



Подбор генов-кандидатов для редактирования с целью получения стерильных форм осины

Сафроньчева Е.Д.^{1*}, Каржаев Д.С.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, Санкт-Петербург, Россия

* esafronycheva@mail.ru



САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЛЕСНОГО
ХОЗЯЙСТВА

Актуальность

В настоящее время исследователи ограничены в проведении экспериментов по получению генно-модифицированных растений древесных пород, так как присутствует опасность попадания их пыльцы или семян в окружающую среду. Это может повлечь за собой необратимые изменения в биоценозах и даже целых экосистемах. Таким образом, стерильность является необходимым условием для выращивания модифицированных растений в условиях открытого грунта. Для получения экологически безопасных клонов древесных пород с измененным геномом в качестве модельного объекта была выбрана осина (*Populus tremula* L.), так как на территории РФ этот вид *Populus* является преобладающим.

Целевые гены

В качестве целевых генов были отобраны два гена: *Leafy* и *Agamous*, который в референсном геноме *Populus trichocarpa* представлен двумя паралогами. Согласно теории 'ABCDE' формирования цветка, ген *Leafy* инициирует формирование генеративной меристемы, ген *Agamous* способствует правильному формированию пестиков и тычинок в цветке. При нарушении работы этих генов в первом случае образуется вегетативный побег на месте генеративного, во втором – на месте тычинок и пестиков формируются чашелистики.

Последствия изменений в выбранных генах на примере *Arabidopsis thaliana*

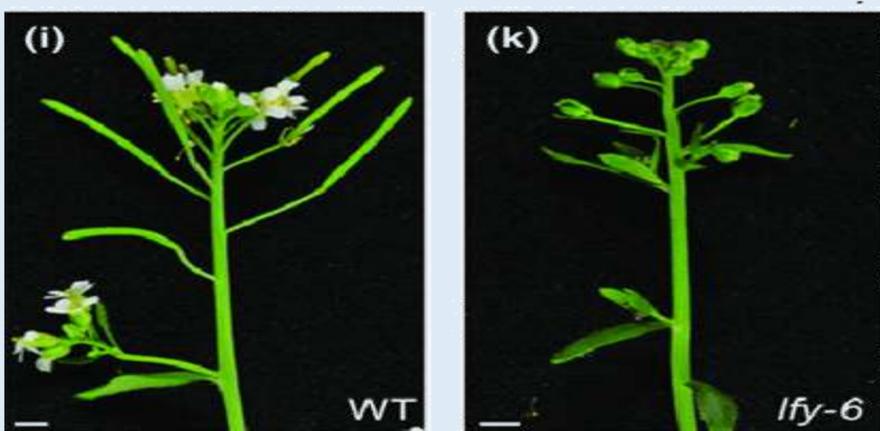


Рисунок 1. Последствие неправильной работы гена *Leafy* у *Arabidopsis thaliana*. На месте генеративных побегов (нормальное растение, слева) сформированы вегетативные (ген повреждён, справа).



Рисунок 2. Последствие неправильной работы гена *Agamous* у *Arabidopsis thaliana*. Вместо тычинок и пестиков (нормальное растение, слева) сформированы чашелистики (ген повреждён, справа)

Работа с генами

Были разработаны праймеры, позволяющие амплифицировать первый экзон каждого из этих генов. Проведены ПЦР для проверки их работоспособности.

| Название | Последовательность | Температура отжига праймеров |
|-----------|---------------------------|------------------------------|
| LEAFY-2-F | GATCATGTGTCAAGAGATGAGTGG | 62°C |
| LEAFY-2-R | GTCCTCGTCTTTTCATGTCC | 62°C |
| AG-R | CGTCTAAAGGGTAAGAGAAGAGAAA | 62°C |
| AG-F | CCAGATTGAAGCACCAGTGA | 62°C |
| LFY-F | CTGTCCAGTTCCGAAGAAACA | 62°C |
| LFY-R | GGAAATTATAAGCTGGCAAGTAACA | 62°C |
| STK-F | TGCACACCSTTAAACTTCAGTA | 62°C |
| STK-R | CACCSTTCACTGTCTTGTGTT | 62°C |

Таблица 1. основная информация о праймерах.

Заключение

Полученные результаты позволяют перейти к следующему этапу процедуры получения стерильных форм осины с использованием технологии CRISPR-Cas9.

Результаты ПЦР (электрофорез в агарозном геле)

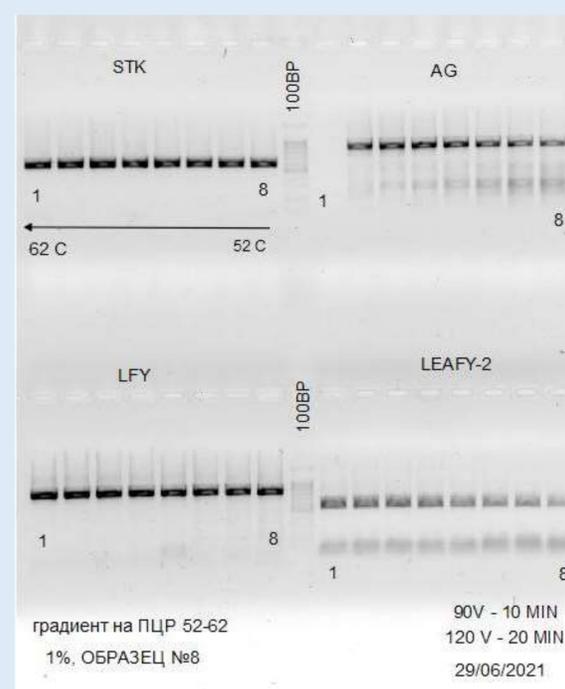


Рисунок 3. результат электрофореза ПЦР-продуктов в агарозном геле (1%)