

Испытание вирусных платформ для доставки CRISPR/Cas в сельскохозяйственные культуры

Е.В. Михайлова^{1,2,3*}, Э.А. Хуснутдинов¹, М.П. Терехов^{1,2}, А.А. Галимова¹, З.Р. Суфьянова^{1,3}, К.И. Сайфуллина^{1,2}, Л.Р. Хакимова^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

² Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, Россия

³ Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия

* mikhele@list.ru

Ключевые слова: CRISPR/Cas; VIGE; растительные вирусы; геномное редактирование

Exploring viral platforms for CRISPR/Cas delivery in crops

E.V. Mikhaylova^{1,2,3*}, E.A. Khusnutdinov¹, M.P. Terekhov^{1,2}, A.A. Galimova¹, Z.R. Sufyanova^{1,3}, K.I. Saifullina^{1,2}, L.R. Khakimova^{1,2}

¹ Institute of Biochemistry and Genetics UFRS RAS, Ufa, Russia

² Ufa State Petroleum University, Ufa, Russia

³ Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia

* mikhele@list.ru

Key words: CRISPR/Cas; VIGE; plant viruses; genome editing

Основными проблемами CRISPR/Cas редактирования сельскохозяйственных культур является отсутствие эффективных протоколов *in vitro* культивирования, а также слабая изученность геномов многих видов. Проведение редактирования *in planta* с использованием векторов на основе растительных вирусов позволило бы существенно ускорить исследования в данной области, а также валидировать функции генов, которые могут быть ответственны за хозяйственно-ценные признаки. Однако для многих культур отсутствуют данные о возможности доставки и экспрессии таких векторов, а также редактирования семенного потомства. Вирусы, передающиеся через семена, обычно имеют малую емкость и не могут экспрессировать белок Cas9 без потери подвижности, что препятствует *in planta* редактированию.

Ген фитоеденсатуразы *PDS* был выбран в качестве модельного для проверки работоспособности конструкций. Гидовые РНК были подобраны для табака, томата, баклажана, перца, свеклы, гороха, пшеницы, и клонированы в векторы на основе вирусов желтой карликовости фасоли (BeYDV), карликовости пшеницы (WDV), бронзовости томата (TSWV) и погрешковости табака (TRV). В первые два вируса, обладающие узким кругом хозяев и ограниченной подвижностью, а также в не передающийся через семена TSWV вирус были дополнительно проклонированы т-РНК подобные структуры (TLS). В вирус TRV, обладающий вместимостью не более 3 т.п.н., был проклонирован ген миниатюрного белка Cas12j2 размером 2,2 т.п.н.

Исследование позволит оценить возможность применения вирусных векторов для редактирования геномов сельскохозяйственных культур.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76-10065, <https://rscf.ru/project/24-76-10065/>.