

**Влияние биотического и абиотического стресса на промоторгена  
пектинметилэстеразы табака**

**Научный руководитель – Шешукова Екатерина Владимировна**

**Ватолкина Ника Александровна**

*Студент (специалист)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет  
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

*E-mail: NikaVatolkina@gmail.com*

Растения постоянно подвергаются широкому спектру абиотических и биотических стрессов, в ответ на которые выделяют множество летучих органических соединений. Среди этих веществ важную роль играет газообразный метанол, образующийся в результате деметилирования пектина клеточной стенки пектинметилэстеразами (ПМЭ), активирующимися в ответ на стрессовые воздействия. Эмитируемый растениями газообразный метанол индуцирует экспрессию ряда генов, продукты которых участвуют в обеспечении защитных реакций в клетке. Одним из таких генов является гомолог альдоза-1-эпимеразы *Nicotiana benthamiana* (NbAELP). Показано, что он регулирует экспрессию гена ПМЭ по механизму обратной связи [1].

Целью данной работы была оценка влияния абиотических и биотических факторов на активность промотора гена, кодирующего ПМЭ *N. tabacum*.

В рамках решения первой задачи были получены трансгенные растения *N. tabacum*, несущие экспрессионную кассету PrNtPME-GUS, в которой под контролем промотора гена ПМЭ (PrNtPME) находился ген *uidA E. coli*, кодирующий  $\beta$ -глюкуронидазу. В качестве контроля использовали стабильно трансформированные растения 35S-GUS, в которых ген *uidA* находился под контролем конститутивного 35S-промотора. Растения PrNtPME-GUS фенотипически неотличимы как от растений дикого типа, так и от растений 35S-GUS. Все полученные линии были охарактеризованы на предмет наличия вставки в геномной ДНК, а также подтверждено накопление GUS для обоих типов трансгенов. Эффективность экспрессии *uidA* в растениях 35S-GUS в 10 раз выше, чем в PrNtPME-GUS, что согласуется с результатами, полученными в системе транзientной экспрессии [1].

Для решения второй задачи проводили инфильтрацию листьев трансгенных растений суспензией *Agrobacterium tumefaciens*, содержащих экспрессионную кассету 35S-NbAELP, в качестве контроля использовали «пустой» бинарный вектор pBIN19. Изменения активности промотора PrNtPME оценивали по уровню накопления GUS. Оказалось, что PrNtPME индуцируется в ответ на оба варианта агроинфильтрации независимо от того, какая плазмида доставляется в клетки растений, в то время как экспрессия гена *uidA* в растениях 35S-GUS оказалась нечувствительна к агроинфильтрации.

Моделирование абиотического стресса осуществляли выдерживанием трансгенных растений в темноте в течение 72-96 часов, после чего оценивали уровень эмитируемого ими метанола, который отражает активность ПМЭ. Эмиссия метанола трансгенами PrNtPME-GUS после инкубации в темноте в 3 раза превышала этот показатель для растений дикого типа, выдержанных в тех же условиях.

Таким образом можно заключить, что любое стрессовое воздействие приводит к немедленной эмиссии метанола, а затем к активации PrNtPME и повышению синтеза ПМЭ, что ведет к образованию метанола.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-29-08012.

**Источники и литература**

- 1) Sheshukova, E., и др. The intergenic interplay between aldose 1-epimerase-like protein and pectin methylesterase in abiotic and biotic stress control // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8, 1646.