

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-250

**ХАРАКТЕРИСТИКА И АНАЛИЗ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА МЕЛАТОНИНА
SNAT1 И *SNAT2* У СОРТОВ ТОМАТА *SOLANUM LYCOPERSICUM* И ДИКОРАСТУЩИХ ОБРАЗЦОВ
SOLANUM LYCOPERSICUM VAR. *CERASIFORME***

**CHARACTERIZATION AND ANALYSIS OF KEY MELATONIN BIOSYNTHESIS GENES *SNAT1*
AND *SNAT2* IN TOMATO *SOLANUM LYCOPERSICUM* CULTIVARS
AND WILD ACCESSIONS *SOLANUM LYCOPERSICUM* VAR. *CERASIFORME***

И. М. Горюшко¹, О. К. Анисимова^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

²Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

I. M. Goryushko¹, O. K. Anisimova^{1,2}

¹Lomonosov Moscow State University

²Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology” RAS, Moscow

✉ lelikanis@yandex.ru

Аннотация

Определена вариабельность генов биосинтеза мелатонина *SNAT* у сортов и образцов томата. Выявлены различия как в экзонных, так и в инtronных последовательностях. Поиск консервативных мотивов белков *SNAT* выявил три мотива, характерные только для *SNAT1*. Различия в составе *cis*-элементов в промоторных областях могут указывать на возможность активации *SNAT1* и *SNAT2* разными типами фитогормонов. Показана сортоспецифичность экспрессии *SNAT1-2* у сортов томата.

Abstract

Variability of melatonin biosynthesis genes *SNAT* in tomato cultivars and accessions was determined. Differences were found in both exon and intron sequences. Search for conservative motifs in *SNAT* proteins revealed three motifs characteristic only of *SNAT1*. Differences in the composition of *cis*-elements in promoter regions may indicate the possibility of *SNAT1* and *SNAT2* activation by different types of phytohormones. Cultivar-specificity of *SNAT1-2* expression in tomato cultivars was shown.

Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) — важный вторичный метаболит растений, являющийся антиоксидантом и фитогормоном, вовлеченным во многие физиологические процессы, в том числе в ответы на различные стрессовые факторы. Путь биосинтеза мелатонина у растений включает четыре фермента: триптофандекарбоксилазу (TDC), триптамин-5-гидроксилазу (T5H), серотонин-N-ацетилтрансферазу (SNAT) и N-ацетилсеротонин-O-метилтрансферазу (ASMT). Ключевым ферментом считается SNAT, катализирующий образование непосредственного предшественника мелатонина. Несмотря на значимость и интерес к растительному мелатонину, данные о генах, кодирующих эти ферменты, ограничены. Целью работы стал внутривидовой анализ и характеристика генов *SNAT* у томата *Solanum lycopersicum* L.

Для анализа были выбраны 10 сортов *S. lycopersicum* и 5 образцов подвида *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, геномы которых представлены в NCBI. У всех анализируемых образцов томата были найдены оба известных гомолога *SNAT1* и *SNAT2*. При этом оба гена показали крайне высокую консервативность кодирующих последовательностей: только у четырех *S. lycopersicum* в *SNAT1* была обнаружена единственная SNP (C534T), не приводящая к аминокислотной замене, а у одного образца *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (BGV006768) — пять SNPs (один из которых приводит к замене P94L) и один трехнуклеотидный индель в первом экзоне. Вариабельность инtronных последовательностей была выше. Было найдено 119 SNP и 26 инделей длиной от 1 до 11 п. н. и одна более протяженная — 37 п. н. Наименьшая гомология геномной последовательности *SNAT1* составила 98,16 % (MicroTom/BGV006768). В безинtronном гене *SNAT2* был найден единственный индель (3 п. н.) у *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* BGV008042.

Анализ белковых последовательностей показал наличие функционального ацетилтрансферазного домена NAT_SF (cd04301) и коэнзим А-связывающего кармана в обоих гомологах SNAT. Поиск консервативных мотивов выявил пять общих для *SNAT1* и *SNAT2* мотивов (два из которых содержат функциональный домен NAT_SF) и три мотива, характерные только для *SNAT1*. Выявленные аминокислотные замены белковых последовательностей разных сортов практически не повлияли на предсказанную 3D-структуру белков SNAT. Однако 3D-структуры *SNAT1* и *SNAT2* существенно различались между собой.

Промоторные области генов *SNAT* также имели высокий уровень внутривидовой гомологии: минимальные значения составили 98,65 (MicroTom/BGV006768) и 97,86 % (MicroTom/BGV008042) для *SNAT1* и 2 соответственно. Были найдены как однонуклеотидные замены, так и индели. В промоторных областях (~ 2000 пн до старт-кодона) обоих гомологов *SNAT* были найдены *cis*-действующие элементы, связанные с реакциями на гормоны, стрессы и освещенность. При этом из группы гормон-зависимых элементов только у *SNAT1* присутствовали элементы ответа на ауксин (AuxRR-core, TGA-element) и гиббереллин (GARE-motif), а у *SNAT2* — на абсцизовую кислоту (ABRE); элементы ответа на салициловую кислоту (TCA-element) и этилен (ERE) присутствовали у обоих гомологов. Это может указывать на возможность активации генов *SNAT1* и *SNAT2* разными типами фитогормонов. *Cis*-действующих элементов связанных с освещенностью в промоторах *SNAT2* было представлено больше, чем в *SNAT1* (10 и 8 соответственно), а связанных с реакциями на стрессы, напротив, меньше (12 и 8), что может указывать на разную степень вовлеченности *SNAT1* и *SNAT2* в реакции на разные типы внешних факторов. Помимо этого, только у *SNAT1* было найдено три элемента AAGAA-motif, связанных с процессами развития (вторичное развитие ксилемы). Также была выявлена разница между *S. lycopersicum* (MicroTom) и *S. lycopersicum var. cerasiforme* (BGV006768 и BGV008042 для *SNAT1* и *SNAT2* соответственно). Так, в промоторе *SNAT1* у образца BGV006768, по сравнению с MicroTom, некоторые мотивы отсутствовали (GARE-motif, MYB), были представлены в другом количестве (дополнительный GA-motif, отсутствовал один из двух TCT-motif) или появлялись новые (ARE). В промоторе *SNAT2* у BGV008042 отсутствовал G-box и ABRE, однако были найдены дополнительные мотивы ERE (4), TCA-element (1) и MYC (1).

Для экспрессионного анализа были выбраны два сорта томата: Гном и Отрадный. В результате была выявлена межсортовая разница в экспрессии обоих генов *SNAT* в листьях: более высокий уровень наблюдался у сорта Отрадный (относительный уровень транскриптов 0,33/0,85 для *SNAT1* и *SNAT2* соответственно), а более низкий — у сорта Гном (0,17/0,45). В целом экспрессия гена *SNAT2* была выше, чем *SNAT1* у обоих проанализированных сортов, что совпадает с данными транскриптомов сортов Heinz 1706 и MicroTom.