

ЭФФЕКТ НОКАУТИРОВАНИЯ ГЕНОВ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Тимербаев Вадим Рафаилович^{1,2,3}, Баранов Денис Юрьевич³, Долгов Сергей Владимирович^{1,2,3}

¹Филиал института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушино, Россия

²Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, Ялта

³Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Россия, Москва
timerbaev@gmail.com

Фитопатогенные вирусы наносят значительный вред современному сельскохозяйственному производству, вирусные инфекции не только ухудшают качество сельскохозяйственной продукции, но и приводят к значительному снижению урожайности или даже к его полной потере. Несмотря на появление новых устойчивых сортов, а также развитие стратегий по сдерживанию вирусных болезней томата, данные заболевания вызывают серьезные потери урожая в разных регионах мира.

Так как вирусы являются облигатными паразитами, не имеющими клеточной организации, для собственной репродукции они используют синтетический и энергетический аппараты клеток растения-хозяина. Одним из критических этапов в цикле развития вируса в клетках растений является трансляция вирусных РНК. Вирусы обычно не кодируют канонические факторы трансляции, но разработали широкий спектр стратегий для рекрутирования факторов трансляции своих хозяев для трансляции собственных РНК в ущерб эндогенным мРНК. Более того, фитовирусы используют их не только для трансляции, но также и для дальнейшего локального и системного распространения в организме растения-хозяина. Применение методов молекулярной селекции и генетической инженерии зачастую позволяет достичь определенной устойчивости растений вирусным заболеваниям.

Среди многообразия белковых факторов, которые задействованы в трансляции белка в клетках эукариот, часть из них потенциально может использоваться вирусами для самовоспроизведения в растительной клетке. В связи с этим активно ведутся поиски новых хозяйских факторов, которые позволят лучше понять природу вирусной инфекции. Мутации в таких генах могут обеспечить генетическую устойчивость к вирусной инфекции, называемую потерей восприимчивости. Кроме того, сохраняется актуальной задача изучения взаимодействий между вирусными белками и белками растения-хозяина, решение которой позволит понять направленность параллельной эволюции таких взаимодействующих белков и разработать стратегии по созданию новых устойчивых к вирусам сортов растений.

Настоящая работа посвящена изучению взаимодействия вирус-растение при изменении функциональной активности ряда генов, задействованных в трансляции белка, путем внесения индел мутаций в их нуклеотидные последовательности с применением технологии геномного редактирования. В качестве прикладного аспекта, в итоге мы планируем найти пути создания растений томата с повышенной устойчивостью к инфицированию вирусами.

Будет рассмотрено создание растений томатов с отредактированным геномом, демонстрирующих целевые модификации нативных генов, участвующих в репликации вируса.

Ключевые слова: CRISPR-Cas9, геномное редактирование, индел мутация, геновая РНК, томат.

THE EFFECT OF KNOCK-OUT OF GENES ENCODING TRANSLATION FACTORS ON THE DEVELOPMENT OF VIRAL INFECTION

Timerbaev Vadim Rafailovich^{1,2,3}, Baranov Denis Yur'evich³, Dolgov Sergey Vladimirovich^{1,2,3}

¹*Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Russia, Pushchino*

²*Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center, Russia, Yalta*

³*All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Russia, Moscow
timerbaev@gmail.com*

Phytopathogenic viruses cause significant damage to modern agricultural production, viral infections not only worsen the quality of agricultural products, but also lead to a significant decrease in yield or even to its complete loss. Despite the emergence of new resistant varieties, as well as the development of strategies to contain viral diseases of tomato, these diseases cause serious crop losses in different regions of the world.

Since viruses are obligate parasites that do not have a cellular organization, they use the synthetic and energetic apparatus of the host plant cells for their own reproduction. One of the critical stages in the life cycle of a virus in plant cells is the translation of viral RNAs. Viruses do not usually encode canonical translation factors but have developed a wide range of strategies for recruiting translation factors from their hosts to translate their own RNA to the detriment of endogenous mRNA. Moreover, phytoviruses use them not only for translation, but also for further local and systemic distribution in the host plant organism. The use of molecular breeding and genetic engineering methods often makes it possible to achieve a certain resistance of plants to viral diseases.

Among the variety of protein factors that are involved in protein translation in eukaryotic cells, some of them can potentially be used by viruses for self-reproduction in a plant cell. In this regard, the search for new host factors is being actively carried out, which will make it possible to better understand the nature of the viral infection. Mutations in these genes can provide genetic resistance to a viral infection called loss of susceptibility. In addition, the problem of studying the interactions between viral proteins and proteins of the host plant remains urgent, the solution of which will make it possible to understand the direction of the parallel evolution of such interacting proteins and to develop strategies for creating new plant varieties resistant to viruses.

This work is devoted to the study of the virus-plant interaction when changing the functional activity of a several genes involved in protein translation by introducing indel mutations into their nucleotide sequences using genomic editing technology. As an applied aspect, ultimately, we plan to find ways to create tomato plants with increased resistance to infection by viruses.

The generation of genome-edited tomato plants demonstrating the targeted modifications of native genes involving in virus replication will be discussed.

Keywords: CRISPR-Cas9, genome editing, indel mutation, single guide RNA, tomato.