

Картирование гена *Ant26*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

К.А. Молобекова*, О.Ю. Шоева

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

* k.molobekova@alumni.nsu.ru

Цель: Проантоцианидины (ПА), полимерные флаваноиды, синтезируются в оболочке зерна ячменя, где играют роль в защите от стрессовых условий и поддержании покоя семени. Несмотря на то что путь биосинтеза ПА изучен достаточно подробно, все еще не известны гены, контролирующие заключительные этапы этого процесса. Считается, что ген *Ant26* играет важную роль в конечной стадии биосинтеза ПА, поскольку мутанты по локусу *Ant26* способны к синтезу прямых предшественников ПА, однако не содержат ПА в зрелых зернах. На данный момент неизвестна локализация гена *Ant26*, в связи с чем целью данной работы являлось определение области расположения гена *Ant26* в геноме ячменя.

Материалы и методы: Нами был проведен массовый сегрегантный анализ с использованием мутантной линии ячменя *ant26.483* с нарушенным синтезом ПА в зерне. Путем скрещивания *ant26.483* с сортом дикого типа Quench была получена картирующая популяция поколения F_2 . Растения картирующей популяции были разделены по признаку наличия ПА в зерне на два пула, из которых далее выделяли ДНК и проводили генотипирование с помощью секвенирования (genotyping by sequencing, GBS). Фенотипирование растений на наличие ПА проводили путем погружения зерен поколения F_3 в 1N раствор NaOH с 0,01% TritonX на 8 часов (наблюдается потемнение зерна при наличии ПА). Библиотеки для GBS подготавливали с использованием эндонуклеаз рестрикции *MspI* и *PstI*, секвенирование проводили с помощью набора NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2.5 (150 циклов) для одиночных прочтений на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США). Для выравнивания прочтений на референсный геном и поиска полиморфизмов (SNP) использовали сборку *Hordeum_vulgare*. MorexV3 60 версии. Для каждого SNP извлекали информацию о глубине прочтения референсного и альтернативного аллелей. С помощью пакета qtlseqR для R проводилась фильтрация SNP с низким покрытием и расчет параметра $\Delta(\text{SNP-index})$ [1]. Данный параметр отражает разницу в распределении частот аллелей между двумя пулами. Район генома со статистически высоким значением $\Delta(\text{SNP-index})$ ($p < 0.01$) определялся как целевой.

Результаты: Нами создана картирующая популяция поколения F_2 , состоящая из 397 растений, из которых 23 обладали нарушенным синтезом ПА в зерне. В результате анализа данных GBS нами было выявлено 19,761 SNP, распределенных по геному ячменя, для которых был проведен расчет $\Delta(\text{SNP-index})$. Это позволило выявить участок размером 251 Мб на 5Н хромосоме ячменя ($\Delta(\text{SNP-index})_{\max} = 0.62$, $\Delta(\text{SNP-index})_{\min} = 0.40$, $\Delta(\text{SNP-index})_{\text{mean}} = 0.48$; $p < 0.01$), в котором локализован ген *Ant26*.

Выводы: В данной работе впервые было установлено, что ген *Ant26*, контролирующий синтез ПА в зерне ячменя, расположен на 5Н хромосоме ячменя в области размером 251 Мб.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-16-20101, <https://rscf.ru/project/25-16-20101/>.

Список литературы

- 1 Mansfeld B.N., Grumet R. QTLseqr: An R package for bulk segregant analysis with next-generation sequencing. *Plant Genome*. doi 10.3835/plantgenome2018.01.0006