

## **Hairy CRISPR: изучение функциональных особенностей корневых систем растений с помощью метода геномного редактирования CRISPR/Cas**

**Кирюшкин А. С.<sup>A\*</sup>, Ильина Е. Л.<sup>A</sup>, Демченко К. Н.<sup>A</sup>**

<sup>A</sup> *Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург, Россия.*

*\*E-mail: akiryushkin@binran.ru*

Метод геномного редактирования CRISPR/Cas становится многообещающим инструментом функциональной геномики растений. *Rhizobium rhizogenes*-опосредованная трансформация – быстрый и удобный подход для получения трансгенных корней. В сочетании эти методы представляют собой быстрое и эффективное средство для изучения функций различных генов в процессах развития корневых систем [Gogolev et al., 2021. *Plants*. 10: 1423; Kiryushkin et al., 2022. *Plants*. 11: 51]. Активные формы кислорода (АФК) являются важными сигнальными молекулами, регулируемыми различные физиологические ответы корневых систем на динамично меняющиеся условия окружающей среды [Huang et al., 2019. *J. Exp. Bot.* 70: 5879-5893]. CRISPR/Cas-опосредованная генетическая модификация гомеостаза АФК является одним из основных подходов для исследования сигнального каскада с участием этих молекул [Xu et al., 2022. *Reactive Oxygen Species in Plants: Methods and Protocols*: 25-41].

Основными компонентами векторной конструкции для редактирования генома являются: кассета, несущая ген, кодирующий нуклеазу Cas; кассета, экспрессирующая направляющую РНК (нРНК) и кассета, кодирующая селективный или скрининговый маркер трансгенности [Kiryushkin et al., 2022. *Plants*. 11: 51]. После сборки полученный вектор используется для трансформации растений с помощью соответствующего штамма *R. rhizogenes*.

На сегодняшний день в экспериментах, сочетающих *R. rhizogenes*-опосредованное получение трансгенных корней и редактирование генома с помощью системы CRISPR/Cas, использовано более 26 видов растений [Kiryushkin et al., 2022. *Plants*. 11: 51]. Применение геномного редактирования CRISPR/Cas совместно с использованием *R. rhizogenes*-опосредованной трансформации охватывает различные направления, такие как проверка эффективности редактирования геномов; получение CRISPR/Cas-редактированных растений, регенерированных из отдельных отредактированных бородатых корней; изучение развития или функции корневых систем, симбиоза с почвенными микроорганизмами, устойчивости к биотическим или абиотическим факторам среды или метаболической инженерии [Kiryushkin et al., 2022. *Plants*. 11: 51].

В представленном докладе будут рассмотрены основные принципы редактирования генома растений с помощью системы CRISPR/Cas, такие как различные компоненты CRISPR/Cas векторов, типы Cas нуклеаз, принципы дизайна нРНК, а также возможные области применения редактирования генома бородатых корней, включая генетическую модификацию гомеостаза АФК.

Работа выполнена в рамках темы Государственного задания «Структурно-функциональные и молекулярно-генетические основы развития и адаптации высших растений» (№ 1021071912890-3-1.6.11).

### **Влияние водного дефицита на содержание дегидринов в клетках каллусной культуры сосны обыкновенной**

**Коротаева Н. Е.<sup>A,\*</sup> Шмаков В. Н.<sup>A</sup>, Пятрикас Д. В.<sup>A</sup>,  
Молдавская С. Э.<sup>A</sup>**

<sup>A</sup> Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия,  
\*E-mail: knev73@yandex.ru

Последствия водного дефицита (ВД) приносят вред растениям как в естественных условиях природной среды, так и в процессе хозяйственной деятельности человека, поэтому представляются актуальными исследования защитных механизмов, позволяющих растениям противостоять этому стрессору. В условиях ВД защитные белки дегидрины (ДГ) действуют на клеточном уровне и проявляют свойства “молекулярного щита”, который предотвращает неспецифические взаимодействия у других белков и мембранных структур и их повреждения [Atkinson et al., 2016]. ДГ также способны связывать АФК и снижать их токсическое влияние в период действия ВД [Wang et al., 2024]. По сравнению с ДГ других видов голосеменных связь ДГ с засухоустойчивостью мало изучена у широко распространенного хвойного вида - сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). В данном исследовании, по нашим сведениям, впервые ДГ сосны обыкновенной были изучены на клеточном уровне в период действия ВД с использованием каллусной культуры *in vitro* в связи с антиоксидантной активностью клеток. Каллусные культуры были получены на эксплантах почек и побегов пяти опытных деревьев сосны обыкновенной (д1-д5). Культуры существенно отличались по своим ростовым характеристикам, проявлениям окислительного стресса и антиоксидантной активности клеток в контрольных условиях. Культуры побегов и почек д2 росли медленнее других, отличались более ранней некротизацией, их клетки накапливали большое количество АФК, имели повышенную активность ПОЛ и пониженную жизнеспособность клеток и активность каталазы