

## Идентификация генов-репрессоров соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*

З.С. Константинов<sup>1\*</sup>, В.Е. Творогова<sup>1,2</sup>, Э.А. Поценковская<sup>2</sup>, Л.А. Лутова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия

\* zakhar.konstantinov@mail.ru

**Цель:** Протоколы генетической трансформации бобовых культур демонстрируют низкую эффективность из-за слабой регенерационной способности у большинства видов этого семейства. Регенерация растений может осуществляться через формирование побегов с последующим укоренением или посредством соматического эмбриогенеза (СЭ). СЭ представляет собой способ бесполого размножения, основанный на тотипотентности клеток растений, при котором эмбрионоподобные структуры развиваются из соматических клеток. Этот процесс имеет сходство с зиготическим эмбриогенезом, так как оба механизма регулируются схожими транскрипционными, гормональными и эпигенетическими факторами. Как и другие биологические процессы у растений, СЭ контролируется активностью различных генов: стимуляторов или репрессоров. Целью настоящей работы является поиск и изучение генов, подавляющих СЭ у люцерны (*Medicago truncatula*).

**Материалы и методы:** Для достижения поставленной цели используется транскриптомный анализ, система CRISPR/Cas9, система клонирования GoldenGate, а также вирус-индуцируемый сайленсинг генов (VIGS).

**Результаты:** Транскриптомный анализ эмбриогенных и неэмбриогенных каллусов *M. truncatula* на различных стадиях развития позволил выявить потенциальные гены-ингибиторы СЭ. С помощью системы Golden Gate были сконструированы векторы для сверхэкспрессии целевых генов в эмбриогенных каллусах с целью изучения их воздействия на СЭ. Эксперименты показали, что сверхэкспрессия трех генов, кодирующих транскрипционные факторы семейств WRKY, HD-ZIP и bZIP, а также гена, кодирующего пептид CLE, существенно подавляла СЭ (снижалось среднее количество соматических эмбрионов на каллус). Мы предположили, что потеря функции выявленных ингибиторов сделает возможным развитие соматических эмбрионов. Были сконструированы векторы для нокаута этих генов с помощью системы CRISPR/Cas9, однако трансформированные полученными конструкциями каллусы неэмбриогенной линии люцерны не образовывали эмбрионы. В настоящее время нами ведется отработка протоколов для подавления экспрессии генов интереса у люцерны с помощью вирус-индуцируемого сайленсинга генов (VIGS). Помимо этого, с помощью системы CRISPR/Cas9 на основе эмбриогенной линии люцерны были получены линии растений с потерей функции одного из выявленных ингибиторов СЭ из семейства CLE. Был проведен анализ транскриптома листовых эксплантов таких растений.

**Выводы:** Обнаружено несколько генов-ингибиторов СЭ у *M. truncatula*. Изучается возможность индукции СЭ с помощью их выключения или подавления их экспрессии.

**Финансирование:** Исследование поддержано проектом научно-технологического университета «Сириус»: PBB-RND-2243.