

последствий. Цель данного исследования – выявить динамику изменения физиолого-биохимических показателей у винограда в зависимости от температурных условий в период покоя. Объектами исследования являлись три сорта винограда, контрастных по морозостойкости: неустойчивый ТАНА 33, морозостойкие ТАНА 42 и ТАНА 68. Для проведения исследований были отобраны черенки винограда с полевого участка в период с октября 2020 года по март 2021 года, который характеризовался значительными температурными колебаниями. Была исследована экспрессия ряда генов углеводного и липидного обмена, содержание малонового диальдегида, активность антиоксидантных ферментов и содержание углеводов. Корреляции между содержанием малонового диальдегида (MDA) и температурными колебаниями обнаружено не было. У сортов ТАНА 42 и ТАНА 68 наблюдалось повышение активности и увеличение числа изоформ пероксидаз (POD), на фоне понижения температуры. Для неустойчивого сорта ТАНА 33 было характерно резкое повышение содержания растворимых углеводов и снижение содержания крахмала при понижении температуры (коэффициенты корреляции -0,88 и 0,77 соответственно), в то время как изменения содержания углеводов для сортов ТАНА 42 и ТАНА 68 не были связаны с температурными флуктуациями. У всех гибридов винограда в ноябре и декабре (органический покой), наблюдался более высокий уровень экспрессии генов липоксигеназы (LOX) и десатураз (Des) с последующим понижением в январе и феврале и ростом в марте при начале сокодвижения. Температура не влияла на динамику экспрессии десатураз и липоксигеназы в течение периода покоя винограда у неморозостойкой ТАНА33 и формы ТАНА68. Для наиболее устойчивой ТАНА 42 было характерно повышение экспрессии LOX при увеличении температуры. Экспрессия генов сахарозосинтазы (SS4) и сахарозофосфатсинтазы (SPS) слабо изменялась в течение периода покоя и не была связана с температурными изменениями. Экспрессия гена трегалоза-6-фосфатазы (TPPB) имела тенденцию к повышению во время выхода растений винограда из периода покоя в марте, более интенсивное увеличение экспрессии TPPB наблюдалось у морозостойких сортов. Уровень относительной экспрессии трегалазы (TRE) был высоким с период органического покоя и снижался к марту. Изменения содержания различных фракций углеводов при колебаниях температур в зимних период характеризовали неморозостойкий сорт винограда. Уровень относительной экспрессии генов, участвующих в метаболизме сахарозы и трегалозы, изменениях состава билипидных мембран (Des, LOX), был слабо подвержен температурным изменениям, однако существенно менялся в разные стадии периода покоя. Данные гены могут обеспечивать регуляцию стадий покоя у винограда и обеспечивать при этом различные уровни устойчивости к низким температурам.

№ 05

Система ДНК-маркеров для идентификации аллелей генов короткостебельности *Rht-B1* и *Rht-D1* у сортов мягкой пшеницы

Поротников И.В.*, Митрофанова О.П., Антонова О.Ю.

Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: i.v.porotnikov@gmail.com

Основные гены «Зеленой революции», а именно гены *Rht-B1* и *Rht-D1* широко используют при создании короткостебельных сортов интенсивного типа. Наибольшее распространение получили аллели с однонуклеотидными заменами (SNP): *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-D1b* и *Rht-B1p*, а также *Rht-B1c* и *Rht-B1h*, несущие вставки. Для детекции аллелей с SNP используют принцип аллель-специфичной ПЦР, который предъявляет высокие требования к условиям реакции и не всегда дает однозначные результаты. Нами предложена система ДНК-маркеров для идентификации распространенных и/или

перспективных для селекции аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*. Разработано три CAPS-маркера для *Rht-B1b*, *Rht-D1b*, *Rht-B1p* и два dCAPS-маркера для *Rht-B1b* и *Rht-B1e*. Подобраны InDel-маркеры аллелей *Rht-B1c*, *Rht-B1h*. Эффективность системы подтверждена при генотипировании 11 образцов мягкой пшеницы коллекции ВИР с известными аллелями короткостебельности. Предложенная система позволяет получить однозначный ответ о присутствии одного из перечисленных выше аллелей короткостебельности генов *Rht-B1* и *Rht-D1* в том или ином генотипе, а разработанные CASP/dCAPS-маркеры дают легко интерпретируемые результаты.

№ 06

Индукция иммунного клеточного ответа при действии антигенного "раннего" белка ВПЧ16 Е2 на опухоли, вызванные инъекцией раковых клеток HeLa, в легких и семенниках мышей

Рекославская Н.И.*, Салеев Р.К., Столбиков А.С., Нурминская Ю.В.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

*E-mail: rekoslavskaya@sifibr.irk.ru

Высокоэффективная растительная экспрессионная система синтеза гетерологичных белков была разработана на основе плодов томата с введением в генетическую конструкцию гена, кодирующего RdRP (РНК2а+2b) вируса мозаики огурца (CMV var. New Dehli), и использована для синтеза "ранних" белков папилломавируса высокоонкогенного типа ВПЧ16. Регуляторный "ранний" белок папилломавируса ВПЧ16 Е2 является суперсупрессором экспрессии онкогенов *hvp16* Е6 и *hvp16* Е7, кодирующих "ранние" основные онкобелки ВПЧ16 Е6 и ВПЧ16 Е7. Инъекция раковых клеток HeLa в бедренную мышцу мышей вызывала различные виды опухолеобразования в легких, в семенниках, брюшной полости, лимфоузлах и др. Пероральное вакцинирование вакцинным материалом плодов томата, трансгенного по гену *hvp16* Е2, вызывало регрессию опухолей семенников и последующую нормализацию их размеров до контроля. В периферических мононуклеарных клетках крови и в спленocyтах у мышей, перорально вакцинированных ВПЧ16 Е2, происходило весьма значительное увеличение содержания интерферона, Т клеточного рецептора, CD4 и CD8 Т-лимфоцитов, а также ферментов апоптоза: гранзима Б, перфорина и гранулизина согласно результатам анализа ЭЛИСПОТ. Чрезвычайно чувствительными к клеткам HeLa оказались легкие мышей, как *in vivo*, так и *in vitro*. Пролиферация клеток легких с гиперхромными ядрами (по аналогии с круглоклеточной (мелкоклеточной) саркомой легких) и последующее опухолеобразование наблюдали на 2-5 сутки после помещения изолированных легких мышей в суспензию раковых клеток HeLa. При использовании микротомной техники и окрашивания парафиновых срезов легких гематоксилином по Carazzi обнаружено, что при совместной инкубации изолированных легких с "ранним" белком ВПЧ16 Е2 в суспензии клеток HeLa не происходит перехода к пролиферации клеток и опухолеобразованию. Таким образом, разработка пероральной терапевтической противораковой вакцины на основе "раннего" белка ВПЧ16 Е2, синтезированного в растительной экспрессионной системе, представляется весьма перспективной.