

Структурно-функциональная организация промотора гена антигрибного пептида SmAMP-X из растения *Stellaria media*

Научный руководитель – Комахин Роман Александрович

Иванова Любовь Александровна

Студент (магистр)

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева, Садоводства и ландшафтной архитектуры, Селекции и семеноводства садовых культур, Москва, Россия

E-mail: Ivanova-Lyubov-A@yandex.ru

Для выяснения организации растительного промотора методом «прогулки по хромосоме» клонировали промоторную область известного гена антигрибного пептида *SmAMP-X* из растения мокрицы (*S. media*) [1]. В геноме мокрицы обнаружили две версии промотора pro-SmAMP-X, нуклеотидные последовательности которых размером около 400 п.н. были идентичны на 83 %. С помощью программ PLACE и PlantCARE в последовательности промотора идентифицировали несколько десятков известных цис-элементов, включая множественные TATA-box, CAAT-box, несколько типов свето-чувствительных, ткане- и орган-специфичных элементов и др.

В листьях *N. benthamiana* при транзientной экспрессии репортерного гена *gus* под контролем промотора pro-SmAMP-X установили, что первая промоторная версия достоверно слабее, а вторая сопоставима по эффективности с известным вирусным промотором CaMV35S. Методом 5'-делеционного анализа показали, что удаление проксимальной области до 200 п.н. снижает промоторную эффективность первой версии промотора на 70 % и второй на 90 %. С использованием химерных промоторов подтвердили, что проксимальные участки pro-SmAMP-X выступают в качестве позитивных регуляторов и позволяют от 2 до 4 раз повысить эффективность минимального промотора 35Smini и даже превысить эффективность полноразмерного промотора CaMV35S.

Аналогичные результаты получили при изучении промотора в линиях трансгенных растений *A. thaliana*. Методом 5'-RACE определили потенциальные сайты инициации транскрипции гена *gus* под контролем pro-SmAMP-X. Оказалось, что вторая версия промотора формирует однотипные транскрипты с 5'-нетранслируемой областью (5'-НТО) длиной 163 н., что многократно больше ранее описанной 5'-НТО гена *SmAMP-X* у мокрицы длиной 34 н. [1]. Первая промоторная версия формировала транскрипты с гетерогенными 5'-НТО длиной от 41 до 178 н. 5'-НТО более 46 н. содержали дополнительные открытые рамки считывания для пептидов. Заключение, что регуляция экспрессии с использованием промотора pro-SmAMP-X может осуществляться, в том числе с помощью транскрипции гетерогенных транскриптов и, вероятно, путем трансляции альтернативных рамок считывания.

Промотор pro-SmAMP-X оказался пригоден для экспрессии селективного гена *nptII* во время селекции трансформированных клеток, каллусов и побегов растений табака (*N. tabacum*) на питательной среде с многократным избытком антибиотика канамицина. В трансгенных растениях картофеля (*S. tuberosum*) наибольшая эффективность промотора pro-SmAMP-X для экспрессии репортерного гена отмечена в стеблях и жилках, в паренхиме листьев и в клубнях она примерно в два раза ниже.

Работа поддержана РФФИ в рамках научного проекта № 19-016-00067.

Источники и литература

- 1) Slavokhotova A.A. Novel antifungal α -hairpinin peptide from *Stellaria media* seeds: structure, biosynthesis, gene structure and evolution / E.A. Rogozhin, A.K. Musolyamov, Y.A. Andreev, P.B. Oparin, A.A. Berkut, A.A. Vassilevski, T.A. Egorov, E.V. Grishin, T.I. Odintsova // *Plant Mol Biol.* - 2014 - 84(1-2) – p. 189-202.