

Новый подход к управлению мобиломом: вирус-опосредованная активация мобильных элементов в модельных и сельскохозяйственных растениях

А.В. Власова^{1, 2*}, Е.Д. Камараули¹, Д.В. Перевозчиков², М. Мардини¹, П.Ю. Меркулов^{1, 2}, И.В. Киров^{1, 2}

¹ Московский физико-технический институт (МФТИ), Долгопрудный, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

* vlasova.nactia@yandex.ru

doi 10.18699/PlantGen2025-

Цель: Создание системы направленной активации мобильных элементов модельных и сельскохозяйственных культур с использованием генетической конструкции на основе вирусного генома.

Материалы и методы: В работе были использованы семена *Arabidopsis thaliana* L. дикого типа экотипа Col-0 и семена подсолнечника линии ZS. Для вирус-опосредованного сайленсинга генов использовали генетические конструкции на основе генома вируса погрешности табака (TRV) (TRV1; Addgene № 148968; TRV2; Addgene № 148969). Клонирование фрагментов генов, контролирующих активность мобильных элементов арабидопсиса и подсолнечника, в вектор производилось классическим методом рестрикции и лигирования в соответствии со стандартным протоколом производителя (СибЭнзим, Москва). В качестве доставки векторов использовали агробактерии методом агроинфильтрации растений шприцем без иглы для арабидопсиса, и вакуумную инфильтрацию семян для *Helianthus annuus* L. Детекцию активности мобильных элементов осуществляли путем ПЦР-амплификации кольцевых и линейных внехромосомных молекул ДНК транспозонов с использованием специфичных праймеров для арабидопсиса, для анализа мобилома подсолнечника использовали нанопоровое секвенирование кольцевых внехромосомных молекул (Mobilome-seq).

Результаты: Мы разработали новый подход, названный Te-storm, для активации мобильных элементов растений, основанный на комплексном воздействии на механизмы метилирования ДНК с помощью VIGS и теплового стресса. Данный подход был опробован на *A. thaliana* L., в качестве целевого гена для подавления метилирования транспозонов был выбран ген NRPD, кодирующий большую субъединицу РНК-полимеразы IV. В ответ на Te-storm была установлена сверхактивность термоиндуцибельного LTR-ретротранспозона ONSEN (ATCOPIA78) путем детекции в реальном времени его внехромосомных кольцевых и линейных молекул ДНК. После успешной активации ретротранспозона ONSEN на модельном объекте *A. thaliana* L., мы перенесли наш подход Te-storm на *H. annuus* L., где с помощью нанопорового секвенирования внехромосомных кольцевых ДНК было обнаружено обогащение неавтономными ретротранспозонами TR-GAG, в ответ на Te-storm. Кроме этого, нам было интересно проследить наследование новых инсерций в поколении, полученном от растений после Te-storm. С помощью полногеномного нанопорового секвенирования *A. thaliana* L. мы обнаружили 4 потомка из 15 растений одной линии Te-storm NRPD с новыми инсерциями в кодирующей области генов. Анализ показал, что гены с инсерционными мутациями вовлечены в ответ на абиотический стресс (AT2G35730), а также регулируют инициацию образования меристемы в пазушных почках (AT5G60690). Наконец с помощью нанопорового секвенирования, исключая ПЦР-амплификацию, был определен профиль метилирования новых инсерций ретротранспозона ONSEN в *A. thaliana* L.

Выводы: Разработанный нами подход Te-storm демонстрирует значительный потенциал для активации мобильных элементов как в модельных, так и в сельскохозяйственных растениях. На примере *A. thaliana* L. комбинация вирус-опосредованного сайленсинга (VIGS) генов-регуляторов мобильных элементов с тепловым стрессом позволила добиться не только транзиторной активации ретротранспозона ONSEN в соматических тканях, но и наследования новых инсерций в поколении. Помимо этого, подход TE-storm открывает значительные перспективы для изучения мобилома сельскохозяйственных культур, поскольку он позволяет обойтись без необходимости создания стабильных мутантов. Кроме того, этот метод исключает использование культуры *in vitro*, что часто является ограничением в изучении мобильных элементов на многих видах растений.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 22-64-00076.