

Устойчивость к фитопатогенам proSmAMP-1-трансгенных линий картофеля, полученных на основе сортов с различной восприимчивостью к возбудителям фитофтороза и альтернариоза

¹Юрьева Н.О., ¹Беляев Д.В., ²Деревягина М.К., ¹Терешонок Д.В., ²Мелешин А.А.,
³Рогожин Е.А., ¹Соболькова Г.И., ²Васильева С.В., ²Шелухин П.Г.
¹ ИФР РАН; ² ГНУ ВНИИКХ; ³ ИБХ РАН

Степень устойчивости исходных форм картофеля к возбудителям **фитофтороза** и альтернариоза

сорт	Устойчивость к фитофторозу, балл (ВНИИ КХ)	Индекс поражения альтернариозом (ВНИИ КХ)
Скорoplодный-7	5,1 - 5,3	36 – 47
Скорoplодный-29	3,3 - 4,8	22
Жуковский ранний	3,9 - 4,3	32
Удача	5,5	41
Никулинский	7,5 - 9,0	0,2 – 3,4



Стандарты высокой восприимчивостей и низкой

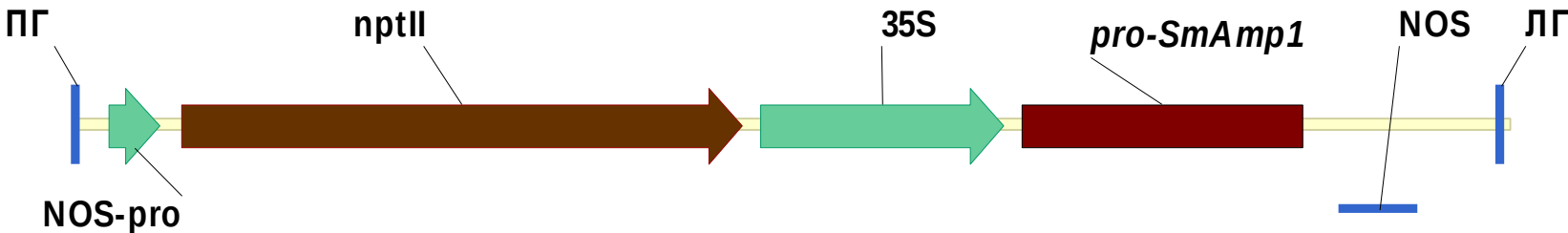
Действие пептидов звездчатки на фитопатогены картофеля



Ген ProSmAMP1 звездчатки средней (на фото выше) кодирует пропептид-предшественник двух гевеин-подобных пептидов SmAMP1.1a и SmAMP1.2a, активных по отношению к фитофторе и альтернарии.

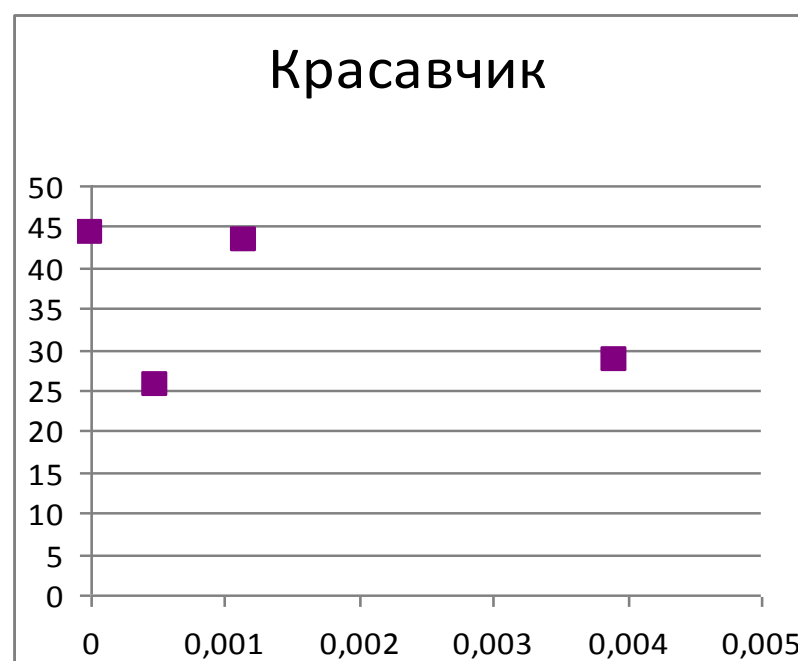
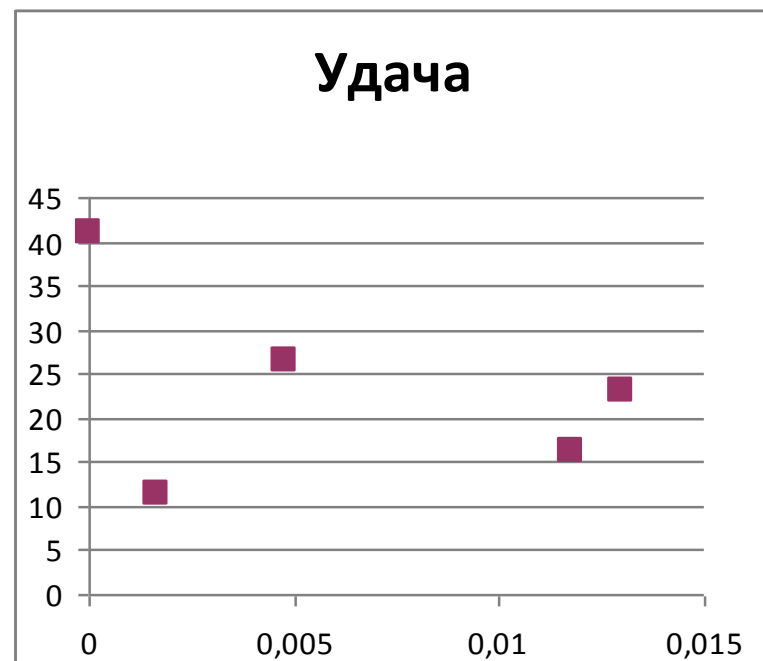
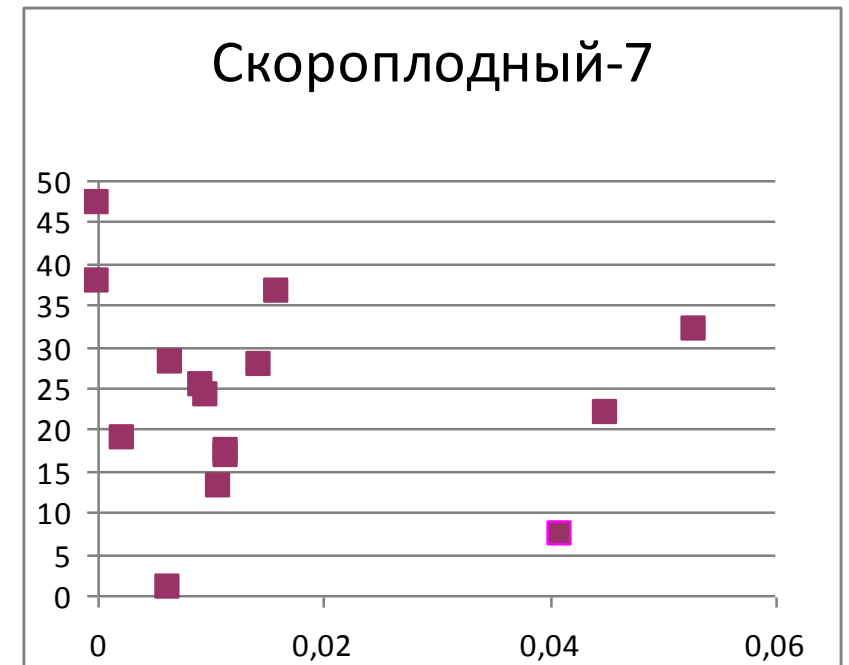
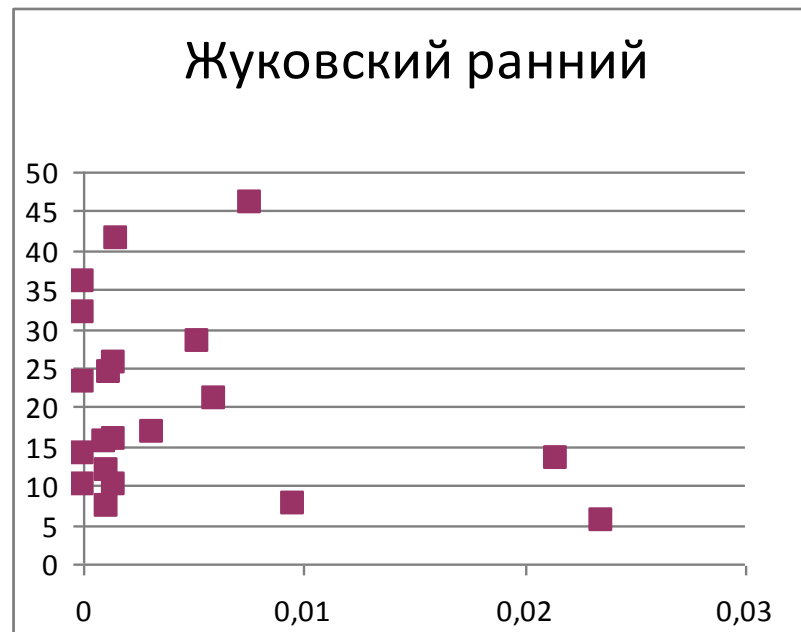
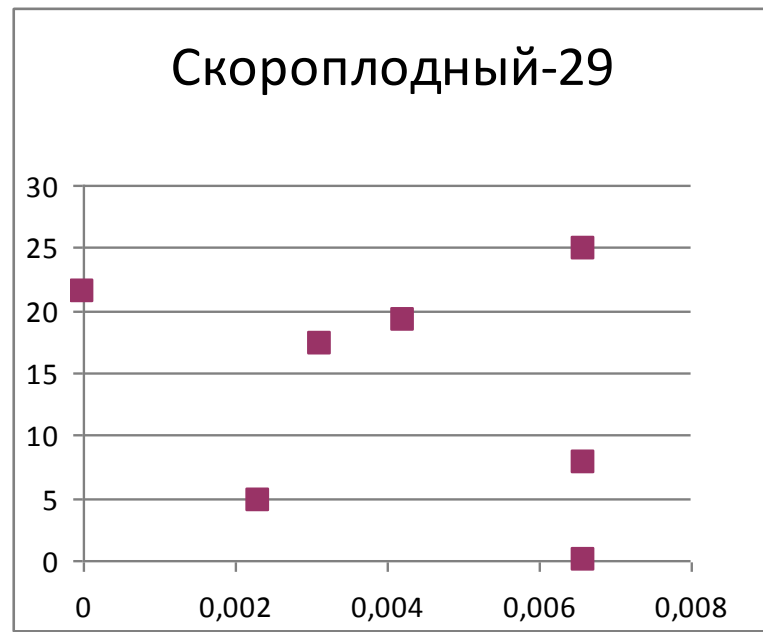
Несколько сортов картофеля были трансформированы конструкцией для экспрессии ProSmAMP1 (Shukurov et al, 2011), любезно предоставленной Бабаковым А. В. (ВНИИ СБ РАСХН).

Пептид	Показатель	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Phytophthora infestans</i>
SmAMP1.1a	IC _{min} , μM	3,5	2,1
	IC ₅₀ , μM	8,6	6,5
	Морф. изменения	+	-
SmAMP1.2a	IC _{min} , μM	3,0	1,9
	IC ₅₀ , μM	7,1	5,0
	Морф. изменения	+	-



pBI121-SmAmp1

Экспрессия трансгена ProSmAMP1 коррелирует с устойчивостью к альтернарии.

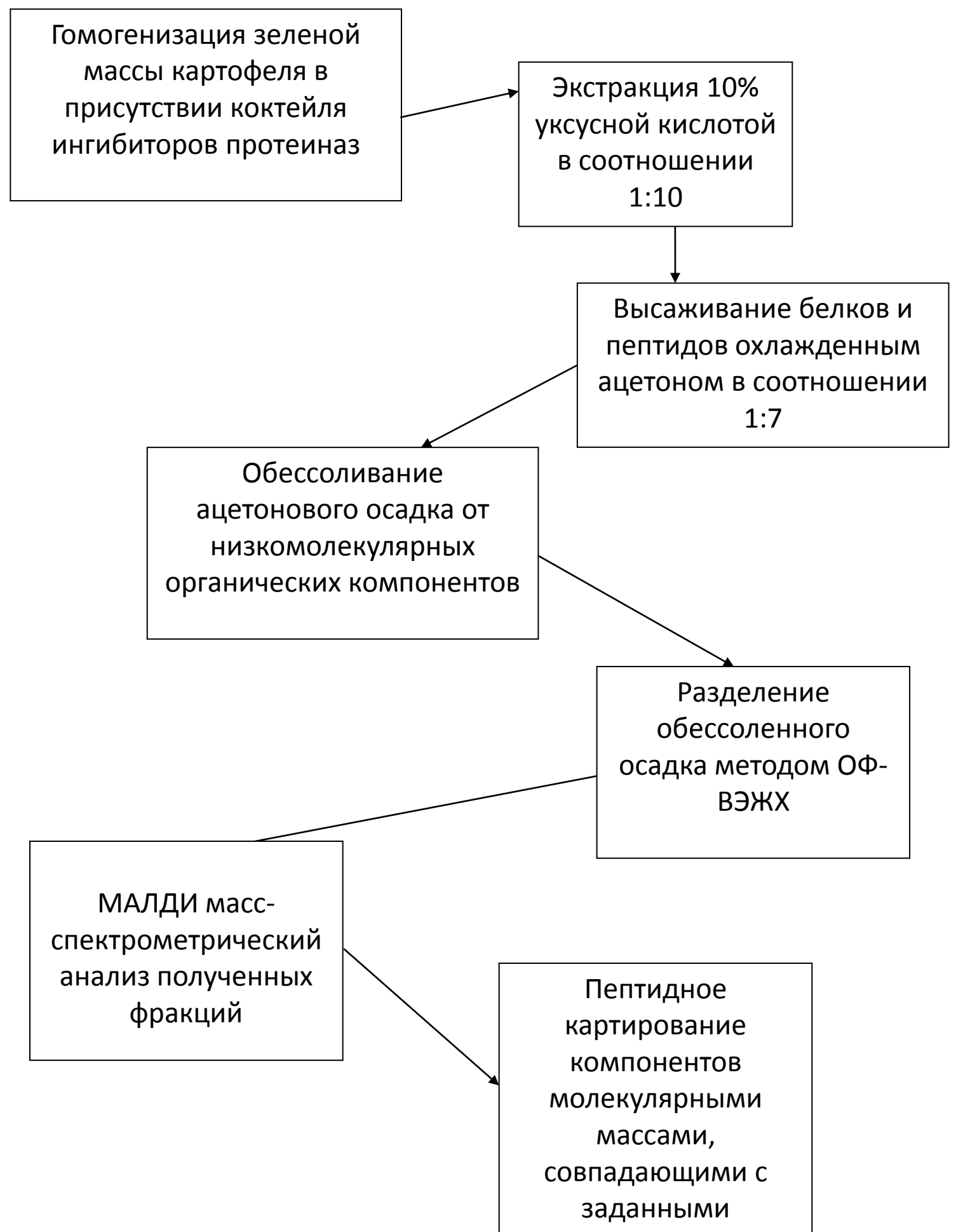


У трансгенных линий измеряли экспрессию трансгена (ось X, условные ед.) и степень поражения альтернарией (ось Y, индекс поражения). $Y = (a_1 \cdot b_1/v_1 + a_2 \cdot b_2/v_2 + \dots + a_n \cdot b_n/v_n) \times 1/n$, где $a_1, a_2, \dots, a_n$ - диаметр поражения (мм); $b_1, b_2, \dots, b_n$ - интенсивность спороношения (балл); $v_1, v_2, \dots, v_n$ - длина инкубационного периода (сутки); n - количество заражений.

Исходный сорт Скороплодный-7 и один из устойчивых трансгенов



Принципиальная схема выделения и идентификации пептидов SmAMP1.1a и SmAMP1.2a в трансгенных линиях картофеля. Работа была проведена на растениях, выращенных в полевых условиях (испытательном полигоне).



>Pss-YY-SmAMP

MVNMKSFALVMLFATLVGVITIA SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSEIEPT DAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG
SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAH DAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG

Варианты протеолиза:

1.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAH	3462,8 Da
2.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSEIEPT	4545,0 Da
3.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSEIEP	4443,9 Da¹
4.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSEIE	4346,8 Da
5.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSEI	4217,7 Da
6.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSE	4104,5 Da^{1,2}
7.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLS	3975,4 Da
8.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPL	3888,3 Da^{1,3}
9.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTP	3775,2 Da
10.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNT	3678,0 Da
11.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHN	3576,9 Da
12.	DAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3218,6 Da
13.	NTPLSEIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	4300,8 Da
14.	TPLSEIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	4186,7 Da²
15.	PLSEIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	4085,6 Da
16.	LSEIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3988,4 Da^{1,2}
17.	SEIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3875,3 Da
18.	EIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3788,2 Da
19.	IEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3659,2 Da
19.	EPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3545,9 Da²
20.	PTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3416,8 Da
21.	TDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	3319,7 Da
22.	SGPNGQCGPGWGGCRGGLCCSQYGYCGSGPKYCAHNTPLSEIEPTDAGRCSGRGTCSSGGRCCSKYGYCGTGPAYCGLG	7745,6 Da^{1,2}

1 обнаружено у 267 линий

2 обнаружено у 268 линий

3 обнаружено у 270 линий

Множественное выравнивание выведенных вариантов транслированных аминокислотных последовательностей полипептидов белка-предшественника SmAMPs в зависимости от локализации сайта протеолиза. Зрелые пептиды SmAMP1.1a и SmAMP1.2a подчеркнуты и выделены желтым фоном, зеленым показан линкерный участок, в котором расположен сайт ферментативного протеолиза. Жирным шрифтом выделены средние молекулярные массы полноразмерного белка-предшественника, а также зрелые пептиды SmAMPs. В растениях двух из трех проанализированных линий обнаружен пептид «22» и его структура подтверждена анализом продуктов протеолиза.

- Что дальше?
- Создание сортов с генами антигрибных пептидов звездчатки
- Поиск антимикробных пептидов картофеля
- «Генетически улучшенные» сорта со сверхэкспрессией антимикробных пептидов
- Антимикробные пептиды - маркеры устойчивости

