

## Новый баднавирус крапивы: обнаружение, секвенирование и анализ генома

Е.В. Моцарь<sup>1\*</sup>, А.А. Шевелева<sup>1</sup>, Ф.С. Шарко<sup>2</sup>, И.В. Митрофанова<sup>3</sup>, С.Н. Чирков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

<sup>3</sup> Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия

\* elena.motsar31@gmail.com

**Цель:** Изучение виroma растений с симптомами вирусной инфекции в насаждениях Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (Москва, Россия) с помощью высокопроизводительного секвенирования (high-throughput sequencing, HTS).

**Материалы и методы:** Общую РНК выделяли из свежих листьев с помощью набора RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). Библиотеки кДНК синтезировали с помощью набора TruSeq Stranded Total RNA Library Prep Plant Kit (Illumina) и секвенировали на платформе Illumina NovaSeq 6000. Контиги собирали *de novo* из парноконцевых прочтений длиной 150 нуклеотидов с помощью программы metaSPAdes v3.15.0. Вирусные контиги идентифицировали путем выравнивания на нуклеотидную коллекцию NCBI GenBank с помощью BLASTn с пороговым значением E-value = 1e-5. Множественные полногеномные последовательности баднавирусов, доступные в GenBank, выравнивали с помощью программы MAFFT v7. Филогенетическое дерево реконструировали методом максимального правдоподобия с использованием веб-сервера (<https://ngphylogeny.fr/>) и инструмента FastTree с применением модели GTR. Открытые рамки считывания (open reading frame, ORF) идентифицировали с помощью программы NCBI ORFfinder. Консервативные домены вирусных белков картировали с использованием базы данных NCBI Conserved Domain Database v3.21. Результаты HTS подтверждали с помощью ПЦР на матрице геномной ДНК, выделенной из растений крапивы с помощью набора NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel, Duren, Германия), с праймерами, разработанными на основе полногеномной последовательности крапивного баднавируса.

**Результаты:** Обнаружены растения крапивы (*Urtica dioica* L., семейство Urticaceae) с вирусоподобными симптомами окаймления жилок на листьях. Симптоматичные растения росли небольшими группами среди бессимптомных. При проведении HTS было получено свыше 21 млн парноконцевых прочтений, из которых собрано 4554 контига. В частности, собран контиг, отдаленно родственный (73,8% идентичности) полногеномной последовательности баднавируса green Sichuan pepper vein clearing-associated virus (GSPVCaV, MK371354). В области генома, кодирующей обратную транскриптазу и РНКазу Н, нуклеотидная идентичность GSPVCaV и крапивного контига составила 76,3%, что было ниже демаркационного критерия вида в роде *Badnavirus* (семейство Caulimoviridae) для этого участка генома (80%) и указывало на обнаружение нового баднавируса. Новый вирус был назван nettle badnavirus 1 (NBV 1) (PP792697). Полный геном NBV 1 размером 7598 п.н. содержал три ORF. ORF перекрываются таким образом, что последний аденозин в стоп-кодонах TGA/TAA является первым нуклеотидом инициаторного ATG кодона следующей ORF. Геном начинается с сайта связывания транспортной РНК<sup>МЕТ</sup> (нт 1-18). ORF1 (нт 336-971) и ORF2 (нт 971-1348) потенциально способны кодировать белки из 211 и 125 аминокислотных (aa) остатков соответственно. ORF3 (нт 1348-7185) кодирует полипротеин, состоящий из 1945 aa. В полипротеине были идентифицированы консервативные мотивы цинкового пальца (aa 800-817), аспартатной протеазы (aa 1111-1200), обратной транскриптазы (aa 1322-1505) и РНКазы Н (aa 1604-1732). Предполагаемый ТАТА-бокс (ТАТААА, нт 7405-7411) и сигнал полиаденилирования (ААТААА, нт 7486-7491) были идентифицированы в большой межгенной области. Филогенетический анализ показал, что NBV 1 входил в одну кладу с баднавирусом, интегрированным в геном крапивы (OZ076864, хромосома 6, нт 40,912,896-40,920,440). По-видимому, NBV 1 не встроен в геном *U. dioica*, так как NBV 1 и последовательность интегрированного баднавируса идентичны всего на 78% и, таким образом, представляют собой разные баднавирусы. Наличие NBV 1 в образцах крапивы было подтверждено с помощью ПЦР как в симптоматичных, так и в соседнем бессимптомном растении крапивы. Однако в отдаленных бессимптомных растениях вирус не был обнаружен. Результаты секвенирования продуктов ПЦР оказались идентичны полученным при HTS соответствующих участков генома NBV 1.

**Выводы:** В растениях крапивы двудомной обнаружен новый баднавирус, названный «nettle badnavirus 1». Результаты работы расширяют список известных баднавирусов и дополняют список известных вирусов крапивы.

**Финансирование:** Исследование поддержано Российским научным фондом, грант № 23-16-00032, <https://ias.rscf.ru/user/doc/a.w.p.2023.80.legacy/349702>.