

**Создание трансгенных растений томата, экспрессирующих гены
антимикробных пептидов Sm-AMP-D и Sm-AMP-X**

Научный руководитель – Халилуев Марат Рушанович

Михель Иосиф Михайлович

Аспирант

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
биотехнологии, Москва, Россия
E-mail: joseph.mikhel@gmail.com

В мире описано более 200 различных инфекционных заболеваний томата [2], поэтому актуальна задача повышения устойчивости данной культуры к фитопатогенам, в том числе с применением методов генной инженерии. Распространенной стратегией повышения устойчивости является введение в геном и экспрессия генов защитных белков и антимикробных пептидов (АМП) [1]. Из растения *S. media* L. были выделены дефензин SM-AMP-D и -харпинин Sm-AMP-X, подавляющие развитие ряда хозяйственно важных патогенов томата (*B. cinerea*, *F. solani*, *P. infestans* и др.) [3, 4]. Показано, что собственные промоторы генов SM-AMP-D и Sm-AMP-X в растениях арабидопсиса сопоставимы по эффективности с промотором CaMV35S. Поэтому была поставлена задача получения трансгенных растений томата, экспрессирующих гены данных АМП в составе конструкций, включающих кодирующие их гены под контролем собственных промоторов. Транслируемая область природного гена Sm-AMP-D кодирует сигнальный и антимикробный пептиды и включает интрон. Чтобы повысить экспрессию гена, интрон и 3'-нетранслируемая области были исключены из рекомбинантной последовательности. Для гена Sm-AMP-X известна полная последовательность кДНК белка-предшественника, состоящая из 12 доменов с характерным для зрелого пептида 4-Cys мотивом, соединенных линкерными участками [4]. Для повышения вероятности успешной экспрессии была предложена конструкция из последовательностей сигнального и зрелого пептидов, соединенных между собой линкерным участком, а остальные 11 модулей исключены. Нуклеотидные последовательности обеих конструкций были оптимизированы по составу кодонов для экспрессии в растениях томата. Была проведена серия экспериментов по агробактериальной трансформации томата селекционной линии ЯЛФ двумя разработанными векторами. Из трансформированных эксплантов на среде для морфогенеза, содержащей канамицин, был получен ряд независимых регенерантов, проводится проверка их трансгенного статуса.

Источники и литература

- 1) Халилуев М. Р., Шпаковский Г.В. Генно-инженерные стратегии повышения устойчивости томата к грибным и бактериальным патогенам // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 6, с. 763.
- 2) Panno S., Davino S., Caruso A.G., Bertacca S., Crnogorac A., Mandić A., Noris E., Matic S. A review of the most common and economically important diseases that undermine the cultivation of tomato crop in the mediterranean basin // Agronomy. 2021, 11(11), p.2188.
- 3) Slavokhotova A.A., Odintsova T.I., Rogozhin E.A., Musolyamov A.K., Andreev Y.A., Grishin E.V., Egorov T.A. Isolation, molecular cloning and antimicrobial activity of novel defensins from common chickweed (*Stellaria media* L.) seeds // Biochimie. 2011, V. 93, 3, pp. 450-456.

- 4) Slavokhotova A.A., Rogozhin E.A., Musolyamov A.K., Andreev Y.A., Oparin P.B., Berkut A.A., Vassilevski A.A., Egorov T.A, Grishin E.V., Odintsova T.I. Novel antifungal a-hairpinin peptide from *Stellaria media* seeds: structure, biosynthesis, gene structure and evolution // *Plant Molecular Biology*. 2013.