

Особенности энергетического метаболизма митохондрий клубней картофеля сорта Скарб трансформированного геном глюкозооксидазы (GOX) *Penicillium funiculosum*

Научный руководитель – Яковенко Ксения Витальевна

Яковенко Ксения Витальевна

Выпускник (бакалавр)

Иркутский государственный университет, Биолого-почвенный факультет, Иркутск,
Россия

E-mail: ksenkayak20214@mail.ru

Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий растений содержит НАД(Ф)Н-ДГ типа II и альтернативную цианид-резистентную оксидазу (АО), которые вместе с разобщающими белками (рUCP) могут регулировать образование активных форм кислорода (АФК) в клетках растений [3]. Увеличение содержания H_2O_2 в клетках можно вызвать путем введения гена глюкозооксидазы *gox* в геном растения [1, 2]. В связи с этим, целью работы явился сравнительный анализ функциональной активности митохондрий и альтернативных ферментов дыхания в клубнях картофеля сорта Скарб с измененным уровнем экспрессии гена глюкозооксидазы (*gox*) из *Penicillium funiculosum* в разные периоды хранения.

В задачи исследования входило: охарактеризовать митохондрии из свежих и хранящихся клубней с измененным уровнем экспрессии *gox*; оценить влияние различий в активности GOX на вклад в дыхание и содержание в митохондриях NDB, АО, UCP белков, определить содержание АФК и активность антиоксидантного фермента каталазы в хранящихся клубнях картофеля.

В работе использовали клубни 4-х линий картофеля: СК (не трансформированный картофель сорта Скарб), рVI-трансформированный пустым вектором, L-трансформированный геном с векторной конструкцией рVI-L-GOX, M-с конструкцией рVI-GOX-mod. Трансгенные растения картофеля были получены методом агробактериальной трансформации [1]. Качественное определение GOX проводили с помощью чашечного теста [2]. Для количественного - растительный экстракт инкубировали 1 ч. в буфере, содержащем 50 мМ KI, 1% крахмала и 200 мМ D-глюкозы, и измеряли ОП при 595 нм. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования. Интенсивность их дыхания регистрировали полярографически. Содержание белков в митохондриях определяли с помощью электрофореза в ПААГе с ДДС-Na с последующим вестерн-блоттингом.

Активность GOX была выявлена в клубнях картофеля линий L и M.

Митохондрии из свежесобранных клубней линий рVI и L с высокой скоростью окисляли НАДН и сукцинат, в хранящихся клубнях эта тенденция сохранялась, но скорость окисления снижалась. Хранение клубней на холоду приводило к увеличению содержания в митохондриях NDB и UCP и снижению содержания белка теплового шока.

В клубнях линии M было выявлено низкое содержание H_2O_2 , несмотря на высокую активность GOX. Выявлена сниженная активность каталазы у линий L и M.

Введение в геном картофеля сорта Скарб гена *gox* приводит к увеличению содержания в митохондриях при хранении на холоду белков, участвующих в реализации защитной программы клеток растений при стрессах.

Источники и литература

- 1) Савчин Д.В. Оптимизация кодового состава грибного гена *gox* *Penicillium funiculosum* для эффективной экспрессии в растениях *Solanum tuberosum* // Весці НАН Беларусі. Сер. Біял. навук. 2015. № 1. С. 50–55.
- 2) Савчин Д.В. Генетическая трансформация растений векторными конструкциями с геном *gox* *Penicillium funiculosum* // Савчин Д.В. Сб. науч. тр. Минск, 2011. Т. 12. С. 49–55.
- 3) Grabelnych O.I. Biological effects of potato plants transformation with glucose oxidase gene and their resistance to hyperthermia // Journal of Stress Physiol. & Biochem. 2017. V. 13, N 1. P. 5–14.