

ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРНИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ЗЛАКОВИХ НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНА БЕТА-ГЛЮКУРОНІДАЗИ В ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ ТЮТЮНУ

Олійник М. Є., Нітовська І. О., Моргун Б. В.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
psaltyrnikolinyk@gmail.com

Одним із шляхів підвищення ефективності трансформації однодольних рослин є створення адаптованих векторних конструкцій із спеціальними промоторами та регуляторними елементами, спрямованими для посилення експресії трансгенів. Бажаним етапом перед використанням новоствореного вектору є його тестування на модельному об'єкті біотехнології тютюні. Тютюн належить до дводольних рослин, тому цілком ймовірно, що експресія векторів, призначених для трансформації однодольних, не відбуватиметься. Метою нашого дослідження було вивчити експресію гена β -глюкуронідази (*uidA*), який знаходиться під контролем регуляторних послідовностей однодольних, в трансгенних рослинах тютюну покоління T₁.

В попередньому дослідженні ми отримали трансгенні рослини тютюну методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації, використовуючи бінарні вектори pCB203 та pICBV16[1]. Вектор pCB203 містив ген *uidA* під контролем промотору та першого інтрону гена убікітину кукурудзи, тоді як у векторі pICBV16 ген *uidA* був під контролем промотору 35S РНК вірусу мозаїки цвітної капусти. Плазміда pCB203 знаходилася в штаммах *A. tumefaciens* GV3101 або C58, pICBV16 - у штамі GV3101. Для дослідження експресії гена *uidA* в трансгенних рослинах *Nicotiana tabacum* ми проводили гістохімічний аналіз активності ферменту β -глюкуронідази в листках рослин тютюну покоління T₁. Було проаналізовано 5 ліній трансгенних рослин, отриманих після трансформації вектором pICBV16, 5 ліній рослин, отриманих після трансформації вектором pCB203 за допомогою бактеріального штаму GV3101 та 7 ліній рослин, отриманих після трансформації вектором pCB203, який знаходився у штамі C58, у загальній кількості 171 рослина. Гістохімічне дослідження виявило експресію гена β -глюкуронідази в листках трансгенних рослин. Найбільш інтенсивне блакитне забарвлення спостерігали в листках рослин, отриманих після трансформації вектором pICBV16, найслабкіше - в листках тютюну, отриманого після трансформації вектором pCB203 за допомогою *A. tumefaciens* штаму GV3101. Таким чином, було показано зниження у тютюні рівня експресії гену *uidA*, який знаходився під контролем промотору та першого інтрону гена убікітину кукурудзи, порівняно з геном, що знаходиться під контролем промотору 35S РНК вірусу мозаїки цвітної капусти. Використання в процесі трансформації *A. tumefaciens* штаму C58 приводило до підвищення рівня експресії чужорідних білків у трансгенних рослинах порівняно з використанням *A. tumefaciens* штаму GV3101.

Список використаної літератури:

1. Нітовська І. О. , Олійник М. Є., Козар М. Ю. , Моргун Б. В. Тестування активності вектору рСВ203, що містить нуклеотидні послідовності однодольних, за допомогою *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації тютюну.// Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія ХХІ століття» (Київ, 20 травня, 2020 р.). — С. 68.