

**Участие транскрипционного промотора гена, кодирующего ингибитор пептидазы Кунитца, в защитных реакциях растения**

**Научный руководитель – Комарова Татьяна Валерьевна**

*Ларионова А.С.<sup>1</sup>, Шешукова Е.В.<sup>2</sup>*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химии природных соединений, Москва, Россия; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

**Участие транскрипционного промотора гена, кодирующего ингибитор пептидазы Кунитца, в защитных реакциях растения**

*Ларионова А.С.<sup>1</sup>, Ершова Н.М.<sup>2</sup>, Шешукова Е.В.<sup>2</sup>*

*студент, аспирант, аспирант*

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

*E-mail: <mailto:a.s.larionova@inbox.ru>, <mailto:ershovanatalie@gmail.com>, <mailto:ekaterina.sheshukova@gmail.com>*

Надземная и подземная части растения подвергается различному набору биотических и абиотических факторов окружающей среды, и поэтому одни и те же гены, связанные с защитой растения, обеспечивают разный уровень накопления мРНК в листьях и корнях. Типичным примером является семейство генов, кодирующих *Kunitz peptidase inhibitor* (*KPI*). Для белков этой группы механизм ингибирования заключается в конкурентном взаимодействии с активным сайтом сериновых пептидаз патогена. Предполагают, что причиной дифференциальной экспрессии гена *KPI* является регулируемая транскрипция гена. Ранее, из генома растений *Nicotiana benthamiana* мы выделили ген *NbKPI*, кодирующий секретлируемый белок, потерявший способность ингибировать трипсин. Целью данной работы является исследование роли транскрипционного промотора гена *NbKPI* (*Pro-NbKPI*) в регуляции экспрессии *KPI* в корнях и листьях. На первом этапе мы выделили участок хромосомной ДНК *N. benthamiana* длиной 1655 пар оснований, расположенный перед стартовым кодоном *NbKPI*, и провели биоинформационный анализ этой последовательности, а также оценили ее способность направлять синтез гена *NbKPI*. Нами выявлены потенциальные регуляторные *cis*-элементы, включая элементы, контролирующие реакцию гена на свет. На втором этапе мы создали серию генетических конструкций, где ген *Uida E. coli* находится под контролем *Pro-NbKPI* и направляет синтез в клетке  $\beta$ -D-глюкозидазы (*GUS*). Наконец, проведена серия экспериментов для того, чтобы, во-первых, оценить способность *Pro-NbKPI* направлять синтез *GUS*, а, во-вторых, выявить минимальную сердцевинную часть промотора. Оказалось, что (а) *Pro-NbKPI* длиной 1655 пар оснований направляет синтез *GUS* в клетке листа в количествах, превышающих синтез *GUS* под контролем известного и широко используемого в биотехнологии 35S промотора вируса мозаики цветной капусты и (б) активность *Pro-NbKPI* падает с уменьшением его длины. Таким образом, низкое содержание мРНК *NbKPI* в листьях нельзя объяснить подавленной активностью *Pro-NbKPI* в листе. Мы предположили, что освещение контролирует стабильность мРНК *NbKPI* в клетке листа. Для подтверждения этой гипотезы мы поместили растения в темноту на длительное время. Оказалось, что пребывание растения в темноте в течение 4 суток приводит к резкому накоплению мРНК *NbKPI* в листьях.

Возвращение растения в обычные условия чередования дня и ночи очень быстро возвращает уровень мРНК на низкий уровень. Мы заключили, что количество мРНК *NbKPI* в листьях определяется не активностью *Pto-NbKPI*, а факторами, контролирующими стабильность мРНК в цитоплазме клетки листа.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МД-5697.2016.4 и гранта РФФИ 16-34-00062\_мол\_а.