

АНТОНЮК М.З.[✉], ЄФІМЕНКО Т.С., ТЕРНОВСЬКА Т.К.

Національний університет «Києво-Могилянська академія» МОН України,

Україна, 04070, м. Київ, вул. Г. Сковороди, 2

✉ antonyuk.m@ukma.edu.ua, (066) 735-29-06

МІНЛИВІСТЬ У ПОСЛІДОВНОСТІ ГЕНА *GLU1* У ПОПУЛЯЦІЯХ ПИРІЮ
СЕРЕДНЬОГО ЯК МОЖЛИВА АДАПТИВНА ОЗНАКА

Мета. Порівняння структури генів *Glu*, виділених із рослин *Th. intermedium*, вирощених за різних мікрогеографічних умов. **Методи.** ПЛР ДНК зразків пирію з праймерами до ділянок генів *Glu-1Dx* та *Glu-1Du*; сиквенс та порівняльний аналіз поліморфних ампліконів та послідовностей із баз даних **Результати.** Центральні фрагменти генів *Glu-1Dx* та *Glu-1Du* рослин пирію середнього, що зростали за різних мікрогеографічних умов, характеризуються значними відмінностями у порівнянні з послідовностями генів *Aegilops tauschii* (*Glu-1Dx*), *Thinopyrum intermedium* (*Glu-1St#2x*), *Triticum aestivum* (*Glu-1Du*), наявних у базах даних. Для обох генів у наявності точкові мутації інсерцій та делецій, які перетворювали глутамінові триплети, характерні для запасних білків, на стоп-кодони; вони спричинюють появу кодонів для цистеїну, метіоніну та проліну, амінокислот, від яких залежить поверхневий заряд білка, гідрофобні/гідрофільні властивості, щільність конформації, стабільність структури. **Висновки.** Зміни у будові високомолекулярних глютенінів, які спричинюються зареєстрованими мутаціями, можуть впливати на здатність протеаз ефективно їх розщеплювати, що впливає на швидкість проростання насінин. Стратегія повільного проростання зернівок може бути одним із механізмів виживання дикорослого злаку *Thinopyrum intermedium* за несприятливих умов довкілля.
Ключові слова: *Thinopyrum intermedium*, *Glu-1Dx*, *Glu-1Du*, сиквенс, точкові мутації, стоп-кодони.

Однорічний, перехреснозапильний злак *Thinopyrum intermedium* Barkworth & D.R. Dewey, пирій середній, розповсюджений у Європі та Західній Азії. Геном гексаплоїдний JJ^sJ^sSS або JJStStSS [1, 2], J^s дуже подібний до геному D *Ae. tauschii* [3]. Має два підвиди *ssp. intermedium* та *ssp. trichophorum*. Перший давно використовують для гібридизації під час створення стійкої до хвороб пшениці, другий – для

підвищення її поліморфності за запасними білками та для підвищення продуктивності [3]. Повідомляється про інтрогресію локусу з *Th. intermedium* 1St#2 хромосоמו-специфічного HMW-GS регіону у D геном, на першу хромосому *Triticum aestivum*. За отриманою послідовністю локусу 1St#2 хромосоми виявилось, що це повноцінний, трохи вкорочений ген х-типу високомолекулярних глютенінів, що містить як N-, так і C-термінальний домен. Дослідження за GISH виявило, що фізично цей ген *Glu-1St#2x* локалізований у ділянці FL0.60–1.00 на довгому плечі першої хромосоми St геному. У декількох лініях утворювалася стійка транслокація на довге плече 1D хромосоми, а у інших випадках утворювалися або ізотеломерна 1St#2L, або нотелоцентрична 1St#2L (2n=43) хромосомна лінія. Філогенетичний аналіз послідовності гена пирію вказує на те, що еволюційно він давніший, ніж гомологічні гени HMW-GS пшениці. Інтрогресія гена HMW-GS пирію у геном пшениці може впливати на збільшення врожайності та якості пшениці [2, 5, 6].

Вважається, що дикорослі злаки є донорами генів стійкості до абіотичних чинників довкілля, зокрема посухи, холоду чи солоності ґрунту, хоча зрозуміло, що комплексні фізіологічні процеси, які забезпечують таку стійкість, контролюються багатьма генами [4]. Стресовий фактор діє ззовні та порушує оптимальні умови існування рослини. Ранньою відповіддю на абіотичний стрес є фізіологічний рівень регуляції метаболізму рослини. Загалом абіотичний стрес індукує утворення протеїнів двох груп: тих що задіяні у відповіді на стрес, і тих що задіяні у відновленні. До першої групи відносять білки основних метаболічних шляхів (акумулявання енергії), трансмембранні канали (осмотичний, іонний баланс), ROS антиоксиданти (захист від оксидативного стресу), білки, задіяні в захисті інших білків (шаперони, шапероніни), вторинні метаболіти (запасання енергії). До другої групи білків належать білки біосинтезу лігніну, білки

© АНТОНЮК М.З., ЄФІМЕНКО Т.С., ТЕРНОВСЬКА Т.К.

цитоскелету, білки, необхідні для синтезу інших білків *de novo*, білки сигнальних систем [7, 8]. У природних умовах відбуваються процеси гібридизації, в тому числі інтрогресивної, наслідком чого є розширення генетичного пулу генів та збільшення адаптаційної пластичності рослин до мікрогеографічних змін [9]. Виявлення між рослинами популяції одного і того ж самого виду, що зростають у різних мікрогеографічних умовах, поліморфізму за якоюсь ознакою є певним свідченням значущості цієї ознаки для пристосованості рослини до успішного зростання за різним рівнем якихось стресових чинників. Виявлення такого поліморфізму додає певну інформацію до наших спроб зрозуміти молекулярно-генетичну стратегію виживання дикорослого злаку за різними умовами довкілля. В свою чергу, розуміння цих механізмів може бути спрямоване на оптимізацію наших зусиль з інтрогресії чужинних генів для підвищення адаптивного потенціалу пшениці.

У статті наведено результати порівняння структури генів *Glu*, виділених із рослин *Th. intermedium*, що представляли популяції виду з різних мікрогеографічних умов.

Матеріали і методи

Рослинний матеріал було відібрано з п'яти популяцій *Thinopyrum intermedium*, які відрізнялися за мікрогеографічними умовами зростання у ході вибору популяцій враховували зволоженість та характер ґрунту (м. Кременець Тернопільської області). Між популяціями 1–3 та 4–5 була наявна просторова ізоляція у сотні метрів.

За наявними в Інтернеті базами даних були відібрані послідовності *Glu-IDx Aegilops tauschii* (номер GenBank DQ681076.1), *Glu-IDy Triticum aestivum* (номер GenBank JF736016.1), *Glu-1St#2x* у *Thinopyrum intermedium* (послідовність перекладано зі статті у fasta format програмою з ресурсу <http://www.ebi.ac.uk/Tools/sfc/readseq/>) [10]. До центральної ділянки генів *Glu* були підібрані послідовності праймерів із використанням програми Primer-BLAST, на сайті ncbi.nlm.nih.gov [11]. Праймери підбирали до ділянки 630–830 п.н. з урахуванням самокомплементарності 5' та 3' кінця та оптимальною температурою плавлення ($T_m=50-60^\circ\text{C}$):
Pr1_TaesDy_F ACTTCTCTGCAGCAACCA
Pr1_TaesDy_R GCTAGGTAATGCCCTTGT
Pr3_AtauDx_F AGGGCAGCAACCAGGA
Pr3_AtauDx_R GTTGCCCTTGTCCCGA

Pr5_Tint_1St2x_F CGGGAGAAGGACAACCA
Pr5_Tint_1St2x_R GCCCTTGTCCCGTT

Синтез праймерів виконала фірма «Metabion Internation AG». Назва праймера складається з номера, далі Taes – *Triticum aestivum*; Atau – *Aegilops tauschii*; Tint – *Thinopyrum intermedium*; Dy – ген D, алель y; Dx – ген D, алель x; 1St2x – ген St геному, алель 2x; F – forward; R – reverse.

Виділення ДНК здійснювали за ЦТАБ методикою. Умови проведення ПЛР були стандартними. Розділення продуктів ПЛР виконували у 2 % агарозі. Необхідний компонент спектра з гелю вирізали стерильним скальпелем. Очистка виконувалася за допомогою набору Jet Gel Extraction Kit (Thermo Scientific).

Результати та обговорення

За ампліфікації ДНК рослин пирію з різних популяцій із праймером Pr3_AtauDx(F/R), який був підібраний до повторювальної ділянки (RD) послідовності *Glu-IDx Aegilops tauschii* (номер GenBank DQ681076.1) з очікуваним продуктом у 307 п.н, отримали продукти, що відрізнялися за масою для різних популяцій (рис. 1).

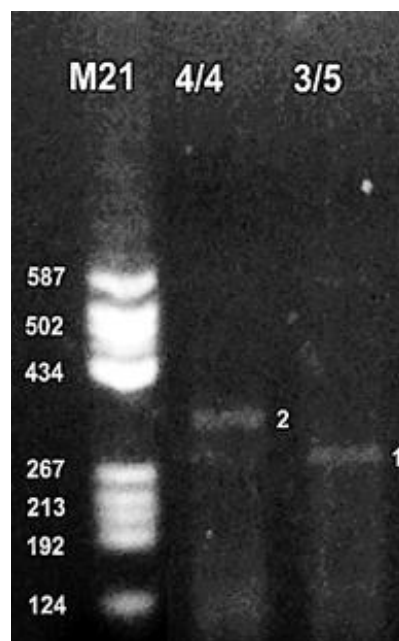


Рис. 1. Електрофоретичний спектр розділення специфічного продукту повторювальної ділянки (RD) з праймером Pr3_AtauDx. Маркер мас: M21 (гідролізована ферментом BsuRI на 22 фрагменти плазмід рBR322). Цифрами 1–2 позначені продукти ампліфікації. Зверху підписи зразків ДНК рослин; перша цифра – номер популяції, друга цифра – номер рослини.

Для з'ясування природи поліморфізму, що спостерігається, з гелю було виділено амплікони фрагментів гена *Glu-1Dx* з ДНК чотирьох зразків пирію з різних популяцій та секвеновані. Отримані результати секвенсу порівнювали з очікуваною послідовністю з *Aegilops tauschii* (послідовність 580–880 п.н., RD у ділянці 630–830 п.н.), до якої були підібрані праймери, а також з компонентом гену *Glu-1St#2x* у *Thinopyrum intermedium* [2]. Таким чином проводилося порівняння очікуваної послідовності (300 п.н.) та послідовності, що була отримана безпосередньо в процесі секвенування зразка. На основі такого порівняння можна зробити висновки стосовно змін, що відбулися у секвенованій послідовності. Послідовності отриманих секвенованих зразків спочатку переводили у fasta формат за допомогою Sequence Format Converter [12] та вирівнювали за допомогою Multiple Sequence Alignment by CLUSTALW [13]. Потім порівнювали послідовності, застосовуючи ресурс Supermatcher Calculate [14], та шукали певні повторювальні ділянки та послідовності використовуючи програму AkelPad. Порівняння послідовностей *Aegilops tauschii* та *Thinopyrum intermedium*, наявних у базі даних, виявило подібність між ними 75,1 %. Ці послідовності містять велику кількість повторів CAG, CAA (глутамін) та їхніх комбінацій, CAGCAA, CAACAA, CAGCAG та CAACAACA, CAGCAACCAG. Отримані нами послідовності мали подібність до послідовностей *Aegilops tauschii* та *Thinopyrum intermedium* з бази даних у межах 48–58 %. Найбільша подібність була для рослини пирію з третьої популяції та *Aegilops tauschii*, вона становила 57,7 %. За нашими даними, секвеновані послідовності глутенінового гена пирію теж містили тринуклеотидні, гексануклеотидні та нонануклеотидні повтори з глутаміном; у деяких місцях спостерігати точкові мутації, інсерції та мікроделеції (рис. 2).

У секвенованих зразках із різних популяцій пирію середнього спостерігалися різні зміни у структурі генів. Крім великої кількості точкових мутацій як транзицій, так і трансверсій, у наявності були мікроделеції та інсерції. В результаті таких мутацій з'являлися стоп-кодони TAA, TAG, TGA замість глутамінових тринуклеотидів CAG, CAA, а це сприяє скороченню довжини білка глутеніну [2]. Найбільша кількість стоп-кодонів у центральному (повторювальному) фрагменті гена *Glu-1Dx* виявилась у рослини з другої популяції, яка росла у найбільш жорсткіших посушливих мікрогеографічних умовах із бідним ґрунтом.

Ідентифіковано наявність великої кількості цистеїнових тринуклеотидів (TGT, TGC): у першій та четвертій популяціях – два, у третій – три, у другій популяції – чотири (в порівнянні з двома у послідовності *Glu-1St*2x* з бази даних). Виявлено появу шести метіонінових тринуклеотидів (ATG) у другій популяції, також по одному – у третій та четвертій популяціях. В очікуваній послідовності гена *Glu-Dx* метіонінові триплети відсутні. Наявність цистеїнових та метіонінових амінокислот сприяє появі у синтезованому білку більшої кількості дисульфідних зв'язків у вторинній та третинній структурі, що може викликати формування більш щільної конформації білка. Крім того, цистеїн та метіонін сприяють формуванню гідрофільної поверхні третинної структури білка [2, 10].

Стабільність структури білка зазвичай забезпечується проліном. Крім того, його наявність збільшує гідрофобність поверхні білка [15]. В очікуваних та секвенованих послідовностях були однаково локалізовані триплети проліну (CCA/CCC/CCG/CCT), однак у секвенованих послідовностях з'являлись і нові триплети проліну. Найбільше їх у зразках з третьої та четвертої популяції – по вісімнадцять триплетів, а у першій та другій – лише сім триплетів.

```

example_1      13 ACAACCAGGGTACTACCCAACTT---CTCCACAGCAGCCAGGACAAGGGC      59
                |  ||  |.|| | | ..|  |||  .|.:|  |||.||  ||  |||||
sample_2      115 A-AA--AAGG-A-T-TTC--CTTGGGTTGGWC-GCCGGCA-GA-AAGGGC      153

example_1      60 AACAGC--C-AGGACAAGGGCAACCA-G-GGTACTACCCAA      95
                |||.||  |  ....|||  ||  .|  |||.||  .|||
sample_2      154 AATACCTTCTTTCCCAA----AA-GAGGAGGTTCT--GCAA      187
    
```

Рис. 2. Порівняння послідовності, отриманої в результаті секвенування продуктів ампліфікації з праймером Pr3_AtauDx, з очікуваною послідовністю *Glu-1St*2x*: example_1 – послідовність гена *Glu-1St*2x*; sample_2 – послідовність фрагмента гена *Glu-1Dx* з першої популяції.

Із розділених у гелі ампліконів, одержаних із ДНК рослин першої та третьої популяції, було екстраговано та секвеновано фрагменти гена *Glu-IDy*. Їх порівнювали з очікуваною послідовністю (гена *Glu-IDy* з *Triticum aestivum*). Подібність між зразками та очікуваною послідовністю становила у деяких ділянках до 47,5 % (рис. 3). Ген *Glu-IDy* у популяціях пирію середнього має значно менше повторів CAG, CAA (глутамін) ніж у *Triticum aestivum*, через точкові мутації (транзиції та трансверсії), делеції та інсерції (рис. 3). Ці зміни у гені викликають появу стоп-кодонів замість глутамінових триплетів. У зразку з першої популяції містились усі три типи стоп-кодонів: чотири TAA, три TAG та вісім TGA. У досліджуваній рослині з третьої популяції спостерігалася поява лише двох TGA кодонів. Цистеїнових триплетів з'явилося менше, ніж у *Glu-IDx*: у першій популяції – один TGT та три TGC, а у третій популяції – три TGT і сім TGC. Три метіонінові кодони з'явилися у першій популяції. Щодо пролінових триплетів, то їх містилося десять у *Triticum aestivum*, а у першій та третій популяціях пирію – шість та сімнадцять відповідно.

Із виявлених особливостей структури та перебудов у гені *Glu-IDy* популяції пирію середнього видно, що відбуваються перебудови у центральній ділянці гена. Можливо, закріпленню у популяціях виниклих мутацій сприяє різниця у мікрогеографічних умовах існування досліджених популяцій пирію. Загалом алель *Glu-*

IDy характеризується меншим рівнем варіації у порівнянні з *Glu-IDx*, отже, можна певним чином вказувати на різну роль продуктів цих генів у формуванні стратегії пристосування дикорослого злаку до абіотичних умов. З іншого боку, зразки лише двох популяцій (1-ої та 3-ої) використовувалися для вивчення поліморфізму за структурою гена *Glu-IDy*, тоді як за структурою гена *Glu-IDx* було обстежено чотири популяції, в тому числі популяція 2, яка зростала в найменш оптимальних умовах щодо складу ґрунту та зволоження.

Результати секвенсу ділянок генів *Glu-IDx* та *Glu-IDy* пирію, отриманих із ДНК рослин різних популяцій, що зростають за різних умов, суттєвих для онтогенезу рослин свідчать, що зареєстровані у досліджених послідовностях мутації (стосовно послідовностей, наявних у базі для тих самих генів) можуть супроводжуватися деякими змінами у структурі запасного білка глютеніну. Перш за все, це стосується змін у конформації глютеніну, зміни його поверхні щодо гідрофобності/гідрофільності. Це ті характеристики білка, від яких може залежати доступність протеаз до каталітичного домену глютеніну, одного із запасних білків злаків, резерву поживних речовин за проростання насіння. Зменшення швидкості каталітичного розщеплення глютеніну може впливати на наявність достатньої кількості поживних речовин і в результаті проростання зернівок сповільнюється. Пирій середній дозріває у середині літа.

```

example_1      164 GCAACAAGGGT-ACTATC-C-AACTTCT-CC---A-CAGCAGCTAGGACA      205
      ||.| ||...: .|: || | .| ||:| || | |..| || |..|
sample_2        2 GCCA-AACCCYCCCY-TCYCTGA-TTMTGCCGYTATCTTC--CT-GTTC-      44

example_1      206 AGGGCAACAACC-AGGACAAT-G---G---CAACAATCAGGACAAGG--G      245
      ||.| |..| .|| | | | | |..|..| | | | | | | |
sample_2        45 -GGWC--CTGCCTTGG---TGGRCCGCCCTACTCTCAGGA-GAGGTTG      86

example_1      246 CAACAAGG-GCAC---TACCCAAC--TTCT-CTACAACAGC--C-AGGAC      285
      ..| || | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
sample_2        87 -GTC--GGCGC-CGMKT-CCC--CGGYGCTRCGSC--C--CTTCGAGGA-      124

example_1      286 AAGGG--CAACAAGGGCATTACC---TAG      309
      | | | | | | . | | | | | | | |
sample_2        125 A-GGGWYC--C-T-TGC-T-GCCGGKT-G      145

```

Рис. 3. Порівняння послідовності, отриманої в результаті секвенування продуктів ампліфікації з праймером Pr1-TaesDy, з очікуваною послідовністю *Glu-IDy*: example_1 – послідовність гена *Glu-IDy*; sample_2 – послідовність фрагмента гена *Glu-IDy* з третьої популяції (рослина 3/9/2014).

Насіння може прорости до кінця літа, і паростки перезимують. Якщо кліматичні умови літа та осені (надмірна вологість, посуха) будуть несприятливими, паростки можуть загинути. Тому стратегію сповільненого проростання, яке залежить від конфірмаційних властивостей запасного білка, можна розглядати як пристосування до умов зростання за дії несприятливих для вегетації абіотичних чинників довкілля. Непрямим підтвердженням цього припущення може бути той факт, що в стандартних лабораторних умовах зернівки пирію з різних популяцій проростали за 10–15 днів. Зернівки пшениці м'якої сорту Аврора за цих умов проростали за 2–3 дні.

Висновки

За даними секвенування, послідовності центрального фрагмента генів *Glu-1Dx* та *Glu-1Du* рослин пирію середнього з різних популяцій, що зростали за різних мікрогеографічних умов, мають значні відмінності у порівнянні з

послідовностями генів *Aegilops tauschii* (*Glu-1Dx*), *Thinopyrum intermedium* (*Glu-1St#2x*), *Triticum aestivum* (*Glu-1Du*), наявними у базах даних. Для обох генів, *Glu-1Dx* та *Glu-1Du*, виявлено точкові мутації (транзиції та трансверсії) інсерцій та делецій. Наявні мутації перетворювали глутамінові триплети, характерні для запасних білків, на стоп-кодони, що скорочує розмір молекул глютеніну. Крім того, як наслідок транзицій та делецій у структурі гена з'являються кодони для цистеїну, метіоніну та проліну, амінокислот, від яких залежить поверхневий заряд білка, гідрофобні/гідрофільні властивості, щільність конформації, стабільність структури. Ці зміни у будові високомолекулярних глютенінів можуть впливати на здатність ендегенних протеаз ефективно їх розщеплювати. В результаті цього зернівки будуть більш повільно проростати. Стратегія повільного проростання зернівок може бути ще однією складовою механізму виживання дикорослого злаку *Thinopyrum intermedium* за несприятливих умов довкілля.

Література

1. Dong Y., Bu X., Luan Y. Molecular characterization of a cryptic wheat-*Thinopyrum intermedium* translocation line: evidence for genomic instability in nascent allopolyploid and aneuploid lines. *Genet. Mol. Biol.* 2004. Vol. 27 (2). P. 237–241.
2. Li G.R., Liu C., Li C.H. Introgression of a novel *Thinopyrum intermedium* St-chromosome-specific HMW-GS gene into wheat. *Mol. Breed.* 2013. Vol. 31. P. 843–853.
3. Han F., Liu B., Fedak G. Genomic constitution and variation in five partial amphiploids of wheat-*Thinopyrum intermedium* as revealed by GISH, multicolor GISH and seed storage protein analysis. *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. P. 1070–1076.
4. Li H., Conner R.L., Murray T.D. Resistance to soil-borne diseases of wheat: Contributions from the wheatgrasses *Thinopyrum intermedium* and *Th. ponticum*. *Canad. J. Crop Sci.* 2008. № 88. P. 195–205.
5. Li G., Lang T., Dai G. Precise identification of two wheat-*Thinopyrum intermedium* substitutions reveals the compensation and rearrangement between wheat and *Thinopyrum* chromosomes. *Mol. Breed.* 2015. Vol. 35 (1). P. 1–10.
6. Mahelka V., Kopecky D., Pastova L. On the genome constitution and evolution of intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*: *Poaceae*, *Triticeae*). *Mol. Breed.* 2011. Vol. 11. P. 110–127.
7. Atkinson N.J., Urwin P.E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J. Exp. Bot.* 2012. № 1. P. 1–21.
8. Ghosh D., Xu J. Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective. *Plant Syst. Biol.* 2014. Vol. 5. P. 1–13.
9. Kroupin P.Y., Divashuk M.G., Fesenko I.A. Evaluating Wheat Microsatellite Markers for the Use in Genetic Analysis of *Thinopyrum*, *Dasyphyrum* and *Pseudoroegneria* Species. *Hindawi Publishing Corporation Dataset Papers in Biology*. 2003. № 3. P. 1–3.
10. Readseq: sequence format convention. Copyright © EMBL-EBI. 2015. URL: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/sfc/readseq/> (Last accessed: 28.02.2018).
11. GrainGenes: A Database for *Triticeae* and *Avena*. 2.0. – 2017. URL: <http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml> (Last accessed: 28.02.2018).
12. Sequencing the *Aegilops tauschii* genome. NSF-IOS-1238231. 2014. URL: <http://aegilops.wheat.ucdavis.edu/ATGSP/> (Last accessed: 28.02.2018).
13. Multiple Sequence Alignment by CLUSTALW. Kyoto University Bioinformatics Center. 2017. URL: <http://www.genome.jp/tools/clustalw/> (Last accessed: 28.02.2018).
14. EMBOSS 6.3.1: Supermatcher, Calculate approximate local pair-wise alignments of larger sequences. The European Molecular Biology Open Software Suite. 2000. URL: <http://mobyle.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py?#forms::supermatcher> (Last accessed: 28.02.2018).
15. Phyre2. © Structural Bioinformatics Group. 2010. URL: http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/phyre2_output/4b0baafe13b175d5/summary.html (Last accessed: 28.02.2018).

ANTONYUK M.Z., IEFIMENKO T.S., TERNOVSKA T.K.

National University of "Kyiv-Mohyla Academy",

Ukraine, 04070, Kyiv, Skovorody str., 2, e-mail: antonyuk.m@ukma.edu.ua

POLYMORPHISM IN THE SEQUENCE OF *GLU1* GENE IN POPULATIONS OF *THINOPYRUM INTERMEDIUM* AS A POSSIBLE ADAPTIVE TRAIT

Aim. Compare structures of *Glu* genes, extracted from *Th. intermedium* plants grown in different microgeographic conditions. **Methods.** PCR with DNA samples of *Th. intermedium* and primers to *Glu-1Dx* and *Glu-1Dy* gene regions, sequencing and comparative analysis of polymorphic amplicons and sequences from databases. **Results.** Central fragments of *Glu-1Dx* and *Glu-1Dy* from plants grown in different microgeographic conditions had significant differences compared to corresponding sequences of *Aegilops tauschii* (*Glu-1Dx*), *Thinopyrum intermedium* (*Glu-1Sr*2x*), *Triticum aestivum* (*Glu-1Dy*) obtained from databases. Both genes had point mutations, deletions and insertions, which transformed glutamine coding triplets characteristic for storage proteins to stop-codons, also codons for cysteine, methionine and proline appeared. These aminoacids affect protein surface charge, hydrophilic/hydrophobic properties, conformation density, and structure stability. **Conclusions.** Changes in high molecular weight glutenin structure, which were caused by the observed mutations, could affect protease ability to effectively hydrolases them, which consequently could affect seed germination rate. Slow seed germination might be one of the mechanisms for survival of wild cereal species *Thinopyrum intermedium* under unfavorable environmental conditions.

Keywords: *Thinopyrum intermedium*, *Glu-1Dx*, *Glu-1Dy*, sequence, point mutations, stop codon.