

АННОТАЦИЯ

научно-квалификационной работы Ефремова Глеба Ильича на тему «Анализ структурных и регуляторных генов биосинтеза каротиноидов у культивируемых и дикорастущих видов *Solanum* секц. *Lycopersicum*»
(06.06.01 Биологические науки, 1.5.3. Молекулярная биология)

Род *Solanum* секция *Lycopersicon* включает 12 дикорастущих видов (*S. arcanum*, *S. pimpinellifolium*, *S. cheesmaniae*, *S. chilense*, *S. chmielewskii*, *S. corneliomulleri*, *S. galapagense*, *S. habrochaites*, *S. huaylasense*, *S. neorickii*, *S. peruvianum*, *S. pennellii*) и культивируемый вид томата *S. lycopersicum*, образующие плоды, окраска которых изменяется в широких пределах, что является результатом качественного и количественного состава каротиноидов, что делает данную группу хорошей модельной системой для изучения синтеза и накопления каротиноидов в плодах, и их характеристика позволяет выявить особенности и эволюцию генов каротиногенеза у видов томата.

Проведенный биохимический анализ 40 образцов 10 видов томата показал, что количество общих каротиноидов и соотношение различных классов каротиноидов в листьях относительно постоянно как в эволюционно молодых красноплодных и желтоплодных видах, так и в эволюционно более древних зеленоплодных видах секции *Lycopersicon*, из чего можно предположить, что эволюция не затронула процесс биосинтеза каротиноидов в листьях. Была выявлена общая тенденция накопления каротиноидов в динамике созревания плода зеленоплодных и красноплодных видов от низкого количества каротиноидов на ранних стадиях (стадии IG и MG) с повышением (небольшим для зеленоплодных и резким для красноплодных видов) на стадии полной спелости (стадии RR\FR).

Были определены и охарактеризованы последовательности ключевых генов каротиноидного метаболизма (фитоенсинтазы *PSY1*, 15-цис-зета(ζ)-каротинизомеразы *Z-ISO* и каротин-cis-trans-изомеразы *CRTISO*) у 10 дикорастущих и культивируемых видов томатов секции *Lycopersicon*.

Были впервые определены (клонированы, секвенированы) и охарактеризованы последовательности 21 новых гомологов фитоенсинтазы *PSY1* у 12 сортов и девяти дикорастущих и культивируемых видов томата. Выявлен достаточно высокий полиморфизм последовательностей (10%), при этом наиболее низкий уровень детектирован у эволюционно более молодых красноплодных видов (*S. pimpinellifolium*, *S. cheesmaniae*, *S. galapagense* *S. lycopersicum*); наибольшее генетическое разнообразие показано для более древних зеленоплодных видов томата. Выявлены видоспецифичные аллельные варианты, а также аллели у сортов *S. lycopersicum*, которые могут быть соотнесены с окраской спелого плода. Охарактеризована варибельность белковых последовательностей *PSY1* и

определены 13 консервативных мотивов, характерных для всех анализируемых видов. Наиболее полиморфным участком *PSY1* оказался N-концевой транзитный пептид зеленоплодных видов, отвечающий за транспорт белка в пластиды. Впервые проведенный анализ промоторов и 5'-UTR выявил 37 *cis*-активных регуляторных элементов, связанных с тканеспецифической экспрессией и реакцией на фитогормоны и факторы стресса; из них 32 были общими для *PSY1* обоих видов, и 11 видоспецифичными. Выявленное наличие большого количества гормон-чувствительных элементов в промоторе и 5'-UTR указывают на участие *PSY1* в регуляции гормонально-опосредованной передачи сигналов у видов томата. Содержание окрашенных каротиноидов в спелых плодах напрямую коррелировало с уровнем экспрессии.

Были впервые определены и охарактеризованы последовательности генов-гомологов 15-цис-зета(ζ)-каротинизомеразы *Z-ISO* у 12 сортов культурного и образцов девяти дикорастущих видов томата. Вариабельность генов-гомологов *Z-ISO* была ниже, чем у *PSY1* и составила 3.85%. Неожиданно высокий уровень был характерен для 5-UTR области (7.31%). Несмотря на различия в окраске плодов, все идентифицированные гомологи *Z-ISO* характеризовались минорными отличиями в аминокислотной последовательности и одинаковой структурой. В плодах на стадии полной зрелости в сортах *S. lycopersicum* с красной окраской плода экспрессия *Z-ISO* была в 7–17 раз выше по сравнению с зеленоплодными видами. Сравнения содержания каротиноидов в спелых плодах видов томата с экспрессией генов-гомологов *Z-ISO* выявило прямую корреляцию.

Определены и охарактеризованы последовательности кДНК генов-гомологов каротин-*cis-trans*-изомераз *CrtISO*, *CrtISO-L1*, *CrtISO-L2* у красноплодных, желтоплодного и двух зеленоплодных видов томата. Уровень межвидового полиморфизма для каждого из генов не превысил 2.00%. Были выявлены значительные различия в паттернах экспрессии *CRTISO*, *CRTISO-L1*, *CRTISO-L2*. Ген *CrtISO* транскрибировался в листьях и на всех стадиях созревания плода у красноплодного вида, с максимумом на стадии смены окраски с зеленой на красную, и при биологической спелости. Значительно большее количество транскриптов *CrtISO-L1* и *CrtISO-L2* в листьях по сравнению с плодами предполагает преимущественное участие этих генов в биосинтезе каротиноидов в фотосинтезирующей ткани. Корреляции между уровнями экспрессии генов в плодах и содержанием каротиноидов не выявлено. Проведенный филогенетический анализ *CrtISO*, *CrtISO-L1*, *CrtISO-L2* может свидетельствовать о более древнем происхождении *CrtISO-L2* и позволяет предположить, что возникновение этих генов в результате генных дупликаций предшествует расхождению высших растений на астериды и розиды.