

**Создание трансгенных растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.),
экспрессирующих гены *HyPer* и *Pt-GFP***

Научный руководитель – Брилкина Анна Александровна

Печёрина Анна Александровна

Студент (бакалавр)

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний
Новгород, Россия

E-mail: ihmmtatb@yandex.ru

Изменения концентрации вторичных мессенджеров и уровня рН в растительной клетке могут определяться с помощью генетически кодируемых сенсоров. Многие из них созданы на основе GFP, свойства которого зависят от рН среды [1]. С помощью этих сенсоров возможна визуализация динамических изменений уровня рН [3], H₂O₂ [2] и других молекул в целом растении. Цель данной работы состоит в создании модельных растений картофеля, экспрессирующих рН-чувствительный сенсор Pt-GFP и H₂O₂-чувствительный сенсор HyPer.

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) - ценная сельскохозяйственная культура и важный объект физиологии растений. Для эффективной трансформации требуется отработка наиболее продуктивных биотехнологических методик для каждого сорта.

Отбор подходящих для генетической трансформации сортов и типов экспланта проводился среди пяти сортов. Он осуществлялся путём индукции органогенеза на листовых и стеблевых эксплантах на 14 вариантах питательных сред по прописи Мурасиге и Скуга с различными концентрациями фитогормонов. Выявлено, что наиболее успешно органогенез проходил на стеблевых эксплантах картофеля сортов Невский и Ирбитский на среде Мурасиге-Скуга с 6-БАП (3 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л) (среда ЗВ/0,5I).

Далее проверялась устойчивость картофеля к цефотаксиму - антибиотику, к которому чувствительны агробактерии. Для этого использовались сорта Невский и Ирбитский, стеблевой тип эксплантов и среда ЗВ/0,5I. Было выяснено, что на среде с цефотаксимом с концентрацией выше 200 мкг/л агробактерии погибали. При этом концентрации 300 мкг/л и 600 мкг/л оказались наиболее эффективными для прохождения органогенеза на эксплантах для сортов Ирбитский и Невский.

Подобранные сорта, тип экспланта, состав среды и концентрация цефотоксима в дальнейшем использовались для агробактериальной трансформации картофеля генами Pt-GFP и HyPer. Для этого были использованы агробактерии штамма AGL0, несущие плазмиды pART27 с геном Pt-GFP (NanoLight® Technologies, США) или с геном HyPer (Евроген, Россия) под контролем промотора CaMV 35S. Для первичного отбора регенерантов использовалась селективная питательная среда с добавлением канамицина (100 мкг/л), ген устойчивости к которому находится также под контролем промотора CaMV 35S.

Генетическая трансформация картофеля проводилась путем кокультивирования эксплантов с агробактериями на среде ЗВ/0,5I в темноте два дня. Затем экспланты пересаживали на питательную среду ЗВ/0,5I с цефотаксимом и канамицином и через четыре недели снова на эту же среду и культивировали до появления регенерантов.

Источники и литература

- 1) Зубова Н.Н., Булавина А.Ю., Савицкий А.П. Спектральные и физико-химические свойства зелёного (GFP) и красного (dGFP583) флуоресцирующих белков // Успехи биологической химии. 2003. Т. 43. С. 163-224.

- 2) Bilan D.S., Belousov V.V. HyPer Family Probs: State of the Art // Antioxydants and Redox signaling. 2016. Vol. 24, No 13. P. 731-751.
- 3) Schulte A., Lorenzen I., Böttcher M., Plieth C. A novel fluorescent pH probe for expression in plants // Plant Methods. 2006. Vol. 2, No. 7. P. 1-13.