

Эффекты трансформации эмбриогенной культуры мака (*Papaver albo-roseum*)

плазмидной ДНК, содержащей ген *Gal4*

Киселев К.В., Суховой А.А., Шкрыль Ю.Н., Булгаков В.П. Дальневосточный государственный университет, Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток

В молекулярной биологии известны различные *cis*-регуляторные белковые активаторы транскрипции эукариотических генов, одним из которых является белок *Gal4*. В данной работе трансформацию растительных клеток проводили эффекторной плазмидой рМА 563, несущей полноразмерный ген *Gal4* и плазмидой рМА 564, не содержащей последовательностей, кодирующих участки связывания с ДНК, что делает ген не функциональным. Белок *Gal4* является дрожжевым активатором транскрипции, способным функционировать в гетерологичных системах. Оба гена находятся в конструкциях под контролем нопаинсинтазного промотора, что предполагает их активную экспрессию в растительных клетках. В качестве объекта для эксперимента использовали эмбриогенные суспензионные культуры мака (*Papaver albo-roseum*), полученные из незрелых семян. Ожидалось, что ген будет изменять нормальное развитие эмбриоидов, по аналогии с доказанным недавно его влиянием на эмбрионы морских ежей.

Трансформацию проводили плазмидной ДНК, выделенной из штаммов *E.coli* методом щелочного лизиса. В процессе трансформации использовали полиэтиленгликоль. После трансформации эмбриоиды высаживали на среды, не содержащие гормонов, а также среды с различными добавками ауксинов и цитокининов. В процессе культивирования контролировали интенсивность ризо- и эмбриогенеза, изменение морфологии ткани.

Установлено, что действие плазмидной ДНК проявляется в увеличении интенсивности ризогенеза относительно контроля в 1,6 раза и эмбриогенеза в 1,4 раза в том случае, если

использовали функциональный ген *Gal4* (плазмида рМА 563). Этот же ген, лишенный активаторных доменов, не вызывал такого эффекта. Эффективность действия гена *Gal4* зависела от гормонального состава сред. Действие плазмиды рМА 563 вызвало ряд анатомических и морфологических изменений ткани: на каллусе наблюдалось нарушение центра инициации эмбриоидов и появлялись структуры с нарушенным дорсовентральным строением. Отмечены другие аномалии развития, в том числе листья, напоминающие по морфологии рыльца, большее опушение корней, а также большее количество двулопастных удлинённых листьев. Таким образом, ген *Gal4* оказывал существенное влияние на процессы эмбриогенеза в культуре клеток мака. Проводится углублённое молекулярно-биологическое исследование трансформированных эмбриоидов.