

PR-103**ПОЛУЧЕНИЕ ВЕКТОРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ CRISPR/CAS9-НОКАУТИРОВАНИЯ
ГЕНОВ
ЦИС-ПРЕНИЛТРАНСФЕРАЗ У *MARCHANTIA POLYMORPHA*****Валеева Л. Р.**

Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420021, Россия, г. Казань, ул. Парижской коммуны, 9
E-mail: lia2107@yandex.ru

Поиск и изучение биологически активных соединений растительного происхождения является перспективным направлением в биотехнологии в связи с их огромным структурным и функциональным разнообразием, что обеспечивает широкий диапазон возможного применения в медицине, сельском хозяйстве и промышленности. В свою очередь, уникальной с точки зрения продуцируемых метаболитов группой растений являются бриофиты (зеленые и антоцеротовые мхи, печеночники). Простота культивирования и небольшие размеры делают бриофиты удобными объектами как для проведения фундаментальных исследований в области метаболомики, так и перспективными продуцентами для промышленности. Среди всех соединений, продуцируемых бриофитами, особый интерес вызывают различные ароматические соединения, имеющие антимикробные и антиоксидантные свойства, для которых характерно наличие длинного изопреноидного остатка – пренила. Пренилирование таких соединений происходит под действием специфических ферментов – цис-пренилтрансфераз. Таким образом, изучение пренилированных ароматических соединений бриофитов представляет собой перспективное направление в качестве основы для последующего развития метаболомической инженерии этой группы растений.

Целью работы являлось изучение роли цис-пренилтрансфераз в формировании метаболома и вклада пренилированных ароматических соединений в биологическую активность метаболитов печеночника *M. polymorpha*. Для работы были выбраны гены *M. polymorpha* Mapoly0012s0016, Mapoly0121s0026, Mapoly0142s0042 и Mapoly0142s0037, относящиеся к цис-пренилтрансферазам типа 4 и 7 (CPT4, CPT7). Для получения растений, мутантных по перечисленным генам, использовали технологию CRISPR/Cas9-редактирования генома. Проводили клонирование последовательности направляющей РНК (sgRNA) в промежуточный вектор MpGE_En03 под контроль промотора U6 и субклонирование последовательности U6::sgRNA в бинарный вектор MpGE011 в область T-ДНК, включающую ген *cas9*. Клонирование полноразмерных вставок подтверждали генотипированием и секвенированием. Полученные векторы трансформировали в клетки штамма *Agrobacterium tumefaciens* GV2260. Таким образом, нами были получены векторы для CRISPR/Cas9-редактирования последовательностей генов цис-пренилтрансфераз *M. polymorpha*. Далее будет проведена трансформация растений и получены растения-нокауты по таргетным генам. Последующий анализ состава экстрактов тканей мутантных растений и анализ их антимикробной активности позволит установить роль пренилированных ароматических соединений в формировании метаболома и вклада в биологическую активность метаболитов *M. polymorpha*.

Работа выполнена при поддержке грантом Академии наук Республики Татарстан № 10-107-эГ.