

ПОИСК ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ В МУТАНТАХ ПО ГЕНУ *NUD* ЯЧМЕНЯ

Короткова Анна Михайловна^{1*}, Скрипилева Анастасия Ивановна, Вихорев Александр Викторович, Колосовская Екатерина Вадимовна.¹, Герасимова Софья Викторовна^{1,2}, Хлесткина Елена Константиновна.³

¹ Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

³ Всероссийский институт растениеводства имени Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

korotkova@bionet.nsc.ru

Ячмень (*Hordeum vulgare L.*) является важной продовольственной культурой во всем мире и в России, в частности. Признак голозерности является ценным селекционным признаком. Голозерный ячмень имеет преимущества над пленчатым для потребления в пищу, поскольку он дешевле в обработке и содержит больше ценных диетических компонентов. Ген *Nud* кодирует фактор транскрипции, предположительно участвующий в формировании липидного слоя на поверхности зерна ячменя. Если функция гена *Nud* утрачена, цветковые чешуи больше не прикрепляются к поверхности зерна, что влечет за собой фенотип голозерности. В недавнем исследовании мы получили линии с нарушенным геном *Nud* путем направленного мутагенеза с использованием направляющей РНК и эндонуклеазы Cas9 в сорте ярового ячменя «Golden promise».

Для проведения транскриптомного анализа была выбрана одна из полученных мутантных по гену *Nud* линий ячменя, показавшая наилучшие результаты при анализе агрономически значимых свойств. Цель эксперимента – выявить набор генов, участвующих в формировании свойства голозерности. Для эксперимента были взяты две изогенные линии (отличающиеся только одним геном *Nud*): контрольная линия Golden promise и мутантная линия *nud*. Семенные оболочки зерен собирали на двух стадиях развития колоса: 1) молочная спелость – чешуи еще не прилипают, 2) восковая спелость – чешуи начинают прилипать к зерну.

Из образцов алейронов и перикарпов выделяли РНК и проводили транскриптомный анализ на платформе Illumina NextSeq 550. Была выявлена группа генов с активацией уровня экспрессии (51) и группа генов с понижением уровня экспрессии (185) у мутантной линии. Верификацию транскриптомных данных решено было делать на 19 генах. Для последовательности каждого из выбранных генов подбирали праймеры, и с помощью количественного ПЦР-анализа подтверждали повышение или понижение экспрессии.

Работа выполнена при поддержке РФФ № 21-66-00012.

Ключевые слова: CRISPR, транскриптом, *Nud*, ячмень.

SEARCH FOR DIFFERENTIALLY EXPRESSED GENES IN BARLEY *NUD* GENE MUTANTS

Korotkova Anna Mikhailovna^{1*}, Skripileva Anastasia Ivanovna, Vihorev Aleksandr Viktorovich, Kolosovskaya Ekaterina Vadimovna¹, Gerasimova Sofia Viktirovna^{1,2}, Khlestkina Elena Konstantinovna.³

¹ *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

² *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³ *N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia*
korotkova@bionet.nsc.ru

Barley (*Hordeum vulgare L.*) is an important food crop throughout the world and in Russia in particular. The trait of nakedness is a valuable breeding trait. Hullless barley has advantages over hulled barley for consumption as it is cheaper to process and contains more valuable dietary components. The *Nud* gene encodes a transcription factor presumably involved in the formation of the lipid layer on the surface of barley grain. If the *Nud* gene function is lost, the lemmas no longer attach to the surface of the grain, resulting in a naked phenotype. In a recent study, we obtained lines with a disrupted *Nud* gene by site-directed mutagenesis using guide RNA and Cas9 endonuclease in the Golden Promise spring barley cultivar.

For transcriptomic analysis, one of the obtained mutant *nud* gene barley line was selected. The line that showed the best results in the analysis of agronomically significant properties. The purpose of the experiment is to identify a set of genes involved in the formation of the property of nakedness. For the experiment, two isogenic lines (differing in only one *Nud* gene) were taken: the control line Golden promise and the mutant line *nud*. The seed coats of the grains were collected at two stages of spike development: 1) early milk development – the scales do not adhere yet, 2) dough development – the scales begin to adhere to the grain.

RNA was isolated from samples of aleurons and pericarps, and transcriptomic analysis was performed on the Illumina NextSeq 550 platform. A group of genes with upregulation (51) and a group of genes with downregulation (185) were identified in the mutant line. It was decided to verify transcriptome data on 19 genes. Primers were selected for the sequence of each of the selected genes, and the increase or decrease in expression was confirmed by quantitative PCR analysis.

The work was supported by the Russian Science Foundation No. 21-66-00012.

Keywords: CRISPR, transcriptome, *Nud*, barley