

№ 06

Трансгенные растения петунии с прижизненной визуализацией тубулинового цитоскелета как экспериментальная модель для изучения реорганизации микротрубочек в условиях абиотического стресса

Демиденко Д.В.^{1,2*}, Варламова Н.В.¹, Халилуев М.Р.^{1,2}

¹ФГБНУ ВНИИСБ, Москва, Россия

²РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*E-mail: frankenvini1998@mail.ru

Микротрубочки – элементы цитоскелета с диаметром около 25 нм, состоящие из гетеродимеров глобулярного α - и β -тубулина. Эти структуры необходимы для клеточного функционирования, обеспечивая нормальное деление клеток у эукариотических организмов. Для изучения роли реорганизации тубулинового цитоскелета в условиях абиотических стрессов была проведена агробактериальная трансформация растений петунии самосовместимого (Белый шар, Суперкаскадная синяя F1) и самонесовместимого клонов. Использовали векторную конструкцию pCMU-MTUBr с геном MAP-MBD, кодирующим слитый репортерный белок *mCherry* для прижизненной детекции микротрубочек, а также селективный ген *nptII*. Индукцию процессов морфогенеза проводили на базовой среде MS, дополненной 6-БАП и AgNO₃ в концентрациях 5 мг/л и 0,1 мг/л ИУК, а также 300 мг/л тиментина для элиминации агробактерии и 50 мг/л канамицина. Культивирование листовых эксплантов на селективной питательной среде обеспечило массовую регенерацию побегов. Часть линий успешно сформировало корни на среде для ризогенеза с высокой концентрацией канамицина. ПЦР подтвердила наличие чужеродных генов у 2 трансгенных линий сорта Белый шар. Кроме того, флуориметрический анализ экспрессии репортерного гена *mCherry* выявил визуальные отличия между контролем и трансгенными линиями, свидетельствуя об его экспрессии. В настоящее время продолжается отбор предположительно трансгенных линий и их молекулярно-генетический анализ.

Работа выполняется при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 22-24-01148.

№ 07

Тандемный вектор для анализа цис-регуляторных элементов в растениях

Демьянчук И.С.*, Тюрин А.А., Сухорукова А.В., Фридман В.А.,
Голденкова-Павлова И.В.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, лаборатория функциональной геномики, Москва, Россия

*E-mail: Demyan.Iya253@yandex.ru

Агроинфильтрация растений уже давно стала одним из основных подходов к тестированию генов и регуляторных элементов. Цель данного исследования – создание бирепортерного вектора, содержащего тандемную связку системы внутреннего контроля и основной экспрессионной кассеты. Для конструирования основной плазмиды применяли СПЕС (circular polymerase extension cloning). Агроинфильтрацию 4-хнедельных растений *N.benthamiana* проводили, используя *A.tumefaciens* (GV3101). Уровни экспрессии целевых генов оценивали по флюоресценции их продуктов. Статистическую обработку данных и их визуализацию проводили, задействуя библиотеки SciPy и Matplotlib для Python. Бирепортерный вектор pIRF разрабатывался для тестирования трансляционных цис-регуляторных элементов. Основой для тандемного вектора послужила, ранее разработанная авторами, плазмида pVIG-T, оптимизированная для транзientной экспрессии в растениях. Система внутреннего контроля представлена геном *gfp* под контролем промотора актина арабидопсиса, целевая экспрессионная кассета включает ген *rfp* и промотор SmAM430. Для