

задачей. В единичных работах имеются данные о некоторых аспектах особенностей азотного метаболизма лактобацилл. Предварительный анализ геномов *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus buchneri* выявил наличие гена белка GlnK, гомолог которого в клетках бактерий представляет собой небольшой регуляторный белок, принадлежащий к семейству РII белков, участвующих в регуляции азотного метаболизма. В клетках *B.subtilis* белок GlnK, по-видимому, регулирует активность мембранного белка AmtB и фактора транскрипции TnrA играющего ведущую роль в контроле активности генов азотного метаболизма у *B.subtilis*.

Целью работы явилось клонирование и очистка белка GlnK молочнокислых бактерий *Lactobacillus brevis*. Для этого ген *glnK* из *L.brevis* был клонирован в экспрессионный вектор pASK IBA3 с получением плазмиды pASK-LbrGlnK для дальнейшей гиперпродукции белка GlnK с аффинным стрептактиновым тагом. Белок очищен методом аффинной хроматографии на Strep-tactin сефарозе, в результате чего был получен препарат исследуемого белка. Белок был очищен до электрофоретической гомогенности, что было подтверждено электрофорезом в денатурирующих условиях в 15% полиакриламидном геле. Белок GlnK в *B. subtilis* находится в клетке в виде тримера. Для белка из *L.brevis* также была показана способность к тримеризации методом гельфильтрации на колонке SuperDex 200 10/300 GL. В настоящее время представляет интерес исследование эффекторных молекул белка GlnK – регуляторов его активности среди клеточных метаболитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-32317мол\_а.

## **ВВЕДЕНИЕ В ГЕНОМЫ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА, ПОВЫШАЮЩЕГО УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАМОРОЗКАМ**

**Тимошенко А.А.<sup>1</sup>, Шульга О.А.<sup>2</sup>, Гапоненко А.К.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, <sup>2</sup>Центр «Биоинженерия» РАН, <sup>3</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*timoshenko.alekseevna@gmail.com*

В РФ свыше 2/3 посевов пшеницы сосредоточено в регионах суровых зимних природных условий, для которых характерны частые заморозки весной. Повысить устойчивости продуктивных отечественных сортов к пониженным температурам можно путем введения в геном пшеницы и экспрессии транскрипционных факторов семейства *DREB* методами генетической инженерии. Показано, что экспрессия *TaDREB3* повышает холодостойкость ячменя. Цель нашей работы - отработать условия эффективной регенерации и биобаллистического введения гена *TaDREB3* под контролем холодоиндуцируемого промотора *WRKY71* в высокопродуктивные сорта российской селекции. Кассета экспрессии *WRKY71:TaDREB3* в составе бинарного вектора нами получена от д-р. С. Лопато (австралийский центр функциональной геномики). Т.к. данный вектор содержит в качестве селективного ген устойчивости к гигромицину, было проведено переклонирование кассеты экспрессии *WRKY71:TaDREB3* в плазмидный вектор pBS для использования при биобаллистической трансформации. Известно, что частота коинтеграции в геном при биобаллистической трансформации двумя конструкциями составляет порядка 80%. Поэтому мы использовали одновременно две плазмиды: psGFP/BAR - с селективным геном *bar*, обеспечивающим устойчивость к гербициду фосфинотрицину (BASTA), и геном маркерного белка *GFP*, и *pBS-TaDREB3* - с кассетой *WRKY71/TaDREB3*. В результате проделанной работы была отлажена регенерация сортов мягкой озимой пшеницы в условиях *in vitro*. Нами получены морфогенные каллусы пшеницы различных сортов, компетентные к регенерации и трансформации путем культивирования и селекции клеточных линий из незрелых зародышей. Все устойчивые к фосфинотрицину регенеранты проверили на наличие гена *bar* и *WRKY71/TaDREB3* методом ПЦР. Достигнутая эффективность генетической трансформации составила 10%. Анализ наличия и экспрессии гена *TaDREB3* продолжается.