

Изучение проявления плюрипотентности клеток листа мутанта арабидопсис *taeniata* в условиях *in vivo* и *in vitro*

Научный руководитель – Ежова Татьяна Анатольевна

Денисова Е.Р.¹, Куприянова Е.В.², Байер М.А.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail*: *evgeniya.denisova.1998@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра генетики, Москва, Россия, *E-mail*: *ekupriyanova@gmail.com*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра генетики, Москва, Россия, *E-mail*: *mbayer3007@gmail.com*

Клетки листа модельного растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа утрачивают плюрипотентность на самых ранних этапах развития листового примордия, что приводит к развитию простого листа. Мутант *taeniata* (*tae*) из коллекции кафедры генетики МГУ характеризуется образованием выростов и почек на верхней стороне листа. Эта особенность проявляется на поздних стадиях развития листьев и сопровождается возобновлением клеточных делений и эктопической экспрессией генов плюрипотентности *KNOX* класса I, что продемонстрировано как методом количественной ОТ-ПЦР-РВ для генов *KN1*, *KN2*, *KN6*, *STM*, так и с использованием репортерного гена β-глюкуронидазы *GUS* (*uidA*), слитого с промотором гена плюрипотентности *KN1* (*KN1:GUS*) и гена циклина (*CycB1;1:GUS*). На ранних этапах развития листа у мутанта, как и у дикого типа, эти гены не экспрессируются. Таким образом, плюрипотентность клеток листа является результатом возобновления экспрессии генов плюрипотентности, которые в листе дикого типа эпигенетически репрессированы на всем протяжении онтогенеза.

При культивировании эксплантов листьев *in vitro* на среде для каллусогенеза выявлена более низкая пролиферативная активность клеток: средняя масса каллуса из листьев мутанта после месяца культивирования составила 450 ± 45 мг, в то время как для дикого типа она составила 600 ± 60 мг. В каллусах мутанта ниже и уровень экспрессии трансгена *CycB1;1:GUS*, что свидетельствует о снижении пролиферативной активности клеток. Кроме того, каллусные культуры из мутанта (в отличие от каллусов дикого типа) не были способны к регенерации. Почки не формировались ни на среде каллусогенеза, ни на среде регенерации с повышенным содержанием гормона цитокинина, который активирует транскрипцию генов плюрипотентности. Более того, в отличие от условий *in vivo*, в культуре ткани у мутанта не выявлено повышенной экспрессии большинства генов плюрипотентности по сравнению с диким типом. На среде регенерации в каллусах дикого типа выявлена и экспрессия гена *WUS*, инициирующего появление пула стволовых клеток и образование почек. Экспрессия этого гена в каллусах мутанта оказалась на порядок ниже. Полученные данные свидетельствуют о том, что возобновление экспрессии генов плюрипотентности в клетках листа *in vivo* обусловлено регуляцией со стороны целого растения.

Авторы благодарят Т.А. Ежову за ценные советы. Исследование поддержано грантом РФФИ №19-04-00149-а.