

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

(КАТ) и пероксидазы (ПО). Судя по перечисленным признакам, клетки культуры д2 уже в контрольных условиях испытывали состояние окислительного стресса. Культуры д3 и д4 имели противоположные ростовые и физиологические характеристики, по сравнению с таковыми у клеточной культуры д2. У остальных культур значения изученных физиологических параметров сильно варьировали. В контрольных условиях в каллусах были обнаружены ДГ Mr 72, 54, 47, 43, 38, 34, 29 и 27 кД. Из них ДГ Mr 72, 38 и 27 кД были обнаружены у всех изученных каллусных культур. ДГ 34 кД оказался специфичным только для культур – производных побегов и почек д3. Добавление в среду культивирования 5 или 8% ПЭГ на 10 сут вызвало небольшое снижение содержания общей воды в клетках каллусных культур, которое не превышало 7%, и сокращение прироста культур. В условиях ВД в клетках культур почек происходил рост содержания пероксида водорода и активности ПОЛ. У всех культур отмечался рост активности КАТ и ПО. У каллусов, полученных от разных деревьев, различия в этих параметрах превышали те различия, которые произошли после добавления ПЭГ, что указывает на существенное влияние на ростовые и биохимические свойства клеток генотипических межиндивидуальных различий между опытными деревьями. У культур – производных побегов и почек д2 после воздействия ВД значения жизнеспособности клеток и активности КАТ и ПО были самыми низкими, а содержание пероксида водорода, напротив, повышенным по сравнению с остальными культурами. У культур д3 и д4 в условиях ВД параметры активности ферментов и содержания пероксида водорода имели противоположные значения, что указывает на повышенную способность клеток этих культур противостоять ВД по сравнению с д2. Такое предположение соответствует литературным данным [Sen 2012]. Под действием ВД в клетках каллусов, полученных из тканей почек, увеличилось содержание ДГ: Mr 72, 38 и 27 кД у культуры д1; ДГ 38 и 27 кД у культур д2 и д3; ДГ 27 кД у культур д2, д3 и д4, при этом накопление всех перечисленных белков оказалось наименьшим в культуре д2. Таким образом, в нашем исследовании ВД повлиял на скорость роста, развитие окислительного стресса, активность антиоксидантных ферментов и накопление ДГ в клетках каллусных культур побегов и почек, которые отличались по уровню жизнеспособности. При этом рост содержания ДГ Mr 72, 38 и 27 кД происходил у культур, которые различались по происхождению, биохимическим параметрам и активности антистрессового ответа, что указывает на универсальность такой реакции. Пониженное накопление ДГ в клетках культуры д2, в клетках которой проявления окислительного стресса были особенно сильно выражены, говорят в пользу значения ДГ для преодоления внутриклеточного окисления, вызванного ВД. Дальнейшее исследование этих белков может быть

направлено на выяснение их роли при действии ВД. В наших экспериментах окислительные процессы активизировались в клетках каллусов наряду с небольшим снижением содержания общей воды в ответ на ВД. Назначением ДГ, которые накапливались в ответ на ВД, может быть не только роль “молекулярного щита”, который снижает вероятность неспецифических взаимодействий и повреждений мембран и белков, но и роль связывания АФК и снижения таким образом интенсивности окислительных процессов, сопутствующих развитию ВД. Раскрытие роли данных ДГ сосны обыкновенной в формировании устойчивости к окислительному стрессу, который сопровождает ВД, и выявление механизма их действия требуют дальнейших исследований.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10035, <https://rscf.ru/project/23-24-10035>.

### **Библиографические ссылки**

1. Atkinson, J.; Clarke, M.W.; Warnica, J.M.; Boddington, K.F.; Graether, S.P. Structure of an Intrinsically Disordered Stress Protein Alone and Bound to a Membrane Surface. *Biophys J.* 2016, 111, 480-491. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.07.001>.
2. Sen, A. Oxidative stress studies in plant tissue culture. In *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology “Antioxidant Enzyme”*; ElMissiry, M.A., Ed.; World’s largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher (INTECH): London, UK, 2012; pp. 59–88.
3. Wang, X.; Liu, H.; Li, Y.; Zhang, L.; Wang, B. Heterologous overexpression of Tawzy1-2 gene encoding an SK3 dehydrin enhances multiple abiotic stress tolerance in *Escherichia coli* and *Nicotiana benthamiana*. *Planta.* **2024**, 259, 39. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04328-4>.

### **Модификация ионных токов через плазматическую мембрану клеток корня *Arabidopsis thaliana* L. при воздействии Ni<sup>2+</sup>**

**Кошель С. А.<sup>А</sup>, Гриусевич П. В.<sup>А</sup>, Мацкевич В. С.<sup>А</sup>, Демидчик В. В.<sup>А\*</sup>**

<sup>А</sup> *Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. \*E-mail: dzemidchuk@bsu.by*

Никель – тяжелый металл, токсичный для растительных и животных организмов. Его содержание в среде постоянно увеличивается в связи с развитием промышленности и поступлением из природных источников [1]. На сегодняшний день отказ от использования никелевых сплавов для снижения его выброса в среду невозможен. Так, никель является обязательным компонентом нержавеющей стали и других изделий, используемых в быту. У большинства видов растений никель вызывает задержку роста и развития, хлороз и некроз листьев. Одним из ранних симптомов