



## ОТРИМАННЯ ТРАНСГЕННИХ КОРЕНІВ *S. ALTISSIMA* L. ТА *S. ALBIDA* L. ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ ВИСОКОГО ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ

Ксенія КОЩАВКО<sup>1</sup>, Юлія ЛУЧАКІВСЬКА<sup>1</sup>, Інна КОВАЛЬ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Київський Палац дітей та юнацтва

вул. Івана Мазепи, 13, Київ 01010, Україна

<sup>2</sup> Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка НАН України

вул. Тимірязєвська, 1, Київ 01014, Україна

e-mail: [kсениako05@gmail.com](mailto:kсениako05@gmail.com)

Останнім часом активно здійснюється пошук препаратів рослинного походження, які мають лікувальні властивості та мінімальну побічну дію на організм людини - на противагу синтетичним препаратам. У пошуках нових джерел сировини з фармакологічними властивостями активно досліджуються рослини роду *Scutellaria* L. [1, 2]. Останні широко застосовуються в народній медицині завдяки високому вмісту флавоноїдів, дубильних речовин та характеризуються протипухлинними, протівірусними, протизапальними, антиоксидантними, антибактеріальними властивостями.

Зважаючи на літературні дані щодо високого вмісту флавоноїдів у коренях рослин роду *Scutellaria* L. [3], нас зацікавила можливість отримання та біохімічний аналіз екстрактів культури трансгенних коренів шоломниці, адже це б дозволило збільшити об'єми біомаси, яка може бути використана в якості лікарської сировини.

Метою нашої роботи було отримати культуру трансгенних коренів видів *S. albida* та *S. altissima* та проаналізувати вміст флавоноїдів у екстрактах отриманих культур.

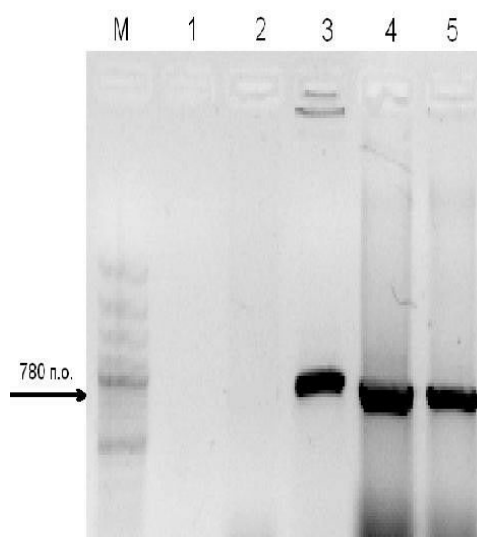
Рослини шоломниці вводили в культуру *in vitro* шляхом поверхневої стерилізації насіння двох видів роду *Scutellaria* L. (*S. albida* L., *S. altissima* L.). Рослини культивували при кімнатній температурі, 16-годинному фотоперіоді на живильному середовищі Мурасіге – Скуга [4]. Для подальшої генетичної трансформації використовували рослини віком від 6 до 12 тижнів.

Для отримання культури трансгенних коренів використовували агропіновий штам A4 *Agrobacterium rhizogenes*. Нічну бактеріальну суспензійну культуру отриману у рідкому живильному середовищі LB [5] на термошейкері (200об./хв), центрифугували протягом 10 хв (4000об./хв), надалі осад ресуспендували у рідкому живильному середовищі MS з додаванням 100 мкМ ацетосирингона. Рослинні експланти *S. albida* та *S. altissima* культивували з бактеріальною суспензією на орбітальному шейкері (150об./хв), протягом 48 годин при 28 °С. В подальшому експланти переносили на агаризоване живильне середовище MS з додаванням 400 мг/л антибіотика цефотаксима для елімінації бактерій. Через три тижні після трансформації спостерігали утворення коренів на рослинних експлантах *S. altissima*, що характеризувалися Ri-фенотипом (швидким ростом, відсутністю геотропізму та характерною опушеністю) (рис. 1). На експлантах рослин *S. albida* коренеутворення не спостерігалось.



**Рис. 1.** Ініціація коренеутворення на гіпокотильних експлантах *S. altissima*

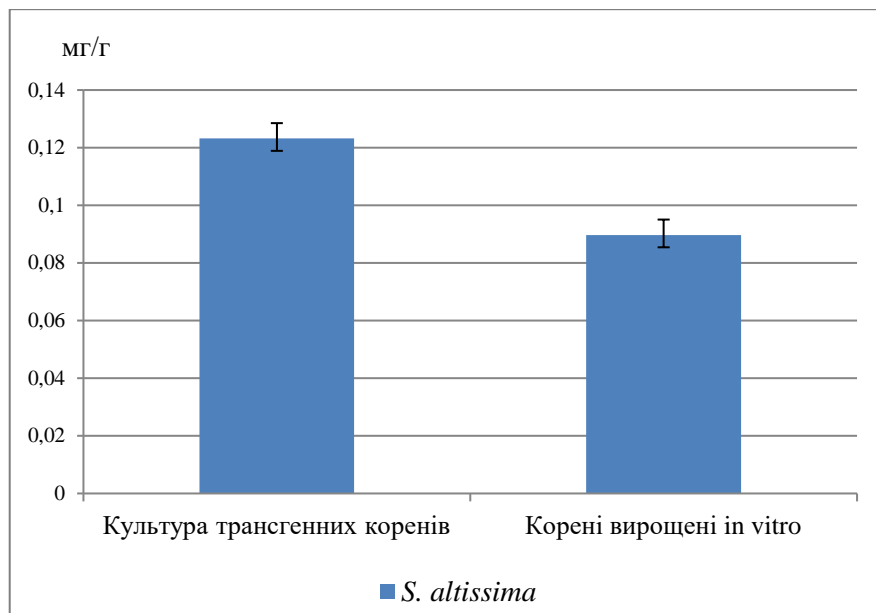
Для підтвердження трансгенної природи отриманих кореневих культур проводили молекулярно-генетичний аналіз за допомогою методу ПЛР (розмір фрагмента 780 п.н., нуклеотидна послідовність праймерів: 5'-atggatcccaaatgctattcctccacga-3', 5'-ttaggcttcttcttcaggttactgcagc-3') (рис. 2).



**Рис. 2.** Електрофореграма ПЛР-аналізу на присутність *rolB* гену: М – Маркер (1 kb Plus DNA Ladder, Fermentas), 1 – негативний контроль (проба без ДНК), 2 – негативний контроль (ДНК нетрансформованої рослини), 3 – позитивний контроль (плазмідна ДНК (A4)), 4-5 – ДНК аналізованих зразків культури „бородатих” коренів

ПЛР-аналіз дозволив виявити присутність агробактеріального *rolB* гену, що підтверджує трансгенну природу отриманої кореневої культури.

Для визначення вмісту флавоноїдів у культурі трансгенних коренів та коренів інтактних рослин використовували спектрофотометричний метод з перерахунком на рутин, основою якого є властивість флавоноїдів утворювати забарвлений комплекс із спиртовим розчином хлориду алюмінію [6] (рис. 3).



**Рис. 3.** Вміст флавоноїдів в екстрактах трансгенних коренів та коренів рослин вирощених в умовах *in vitro*

Виявлено достовірно більш високий вміст флавоноїдів для культури R<sub>i</sub>-коренів, ніж для коренів рослин вирощених в умовах *in vitro* виду *S. altissima*.

Таким чином, отримані дані дозволяють зробити висновок, що фармакологічно перспективною можна вважати культуру трансгенних коренів виду *Scutellaria altissima* L., що характеризувалася високим вмістом флавоноїдів.

#### Література:

1. Cole I. B *et al.* Comparisons of *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria lateriflora* and *Scutellaria racemosa*: genomesize, antioxidant potential and phytochemistry. *Planta Med.* 2008. Mar. Vol.74. No.4. P.474-481.
2. Гусєва О. О. Морфогенез видів роду *Scutellaria* L. та структура їх ценопопуляцій у Сибірі. Новосибірськ. 2019. 234 с.
3. Nurul Islam M., Downey F. & Ng C.K.Y. Comparative analysis of bioactive phytochemicals from *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria lateriflora*, *Scutellaria racemosa*, *Scutellaria tomentosa* and *Scutellaria wrightii* by LC-DAD-MS. *Metabolomics* 7. 2011.P.446-453.
4. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol.15. No.3. P.473-97.
5. Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1951. Sep. Vol.62. No.3. P.293-300. doi: 10.1128/jb.62.3.293-300.1951
6. Pękal A., Pyrzynska K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods.* 2014. Vol.7. P.1776-1782.