

Получение стабильно трансформированных линий растений для исследования метанол индуцируемого гена MIG21, стимулирующего распространение вирусной инфекции

Научный руководитель – Комарова Татьяна Валерьевна

Шахова Дарья Андреевна

Студент (специалист)

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

E-mail: darasahova5743@gmail.com

Летучие органические соединения (ЛОС) играют важную роль в жизненном цикле растений. Исследования последних лет показывают, что метанол, являющийся одним из ЛОС, выполняет роль сигнальной молекулы, обеспечивая коммуникацию между растениями. Повреждение клеточной стенки приводит к эмиссии метанола. Растения способны улавливать такие молекулы, запуская системы адаптации к изменениям внешней среды. Газообразный метанол повышает устойчивость растений к бактериальным патогенам, но в то же время способствует развитию вирусной инфекции. Метанол активирует экспрессию метанол-индуцируемых генов (MIG), среди которых и *MIG21* [1]. MIG21 стимулирует межклеточный транспорт макромолекул, но в то же время, препятствует ядерному импорту белков. По-видимому, благодаря этим свойствам MIG21 в клетке создаются условия, благоприятные для развития вирусной инфекции. Показано, что MIG21, слитый с флуоресцентным белком, имеет ядерную локализацию. Также был идентифицирован промотор MIG21 (PrMIG21) [1]. Для исследования функций MIG21 в ходе роста и развития растения, а также при стрессовых воздействиях необходимо создание модельной системы – стабильно трансформированных растений, содержащих экспрессионную кассету PrMIG21-MIG21:GFP, включающую в себя PrMIG21 и кодирующую слитый белок MIG21:GFP. Целью настоящей работы было получение таких растений. Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи: (1) получение генноинженерной конструкции PrMIG21-MIG21:GFP; (2) оценка внутриклеточной локализации MIG21:GFP при транзientной экспрессии PrMIG21-MIG21:GFP; (3) оценка влияния газообразного метанола на уровень накопления мРНК MIG21:GFP и соответствующего белка; (4) трансформация *Nicotiana benthamiana* вектором PrMIG21-MIG21:GFP с последующей регенерацией. В ходе выполнения работы была получена конструкция PrMIG21-MIG21:GFP для экспрессии в растениях. Доставку генетического материала в листья *N. benthamiana* осуществляли с помощью агробактерии. Показано, что при транзientной экспрессии PrMIG21-MIG21:GFP (1) флуоресценция MIG21:GFP детектируется в ядре; (2) уровень накопления мРНК, кодирующей MIG21:GFP, повышается в ответ на обработку растений физиологическими концентрациями газообразного метанола. При использовании агробактерии (штамм AGL0) проведена трансформация клеток листа *N. benthamiana* вектором PrMIG21-MIG21:GFP для дальнейшей регенерации листового материала на питательной среде.

Таким образом, в ходе проделанной работы получен экспрессионный вектор PrMIG21-MIG21:GFP и подтверждена его функциональность, а именно, синтез в клетках листа слитого белка MIG21:GFP и активация промотора в ответ на метанол.

Источники и литература

- 1) 1. Sheshukova E., и др. *Nicotiana benthamiana* Methanol-Inducible Gene (MIG) 21 Encodes a Nucleolus-Localized Protein That Stimulates Viral Intercellular Transport and Downregulates Nuclear Import // *Plants*, том. 13, № 2, с. 1-19, 2024