

## Роль гена *HOS1 Arabidopsis thaliana* в адаптации к холодовому стрессу

А.В. Фиалко\*, Ю.А. Югай, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков

ФНЦ Биоразнообразия Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

\*fialko2000@mail.ru

**Цель:** Получить мутантную линию *hos1 Arabidopsis thaliana* для изучения взаимодействия гена *HOS1*-RING-пальцевой E3-убиквитин-лигазы с другими известными генами холодового пути, влияния мутации на стабильность клеточной мембраны и биосинтеза хлорофилла, во время длительного холодового стресса.

**Материалы и методы:** В данной работе использовали модельное растение *A. thaliana*: контрольную (WT) и мутантную линию *hos1-3<sup>Cas9</sup>*. Методом геномного редактирования CRISPR/Cas9 провели мутагенез гена *HOS1 A. thaliana*. Для подтверждения наличия мутации в гене использовали секвенирование по Сенгеру и генотипирование методом анализа подвижности гетеродуплекса. Оценку стабильности клеточной мембраны и уровня хлорофилла в мутантной *hos1-3<sup>Cas9</sup>* и контрольной (WT) линиях, проводили методом измерения электролитов TDS-метром и спектрофотометрическим методом соответственно. Измерение экспрессии генов осуществляли методом ПЦР в реальном времени.

**Результаты:** Анализ стабильности мембраны показал, что мутантные линии *hos1* проявили повышенную устойчивость к продолжительному холодовому воздействию по сравнению с диким типом. При проведении анализа на содержание хлорофиллов не было выявлено значительного влияния мутации в гене *HOS1* на функционирование фотосинтетического аппарата *A. thaliana* во время холодового стресса. Уровень экспрессии холодовых генов пути CBF (c-repeat-binding factors) у мутантов *hos1* при первичной обработке холодом, акклиматизации и повторном холодовом воздействии оставался в несколько раз выше, чем у контрольной линии, что указывает на большую устойчивость к холодовому воздействию мутантной линии *hos1*, нежели контрольной. Экспрессия деацетилазы HD2C была повышена при первом воздействии холодом и в период акклиматизации, однако после повторного воздействия уровни экспрессии в мутантной линии и у контрольных растений сравнялись, что может говорить о компенсаторной функции *HOS1* – HD2C. Однако *HOS1* не влияет на активность HDA6. Также *HOS1* положительно влияет на экспрессию *CHS* при холодовом стрессе, возможно, путем модуляции путей, выходящих за рамки традиционного CBF-зависимого пути ответа на холод. Помимо этого, *HOS1* положительно влияет на работу *MYC2* и *FLC* как при нормальных, так и в холодовых условиях.

**Выводы:** Полученные данные свидетельствуют о том, что ген *HOS1* играет важную роль в холодовой адаптации. Нокаут гена *HOS1 A. thaliana* при холодовом стрессе ведет к увеличению работы холодовых генов, а клеточная мембрана становится более устойчивой к внешним факторам. Все это в совокупности говорит о лучшей акклиматизации *A. thaliana* с нокаутом гена *HOS1*.

**Финансирование:** Работа выполнена в рамках государственного задания ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (№ 0207-2024-0022).