

**№ 26**

**Получение трансгенных растений томата (*Solanum lycopersicum*), экспрессирующих ген  $\Delta 9$  десатуразы в различных компартментах Соболев Д.С.<sup>1\*</sup>, Павленко О.С.<sup>1</sup>, Тюрин А.А.<sup>1</sup>, Голденкова-Павлова И.В.<sup>1</sup>, Халилуев М.Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, лаборатория функциональной геномики, Москва, Россия

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, лаборатория клеточной инженерии растений, Москва, Россия.

\*E-mail: denissoboleww@gmail.com

Для получения трансгенных растений томата (*Solanum lycopersicum*), экспрессирующих  $\Delta 9$  ацил-липидную десатуразу и оценки её влияния на жирнокислотный (ЖК) состав суммарных липидов при локализации в различных компартментах клетки, был проведен ряд экспериментов по трансформации растений томата, оценке экспрессии целевого гена и анализа ЖК состава суммарных липидов. Нами были сконструированы векторы, несущие ген *desC*, кодирующий  $\Delta 9$  десатуразу. Для направления продуктов гена *desC* в различные компартменты растительной клетки, последовательность гена была слита с лидерными последовательностями, обеспечивающими локализацию продуктов гена в хлоропластах, ЭПР и цитоплазме. Полученными векторами трансформировали штамм *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 с последующей агробактериальной трансформацией растений томатов *Solanum lycopersicum*. В ходе работы доказано, что лидерные последовательности обеспечивают корректную локализацию белкового продукта рекомбинантного гена в целевых компартментах клетки, продемонстрирована специфичность гетерологичной  $\Delta 9$  десатуразы в зависимости от ее локализации в растительной клетке, оценен вклад  $\Delta 9$  десатуразы в изменение состава и массовой доли насыщенных и ненасыщенных ЖК суммарных липидов, произведена оценка относительной нормализованной экспрессии гена *desC* в трансгенных растениях.

**№ 27**

**Определение полной нуклеотидной последовательности хлоропластного генома гексаплоидных пшенично-ржаных гибридов ( $\times$  *Triticosecale* Wittm.) методом NGS. Соколюк А.В.\*, Василевская М.Е., Дубовец Н.И.**

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, лаборатория цитогеномики растений, Минск, Беларусь

\*E-mail: a.sokolyuk@igc.by

Целью настоящего исследования являлось осуществление сборки полных нуклеотидных последовательностей хлДНК пшенично-ржаных гибридов, дальнейшее сопоставление которых с хлоропластным геномом донора цитоплазмы позволит выявить модификации пластома, произошедшие в процессе коадаптации ядерного и цитоплазматического геномов амфидиплоидов. Материалом для исследований послужили 10 сортов тритикале, из которых 6 сортов (Благо, Динамо, Ковчег, Устье, Заречье, Гродно) были озимого типа развития, остальные 4 (Узор, Лана, Матейко, Садко) – ярового. В результате проведенного высокопроизводительного секвенирования и сборки хлДНК-обогащенной библиотеки сортов тритикале получено 579 095 парноконцевых чтений. Длина прочтений варьировала от 29 до 301 нуклеотида (среднее 290). Сборка полной последовательности генома выполнена с помощью выравнивания контигов на референсный хлоропластный геном *Triticum aestivum* (код доступа GenBank – KJ592713). Общий размер хлДНК всех сортов тритикале после сборки составил 133 873 п.н., что полностью соответствует размеру хлоропластного генома мягкой пшеницы. Сравнительный анализ полученных нуклеотидных

последовательностей хпДНК тритикале выявил высокий уровень изменчивости пластома пшенично-ржаных гибридов. При этом самым полиморфным было семейство генов АТФазы, в котором детектировано 42 замены, из которых 11 в гене *atpA*, кодирующем  $\alpha$ -субъединицу  $H^+$  АТФазы, являются идентичными для всех исследованных сортов. Полученные данные создают основу для углубленного изучения особенностей взаимодействия ядра и цитоплазмы у отдаленных гибридов злаков.

**№ 28**

**Активация  $H^+$ -АТФазной помпы как один из механизмов адаптации растений к температурным воздействиям**

**Станьковская А.В., Яковец О.Г.\***

Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь

\*E-mail: yakovets@inbox.ru

Гипертермия и гипотермия – стрессовые факторы, оказывающие сильное влияние на растительный организм. Динамика адаптации растительного организма к данным абиотическим стрессорам представляет особый интерес. Целью нашей работы было сравнительное исследование ацидофицирующей активности корней проростков озимой пшеницы (сорт Мроя) после гипер- и гипотермического воздействия. Эксперименты проводились на 8-дневных этиолированных проростках, выращенных в растворе  $10^{-4}$  М  $CaSO_4$  рулонным методом. Контрольные измерения ацидофицирующей активности корней проводились в течение 180 мин в темноте в растворе, содержащем  $10^{-4}$  М  $CaSO_4$  и  $10^{-3}$  М  $KCl$ . Регистрировали рН экспериментального раствора с помощью настольного рН-метра HANNA instruments HI 221 и иономера лабораторного И-160. При гипертермии после контрольных измерений проростки помещали в термостат при температуре  $+40^{\circ}C$  на 3 часа, при гипотермии – в термостат при температуре  $+12^{\circ}C$  на 24 часа. После этого сразу и через 24 и 48ч проводилось исследование ацидофицирующей активности корней. Выявлено, что обработка проростков озимой пшеницы высокой температурой вызывает активацию  $H^+$ -АТФазной помпы плазмалеммы клеток корней. Сразу после действия пониженной температуры наблюдается ингибирование  $H^+$ -помпы. С увеличением времени экспозиции в нормальных условиях после гипотермии происходит постепенное возвращение функциональной активности данной транспортной системы к контролю (через 48ч). При этом предварительно происходит ее активация (через 24ч). Таким образом можно заключить, что обработка проростков озимой пшеницы как высокой, так и низкой положительной температурой вызывает активацию  $H^+$ -АТФазной помпы плазмалеммы клеток корней. Причем, растительный организм быстрее адаптируется к действию низких положительных температур, чем повышенных: после воздействия гипотермии ацидофицирующая активность корней проростков озимой пшеницы возвращается к первоначальной через 48ч, а после гипертермии этого времени еще недостаточно.