Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Arabidopsis thaliana с интегрированным геном микробной фитазы как модель новой биотехнологии растений

Валеева Лия Рашитовна
Студент
Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина (КПФУ), Биолого-почвенный факультет, Казань, Россия
E-mail: lia2107@yandex.ru

Фосфор – одна из главных молекул в составе живой материи. Недостаток фосфора приводит к нарушениям процессов клеточной жизнедеятельности как у эукариот, так и у прокариот. Почвенные микроорганизмы, животные и растения получают фосфор в основном из почвы. Однако большая часть почвенного фосфора представлена органическими соединениями – фитатами, а содержание легко растворимых неорганических фосфатов неуклонно понижается. Микроорганизмы, живущие в почве, способны переводить органические формы фосфорных соединений в неорганические, секретируя внеклеточные фосфатазы. В отличие от них, растения не способны сами расщеплять органические почвенные соединения фосфора, что обусловливает растущую с каждым годом проблему дефицита фосфорного питания растений.

Усугубление проблемы фосфорного голодания требует поиска новых путей ее решения. Перспективным направлением является использование ферментов микробного происхождения – фитаз, высвобождающих неорганические фосфаты из фитата и делающих фосфор доступным для растений. Трансгенные растения, синтезирующие фитазы микробного происхождения, таким образом, могут непосредственно обеспечивать себя необходимым фосфором. Экспрессия трансгенных фитаз и секреция фермента в ризосферу позволяют эффективно улучшать фосфорное питание растений.

Цель данной работы – получение модельных трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* с интегрированным геном фитазы *paPhyC* из бактерии *Pantoea agglomerans*. Была осуществлена трансформация растений *A.thaliana* бактериями *A.tumefaciens GV3101.* В качестве вектора использовали плазмиду pCBK05 с химерной последовательностью *ex::paPhyC::His-tag,* состоящей из сигнальной последовательности гена экстенсина *AtExt3,* гена фитазы *paPhyC* и His-tag последовательности, находящихся в одной рамке считывания под контролем специфического для корней *A. thaliana* индуцибельного промотора *Pht1;2*. Индукция промотора происходит в условиях дефицита фосфора. Для облегчения селекции трансгенных растений вектор содержит ген устойчивости к гербициду BASTA. Трансформацию проводили методом макания цветов в суспензию агробактерий. Семена, полученные от трансформированных растений, высевали на полноценную питательную среду MS с добавлением селективного гербицида и проводили селекцию проростков. В результате анализа трех поколений трансгенных растений были отобраны линии, гомозиготные по трансгенной вставке. Наличие трансгенной вставки в геноме растений было также подтверждено с помощью ПЦР с использованием праймеров к гену фитазы и последовательности экстенсина. Для экспрессии гена фитазы трансгенные растения выращивали на минеральной среде без добавления источника фосфора. Из общей РНК клеток корней трансгенных растений методом обратной транскрипции получали кДНК. Экспрессия модифицированного гена фитазы *ex::phyCg* на транскрип-

ционном уровне была также подтверждена секвенированием продуктов амплификации кДНК гена фитазы.

Дальнейшее исследование трансгенных растений и активности модифицированной микробной фитазы, синтезируемой данными растениями, позволит выяснить влияние трансгенной вставки и фермента на рост и физиологию растительного организма. Получение трансгенных сельскохозяйственных растений с интегрированными генами микробных фитаз позволит улучшить их рост и урожайность при выращивании на обедненных фосфором почвах.