

МРНТИ 31.27.21

DOI: 10.71130/3079-6245-2026-8-3-54-62

ПРОТЕОМИКА В НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ В ОБЛАСТИ СОХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ СЕМ. *ERICACEAE*)

О.В. Чижик

Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Беларусь
e-mail chizhikolga17@gmail.com, cchizhik@cbg.org.by

Аннотация. В статье приведены результаты целевых протеомных исследований в области изучения и сохранения биологического разнообразия растений на примере таксонов сем. *Ericaceae* (*Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium corymbosum*) и использования полученных данных в прикладных разработках, включая таксономию и биотехнологию. Представлена характеристика протеома растений в зависимости от видовой и сортовой принадлежности, а также при культивировании *in vitro* и в каллусных культурах. Впервые получены данные по протеомному составу растений сем. *Ericaceae*, культивируемых в условиях *in vivo* и *in vitro*, а также протеомной характеристике каллусов, инициированных из разных эксплантов. Методом 2D-электрофореза установлена видо- и сортоспецифичность продуктов экспрессированного генома. Определены белки, претендующие на роль маркеров видовой и сортовой принадлежности исследованных таксонов. В составе протеомов листовой ткани *in vivo* растений обнаружены низкомолекулярные белки (преимущественно, защитные PR-белки), отсутствующие на протеомных картах клонированных растений. Получены каллусы, инициированные из листовой и стеблевой ткани растений брусники с высоким содержанием БАВ и проведен протеомный анализ перспективных каллусных линий. Выявлены биохимические маркеры, отражающие общие закономерности развития растений и каллусных культур.

Ключевые слова: протеом, белки-маркеры, каллус, протеомные карты, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium corymbosum*

ӨСІМДІКТЕРДІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ӘРТҮРЛІЛІГІН САҚТАУ ЖӘНЕ ПАЙДАЛАНУ САЛАСЫНДАҒЫ ҒЫЛЫМИ ЗЕРТТЕУЛЕРДЕГІ ПРОТЕОМИКА (*ERICACEAE* ТҰҚЫМДАСЫ МЫСАЛЫНДА)

Аңдатпа. Мақалада *Ericaceae* (*Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium corymbosum*) тұқымдасы таксондарының мысалында өсімдіктердің биологиялық әртүрлілігін зерттеу және сақтау саласындағы мақсатты протеомдық зерттеулердің нәтижелері, сондай-ақ алынған деректерді қолданбалы әзірлемелерде, соның ішінде таксономия мен биотехнологияда пайдалану мүмкіндіктері келтірілген. Өсімдіктер протеомының түрлік және сорттық ерекшеліктеріне байланысты, сонымен қатар *in vitro* жағдайында және каллус дақылдарында өсіру кезіндегі сипаттамасы ұсынылған. Алғаш рет *in vivo* және *in vitro* жағдайларында өсірілетін *Ericaceae* тұқымдасы өсімдіктерінің протеомдық құрамы бойынша, сондай-ақ әртүрлі экспланттардан индукцияланған каллустардың протеомдық сипаттамасы туралы деректер алынды. 2D-электрофорез әдісімен экспрессияланған геном өнімдерінің түрлік және сорттық ерекшелігі анықталды. Зерттелген таксондардың түрлік және сорттық тиістілігінің маркерлері рөліне үміткер ақуыздар айқындалды. *In vivo* өсімдіктерінің жапырақ ұлпасы протеомдарының құрамында клондалған өсімдіктердің протеомдық карталарында жоқ төмен молекулалық ақуыздар (негізінен, қорғаныш PR-ақуыздары) табылды. БИЗ (биологиялық белсенді заттар) мөлшері жоғары брусника өсімдіктерінің жапырақ және сабақ ұлпаларынан индукцияланған каллустар алынды және перспективалы каллус желілеріне протеомдық талдау жасалды. Өсімдіктер мен каллус дақылдары дамуының жалпы заңдылықтарын көрсететін биохимиялық маркерлер анықталды.

Түйін сөздер: протеом, маркерлік ақуыздар, каллус, протеомдық карталар, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium corymbosum*.

PROTEOMICS IN SCIENTIFIC RESEARCH ON THE CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF PLANT BIOLOGICAL DIVERSITY: A CASE STUDY OF THE *ERICACEAE* FAMILY

Abstract. The article presents the results of targeted proteomic research focused on the study and conservation of plant biodiversity, using taxa of the *Ericaceae* family (*Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium corymbosum*) as a model. The application of the obtained data in taxonomy and biotechnology is demonstrated. Furthermore, the characteristics of the

plant proteome are analyzed in relation to species and cultivars, as well as during *in vitro* cultivation and in callus cultures.

For the first time, data on the proteomic composition of plant species of the Ericaceae family cultivated under *in vivo* and *in vitro* conditions were obtained, as well as the proteomic characterization of calli initiated from various explants. The species- and variety-specificity of the expressed genome products was established using 2D-electrophoresis. Proteins acting as potential markers for the species and variety identity of the studied taxa were identified. Low-molecular-weight proteins (predominantly protective PR-proteins), which are absent on the proteomic maps of cloned plants, were detected within the proteomes of leaf tissues of *in vivo* plants. Calli initiated from the leaf and stem tissues of lingonberry plants with a high content of bioactive substances (BAS) were obtained and a proteomic analysis of promising callus lines was performed. Biochemical markers reflecting general regularities of plants and callus cultures development were revealed.

Keywords: proteome, marker proteins, callus, proteome maps, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium corymbosum*

Введение

В настоящее время при изучении биологических сообществ и объектов используют методологии и технологии новых научных дисциплин: геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики. Все эти направления взаимосвязаны, дополняют друг друга и способствуют формированию наиболее полной картины всех процессов, происходящих в растениях по схеме: ДНК–РНК–белки–метаболиты–общее функционирование генотипа.

Применение протеомики в науках о растениях остается крайне малоизученным, хотя она и обладает исключительными перспективами и потенциалом в новых междисциплинарных областях исследований. Актуальные примеры использования протеомики в науках о растениях включают биотехнологии, климатическую устойчивость, системы сельскохозяйственного производства и здравоохранение [1].

Протеомика растений, наряду с другими «омиксными» биотехнологиями, стала необходимой в различных сферах классических наук – ботаники, физиологии, биохимии, биотехнологии, тканевой и клеточной биологии. Протеом, как совокупность индивидуальных белков и их комплексов с разнопрофильной функцией и активностью в клетках живых организмов, в отличие от генома, который является статическим по своей природе, обладает широкими динамическими возможностями. Он постоянно меняется, реагируя на экзо- и эндогенные факторы, поддерживая необходимое физиологическое состояние клеток и их развитие [2]. При этом отдельные белки и группы белков протеома могут демонстрировать качественную и количественную стабильность, что позволяет использовать их в качестве маркеров при оценке биологического разнообразия растений, морфологических и физиологических характеристик процессов развития. Белки, как маркеры, являются источниками информации при изучении эволюции растений, фенологических различий, при ведении селекционных работ и др.

Изложенные подходы в использовании протеомики растений явились стратегическими в научных исследованиях ученых Государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси».

Разработки по изучению протеома растений на первом этапе были направлены на решение следующих задач:

- выявление белков-маркеров таксономической принадлежности растений и паспортизации видов и сортов растений сем. *Ericaceae*;
- определение белков-маркеров физиологического состояния растений сем *Ericaceae*, культивируемых *in vivo* и *in vitro* и каллусных культур.

Исследования протеомов ботанических объектов, включая коллекционные фонды, являются актуальными, так как позволяют получить новую важную информацию о процессах жизнедеятельности и продуктивности растительного организма, возможностей целевого регулирования этих процессов, включая селекцию растений. Прикладной задачей в области биологии растений является инвентаризация (идентификация и каталогизация) белков конкретного таксона, построение белковых атласов клеток и тканей, идентификация маркерных белков.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований явилась листовая ткань растений сем. *Ericaceae* – брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* Ait.) и голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси, а также каллусные культуры, инициированные из различных типов эксплантов.

В протеомике для достижения оптимальных результатов исследований процедура пробоподготовки имеет решающее значение. Особенно это касается растительных тканей, которые содержат высокий уровень мешающих анализу соединений, таких как полисахариды, липиды, фенольные соединения, протеазы, а также широкий спектр вторичных метаболитов [3].

Получение качественного образца для протеомных исследований усложняет и то обстоятельство, что многим растительным тканям свойственно низкое содержание белка на фоне высоких концентраций сопутствующих соединений.

В связи с вышеизложенным, ключевым фактором в получении качественных и воспроизводимых данных является получение исходных образцов для протеомных исследований.

Общую фракцию клеточных белков растительной ткани проводили на основе методик, разработанных Amme et al. [4] и Vincent et al. [5]. Фракции белков очищали от примесей, мешающих изофокусированию (соли, детергенты и др.), с помощью набора реагентов «2-D Clean-Up Kit» (производство GE Healthcare, США). Процедуру очистки повторяли дважды.

Для изоэлектрофокусирования (ИЭФ) общей фракции клеточных белков использовали иммобилизованные сухие стрипы ReadyStrip™ IPG с иммобилизованным градиентом pH (Bio-Rad, США). ИЭФ проводили на автоматической станции Protean i12 IEF Cell (Bio-Rad, США). После ИЭФ IPG-стрипы уравнивали с буферными системами для вертикального электрофореза белков в денатурирующих условиях в щелочной системе по методу Laemmli [6] (2-ое направление 2D-электрофореза). Электрофорез проводили на готовых гелях Criterion TGX Precast Midi Protein Gel (Bio-Rad Laboratories, США). Гели окрашивали флуоресцентным красителем Oriole Fluorescent Gel Stain (Bio-Rad Laboratories, США) и фотографировали, используя систему VersaDoc (Bio-Rad, США). Анализ протеомных карт проводили с помощью специализированного программного обеспечения PDQuest 2-D Analysis Software. Определение Mm исследуемых белков проводили, используя базу данных UniProt. Все эксперименты проводили в 3-хкратной повторности. Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием компьютерной программы Statistica 7.0, изменения считали достоверными при $p < 0,05$.

При 2D-электрофорезе с изоэлектрофокусированием в качестве 1-го направления, экспериментально определенные молекулярные массы большинства белков совпадают с теоретически рассчитанными. Однако в некоторых случаях один и тот же белок имеет фактическую молекулярную массу больше теоретической, поскольку во время проведения ИЭФ молекулы белка могут образовывать агрегаты.

При подсчете числа функционально различных белков на полученных электрофореграммах, необходимы поправки на изоформы, пост-трансляционные модификации, РНК-редактирование и протеолиз белков, поскольку именно вследствие этих процессов некоторые белки на 2D-электрофореграммах формируют «шлейф» или «бусы» из белковых пятен (с различными значениями pI, но с одинаковой молекулярной массой). Наличие цепочки пятен на электрофореграммах могут быть результатом карбамилирования в ходе приготовления образца из-за содержания в буфере мочевины. К тому же возможны потери отдельных белков при выделении и очистке образцов от примесей. Указанное необходимо учитывать при определении общего числа функционально различных белков [7]. Следует отметить, что обнаруженное в ходе анализа 2D-электрофореграмм число белковых зон могло быть занижено, так как ряд минорных белков перекрывается доминирующими белками или находится ниже порога чувствительности к красителю. Визуализация этих

белков впоследствии может быть осуществлена посредством проведения 2D-электрофореза в более узком диапазоне pI.

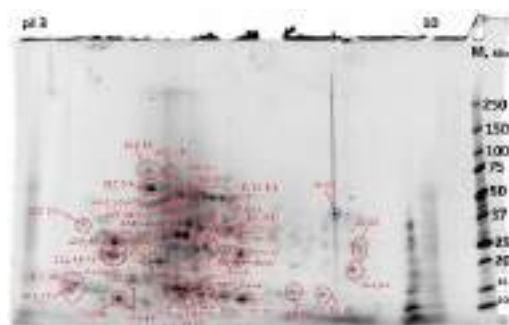
Результаты и обсуждение

Брусника обыкновенная (Vaccinium vitis idaea Ait.)

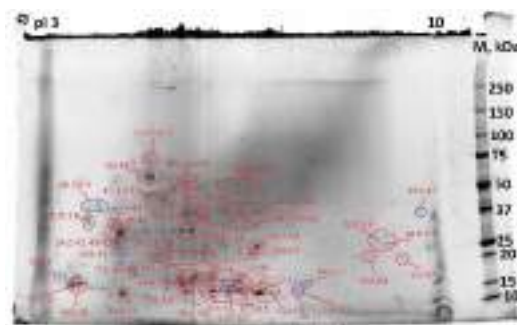
В видовом многообразии представителей семейства *Ericaceae* брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* Ait.) занимает особое место как источник биологически ценных соединений с высоким уровнем антиоксидантной активности и асептических свойств. Культура брусники имеет перспективу расширения плантационного выращивания, для чего необходимо создание новых сортов на основе использования молекулярно-генетических подходов, включая протеомные.

В Центральном ботаническом саду НАН Беларуси впервые получены протеомные карты таксонов брусники обыкновенной, характеризующихся высоким содержанием БАВ.

На протеомных картах общего пула белков листовой ткани наблюдали группы белков, а также дифференциально экспрессирующиеся отдельные белки, характерные для вида *Vaccinium vitis-idaea* и претендующие на роль маркерных белков этого вида. В результате скрининга протеомов сортов брусники также были выявлены белки, которые могут претендовать на роль белков-маркеров сортовой принадлежности на основе уровня их экспрессии у данного сорта (рисунок 1, таблица 1).



а - *Vaccinium vitis idaea* minus



б – сорт Мазовия (Mazovia)

Рисунок 1 – Протеомный профиль общего пула белков листовой ткани растений *Vaccinium vitis-idaea*

Таковыми сортовыми маркерами у брусники сорта Мазовия (Mazovia) могут являться белки, представленные в таблице 1.

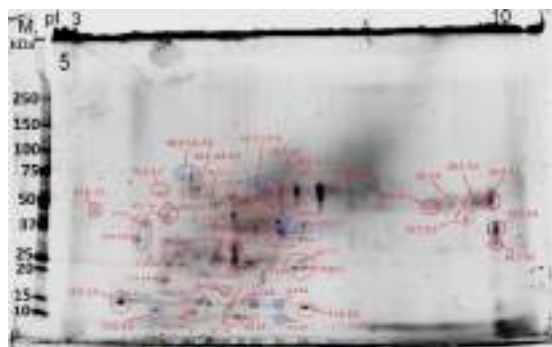
Таблица 1 – Белки, дифференциально экспрессирующиеся в листовой ткани брусники обыкновенной сорта Mazovia

	М m, kDa	р I	Белок	Ге н
	3 8,0	3 ,8– 4,0	Flavonol synthase (EC 1.14.11.23)	<i>FL</i> <i>S</i>
	3 5,9	9 ,7	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (EC 7.1.1.2)	<i>nad</i> <i>1</i>
	3 1,8	3 ,8	Maturase K (Fragment)	<i>mat</i> <i>K</i>
	2 0,8	4 ,4	NADH-quinone oxidoreductase subunit I (EC 7.1.1.-) (NADH dehydrogenase I subunit I) (NDH-1 subunit I)	<i>ndh</i> <i>I nuoI</i>
	1	3	Ribosomal protein L16	<i>rpl</i>

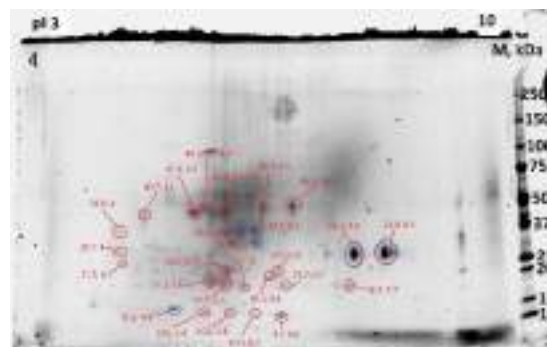
	6,0	,3		16
	1	6	Succinate dehydrogenase subunit 4	<i>sdh</i>
	5,4	,4		4
	1	7	Ribosomal protein L14	<i>rpl</i>
	4,5	,7		14
	1	6	NADH-quinone oxidoreductase subunit A (EC 7.1.1.-) (NADH dehydrogenase I subunit A) (NDH-1 subunit A) (NUO1)	<i>ndh</i> <i>C nuoA</i>
	3,9	,3		
	1	7	Ribosomal protein S18	<i>rps</i>
	2,9	,5		18

Еще одной задачей биологии растений является получение новых данных о явлениях, происходящих при дедифференциации специализированных тканей растений.

Для этого были получены каллусы, инициированные из листовой и стеблевой ткани растений брусники с высоким содержанием БАВ и проведен протеомный анализ перспективных каллусных линий. Протеомные карты исходного объекта и инициированных из него каллусов представлены на рисунке 2.



а – листовая ткань



б – каллус

Рисунок 2 – Протеомные профили общего пула белков *Vaccinium vitis-idaea*, сорт Коралл (Koralle);

На протеомной карте листового каллуса брусники *Vaccinium vitis-idaea* subsp. *minus* методом 2D-электрофореза нами были обнаружены четыре изоформы основных белков, лежащих в диапазоне pI 8,7–9,5 с Mm 46,6; 48,0; 48,5 и 50,5 kDa, предположительно, ферменты фотосинтеза и антоцианин – 5 - ароматическая ацилтрансфераза, претендующие на роль маркерных для листового каллуса брусники. На протеомной карте стеблевого каллуса отмечен основной белок с Mm 47,3 kDa, pI 9,4, характеризующийся сильной экспрессией – потенциальный маркер каллуса стеблевого происхождения.

При сравнительном протеомном анализе общего пула белков каллусных культур брусники обыкновенной разных таксонов было обнаружено, что каллусы, инициированные из определенного типа ткани (лист, стебель), содержат белки, характерные для того же типа ткани, из которой был получен каллус, что позволило определить белки, претендующие на роль потенциальных маркеров происхождения каллуса.

Голубика высокая (*Vaccinium corymbosum* L.)

Следует отметить, что *до настоящего времени детального изучения протеомного статуса растений голубики высокой практически не проводилось*. Исследования общего протеома голубики высокой методом 2D-электрофореза с использованием автоматической станции Protean i12 IEF Cell (Bio-Rad, США) были выполнены впервые.

На основе проведенных исследований были составлены протеомные карты *in vivo* и *in vitro* растений четырех сортов голубики высокой [8].

По нашим оценкам, общий протеом листовой ткани растений данного вида насчитывает около 350 белков. Однако следует учитывать, что количество последних может быть занижено, поскольку часть белков в процессе анализа подвергается протеолизу, а при проведении ИЭФ их молекулы способны агрегироваться, что может несколько изменять количество фракций, величину молекулярной массы и значение изоэлектрической точки pI. Поэтому для определения общего количества функционально различающихся белков в наблюдаемом спектре пятен вносили поправку на изоформы, продукты протеолиза и возможные потери, обусловленные посттрансляционными модификациями [9].

Установлено, что, независимо от генотипа, основная масса белков на протеомных картах голубики *in vivo* и *in vitro* находится в области молекулярных масс (Mm) от 10 до 80 kDa и диапазоне pI 3,5–7,5. При этом белковые профили листовой ткани всех исследуемых образцов характеризовались высокой степенью идентичности, подтверждаемой присутствием в них сходных групп белков, являющихся, на наш взгляд, характерными для данного вида вересковых.

На представленных на рисунке 3 протеомных картах растений голубики *in vivo* и *in vitro* отчетливо детектируются 9 сходных по молекулярным массам белковых зон (обозначены красным маркером), представляющих собой изоформы, различающиеся значениями pI, а также отдельные белки (обозначены синим маркером).

Сходные для всех образцов белковые зоны находились в диапазоне Mm 12–60 kDa и pI 3–5 и характеризовались следующими параметрами: 1) Mm 57,7–60,0 kDa, pI 5,2–5,5; 2) Mm 49,5–50,0 kDa, pI 5,2–5,5; 3) Mm 49,5–50,0 kDa, pI 5,2–5,5; 4) Mm 38,2–40,0 kDa, pI 4,1–6,4; 5) Mm 23,6 kDa, pI 4,4–4,6; 6) Mm 19,3–23,5 kDa pI 4,1–7,2; 7) Mm 21,1–29,8 kDa, pI 3,4–3,7; 8) Mm 11,9–15,5 kDa, pI 3,0–3,5; 9) Mm 12,2–12,6 kDa, pI 7,0–7,9 [8, 10].

Дифференциально экспрессирующиеся, сходные для всех образцов голубики кислые белки имели следующие характеристики: Mm 73,1 kDa, pI 3,9; Mm 57,7 kDa, pI 4,0; Mm 45,5 kDa, pI 4,0. Предположительно, это ферменты гидроксилазы и факторы транскрипции. Данные белки могут претендовать на роль белков-маркеров вида *Vaccinium corymbosum* L. [8, 10].

Для выявления белков-маркеров сортовой принадлежности и функционального состояния растений голубики высокой, произрастающих в условиях открытого грунта (*in vivo* и *in vitro*), нами проведен сравнительный анализ протеомных карт каждого сорта.

На электрофореграммах общего протеома голубики сорта Weymouth, представленных на рисунке 3, были обнаружены дифференциально экспрессирующиеся белки, которые можно рассматривать в качестве белков-маркеров сортовой принадлежности, а также функционального состояния растений.

Так, в образцах листовой ткани *in vivo* растений голубики высокой сорта Weymouth выявлены три полипептида – низкомолекулярные основные белки с Mm 8,9 kDa, pI 9,2 (Transcription factor T); Mm 8,8 kDa, pI 8,0 (Flavonoid 3'-hydroxylase (фрагмент)); Mm 34,7 kDa, pI 9,4 (Cyclin-dependent kinase B1), которые не экспрессируются у *in vitro* растений того же сорта. Также на протеомной карте голубики сорта Weymouth *in vivo* были обнаружены два основных белка с Mm 14,3 kDa, pI 9,5 (Dehydrin), Mm 25,4 kDa, pI 8,9 (Glutathione S-transferase), хорошо детектируемые у исходных *in vivo* растений, но с крайне слабой экспрессией у *in vitro* образцов.

У растений голубики сорта Bluecrop *in vivo* (рис. 3) зафиксированы три низкомолекулярных основных белка с Mm 23 kDa, pI 9; 34 kDa, pI 9; 36 kDa, pI 9 (Transcription factor, фрагменты), отсутствующих на электрофореграмме *in vitro* растений [10].

Идентификация дифференциально экспрессирующихся белков проведена путем сравнения экспериментально рассчитанных молекулярных масс с данными, содержащимися базе UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Дальнейшая идентификация белков на полученных протеомных картах будет продолжена при проведении масс-спектрометрического анализа.

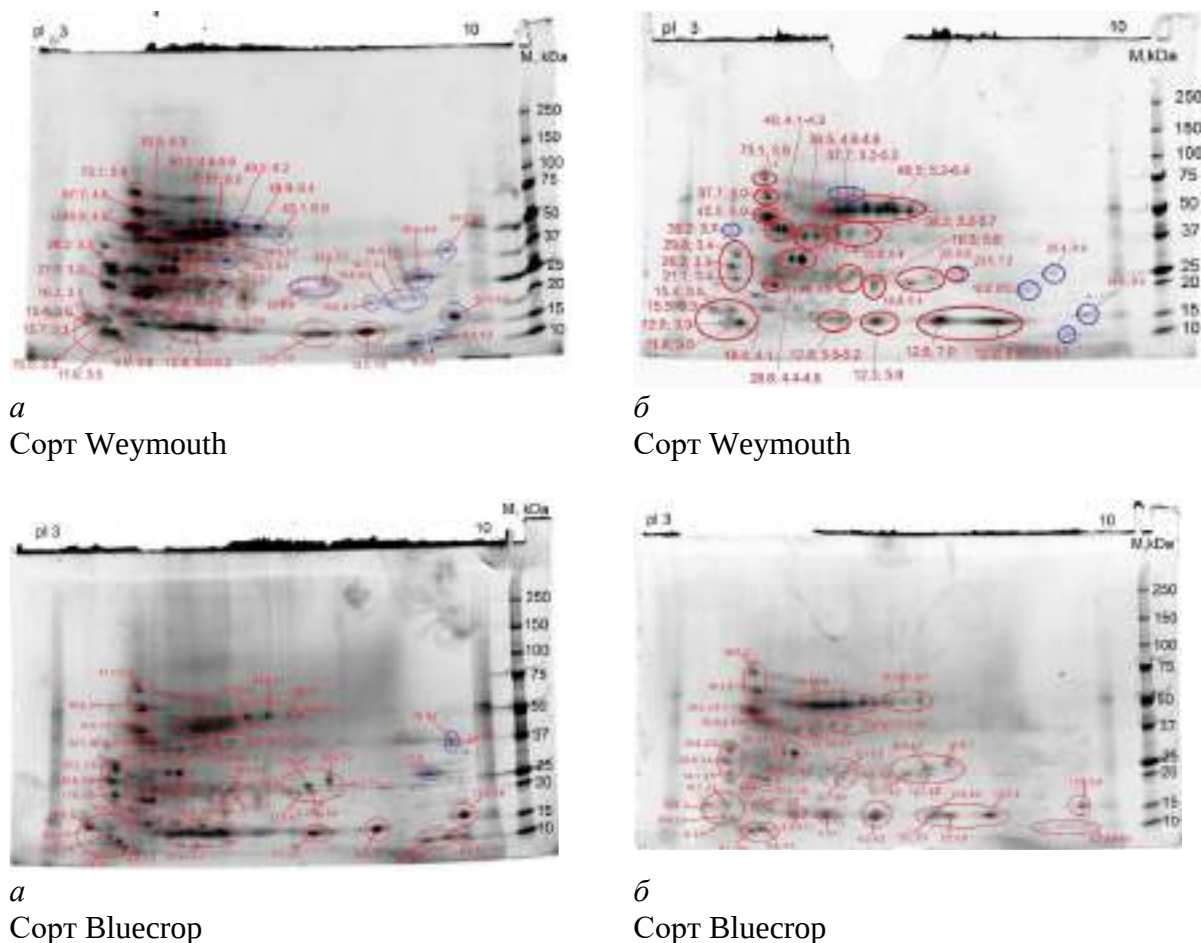


Рисунок 3 – Электрофореграммы *Vaccinium corymbosum* L., сорта Weymouth и Bluecrop (a – *in vivo*, б – *in vitro*)

Результаты сравнительного протеомного анализа общего пула белков листовой ткани четырех сортов голубики высокой *in vivo* и растений, полученных методом микрклонального размножения *in vitro*, показали высокую степень идентичности белковых профилей, что подтверждает стабильность и сортосоответствие исследуемых образцов. Вместе с тем, были выделены и зоны с дифференциально экспрессирующимися белками, которые могут претендовать на роль **маркеров сортовой принадлежности голубики**.

Выявленные различия в экспрессии групп белков, являющихся, в основном, субъединицами окислительно-восстановительных ферментов и факторами транскрипции, могут быть обусловлены эпигенетическими воздействиями, влияющими на экспрессию определенных генов. В составе протеомов листовой ткани *in vivo* растений обнаружены дифференциально экспрессирующиеся низкомолекулярные белки (преимущественно защитные PR-белки и белки (субъединицы) патогенов), отсутствующие на протеомных картах клонированных растений.

Заключение. Представлены данные по протеомному составу растений сем. Ericaceae, культивируемых в условиях *in vivo* и *in vitro*, а также протеомной характеристике каллусов, инициированных из разных эксплантов. Методом 2D-электрофореза выделены зоны с дифференциально экспрессирующимися белками, которые претендуют на роль маркеров видовой и сортовой принадлежности голубики высокорослой. Выявлены видовые и сортовые различия в экспрессии групп белков, являющихся субъединицами окислительно-восстановительных ферментов и факторами транскрипции, влияющими на экспрессию отдельных генов. В составе протеомов листовой ткани *in vivo* растений обнаружены

низкомолекулярные белки (преимущественно, защитные PR-белки), отсутствующие на протеомных картах клонированных растений.

Полученные данные найдут применение в прикладных разработках, включая таксономию и биотехнологию, селекцию, а также в образовательных программах ВУЗов.

Благодарности

Автор выражает благодарность академику Решетникову В.Н, за помощь в планировании экспериментов и поддержку, м.н.с. Кардаш Е.Б. за помощь в проведении экспериментальных работ.

Список литературы

1. Geddes-McAlister J., Uhrig R. G. The plant proteome delivers from discovery to innovation // *Trends in Plant Science*. 2025. Vol. 30, Iss. 8. P. 837–845. DOI: 10.1016/j.tplants.2025.03.003.
2. Чижик, О. В. Протеомика растений / О. В. Чижик; Национальная академия наук Беларуси, Центральный ботанический сад. – Минск: Беларуская навука, 2025. – 119 с., ISBN: 978-985-08-3310-
3. Pasquali G. Metabolic engineering of cell cultures versus whole plant complexity in production of bioactive monoterpene indole alkaloids: recent progress related to old dilemma // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006. Vol. 101, No. 4. P. 287–296. DOI: 10.1263/jbb.101.287.
4. Amme S. A proteome approach defines protective functions of tobacco leaf trichomes // *Proteomics*. – 2005. – Vol. 5, No 10. P. 2508–2518., ISBN: 978-985-08-3310-5.
5. Vincent D., Wheatley M.D., Kramer G.R. Optimization of protein isolation and solubilization for ripe grapes // *Electrophoresis*. – 2006. – No 27. P.1853– 1865., <https://doi.org/10.1002/elps.200500698>.
6. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – Vol. 227, No 5259. P. 680–685., <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
7. Talei D., Valdiani A., Abdullah M. P. Impact of protein diversification on morphometric behavior of *Andrographis paniculata* Nees // *Plant Systematics and Evolution*. 2014. Vol. 300, Iss. 5. P. 1003–1010. DOI: 10.1007/s00606-013-0938-z.
8. Чижик, О. В. Голубика высокая (*Vaccinium corymbosum* L.): протеомные и молекулярно-генетические исследования / О. В. Чижик, А. Н. Юхимук, В. Н. Решетников // *Известия Национальной академии наук Беларуси*. – Минск, 2022. – Т. 67, № 2. – С. 147–157., <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-147-157>.
9. Frumin, L. L. The isoelectric focusing problem analytic solution / L. L. Frumin, G. V. Zilberstein, S. E. Peltek // *Jurnal of Biochemical and Biophysical Methods*. – 2000. – Vol. 45 (2). – P. 205–209., [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(00\)00118-4](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(00)00118-4).
10. Физиолого-биохимические основы применения микроклонального способа размножения голубики высокорослой для получения оздоровленного посадочного материала / Ж. А. Рупасова, В. Н. Решетников, О. В. Чижик [и др.]. – Минск: Беларус. навука. – 2022. – 138 с., ISBN: 978-985-08-2831-6.

References

1. Geddes-McAlister, J., & Uhrig, R. G. (2025). The plant proteome delivers from discovery to innovation. *Trends in Plant Science*, 30(8), 837–845. doi.org
2. Chizhik O.V. (2025) *Proteomika rastenii* [Plant proteomics]. National Academy of Sciences of Belarus, Central Botanical Garden. Minsk, Belaruskaya Navuka Publ., 119 p. (In Russ.), ISBN: 978-985-08-3310-5.
3. Pasquali, G. (2006). Metabolic engineering of cell cultures versus whole plant complexity in production of bioactive monoterpene indole alkaloids: recent progress related to old dilemma. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(4), 287–296. doi.org
4. Amme S. (2005) A proteome approach defines protective functions of tobacco leaf trichomes. *Proteomics*, vol. 5, no. 10, pp. 2508–2518, ISBN: 978-985-08-3310-5.
5. Vincent D., Wheatley M.D., Cramer G.R. (2006) Optimization of protein extraction and solubilization for mature grape berry clusters. *Electrophoresis*, no. 27, pp. 1853–1865, <https://doi.org/10.1002/elps.200500698>.
6. Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, vol. 227, no. 5259, pp. 680–685, <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
7. Talei, D., Valdiani, A., & Abdullah, M. P. (2014). Impact of protein diversification on morphometric behavior of *Andrographis paniculata* Nees. *Plant Systematics and Evolution*, 300(5), 1003–1010. doi.org
8. Chizhik O.V., Yukhimuk A.N., Reshetnikov V.N. (2022) Golubika vysokaya (*Vaccinium corymbosum* L.): proteomnye i molekulyarno-geneticheskie issledovaniya [Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.): proteomic and molecular genetic studies]. *Izvestiya Natsionalnoi akademii nauk Belarusi* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus], Minsk, vol. 67, no. 2, pp. 147–157. (In Russ.), <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-147-157>.

9. Frumin L.L., Zilberstein G.V., Peltek S.E. (2000) The isoelectric focusing problem analytic solution. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 45, no. 2, pp. 205–209, [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(00\)00118-4](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(00)00118-4).
10. Rupasova Zh.A., Reshetnikov V.N., Chizhik O.V. et al. (2022) *Fiziologo-biokhimicheskie osnovy primeneniya mikroklonalnogo sposoba razmnozheniya golubiki vysokorosloi dlya polucheniya ozdorovlennogo posadochnogo materiala* [Physiological and biochemical bases of application of microclonal propagation method of highbush blueberry to obtain healthy planting material]. Minsk, Belaruskaya Navuka Publ., 138 p. (In Russ.), ISBN: 978-985-08-2831-6.

Сведения об авторе. Чижик Ольга Владимировна, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», кандидат биологических наук (PhD), доцент

chizhik@cbg.org.by, chizhikolga17@gmail.com

+375 (29) 684-84-73

SPIN-код автора: 9181-3511 ПИНЦ;

ORCID ID: O.V. Chizhik 0009-0008-0781-0897