

ЭКСПРЕССИЯ ТРАНСГЕНОВ В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ГЕНОМ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ *IN VITRO*

Т. А. Гапеева¹, Т. В. Семанюк², Е. М. Кабачевская¹

¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²РУП «НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству», Минск, Беларусь

Явление потери экспрессии трансгенов (“gene silencing”) в клетках растений известно с начала 90-х годов и может происходить как на транскрипционном, так и посттранскрипционном уровне [1]. Полная потеря экспрессии трансгена более характерна для полового размножения трансгенных растений. При вегетативном росте и размножении может наблюдаться мозаичная потеря экспрессии трансгенов соматическими клетками с образованием химерных растений. Коллекции трансгенных линий рассматриваются в качестве моделей для изучения эпигенетической регуляции экспрессии генов. Ранее на основе растений белорусских сортов была создана коллекция трансгенных растений картофеля с геном антимикробного пептида цекропин-мелиттинового типа [2]. Целью данной работы было определить наличие существенной потери экспрессии трансгенов при длительном (более 10 лет) вегетативном размножении трансгенных линий *in vitro*.

Методом РВ-ПЦР с красителем SYBR Green было показано наличие трансгенных вставок и экспрессии целевого гена с температурой плавления ПЦР-продукта (Тпл.) в 76 °С и маркерного гена (Тпл. – 88,5 °С). В частности, в случае маркерного гена неомизинфосфотрансферазы кДНК-ПЦР-сигналы для растений дикого типа (WT) отсутствовали, в то время как для совокупности трансгенных линий значение Cq составляло 28,86±2,07. Для ПЦР-продукта целевого гена MsrA1 в случае трансгенных линий значение RFU после 30-35 циклов достигало величины 1200-1500 (выход на плато), в то время как величина RFU для WT-контролей в этой точке было менее 50. Значения Cq для совокупности трансгенных линий были следующими: 22,71±0,70 (ДНК-ПЦР) и 24,66±2,65 (кДНК-ПЦР). В случае WT-растений ПЦР-сигнал не достигал порогового значения к 45 циклу ПЦР, наличие ПЦР-продукта не определялось как для ДНК-, так и кДНК-матрицы. Пороговые значения флуоресценции ПЦР-продукта для гена-нормализатора – актина (Тпл. – 83,5 °С) были не меньше, чем для трансгенных линий.

Таким образом, при длительном размножении *in vitro* растения картофеля с геном антимикробного пептида MsrA1 сохраняют как вставки, так и экспрессию трансгенов. Данные растения могут быть использованы в качестве моделей для изучения механизмов действия антимикробных пептидов в клетках растений. В этой связи было установлено, что для трансгенных растений в отличие от WT-растений наблюдается конститутивная активация экспрессии генов пероксидаз и синтеза пататин-подобного белка, что может играть роль в повышенной устойчивости данных растений к биотическим и абиотическим факторам.

Библиографические ссылки

1. Маренкова Т. В., Дейнеко Е. В. Трансгенные растения как модель для изучения эпигенетической регуляции генов // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. Т. 19, № 5. С. 545–551.
2. Трансгенные растения картофеля белорусских сортов, экспрессирующие гены антимикробных пептидов цекропин-мелиттинового типа / Н. Л. Вутто [и др.] // Генетика. 2010. Т. 46, № 9. С. 1–9.