

СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НОКАУТОВ ПО ГЕНАМИ RAB-ГЕРАНИЛГЕРАНИЛТРАНСФЕРАЗЫ У РАСТЕНИЙ *MARCHANTIA POLYMORPHA*

М.С. Кулаженко, Л.Р. Валеева

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

Развитие растительных биотехнологий имеет большие перспективы для получения рекомбинантных белков и биологически активных метаболитов, а также улучшения свойств растений, таких как устойчивость к неблагоприятным факторам среды и фитопатогенам, продуктивность и пищевая ценность. Пренилирование белков является одним из важнейших типов посттрансляционной модификации белков большинства живых организмов, в том числе и растений. Пренилированные белки выполняют такие функции, как сигнальная трансдукция, полярный рост клеток, модификации мембран и клеточной стенки. В свою очередь, эти процессы связаны с устойчивостью растений к различным видам стресса, включая засуху, температурный шок, осмотический стресс и инфицирование патогенными микроорганизмами, а также с развитием растений и созреванием плодов. Тем самым, пренилтрансферазы и пренилированные белки являются перспективными мишенями для генетической инженерии растений и сельскохозяйственной биотехнологии.

В пренилировании белков участвуют три типа пренилтрансфераз, наиболее специфичной из которых является Rab-геранилгеранилтрансфераза (Rab-GGT), функциональная роль которой к настоящему времени остается малоизученной. Удобными и перспективными объектами для проведения молекулярно-генетических исследований в царстве растений, в частности, изучения роли пренилтрансфераз, являются бриофиты, так как эта группа растений является одной из древнейших многоклеточных наземных растений. Использование представителя бриофитов *Marchantia polymorpha* для исследования пренилирования белков растений открывает новые возможности для изучения процессов развития растений, а также филогенетических связей внутри царства растений.

Целью работы было создание генетических конструкций для CRISPR/Cas9 нокаутирования генов субъединиц Rab-геранилгеранилтрансферазы *Marchantia polymorpha*.

В результате проведенного биоинформационного поиска нами было установлено наличие одной копии гена α -субъединицы и одной копии гена β -субъединицы Rab-геранилгеранилтрансферазы в геноме растений *Marchantia polymorpha*. Проведен филогенетический анализ генов Rab-GGT *M. polymorpha*. Нами получены две конструкции на основе бинарного вектора pMpGE_011 и специфичных sgRNA для CRISPR/Cas9 нокаутирования гена α -субъединицы Rab-геранилгеранилтрансферазы *M. polymorpha* и одна конструкция – для β -субъединицы. Получены рекомбинантные штаммы *A. tumefaciens* GV2660 с интегрированными рекомбинантными векторами pMpGE_011:sgRNA для дальнейшей трансформации *M. polymorpha*.

В дальнейшем нами будет проведена трансформация растений *M. polymorpha* для анализа влияния Rab-геранилгеранилтрансферазы на рост и развитие растений. Кроме того, полученные данные будут использованы для выявления белков-мишеней пренилирования и их возможной роли в ответе растений на абиотический и биотический стресс.

Работа выполнена в рамках проекта, поддержанного Стипендией Президента РФ СП-3391.2021.4.