania produktów metabolizmu, dodatkowo pełni funkcję cząsteczki sygnałnej i regulatorowej. Ponadto zwiększenie zawartości sacharozy jako preferencyjnego substratu fermentacji pozwoli na podwyższenie wydajności produkcji bioetanolu II-generacji.



Ryc. 1 Konstrukcja genetyczna zawierająca promotor CaMV 35S oraz geny znajdujące się pod jego kontrolą: pirofosforylaza UDP-glukozy (UGPaza), syntaza sacharozy (SuSy) oraz fosfataza sacharozo-6-fosforanu (SPP).

## CYTOSOL



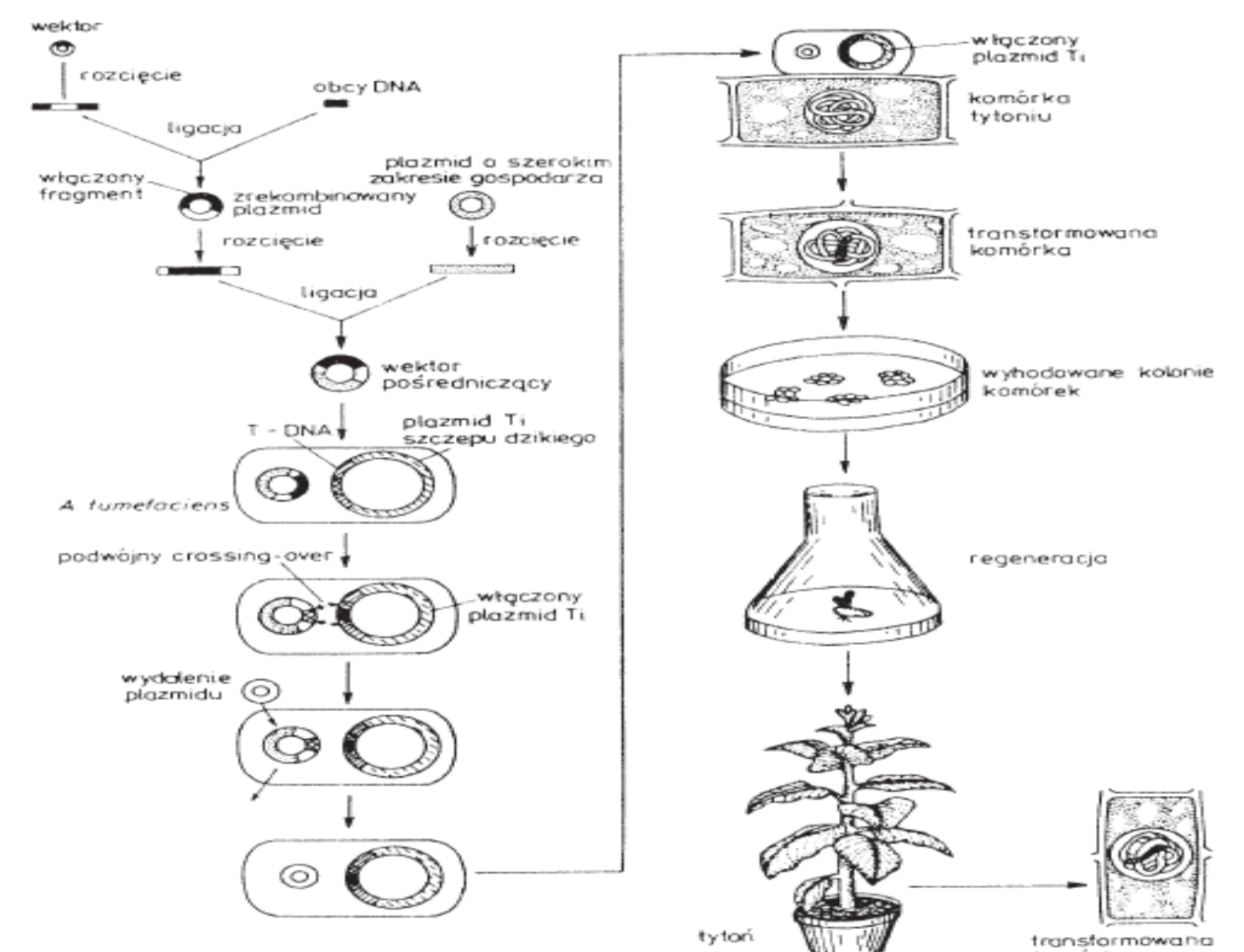
Ryc. 2 Schemat szlaku syntezy sacharozy

## Materiał i metody

Materiał stanowiły siewki sorgo, z których izolowano RNA. Na matrycy RNA syntezowano cDNA. Z wykorzystaniem reakcji PCR na matrycy cDNA uzyskano 4 geny: pirofosforylaza UDP-glukozy (UGPaza, EC 2.7.7.9), syntazę sacharozy (SuSy, EC 2.4.1.13), syntazę fosforanową sacharozy (SPS, EC 2.4.1.14) oraz fosfatazę sacharozo-6-fosforanu (SPP, EC 3.1.3.24). Uzyskane produkty oczyszczano i klonowano do wektora pośredniego StrataClone i docelowego pBI121. Poprawność sekwencji sprawdzano poprzez sekwencjonowanie. Uzyskanie konstrukcji genetycznych posłużyło do transformacji roślin z wykorzystaniem bakterii *Agrobacterium tumefaciens* oraz do mikrowstrzeliwania DNA.



Ryc. 3 Kultury *in vitro* transformowanych roślin tytoniu pBI-SPP kontrola pozytywna kontrola negatywna

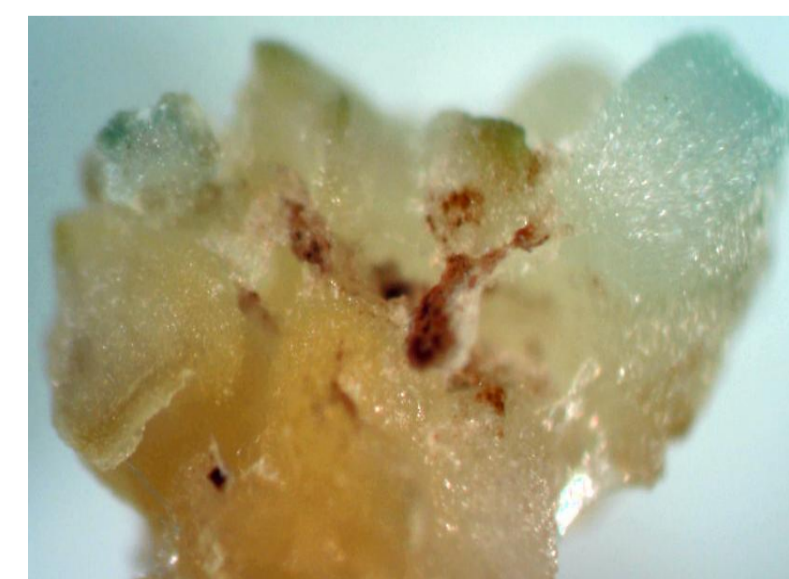


Ryc. 4 Schemat wprowadzania obcego genu do rośliny.

## Wyniki i podsumowanie

W celu podwyższenia zawartości sacharozy w sorgo i tytoniu opracowano, przygotowano i zastosowano ekspresyjne konstrukcje genetyczne pozwalające na nadekspresję genów kodujących enzymy szlaku syntezy sacharozy jak: pirofosforylaza UDP-glukozy (UGPaza, EC 2.7.7.9), syntaza sacharozy (SuSy, EC 2.4.1.13) oraz fosfataza sacharozo-6-fosforanu (SPP, EC 3.1.3.24).

Doniesienia literaturowe wskazują, że efekt ekspresji genów metabolizmu sacharozy może obejmować: podwyższony poziom sacharozy, podwyższony przyrost pierwotny i wtórny rośliny, wzrost produkcji biomasy, wzrost depozycji celulozy lub sacharozy. Wszystkie wymienione efekty są korzystne dla końcowego założenia badań tzn. podwyższenia wartości energetycznej sorgo. Zaprojektowanie konstrukcji genetycznych pozwalających na nadekspresję genów kodujących enzymy szlaku syntezy sacharozy wpłynie na zmianę metabolizmu roślin w kierunku zwiększeniu udziału cukrów prostych w biomacie. Co pozwoli w przyszłości na uzyskanie większej ilości bioetanolu II-generacji z biomasy roślinnej.



Ryc. 5 Transgeniczny kalus sorgo



Ryc. 6 Regeneracja pędu z kalusa poddanego mikrowstrzeliwaniu