*ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ, 2024, том 71, № 5*

**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

*УДК 581.1*

**ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ *eGFP* ГЕНА У ТРАНСПЛАСТОМНЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА *NICOTIANA TABACUM* L. CV. PETIT HAVANA**

**Ю. В. Сидорчук*a*, \*, П. А. Белавин*a*, А. А. Загорская*a*, Т. В. Маренкова*a*, В. В. Кузнецов*a*, Е. С. Хайрулина*a*, Е. В. Дейнеко*a***

a*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*

*\*e-mail:* *sidorch@bionet.nsc.ru*

|  |
| --- |
|  |
| **Рис. S1.** Схема конструирования экспрессионного вектора pPlastEx-GFP.а – общая схема конструирования; б – промежуточная плазмида pUC19\_left\_right-(deltaRI-HIII); в – кассета экспрессии, где PrrnG10L – промотор оперона рРНК (Prrn), слитый с лидерной последовательностью гена 10 фага Т7 (G10L), *egfp* – кодирующая последовательность гена зеленого флуоресцирующего белка, RBS – сайт связывания рибосом, *aadA* – кодирующая последовательность гена устойчивости к спектиномицину, *TpsbA* – терминатор гена *psbA*, кодирующего белок D1 фотосистемы II; г – конечная плазмида (вектор) pPlastEx-GFP, используемая для трансформации пластидного генома. |

|  |
| --- |
|  |
| **Рис. S2.** Вектор для получения ядерных трансформантов, экспрессирующих репортерный ген *egfp.* |

|  |
| --- |
|  |
| **Рис. S3.** Электрофореграмма продуктов амплификации в 1% агарозном геле (на примере 4 образцов), подтверждающая наличие гена *gfp* в геноме ядерных трансформантов табака Т0. |

**Таблица S1.** Структура праймеров для амплификации фланков гомологии к месту инсерции.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ген | Праймер | Последовательность |
| Фланк гомологии Left | Forward | 5' GGTGAATTCGTTCCCGGGC 3' |
| Reverse | 5' GCCGGTACCGCTGGGCCATCCTGGACTTG 3' |
| Фланк гомологии Right | Forward | 5' CCCGTCGACAGCTGCGCCAGGGAAAAGAA 3' |
| Reverse | 5' CATAAAGCTTTGTATCGGCTAAGTTCA 3' |

**Таблица S2.** Структура праймеров для амплификации кассеты экспрессии *gfp-aadA.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ген | Праймер | Последовательность |
| *gfp-aadA* | Forward | 5′ AGCGGTACCCGCCGTCGTTCAATGAGAAT 3′ |
| Reverse | 5′ GCTGTCGACCCAAGATCCAAGATAAAGTA 3′ |

**Таблица S3.** Структура праймеров для ПЦР на наличие *gfp* и *aadA* в геноме ядерных трансформантов и пластидном геноме транспластомных растений.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ген | Праймер | Последовательность | Длина фрагмента, н.п. |
| Ядерные трансформанты |
| *egfp* | Forward | 5′-TTG TGC CCC AGG ATG TTG CC-3′ | 420 |
| Reverse | 5′-GGT GAG CAA GGG CGA GGA GC-3′ |
| Транспластомные растения |
| *egfp* | Forward | 5′-GAGGAGCTGTTCACCGGG-3′ | 702 |
| Reverse | 5′-CTTGTACAGCTCGTCCATGC-3′ |
| *aadA* | Forward | 5′-ATGGCAGAAGCGGTGATCG-3′ | 290 |
| Reverse | 5′-GCTCGAAGATACCTGCAAGAATGTC-3′ |

**Таблица S4.** Праймеры и зонды для мультиплексной qRT-PCR.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ген | Праймер | Последовательность |
| *egfp* | Forward | 5′-TCCATGCCGTGAGTGATCCC-3′ |
| Reverse | 5′-GTCCGCCCTGAGCAAAGACC-3′ |
| Probe | 5′-FAM CAACGAGAAGCGCGATCACATG-BHQ1-3′ |
| *aadA* | Forward | 5′-GACATTGATCTGGCTATCTTGCTGA-3′ |
| Reverse | 5′-GAGTTCCATAGCGTTAAGGTTTCATT-3′ |
| Probe | 5′-R6G TAGCGCCTCAAATAGATCCTGTTCA-BHQ2-3′ |
| *ycf2* | Forward | 5′-CCCACACGAAGTTTGTGAATAAGTG-3′ |
| Reverse | 5′-TGATTGAACAACCGGGAGCAA-3′ |
| Probe | 5′-ROX TGTCTGATAATGAGCAAGGAATATCCG-BHQ2-3′ |