

Промотор гена альфа-гарпинина SmAMPX из растения мокрица (*Stellaria media*): потенциальный инструмент для биотехнологии двудольных растений.**Научный руководитель – Комахин Роман Александрович****Иванова Любовь Александровна**

Аспирант

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия
E-mail: *Ivanova-Lyubov-A@yandex.ru*

В настоящем исследовании обратили внимание на промоторную область известного гена антигрибного пептида *SmAMP-X* из растения мокрицы (*S. media*) [2]. Методом обратной транскрипции РНК с последующей полимеразной цепной реакцией обнаружили мРНК гена *SmAMP-X* в листьях, стеблях, корнях и цветках растения мокрицы; ее уровень оказался ниже, чем уровень мРНК гена «домашнего хозяйства» β -актина из мокрицы. Для выяснения организации растительного промотора клонировали промоторную область гена *SmAMP-X*. В геноме мокрицы обнаружили две версии промотора pro-SmAMP-X, нуклеотидные последовательности которых идентичны на 83 %. С помощью программ PLACE и PlantCARE в последовательности промотора идентифицировали несколько десятков известных цис-действующих 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 в составе бинарного вектора pCambia1381Z установили, что первая промоторная версия слабее, а вторая сопоставима по эффективности с вирусным промотором CaMV35S. Методом 5'-делеционного анализа показали, что удаление проксимальной области снижает промоторную эффективность первой версии промотора на 70 % и второй на 90 %. Сходные результаты получили при изучении промотора в гомозиготных линиях трансгенных растений *A. thaliana*. В частности, активность репортерного белка GUS наблюдали во всех изученных органах трансгенных растений арабидопсиса, ее уровень зависел от использованной версии промотора и её делеционного варианта.

Промотор pro-SmAMP-X оказался пригоден для экспрессии селективного гена *nptII* в составе бинарного вектора pCambia2300 при селекции трансформированных клеток, каллусов, побегов и проростков растений табака (*N. tabacum*) на питательной среде с многократным избытком антибиотика канамицина [1].

В трансгенных растениях картофеля (*S. tuberosum*) эффективность промотора pro-SmAMP-X для экспрессии репортерного гена *gus* в составе вектора pCambia1381Z отмечена в стеблях, листьях, клубнях и цветках. При этом вторая версия промотора pro-SmAMP-X по эффективности сопоставима с известным вирусным промотором CaMV35S.

По результатам научных исследований получен патент на изобретение № 2766095 «Промотор pro-SmAMP-X из растения звездчатка белая (*Stellaria media* L.) для экспрессии рекомбинантных генов в клетках растений» 2021 г.

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

Источники и литература

- 1) Дрейпер Д. Генная инженерия растений. / Д. Дрейпер, Р. Скотт, Ф. Армитидж и др. / Лабораторное руководство. - Учебное издание. - Москва: Мир. - 1991 – с. 408.

- 2) 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.