

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЦИКОРИЯ С ГЕНОМ ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА-2В ЧЕЛОВЕКА К ВТМ ИНФЕКЦИИ

Потрохов А.А., Матвеева Н.А.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев,
Украина; AlexGSMster@gmail.com

Известно, что перенесение гена интерферона $\alpha 2b$ человека (*inf a2b*) в геном растений может приводить к повышению их устойчивости к фитовирусам. Целью данного исследования было определения устойчивости к вирусу табачной мозаики (ВТМ) трансгенных растений цикория *Cichorium intybus* var *foliosum* Негі сорта Пала Росса с геном *inf-a2b* человека.

Использовали растения, трансформированные нами ранее с помощью *A. rhizogenes* и *A. tumefaciens* с векторами pCB161 и pCB124 (гены: селективный *nptII* и целевой *inf-a2b*, промоторы M11 и 35S соответственно). Полученные растения культивировались на агаризованной среде Мурасиге и Скуга при 24°C и 16-часовом фотопериоде. Ранее методом ПЦР было подтверждено присутствие гена *inf-a2b* в геноме полученных растений, а также была показана противовирусная активность экстрактов трансгенных растений по отношению к вирусу везикулярного стоматита (ВВС) в клетках почек быка (линия MDBK).

Опытные растения инфицировали суспензией ВТМ в концентрации 200 мкг/мл в 0,1M фосфатном буфере (рН 7,4). Заражение проводили механической инокуляцией в листья растений. В качестве контроля использовали растения дикого типа, инфицированные вирусом (позитивный контроль), трансгенные и контрольные неинфицированные растения (негативный контроль). После образования характерных симптомов вирусной инфекции (через 3 недели) для определения содержания вируса готовили экстракты из листьев растений и проводили иммуноферментный анализ в модификации “сэндвич” на автоматическом ридере (“Dy nex Technologies”, Германия) с использованием коммерческих антител фирмы “Loewe”, Германия. Статистическая обработка проводилась в пакете программ STATISTICA–6.0.

В результате было показано, что растения цикория с геном *inf-a2b* человека не проявляли устойчивости к ВТМ инфекции. Ряд линий растений не только не были устойчивыми, но и характеризовались развитием вирусной инфекции с высоким накоплением вируса (0,8-1 оптических единиц) по сравнению с положительным контролем (0,3). Однако, трансформированные растения синтезировали биологически активный интерферон, а их экстракты проявляли противовирусную активность на клетках MDBK, инфицированных ВВС (262-3291 МО/мг общего белка). Таким образом, трансгенные растения цикория с геном *inf-a2b* человека оказались чувствительны к ВТМ. Возможно, отсутствие устойчивости вызвано синтезом неспецифичного для растения белкового продукта, и, как следствие, повышением чувствительности к ВТМ.