Transformation of plants with target gene encoding glutathione S-transferase to induce stress resistance

Mikhaylova E.V., Shein M.Yu., Alexeev V. Yu., Baimukhametova E.A., Musin Kh.G., Nikonorov Yu.M., Kuluev B.R.

Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia

E-mail: mikhele@list.ru

Key message. Transgenic plants *Nicotiana tabacum*, *Brassica napus*, *B. rapa*, *Eruca sativa* with target gene *AtGSTF11* were created. Their stress resistance is being studied.

Keywords: *AtGSTF11*, *Nicotiana tabacum*, *Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Eruca sativa*

Glutathione S-transferases (GSTs) play an important role in plant response to stress because they catalyze the conjugation of glutathione with toxic molecules [1]. In *Arabidopsis thaliana* alone there are seven clades of *GST* genes [2]. Functions and role of many of these genes remain uncertain.

Gene *AtGSTF11* was chosen as a target gene, because in our experiments its expression was induced by drought and salinity stress, and decreased under heat stress, which suggests that this gene is involved in the formation of plant defense reaction. There is also data on its role in the synthesis of glucosinolates [2] that protect plants of family *Brassicaceae* from pests and diseases.

Genetic construct with target gene *AtGSTF11* was made on the basis of 1301 pCambia vector. It was cloned to *Agrobacterium tumefaciens* by electroporation. Bacteria were used for transformation of *N. tabacum* explants *in vitro* and rapeseed *B. napus*, turnip *B. rapa*, arugula *E. sativa* by floral dip method (*in planta*). This technique is universal for the plants of family *Brassicaceae*.

Transgenic plants demonstrated increased resistance to stress factors, however the framework of these factors was different in each species. Most probably, the product of *AtGSTF11* gene helps the plant to manage oxidative stress of different origin.

Research was supported by grant of President of Russian Federation MK-1146.2020.11 and partially by state assignment № AAAA-A16-116020350028-4

Создание трансгенных растений с целевым геном, кодирующим глутатион-S-трансферазу, для повышения их стрессоустойчивости

Михайлова Е.В., Шейн М.Ю., Алексеев В.Ю., Баймухаметова Э. А., Мусин Х.Г., Никоноров Ю.М., Кулуев Б.Р.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

Аннотация. Получены трансгенные растения видов *Nicotiana tabacum*, *Brassica napus*, *B. rapa*, *Eruca sativa* с целевым геном *AtGSTF11*. Проводится оценка их устойчивости к стрессу.

Ключевые слова: *AtGSTF11*, *Nicotiana tabacum*, *Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Eruca sativa*

Глутатион-S-трансферазы (GST) играют важную роль в обеспечении устойчивости растений к стрессу благодаря тому, что катализируют реакции связывания глутатионом токсичных молекул [1]. Только в *Arabidopsis thaliana* различают семь семейств генов *GST* [2]. Функции и роль многих из них до сих пор не исследованы.

Ген *AtGSTF11* был выбран в качестве целевого, поскольку в наших исследованиях его экспрессия в арабидопсисе возрастала в условиях засухи и солевого стресса, а при высокотемпературном стрессе — снижалась, что говорит об участии данного гена в формировании защитной реакции растения. Также имеются данные о его роли в синтезе глюкозинолатов [2], которые защищают растения семейства Капустных от вредителей и различных заболеваний.

На основе вектора pCambia 1301 была создана генно-инженерная конструкция с целевым геном *AtGSTF11*. Методом электропорации конструкция была клонирована в *Agrobacterium tumefaciens*, которые в дальнейшем использовались для трансформации эксплантов табака *N. tabacum in vitro* и рапса *B. napus*, репы *B. rapa*, руколы *E. sativa* методом погружения цветков (*in planta*). Данный метод является универсальным для растений семейства *Brassicaceae*.

У трансгенных растений наблюдалось повышение устойчивости к стрессовым факторам, однако спектр этих факторов различался у разных биологических видов. Вероятно, продукт гена *AtGSTF11* помогает растению справляться с окислительным стрессом разной природы.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МК-1146.2020.11 и частично по государственному заданию № AAAA-A16-116020350028-4.

1. Kuluev, B. R., Berezhneva, Z. A., Mikhaylova, E. V., Postrigan, B. N., Knyazev, A. V. (2018). Productivity and Stress-Tolerance of Transgenic Tobacco Plants with a Constitutive Expression of the Rapeseed Glutathione Synthetase Gene BnGSH. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 8(2), 190-196.
2. Krajewski, M. P., Kanawati, B., Fekete, A., Kowalski, N., Schmitt-Kopplin, P., Grill, E. (2013). Analysis of *Arabidopsis* glutathione-transferases in yeast. *Phytochemistry*, 91, 198-207.