

Обзорная статья

УДК 575.162

DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-264-280



Семейство генов *OsGATA* как перспективный кандидат для применения CRISPR/Cas-технологии редактирования генома с целью улучшения пищевых и урожайных качеств риса (*Oryza sativa* L.)

Е. А. Нестерова, Н. А. Швачко

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Екатерина Артемовна Нестерова, ea.nesterova@vir.nw.ru

Молекулярная селекция риса (*Oryza sativa* L.) на урожайность имеет огромное значение для обеспечения продовольственной безопасности населения. У живых организмов существуют генетически обусловленные пути реакции на факторы окружающей среды, в том числе на стресс. Фотосинтетическая активность влияет на все обменные процессы в клетках растений. В свою очередь, гены, участвующие в фотосинтезе, регулируются дифференциально экспрессируемыми генами, связанными с циркадными ритмами. Для растений необходима более сложная и эффективная регуляция экспрессии генов ввиду прикрепленного образа жизни. GATA-факторы – транскрипционные факторы (ТФ), которые влияют на выработку фитогормонов и опосредуют реакцию на стресс. GATA-факторы разделены на четыре основных класса (класс А – класс D) на основании разницы в структуре домена цинковых пальцев и на семь подсемейств в зависимости от наличия дополнительных доменов. В ТФ GATA имеются доменные структуры, которые могут быть участниками регуляции циркадных ритмов. Воздействия на циркадные ритмы растений влияют на другие регуляторные метаболические пути растения, что делает изучение генов, связанных с циркадными ритмами, актуальным и значимым. Наиболее известным и используемым методом редактирования генов на данный момент является технология CRISPR/Cas. С 2018 по 2023 г. с использованием технологии CRISPR/Cas было успешно проведено геномное редактирование более 30 генов риса, что улучшило их хозяйственно ценные признаки.

В публикации приведены классификация и информация об известных функциях генов *OsGATA* и ТФ *OsGATA*, а также данные, подтверждающие возможность воздействия на регуляцию циркадных ритмов риса посредством редактирования генов *OsGATA*.

Ключевые слова: рис, редактирование генома, транскрипционные факторы, *OsGATA*, циркадные ритмы

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту FGEM-2022-0007 «Выявление новых генетических маркеров селекционно значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей при помощи геномных и постгеномных технологий».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Нестерова Е.А., Швачко Н.А. Семейство генов *OsGATA* как перспективный кандидат для применения CRISPR/Cas-технологии редактирования генома с целью улучшения пищевых и урожайных качеств риса (*Oryza sativa* L.). Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2024;185(4):264-280. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-264-280

SURVEYS

Review article

DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-264-280

The *OsGATA* gene family as a promising candidate for applying the CRISPR/Cas genome editing technology to improve the nutritional and yield qualities of rice (*Oryza sativa* L.)

Ekaterina A. Nesterova, Nataliya A. Shvachko

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Ekaterina A. Nesterova, ea.nesterova@vir.nw.ru

Molecular breeding of rice (*Oryza sativa* L.) for yield is of great importance for ensuring food security of the population. Living organisms manifest genetically determined responses to environmental factors, including stressors. Photosynthetic activity affects all metabolic processes in plant cells. The genes involved in photosynthesis, in their turn, are regulated by differentially expressed genes associated with circadian rhythms. Plants, as sedentary organisms, require more efficient regulation of gene expression. GATA factors are transcription factors (TFs) that affect the production of phytohormones and mediate the stress response. GATA factors are divided into four main classes (A to D), based on the difference in the structure of the zinc finger domain, and into seven subfamilies, depending on the availability of additional domains. GATA TFs incorporate domain structures that may be involved in the regulation of circadian rhythms. Effects on the circadian rhythms influence other regulatory metabolic pathways in plants, which makes the study of genes associated with circadian rhythms relevant and significant. The most well-known and popular method of gene editing at the moment is the CRISPR/Cas technology. More than 30 rice genes were successfully genomically edited using the CRISPR/Cas technology in the period from 2018 through 2023. This helped to improve their valuable agronomic traits.

This review summarizes all information about the classification and known functions of *OsGATA* genes and *OsGATA* TFs and provides evidence for the possibility of influencing the regulation of rice photoperiodicity by editing these genes.

Keywords: rice, genome editing, transcription factors, *OsGATA*, circadian rhythms

Acknowledgements: the work was carried out within the framework of the state task according to the thematic plan of VIR, Project No. FGEM-2022-0007 "Identifying new genetic markers of significant traits for breeding and new allelic versions of agronomically important genes in the genetic diversity of cultivated plants and their wild relatives using genomic and postgenomic technologies".

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Nesterova E.A., Shvachko N.A. The *OsGATA* gene family as a promising candidate for applying the CRISPR/Cas genome editing technology to improve the nutritional and yield qualities of rice (*Oryza sativa* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2024;185(4):264-280. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-264-280

Введение

В настоящее время появилось множество методов изменения и усовершенствования генома растений. Придание заданных свойств хозяйственно важным культурам стало основной задачей генетиков по всему миру.

Быстрый рост численности населения продолжает требовать увеличения производства продовольственного зерна. Абиотические стрессы, такие как засуха, наводнение, засоление, жара, холод, ионная токсичность и радиация, снижают урожайность и качество сельскохозяйственной продукции (Biswal et al., 2019). Одной из основных сельскохозяйственных культур в мире является рис посевной (*Oryza sativa* L.). Важнейшей задачей производства риса является повышение его урожайности и устойчивости к биотическим и абиотическим факторам путем совершенствования технологии возделывания и использования новых высокопродуктивных сортов. Разработка эффективных методов выращивания риса и создание высокоурожайных сортов базируются на особенностях генотипа культуры (Vorobyev, 2013).

У живых организмов существуют генетически обусловленные пути реакции на стресс. Реакция на стресс растений определяется выработкой фитогормонов, которая модулируется генами и транскрипционными факторами (ТФ). Одним из таких ТФ являются GATA-факторы (Hudson et al., 2013; Zhang Y.J. et al., 2018; Zhang H. et al., 2021). GATA-факторы – это регуляторы транскрипции, которые распознают последовательность ДНК W-G-A-T-A-R через домен «цинковый палец» типа IV (Schwechheimer et al., 2022). Охарактеризованы GATA-факторы животных, дрожжей, грибов и растений. Однако если семейства GATA животных и дрожжей сравнительно невелики, то в случае растений выявлено множество GATA-факторов, отличающихся по строению и выполняемым функциям (Schwechheimer et al., 2022). GATA-факторы были подразделены на четыре класса (класс А – класс D, в зависимости от строения домена цинковых пальцев) и на семь подсемейств (на основании наличия дополнительных доменов) (Gupta et al., 2017). Гены растений, содержащие мотив ДНК GATA, регулируют экспрессию генов в ответ на свет и нитраты (Reyes et al., 2004). Исследования факторов GATA у растений за последние 10–15 лет обогатили понимание роли консервативных факторов транскрипции этого семейства (Gupta et al., 2017). Однако большинство исследований базируются на изучении GATA-факторов арабидопсиса, в то время как информации про функции GATA-факторов риса остается недостаточно (Schwechheimer et al., 2022).

Редактирование генома помогает получать растения с заданными свойствами. Наиболее известным и популярным методом редактирования генов на данный момент является технология CRISPR/Cas. Появившееся в 2012 г. сообщение о возможности использования системы бактериального иммунитета для модификаций геномов позволило по-новому взглянуть на редактирование и нокаут генов (Jinek et al., 2012). Технология CRISPR/Cas основана на комбинированном соединении последовательностей направляющей РНК с последовательностями ДНК-мишени для идентификации сайтов-мишеней, требующих искусственного создания 20 нуклеотидных последовательностей, нацеленных на конкретные гены (Guo et al., 2022). Начиная с 2018 по 2023 г. с использованием CRISPR/Cas было успешно проведено геномное редактирование более 30 генов риса, что положительно повлияло на хозяйственно ценные признаки культуры (Miao C.

et al., 2018; Honma et al., 2020; Khandagale et al., 2020; Usman et al., 2020a, 2020b; Wang G. et al., 2020; Duy et al., 2021; Nurhayati et al., 2021; Zheng S. et al., 2021; Wu et al., 2022; Zegeye et al., 2022; Caddell et al., 2023; Chandra et al., 2023; Huang et al., 2023; Sheng et al., 2023; Yang J. et al., 2023). Нулевые мутации (нокаут генов) имеют решающее значение для обратной генетики и изучения функций генов. Легко программируемая Cas-эндонуклеаза, управляемая РНК, эффективно создает двухцепочечные разрывы ДНК (DSBS) в целевых участках генома, которые могут быть восстановлены путем нехомологичного соединения концов (NHEJ), что обычно приводит к небольшим вставкам или делециям, которые могут приводить к нулевым мутациям (Swinnen et al., 2020).

Таким образом, изучение GATA-факторов риса с помощью технологии CRISPR/Cas является актуальным как с фундаментальной (для выяснения локализации и функций генов), так и с прикладной (для создания устойчивых сортов с повышенной урожайностью) точек зрения.

Биологическая и агрономическая характеристики риса посевного (*Oryza sativa* L.)

Рис посевной (*Oryza sativa* L.) – ценная зерновая культура, которой питается более половины человечества. Рис принадлежит к семейству злаковых (Poaceae) вместе с ячменем, пшеницей, кукурузой и сорго, которые являются важными зерновыми культурами, обеспечивающими мировые запасы продовольствия (Itoh et al., 2005). Рис обычно ассоциируется с Азией – местом происхождения и производства 90% от мирового объема рисовой крупы, но в последние десятилетия потребление риса особенно возросло в Африке, что делает рис еще более популярной культурой, имеющей огромное значение для глобальной продовольственной безопасности (Heredia et al., 2022). В России, по данным Федеральной службы государственной статистики (<http://rosstat.gov.ru/shmp/2021>), рис выращивают в республиках Дагестан, Адыгея, Калмыкия, Чеченской Республике, Ростовской и Астраханской областях, Приморском крае и Еврейской автономной области. Более половины посевных площадей России приходится на Краснодарский край (рис. 1).

Рис – однодольное самоопыляющееся растение с небольшим геномом – является модельной зерновой культурой, что подчеркивает его ценность для генетических исследований.

Молекулярная селекция риса для достижения высокой урожайности, улучшения качества зерна и высокой адаптивности к окружающей среде имеет решающее значение для обеспечения питанием быстро растущего населения мира. За последнее столетие в Китае были достигнуты два важных результата (прорыва) в области селекции риса. Первым прорывом стало выведение полукарликового сорта риса в 1960-х годах, что повысило урожайность риса более чем на 20%; вторым – выведение гибридных сортов риса в 1970-х годах: первый сорт – с трехлинейной стерильностью и второй – с цитоплазматической мужской стерильностью. Это привело к еще одному значительному увеличению средней урожайности риса на 20% (Rao et al., 2014). Необходимо также упомянуть важную веху в истории изучения риса: проведенное в 2005 г. полногеномное секвенирование сорта 'Nipponbare' (International Rice Genome Sequencing Project, Sasaki, 2005). С тех пор геном 'Nipponbare' стал референсным при изучении и сравнитель-

ПОСЕВНЫЕ ПЛОЩАДИ РИСА В РОССИИ В 2021 ГОДУ

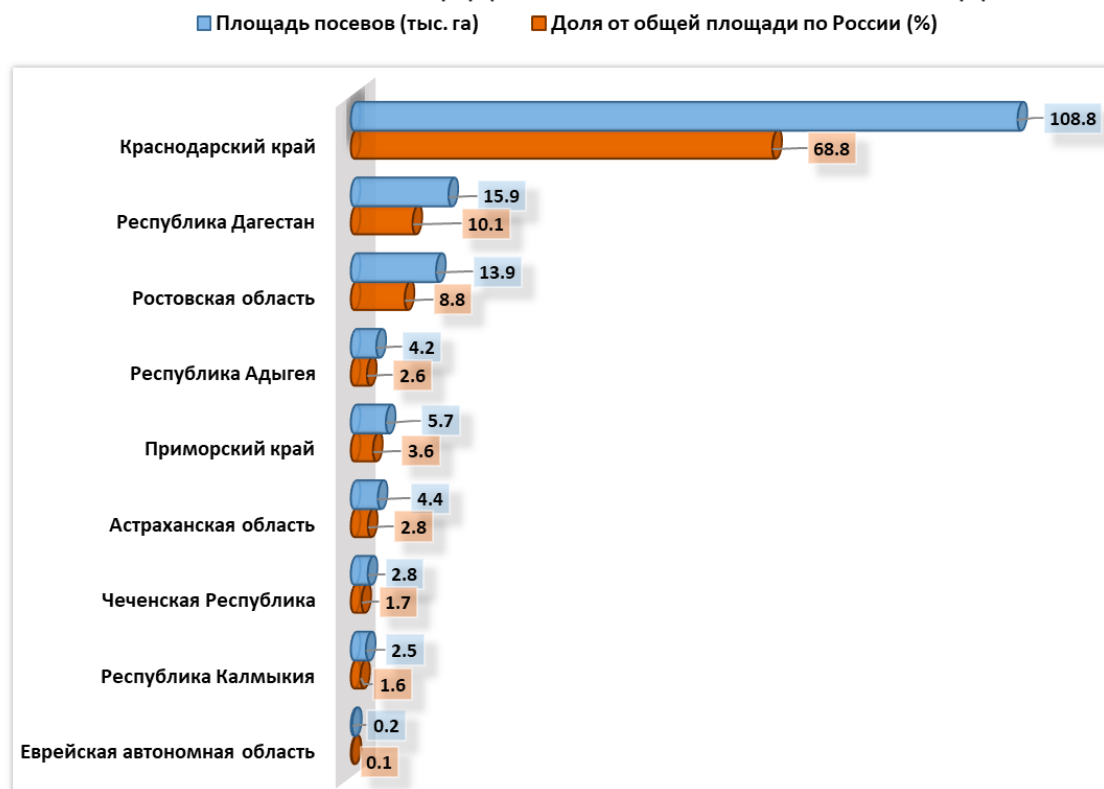


Рис. 1. Размеры посевных площадей риса в 2021 г. в России с указанием места произрастания на основе данных Федеральной службы государственной статистики (<http://rosstat.gov.ru/shmp/2021>)

Fig. 1. Rice acreage in 2021 in Russia, with regions of rice cultivation, based on the data provided by the Federal State Statistics Service (<http://rosstat.gov.ru/shmp/2021>)

ном анализе многих других линий и сортов риса (Matsumoto et al., 2016).

В ходе полевых испытаний в 2004–2006 гг. в Южно-Китайском сельскохозяйственном университете (Гуандун, Китай) были выращены линии с одним замещенным сегментом хромосом 1, 3, 6, 7 и 8 (SSSLs), содержащие ген длины зерна *GS3* и другие хозяйственно полезные признаки (включая гены *Wx* и *perflume*). Данное исследование проводилось на сорте риса 'Huaqingxian74' (HJX74), subsp. *indica* Shig. Kato. В дальнейшем на этом же сорте проводили пирамидирование генов с целью изучения возможности селекции длиннозерного риса. Измерение длины зерен показало, что все пирамидальные линии обладают характеристиками длиннозерности, что улучшило качество сорта 'Huaqingxian74' (Yang T. et al., 2010).

Важным качеством культуры является устойчивость к болезням и вредителям. В 2013 г. посредством прямого, а затем обратного скрещивания сортов риса и использования молекулярных маркеров из растений-доноров GL77 и GL84 был внедрен локус устойчивости *qS14* к белошейке (WBPB, *Sogatella furcifera* Horváth) в растения-реципиенты Minghui 86, Hang 1 и Shuhui 527. В дальнейшем были получены три улучшенные линии R38, R46 и R58, обладающие устойчивостью к WBPB и хорошими агрономическими характеристиками (Zhang J. et al., 2013).

Подверженность абиотическому стрессу является важным фактором, который может снижать устойчивость культур. Таким стрессом может быть как влияние погодных условий и состояния почвы, так и антропоген-

ный фактор. В частности, важное качество для селекции риса – солеустойчивость. M.S. Alam et al. (2022) нокаутировали ген *OsbHLH024* при помощи технологии CRISPR/Cas9. У мутантов наблюдалась повышенная экспрессия генов – переносчиков ионов (*OsHKT1;3*, *OsHAK7* и *OsSOS1*) в побегах при воздействии солевого стресса. Эти результаты подразумевают, что *OsbHLH024* может играть роль негативного регулятора солевого стресса (Alam et al., 2022). Помимо перечисленных характеристик, не менее важными для потребителя являются биохимические свойства риса. Одной из биохимических характеристик является эффективность фотосинтеза. Целью селекции риса с высокой эффективностью фотосинтеза является изучение потенциала скорости фотосинтеза в одном листе. Рис относят к растениям типа фотосинтеза C_3 . Считается, что растения типа C_4 обладают более высокой эффективностью фотосинтеза, чем C_3 -растения, за счет более низкого уровня фотореспирации. В своих исследованиях L. He et al. (2005) изучили трансгенный рис с геном фосфоенолпируваткарбоксилазы кукурузы (PEPCase). Фосфоенолпируваткарбоксилаза (PEPCase) является ключевым ферментом для фиксации CO_2 в растениях типа C_4 (Rao et al., 2014). Результаты изучения показали, что активность фосфоенолпируваткарбоксилазы и скорость фотосинтеза (P_n) трансгенного риса увеличивались по сравнению с нетрансформированным рисом на протяжении всего онтогенеза (He L. et al., 2005).

Фотосинтетическая активность влияет на все обменные процессы в клетках растений. В свою очередь, гены, участвующие в фотосинтезе, регулируются дифференци-

ально экспрессируемыми генами, связанными с циркадными ритмами. Анализ регуляторной сети показал, что связанные с циркадными ритмами RDG-гены (дифференциально экспрессируемые гены) являются ключевыми компонентами как в дневную, так и в ночную фазу фотосинтеза и широко регулируют нижестоящие гены, участвующие не только в фотосинтезе, но и в синтезе крахмала, передаче сигналов растительных гормонов и других путях, что способствует силе роста и высокой урожайности супергибридного риса (Li Y. et al., 2021).

Таким образом, всестороннее изучение свойств риса с помощью редактирования генома помогает понять механизмы развития растений и реакций на окружающую среду. Это открывает возможность изменения свойств генов по интересующим нас параметрам, создавая альтернативные пути реакции на стресс, процессы жизнедеятельности и этапы онтогенеза.

Семейство генов GATA и их роль в регуляции роста и развития растений

У живых организмов существуют генетически обусловленные пути развития и реакции на стресс, которые кодируются генетическим материалом, характерным для всех представителей биоты: ДНК, кодирующей экспрессию генов в ответ на условия окружающей среды. Реакция организмов характеризуется двумя типами регуляции экспрессии генов: позитивной и негативной. Важным звеном сигнальных цепей, начинающихся с восприятия информации из окружающей среды и заканчивающихся реакцией (экспрессией генов), являются транскрипционные факторы. Малая подвижность растений, обусловленная их прикрепленным положением, требует более эффективно регулируемой экспрессии генов, чтобы проявлять устойчивость к биотическим, абиотическим и антропогенным факторам среды. Реакция на стресс определяется выработкой фитогормонов, которая регулируется различными транскрипционными факторами, участвующими в экспрессии генов путем специфического связывания с промоторными/энхансерными последовательностями гена (Gupta et al., 2017).

GATA-факторы влияют на выработку фитогормонов и опосредуют реакцию на стресс (Hudson et al., 2013; Zhang Y.J. et al., 2018; Zhang H. et al., 2021). Факторы GATA представляют собой эволюционно стабильные белки, которые регулируют активность генов. Их название происходит от характерной последовательности ДНК, с которой они взаимодействуют: W-GATA-R. В качестве «W» могут выступать тимидин или аденозин, в то время как в качестве «R» можно увидеть гуанидин или аденозин. Все GATA-факторы имеют особый участок, называемый «цинковый палец» типа IV. Этот участок состоит из последовательности аминокислот C-X₂-C-X₁₇₋₂₀-C-X₂-C, где C – цистеин, X – любая другая аминокислота. После «цинкового пальца» следует участок, богатый положительно заряженными аминокислотами. «Цинковый палец» обеспечивает гидрофобное взаимодействие с ДНК, а богатый положительно заряженными аминокислотами участок связывается с отрицательно заряженным фосфатным остовом ДНК. В то время как все GATA арабидопсиса имеют только один ДНК-связывающий домен, несколько факторов транскрипции GATA риса, подобно их аналогам животного происхождения, содержат более одного «цинкового пальца» (Reyes et al., 2004). На данный момент имеются данные о GATA-факторах животных, дрожжей, грибов и растений. Известно, что семейства GATA живот-

ных и дрожжей невелики в сравнении с геномом покрытосеменных (Schwechheimer et al., 2022).

Y. Feng et al. (2023) идентифицировали продукт гена *GATA24* как один из ключевых ТФ в регуляции азот-чувствительных генов в листьях табака (*Nicotiana tabacum* L.). А у *Medicago truncatula* Gaertn. были идентифицированы два фактора транскрипции GATA: MtHAN1 и MtHAN2, которые экспрессируются в корнях и побегах, включая кончик корня и верхушку клубенька, что показывает роль GATA-факторов в росте и развитии растения, а также было продемонстрировано, что у двойных мутантов *mthan1* и *mthan2* образуется в два раза больше клубеньков, чем у дикого типа (Xu et al., 2021).

Семейство GATA-факторов подразделяют на четыре основных класса (класс А – класс D) и на семь подсемейств (Gupta et al., 2017). Принадлежность к определенному классу характеризуется особенностями структуры домена «цинковых пальцев», который присутствует у всех представителей семейства. Также GATA-факторы могут иметь дополнительные домены, что и взято в основу их подразделения на подсемейства (Gupta et al., 2017). В различных литературных источниках характеристика классов и подсемейств часто дается в смешанном виде. В таблице указаны характеристики известных на данный момент OsGATA-факторов риса: принадлежность к подсемействам, классам и их характерные особенности.

Характеристика классов и подсемейств дает более широкое понимание структурных особенностей как генов, так и ТФ, которые они кодируют. На рисунке 2 представлены схемы строения GATA-факторов (Gupta et al., 2017).

У растений мотивы ДНК GATA участвуют в светозависимом и нитрат-зависимом контроле транскрипции ДНК-РНК (Reyes et al., 2004). Исследования факторов GATA растений за последние 10–15 лет значительно улучшили понимание консервативных факторов транскрипции этого семейства (Gupta et al., 2017). Тем не менее большинство исследований сосредоточены на GATA-факторах арабидопсиса, в то время как данных о функциях GATA-факторов риса значительно меньше (Schwechheimer et al., 2022).

В приведенном ниже списке охарактеризованы известные функции всех ТФ OsGATA.

Класс А.

Класс А включает в себя подсемейства I, III и V.

Гены *OsGATA6* и *OsGATA1* являются дуплицированными, имеют схожую структуру. *OsGATA1* влияет на уменьшение/ускорение периода «цветение» посредством негативной регуляции экспрессии генов, положительно регулирует развитие метелки и влияет на размер зерна (RAP-DB, <https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>), может действовать как медиатор передачи сигналов и ответа на абиотический стресс (Gupta et al., 2017). Согласно информации в базе данных RAP-DB (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>), P. Gupta et al. (2017) картировали ген *OsGATA1* на 1-й хромосоме, а ген *OsGATA6* – на 5-й. В дальнейшем C. Schwechheimer et al. (2022) подтвердили расположение генов *OsGATA1* и *OsGATA6* на 1-й и 5-й хромосомах соответственно. В 2022 г. Y. J. Zhang et al идентифицировали ген *OsGATA6*, продукт которого регулирует сроки созревания. Сверхэкспрессия *OsGATA6* привела к задержке цветения, увеличению количества зерен и уменьшению размера зерен. Исследования, проведенные с использованием искусственной микроРНК (amiRNA) и технологии CRISPR для нокаута *OsGATA6*, показали, что подавление экспрес-

Таблица. Классификация транскрипционных факторов OsGATA по классам и подсемействам*
Table. Classification of OsGATA transcription factors into classes and subfamilies*

ГАТА-фактор (ID транскрипта)		Подсемейство	Характерные особенности ТФ подсемейства	Класс	Характерные особенности генов, кодирующих класс факторов транскрипции
OsGATA27 (в используемой базе данных RAP-DB нет ID транскрипта)	III		Представители подсемейства содержат расположенный на N-конце домен GATA. Кодирующие гены без интронов (Gupta et al., 2017).	A	Кодирующие гены <i>OsGATA</i> содержат от одного до трех экзонов и кодируют белки, несущие больше одного цинкового пальца GATA-типа с 18 аминокислотными остатками в петле (CX ₂ CX ₁₈ CX ₂ C), с двумя белками-исключениями: OsGATA25 ближе к N-концу молекулы имеет деградировавший цинковый палец конфигурации CX ₂ CX ₁₆ CX ₂ C помимо стандартной, а OsGATA24 – неполную последовательность третьего по счету от N-конца цинкового пальца.
OsGATA28 (Os11t0187200-01)					
OsGATA24 (Os10t0458800-00)					
OsGATA26 (Os12t0168800-01)	V	OsGATA26 содержит два мотива цинкового пальца, а OsGATA24 – три целых и одну укороченную петлю цинкового пальца в кодируемых ими белках (Gupta et al., 2017).			
OsGATA4 (Os03t0145200-01)					
OsGATA3 (Os02t0806300-01)	I		Все эти белки GATA несут единственный домен GATA на C-концевом участке. Среди них OsGATA1, OsGATA3, OsGATA6, OsGATA7 и OsGATA25 наиболее гомологичны в домене GATA (Gupta et al., 2017).		
OsGATA5 (Os04t0539500-01 Os04t0539500-02)					
OsGATA2 (Os02t0645600-01)					
OsGATA7 (Os10t0557600-01)					
OsGATA25 (Os12t0624900-01)					
OsGATA6 (Os05t0520300-00)					
OsGATA1 (Os01t0745700-01) (Os01t0745700-02)					

Таблица. Продолжение
Table. Continued

ГАТА-фактор (ID транскрипта)	Подсемейство	Характерные особенности ТФ подсемейства	Класс	Характерные особенности генов, кодирующих класс факторов транскрипции
OsGATA9 (Os01t0662800-00)	II	Содержат высококонсервативный домен HAN на N-конце цинкового пальца и названный в честь его присутствия в регуляторе развития цветков HANABA TARANU (AtHAN) (Zhao et al., 2004, Zhang H. et al., 2021).	В	В основном у генов два или три экзона (у <i>GATA13</i> – 5 экзонов). Домен, связывающий GATA, расположен в центре, а последовательность ДНК, кодирующая один цинковый палец, разделена между двумя экзонами интронной последовательностью. Белки содержат 18 аминокислотных остатков в петле цинкового пальца.
OsNL/OsGATA15 (Os05t0578900-01)				
OsGATA14 (Os05t0567900-00)				
OsGATA16 (Os06t0571800-01) (Os06t0571800-02) (Os06t0571800-03)				
OsGATA11/ CGA1 (Os02t0220400-01)				
OsGATA12 (Os03t0831200-01) (Os03t0831200-02)				
OsGATA13 (Os05t0155400-01)				
OsGATA8 (Os01t0343300-01)				
OsGATA10 (Os01t0976800-01)				

Таблица. Окончание
Table. The end

ГАТА-фактор (ID транскрипта)	Подсемейство	Характерные особенности ТФ подсемейства	Класс	Характерные особенности генов, кодирующих класс факторов транскрипции
OsGATA23 (Os07t0615900-01) (Os07t0615900-02)	VII	Помимо GATA-связывающего домена, имеют домены FAR1 и PMZ, обнаруженные в ряде транспозаз семейства транспозонов MULE (Lisch et al., 2001). Обнаружены домены FHY3 и SWIM. FHY3 и его гомолог FAR1 являются факторами транскрипции, производными транспозаз, необходимыми для световой передачи сигналов, опосредованных фитохромом A. FHY3 и FAR1 также играют различные регулирующие роли в росте и развитии растений: период покоя и прорастания семян, старение, образование хлоропластов, ветвление, «цветение» и развитие мериستمы (Zheng Y. et al., 2023). SWIM-домен принимает участие в иммунной устойчивости растений (в том числе риса) в ответ на патогены (Fu et al., 2022).	C	Гены имеют от 4 до 8 экзонов. Кодируют крупные белки с 20 аминокислотными остатками в петле цинкового пальца (CX ₂ CX ₂ CX ₂ C).
OsGATA22 (Os03t0181600-01) (Os03t0181600-02)				
OsGATA20 (Os06t0698900-01)	VI	Белки имеют консервативные домены CST и TIFY. CST располагается в средней области белка. Считается, что он опосредует белок-белковые взаимодействия. Гены семейства <i>CONSTANS</i> (CST) играют важную роль в регулировании сроков созревания, что оказывает большое влияние на региональную и сезонную адаптацию риса (Fan et al., 2023). Домен TIFY находится на N-конце белка. Семейство TIFY – это новое семейство генов, специфичных для растений, участвующих в регуляции разнообразных биологических процессов, специфичных для растений, таких как развитие и реакции на фитогормоны. Семейство OsTIFY (в рисе) может играть важную роль в ответе на абиотические стрессы. Избыточная экспрессия <i>OsTIFY11a</i> , одного из генов, индуцируемых стрессом, привела к значительному повышению толерантности к солевому стрессу и обезвоживанию (Ye et al., 2009).	D	Ген имеет 6 экзонов и 5 интронов. Кодирует небольшие белки с 18 аминокислотными остатками в петле цинкового пальца (CX ₂ CX ₁₈ CX ₂ C), расположенного на N-конце пептида.
OsGATA17 (Os02t0148500-01)				
OsGATA18 (Os03t0684000-01)				
OsGATA19 (Os03t0734900-00)				
OsGATA21 (Os04t0544500-01)	IV	Домен GATA расположен на самом крае N-конца.	D	

Примечание: * – при подготовке таблицы использовались базы данных по аннотированию генома риса RAP-DB (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>), Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>), NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) и Oryzabase (<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/>); в скобках приведены идентификационные номера транскриптов, у некоторых генов их несколько ввиду наличия альтернативных форм транскриптов

Note: * – the following rice genome annotation databases were used for preparing the table: RAP-DB (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>), Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>), NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), and Oryzabase (<https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/>); transcript identification numbers are shown in parentheses, while some genes have several of those due to the presence of alternative transcript forms

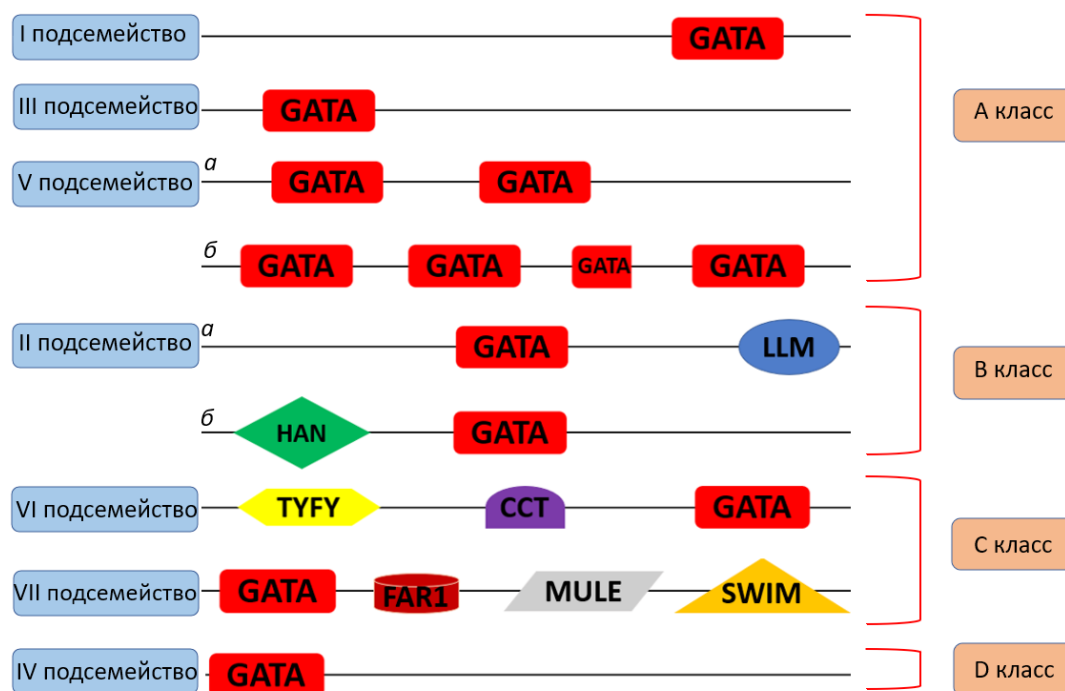


Рис. 2. Схематическое представление консервативных доменов семейства *OsGATA* с указанием классов и подсемейств на основе данных P. Gupta et al. (2017)

Fig. 2. Schematic presentation of the conservative domains within the *OsGATA* family, indicating classes and subfamilies, based on the data obtained by P. Gupta et al. (2017)

сии гена *OsGATA6* приводит к более раннему колошению, меньшему количеству зерен и увеличению их размера. Эти результаты указывают на то, что транскрипционный фактор *OsGATA6* играет ключевую роль в регуляции времени цветения, развития метелки и размера зерна (Zhang Y.J. et al., 2022).

OsGATA7 связан с опосредованной брассиностероидами (BR) регуляцией роста, развитием метелок и формы/количества/массы/урожайности зерен (Zhang Y.J. et al., 2018). В исследовании авторы сконструировали трансгенные линии, используя микроРНК (АМ-линии) для подавления экспрессии гена *OsGATA7* в рисе WYJ7 subsp. *japonica*. Линии АМ имели уменьшенную высоту и меньший угол наклон листьев, а также укороченный стебель, уменьшенное количество и массу зерен. Также были сконструированы линии с нокаутированными посредством CRISPR/Cas9-генами *OsGATA7* в WYJ7 (CRI-линии). Результаты секвенирования показали, что две линии CRI (CRI7-1 и CRI7-5) имели мутации и кодировали стоп-кодон в экзонах. Линии CRI демонстрировали уменьшенную высоту в сравнении с диким типом (более значительно, чем линии АМ) и имели меньший угол наклона листьев, что делает растения более компактными, увеличивая стойкость к полеганию и плотность посадки. Оказалось, что структура и количество/масса зерен у линий АМ и CRI такие же, как у мутантов, нечувствительных к брассиностероидам (BR). Именно по совокупности таких признаков, как морфология, количество ветвей/зерен, масса зерна, чувствительность к BR и экспрессия BR-регулируемого гена, предполагалось, что ген *OsGATA7* участвует в BR-опосредованной регуляции роста растений, что и было доказано в исследовании Y. J. Zhang et al. (2018). Необходимо подчеркнуть, что в сравнении с использованием микроРНК метод нокаута гена CRISPR-Cas9 показывает более эффективные результаты в подавлении экспрессии генов.

В 2017 г. P. Gupta с соавторами провели эксперимент, в котором исследовали экспрессию генов *OsGATA* в контрастных генотипах риса – IR64 (солесенствительный) и Pokkali (солесенствительный). Анализ выявил экспрессию генов в ответ на стресс. Было замечено, что засуха и ABA (абсцизовая кислота) модулируют экспрессию набора генов, который включал *OsGATA4*; наблюдались активная экспрессия гена *OsGATA25* в ответ на засоление и ABA и менее активный ответ на засуху, а также активация экспрессии гена *OsGATA5* в ответ на засоление, засуху и ABA, а ген *OsGATA3* активно экспрессировался в ответ на ABA (Gupta et al., 2017).

Экспрессия транскрипта *OsGATA2a*, сплайсинговой вариации *OsGATA2*, не изменялась при засолении, засухе или воздействии ABA. В то же время экспрессия транскрипта *OsGATA2b* индуцировалась в ответ на засоление, засуху и сигнал от ABA (Gupta et al., 2017).

Три домена *OsGATA24* (*OsGATA24_1*, *OsGATA24_2* и *OsGATA24_3*) были выровнены вместе с другими доменами GATA. Анализ выровненных белковых последовательностей показал, что помимо консервативных остатков Cys в Cys-1, Cys-4, Cys-25 и Cys-28 в петле «цинкового пальца», несколько аминокислотных остатков между Cys-4 и Cys-28 также консервативны. Остатки Thr-11, Pro-12, Gly-17, Pro-18, Lys-24, Asn-26 и Ala-27 способствуют образованию α -спирали в петле цинкового пальца; предполагается их роль в поддержании структурной целостности домена (Gupta et al., 2017).

Дополнительные домены GATA, присутствующие в *OsGATA26*, вероятно, регулируют его роль в передаче сигналов абиотического стресса (Gupta et al., 2017).

OsGATA28 регулирует сроки цветения, высоту растения и длину метелки (согласно RAP-DB, <https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>). K. Yano et al. (2016) проводили анализ гаплотипов локуса *LOC_Os11g08410* (согласно базе данных RAP-DB, этот локус кодирует ген *OsGATA28*). В исследовании

участвовали три гаплотипа: А, В и С. 'Nipponbare', референсный сорт, нес гаплотип А. При анализе структуры экзонов выяснилось, что гаплотипы В и С содержали один и десять полиморфизмов соответственно. В последующем сорта, несущие гаплотип С, показали более позднюю дату колошения, а сами растения были выше и имели большую длину метелки, чем растения, несущие гаплотип А или гаплотип В.

В настоящее время не изучена функция гена *OsGATA27*. При сравнении эволюционных ветвей генов *GATA* арабидопсиса и риса на общем филогенетическом древе ген *OsGATA27* появляется как независимая клада, не связанная ни с одной последовательностью арабидопсиса (Reyes et al., 2004). *AtGATA27* относится к классу D, и нет никакой информации о биологической или биохимической роли *GATA* из этого небольшого класса, но примечательно, что после моделирования D-*GATA* арабидопсиса или риса ни одна из моделей не предсказала типичного цинкового пальца, состоящего из α -спирали и антипараллельного β -листа у белков. Таким образом, у гена *AtGATA27*, возможно, появилась новая структура и, соответственно, новая функция (Schwechheimer et al., 2022).

Класс В.

Этот класс считается наиболее изученным, включает в себя подсемейство II.

В исследовании 2018 г. гистологический анализ показал, что длина эпидермальных клеток и количество продольных прожилок были уменьшены во флаговом листе мутанта *snf1/osgata15*. Из этого можно сделать вывод, что *OsNL/OsGATA15* регулирует органогенез и развитие листьев (He P. et al., 2018). В 2009 г. L. Wang et al. (2009) показали участие ТФ *OsGATA15* в регуляции экспрессии генов *Hd3a* и *OsMADS1*, регулирующих сроки цветения.

OsGATA16 действует как позитивный регулятор устойчивости к холоду, подавляя связанные с реакцией на низкие температуры гены, такие как *OsWRKY45-1*, *OsSRFP1*, *OsCYL4* и *OsMYB30* (Zhang H. et al., 2021), а также позитивно регулирует биосинтез хлорофилла и развитие хлоропластов (Lim et al., 2024).

D. Hudson с соавторами показали, что сверхэкспрессия гена *OsGATA11/CGA1* приводит к появлению темно-зеленых полукарликовых растений с уменьшенным кущением, тогда как подавление РНК-интерференции приводит к снижению содержания хлорофилла и усилению кущения. Конститутивная сверхэкспрессия способствует как созреванию хлоропластов, так и увеличению производства крахмала, однако также вызывает замедление старения и уменьшение наполненности зерна (Hudson et al., 2013).

Похожие результаты получили G. Lu et al. (2017), исследуя ген *OsGATA12*. Авторы выявили, что сверхэкспрессия этого гена регулирует содержание хлорофилла, задерживает старение растений и повышает урожайность риса при высокой плотности посадки.

Было замечено, что засуха и АВА модулируют экспрессию набора генов, который включал *OsGATA8a* (сплайсинговый вариант *OsGATA8*), повышая их экспрессию более чем в 100 раз (Gupta et al., 2017). Ген является регулятором различных клеточных процессов, включая содержание K^+ / Na^+ , эффективность фотосинтеза, относительное содержание воды, соотношение F_v / F_m – plant stress measurement (соотношение, измеряющее флуоресценцию хлорофилла, где F_v – переменная флуоресценция, а F_m – максимальная флуоресценция) и стабильность к субклеточным органеллам, а также способствовал поддержанию урожайности в условиях стресса,

которая была на ~ 46% выше у растений со сверхэкспрессией по сравнению с диким типом. *OsGATA8* влияет на эти эффекты, регулируя экспрессию ключевых генов, участвующих в стрессоустойчивости, поглощении активных форм кислорода и биосинтезе хлорофилла (Nutan et al., 2020).

J. Jin et al. (2020) идентифицировали *GATA10*, регулирующий экспрессию гена *Ubl40*. Нокаут гена *OsGATA10* привел к низкой экспрессии *Ubl40* и тенденции к мужской фертильности и подтвердил, что ТФ *GATA10* регулирует образование фертильности через модуляцию *Ubl40*. Ген *OsGATA10* может действовать как медиатор передачи сигналов и ответа на абиотический стресс (Gupta et al., 2017).

Точной информации про функции гена *OsGATA13* нет, однако известно, что дополнительный домен LLM, присутствующий у представителей подсемейства II, к которому относится данный ген, был хорошо изучен и идентифицирован как функциональный компонент роста растений у арабидопсиса, томата, коротконожки и ячменя (Behringer et al., 2014). Он участвует в регуляции различных физиологических, а также структурных переходов в растениях, таких как прорастание, удлинение гипокотили, развитие эмбриона, цветка и старение (Behringer et al., 2014; Behringer, Schwechheimer, 2015).

Известно небольшое количество работ по исследованию гена *OsGATA14*, однако предполагается, что домен HAN может влиять на органогенез, накопление хлорофилла и развития зародыша. Мутанты со сверхэкспрессией HAN и HANL2 имеют разные фенотипы: например, они накапливают меньше хлорофилла, чем дикий тип, и имеют нормальную длину гипокотили (Behringer et al., 2014). Ортологи генов *OsGATA14* и *OsGATA9* у арабидопсиса *AtHANL1*, *AtHANL2*, *AtHAN*, *AtGATA29*, *AtGNC* и *AtGNL* комплексно регулируют границы роста цветков и развития органов (Schwechheimer et al., 2022).

Класс С.

Класс С характеризуется ТФ, чья экспрессия связана с множественными стрессами, и включает в себя подсемейства VI и VII.

Так, гены *OsGATA17*, *OsGATA18*, *OsGATA19*, *OsGATA20*, *OsGATA22* и *OsGATA23* реагируют на засоление, засуху и сигналы от АВА активной экспрессией. *OsGATA23a*, сплайсинговый вариант *OsGATA23*, экспрессируется при засолении, засухе, сигнале от АВА, в то время как экспрессия *OsGATA23b* была низкой при засолении, засухе и АВА-стрессе (Gupta et al., 2017).

Класс D.

Класс D включает в себя подсемейство IV и характеризуется лишь одним представителем – *OsGATA21*. Было замечено, что засуха и АВА модулируют экспрессию набора генов, который включал *OsGATA21b*, повышая экспрессию более чем в 35 раз при воздействии засухи и АВА (Gupta et al., 2017).

Таким образом, у большинства генов семейства *OsGATA* риса изучены функции и уже доказана роль *GATA*-факторов в развитии растения, его органов, влияние на архитектонику и метаболические пути регуляции, а также реакции организма на абиотический стресс. В *GATA*-факторах имеются доменные структуры, которые могут быть участниками регуляции циркадных ритмов (Behringer et al., 2014; Behringer, Schwechheimer, 2015; Zhang Y.J. et al., 2022). Хотя четких доказательств участия *GATA* риса в реакции растения на свет пока не установлено, анализ доменов *OsGATA22* и *OsGATA23* указывает на то, что домен FAR1, присутствующий в *OsGATA22*

и OsGATA23, может быть важным компонентом фитохромной сигнализации и циркадных часов (Gupta et al., 2017). У высших растений белки с доменами FAR1 и SWIM участвуют в передаче сигналов фитохромами. Это позволяет предположить, что GATA-факторы, имеющие вспомогательные домены, такие как FAR1, SWIM и MULE-домен, могут играть роль в светозависимой передаче сигналов у растений (Gupta et al., 2017; Schwechheimer et al., 2022; Zheng Y. et al., 2023).

Роль циркадных ритмов в жизненном цикле *Oryza sativa* L.

Время цветения является ключевым адаптивным признаком, который позволяет растениям синхронизировать размножение с наступлением наиболее благоприятных условий окружающей среды. Циркадные ритмы регулируют цветение растений таким образом, что оно наступает в период, наиболее благоприятный для завершения жизненного цикла растения. Понимание роли циркадных ритмов растений позволяет селекционерам повышать урожайность сельскохозяйственных культур для обеспечения продовольственной безопасности (Shen et al., 2015). Графически сезонные изменения продолжительности дня (фотопериод) представлены синусоидальной кривой, амплитуда которой меняется в зависимости от широты, но в одном и том же месте неизменна из года в год (рис. 3). Таким образом, изменения фотопериода обеспечивают очень стабильные и измеримые параметры для исследования связи размножения растений с определенным временем года, а виды растений можно классифицировать в соответствии с фотопериодическим режимом, необходимым для стимулирования цветения. Растения короткого дня цветут, когда продолжительность дня снижается до 8–10 часов, растения длинного дня цветут, когда продолжительность дня превышает 12 часов, а цветение растений с нейтральным режимом дня не зависит от длины светового дня (Izawa, 2007; Sun C. et al., 2022; Vicentini et al., 2023).

Сигнальные пути циркадного ритма влияют на физиологические процессы растений. Фотосинтез, освещение, температура и дыхание являются основными периодическими изменениями, которые влияют на циркадный

ритм растений. В этом явлении участвуют различные белки, и сами растения обладают эндогенным центральным генератором колебаний, который регулирует многие аспекты циркадного ритма (McWatters et al., 2001; Paajanen et al., 2021; Sun C. et al., 2022).

Рис – это растение короткого дня, которое цветет раньше, если продолжительность светового дня составляет менее 13,5 часов. Продолжительность дня изменяет сроки цветения. Исследования гибридов риса продемонстрировали повышенную фотосинтетическую и метаболическую активность, связанную с измененной экспрессией регуляторов циркадных часов (Shen et al., 2015). Y. Zhang с соавторами в 2023 г. идентифицировали значительное количество ТФ, которые были ритмично связаны с хроматином и управляли экспрессией генов риса зависимым от времени образом. Дальнейшее картирование сетей регуляции транскрипции выявило значительную корреляцию между основными генами часов и факторами транскрипции, участвующими в передаче сигналов светом/температурой (Zhang Y. et al., 2023).

В 2020 г. B. Usman с соавторами нокаутировали ген *OsPYL9* с помощью CRISPR/Cas9. Большинство DEP (дифференциально экспрессируемых белков), чья экспрессия связана с циркадными ритмами, засушливостью среды и образованием активных форм кислорода, были активированы у мутантных растений в сравнении с немутантным контролем. Часто наблюдается взаимосвязь регуляторных сетей циркадных ритмов с реакцией на абиотический стресс. Экспрессия генов, отвечающих за циркадные ритмы, у засухоустойчивых растений риса связана с экспрессией генов, реагирующих на стресс. В данном случае возможно существование единой регуляторной сети, в которой происходит косвенное или прямое влияние на экспрессию определенных генов и реакцию организма на водный стресс в разное время суток. Этот механизм играет важную роль в адаптивности растений и эффективности выращивания риса в засушливых условиях. Предположения о взаимном влиянии экспрессии генов циркадных часов риса и генов, реагирующих на стресс, важны для выбора сортов фермерами и имеют существенные преимущества для селекционеров при выведении новых и более качественных сортов с использованием современных технологий (Usman et al., 2020a).

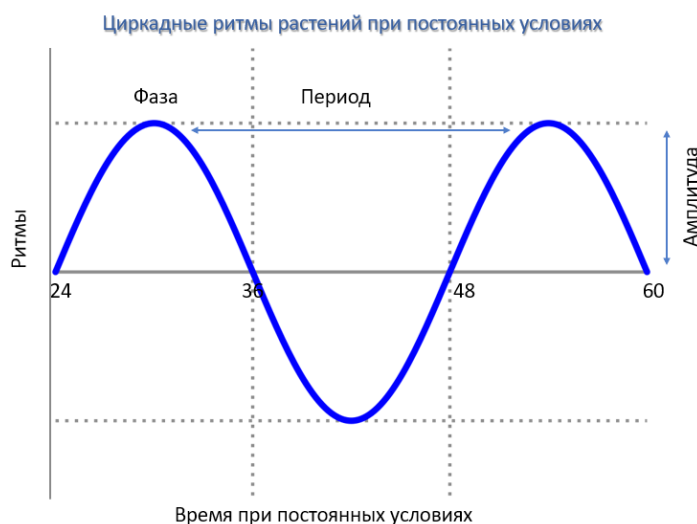


Рис. 3. График циркадных ритмов растений при постоянных условиях (по: P. Paajanen et al., 2021)

Fig. 3. Graph of circadian rhythms in plants under constant conditions (from P. Paajanen et al., 2021)

Таким образом, воздействуя на циркадные ритмы растений, можно повлиять и на другие регуляторные метаболические пути растения, что делает изучение генов, связанных с циркадными ритмами, актуальным и значимым.

В этой связи редактирование генов, кодирующих ТФ GATA, является интересным направлением для получения новых ценных линий сельскохозяйственных растений с повышенной урожайностью и устойчивостью к климатическим факторам среды.

Технология CRISPR/Cas9, ее механизм и перспективы применения

Влияние на характеристики растения посредством воздействия на гены может помочь в определении функции генов и селекции устойчивых и более урожайных сортов риса. Редактирование генома (genome editing, в дальнейшем – GE) может создавать прогнозируемые и наследуемые мутации. Использование геномного редактирования для улучшения сельскохозяйственных культур может значительно ускорить процесс получения желаемых признаков и значительно сэкономить рабочую силу и другие затраты (Lee et al., 2021; Liu Q. et al., 2021; Alam et al., 2022; Ukhatoeva et al., 2023).

GE-опосредованные модификации ДНК включают делеции, вставки и замену – однонуклеотидную (SNP) и многонуклеотидную. В механизме делеции нуклеотидов участвуют сайт-направленные нуклеазы (SDN). Большинство SDN связываются с матричной ДНК для получения двухцепочечного разрыва (DSB). Система эндогенной репарации растений автоматически фиксирует разрывы с помощью двух основных вариантов восстановления повреждений ДНК: негомологичного восстановления связи (NHEJ) и гомологично направленной рекомбинации (HDR). Расщепление, восстановленное способом NHEJ, обычно приводит к коротким вставкам или выпадениям нуклеотидов, что ведет к нулевым мутациям (нокауту гена) или потере функции продукта гена (Liu M. et al., 2019; Swinnen et al., 2020). Однако когда имеется матрица ДНК, может запускаться HDR, что подразумевает вставку фрагмента ДНК в целевую область генома (Wuman, Kanaar, 2006; Sun Y. et al., 2016).

Одним из самых известных и часто используемых методов редактирования генов на данный момент является технология CRISPR/Cas. CRISPR был впервые найден у *Escherichia coli* M. в 1987 г. и охарактеризован как иммунный ответ бактерий для борьбы с проникновением вирусной и плазмидной ДНК (Ishino et al., 1987). Кластеризованные короткие палиндромные повторы с постоянным чередованием (CRISPR)/CRISPR-ассоциированные системы (Cas) обуславливают адаптивный иммунитет бактерий и архей против вирусов и плазмид за счет присутствия РНК CRISPR (crRNAs), которые ограничивают проникновение нуклеиновых кислот. В 2012 г. M. Jinek с соавторами показали, что зрелая crRNA, связанная по основанию с транскрибирующей tracrRNA (tracrRNA), образует дуплекс РНК, которая направляет CRISPR-ассоциированный белок *Streptococcus pyogenes* Cas9 (SpyCas9) создавать двухцепочечные разрывы (ds) в ДНК-мишени. В дальнейшем выяснилось, что эта структура, состоящая из двух РНК, может быть заменена единственной направляющей РНК – sgRNA (Jinek et al., 2012). Направляющая sgRNA состоит из CRISPR-РНК (crRNA) и транскрибирующей tracrRNA (tracrRNA). TracrRNA образует пары оснований с повторением пре-crRNA, формируя двойную РНК,

которую расщепляет РНКаза III в присутствии белка Cas9, таким образом принимая участие в формировании crRNA (Charpentier et al., 2015). CrRNA содержит фрагмент размером около 20 пар нуклеотидов (также известный как спейсер, комплементарный определенному участку генов-мишеней), за которым следует мотив, примыкающий к протоспейсеру (PAM) в целевых генах-мишенях. SgRNA направляет нуклеазу Cas9, которая создает DSBS на ~ 3 пн выше мотива PAM (Jinek et al., 2012; Guo et al., 2022).

У растений редактирование генов на основе CRISPR/Cas9 состоит из нескольких этапов:

1. выбор сайтов-мишеней;
2. конструирование и синтез sgRNA;
3. доставка трансформирующего носителя или рибонуклеопротеина (RNP) в клетки растений;
4. трансформация;
5. скрининг растений с отредактированным геном.

В настоящее время растительный CRISPR/Cas9 и система, созданная на его основе, продемонстрировали различные способности к редактированию генома, такие как вставки, нокаут, подавление экспрессии генов, а также активация экспрессии (Liu Q. et al., 2021).

Возможность использования системы бактериального иммунитета для модификаций геномов позволила облегчить и по-новому взглянуть на редактирование и нокаут генов. По сравнению с другими технологиями GE, система CRISPR/Cas более эффективна и проста для редактирования генома, поскольку специфичность редактирования определяется комплементарностью нуклеотидов направляющей РНК к определенной последовательности без сложной белковой инженерии.

Одним из первых растений, отредактированных по технологии CRISPR/Cas, был рис (Shan et al., 2013; Miao J. et al., 2013; Feng Z. et al., 2013; Jiang et al., 2013). Так, уже в 2013 г. J. Miao с соавторами сконструировали sgRNA и dual-crRNA:tracrRNA для дальнейшего получения мутантов по гену *CAO1* (ген хлорофилл-оксигеназы). Были получены трансгенные растения с бледно-зелеными листовыми пластинками. В дальнейшем эта группа исследователей провела анализ генотипа полученных трансгенных растений с использованием геноспецифичных праймеров. Результат показал, что на секвеннограммах наблюдалась либо потеря пика/усиление пика, либо наложение пиков вокруг целевого сайта, который подтвердил мутации в гене *CAO1*. Также в ходе этого исследования было показано, что конструкции sgRNA генерируют направленный мутагенез более эффективно, чем конструкции dual-crRNA:tracrRNA (Miao J. et al., 2013).

Технологию CRISPR/Cas9 используют для изучения, редактирования растений и придания им нужных свойств. В свою очередь, нокаут генов имеет решающее значение для изучения генома, его отдельных участков и их функций. В 2017 г. B. Li с соавторами использовали технологию CRISPR-Cas9 для точного нокаута *SmCPS1*, гена дитерпенсинтазы шалфея (*Salvia miltiorrhiza* Bunge), ответственного за биосинтез основного эффективного компонента таншинона (Li B. et al., 2017). Изменения в содержании и разновидностях вторичных метаболитов между мутантами и дикими типами сравнивали методом ЖХ-МС. Преобладающими таншинонами были таншинон I, таншинон IIА и криптотаншинон, которые полностью отсутствовали угомозиготных мутантов. Это открытие показало, что *SmCPS1* является ключевым геном пути синтеза таншинона, тем самым открывая путь для последующих исследований пути вторичного мета-

болического синтеза таншинона и крупномасштабного функционального редактирования генома у *S. miltiorrhiza* (Guo et al., 2022).

Более того, технология CRISPR/Cas9 смогла открыть перспективы создания лигноцеллюлозного биотоплива посредством GE ячменя. Сообщалось о снижении содержания лигнина в ячмене за счет CRISPR/Cas9-опосредованного мутагенеза кофейной кислоты О-метилтрансферазы 1 (*HvCOMT1*), гена биосинтеза лигнина, ответственного за образование синрингильной единицы лигнина. У мутанта было на 14% ниже общее содержание лигнина и на 34% выше скорость восстановления ферментируемой глюкозы по сравнению с диким типом (WT). В контролируемых условиях окружающей среды общие показатели роста мутанта *HvCOMT1* были аналогичны мутанту WT, без отчетливых морфологических различий между ними. Таким образом, мутантный ячмень *HvCOMT1* может предложить лигноцеллюлозное сырье улучшенного качества для эффективного производства биотоплива (Lee et al., 2021).

Ю. В. Ухатова с соавторами (Ukhatova et al., 2023) провели анализ имеющихся данных по редактированию с использованием технологии CRISPR/Cas9: за 2017 г. было выпущено 88 статей, в 2019 – 131, а уже на 2023 г. количество статей, описывающих результаты изменения растений с использованием метода CRISPR/Cas9, составило 685. Увеличилось число отредактированных генотипов пшеницы (в 3,4 раза), томатов (в 2 раза), риса (в 1,4 раза), сои (в 6 раз), рапса (в 3 раза), винограда (в 3 раза), картофеля (в 2 раза).

Рис изучают в качестве продовольственной культуры, а также модельного однодольного растения. Например, CRISPR/Cas9 использовали для нарушения функции гена *OsSWEET14* путем редактирования соответствующей кодирующей области в геноме сорта 'Zhonghua 11' (CR-S14). Помимо придания устойчивости к азиатским штаммам патогенных бактерий *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), протестированные трансформированные образцы показали устойчивость 'Zhonghua 11' (CR-S14) к африканскому штамму патогенных бактерий AXO1947 Xoo. Более того, экспрессия *OsSWEET14* была обнаружена в сосудистых тканях, включая стебель, оболочку листа, листовую пластинку и корень. Нарушение функции гена *OsSWEET14* привело к увеличению высоты растений без снижения урожайности (Zeng et al., 2020).

При анализе исследований, проведенных с 2018 по 2023 г., оказалось, что с помощью технологии CRISPR/Cas9 было успешно отредактировано более 30 генов риса, что привело к улучшению их хозяйственно ценных признаков (Miao C. et al., 2018; Honma et al., 2020; Khandagale et al., 2020; Usman et al., 2020a, 2020b; Wang G. et al., 2020; Duy et al., 2021; Nurhayati et al., 2021; Zheng S. et al., 2021; Wu et al., 2022; Zegeye et al., 2022; Caddell et al., 2023; Chandra et al., 2023; Huang et al., 2023; Sheng et al., 2023; Yang J. et al., 2023).

Заключение

Таким образом, рис является модельным однодольным растением и референсной зерновой культурой, что делает его одним из наиболее изученных культурных растений. И даже учитывая это, многие молекулярно-генетические механизмы все еще нуждаются в изучении.

Молекулярная селекция риса для получения большей урожайности, высокого качества зерна и хорошей адаптивности к окружающей среде имеет решающее значение

для обеспечения продовольственной безопасности быстро растущего населения мира.

Необходимость создания улучшенных сортов культурных растений обуславливает всестороннее изучение влияния факторов окружающей среды и генетических механизмов для поиска подходов к геномному редактированию риса. Перспективным кандидатом для редактирования является механизм внутренней регуляции фотопериодизма.

Фотосинтетическая активность, которая напрямую связана с фотопериодизмом, влияет на все обменные процессы в клетках растений. В свою очередь, гены, участвующие в фотосинтезе, регулируются RDG (дифференциально экспрессируемыми генами, чья активность определяется условиями или типом клеток), связанными с циркадными ритмами. RDG, связанные с циркадными ритмами, участвуют в комплексной регуляции генов сигнальных цепей (синтез крахмала, сигналы фитогормонов, фотосинтез и др.). Эти данные обосновывают актуальность работы с генами, чья экспрессия связана с фотопериодичностью и циркадными ритмами.

На данный момент информации об участии ТФ GATA риса в регуляции циркадных ритмов нет. Однако известно, что семейство ТФ GATA риса имеют мотивы FAR1, SWIM и MULE, которые предположительно связаны с циркадными ритмами и фитохромной сигнализацией, как это было показано у других высших растений (*Arabidopsis thaliana* L.). Это позволяет предположить, что GATA-факторы, имеющие вспомогательные домены, могут играть роль в регулируемой светом передаче сигналов у растений.

Редактирование генома с применением технологии CRISPR/Cas9 показывает эффективные результаты в создании прогнозируемых и наследуемых мутаций для подавления экспрессии гена посредством нокаута. Эффективность метода подтверждается более чем тридцатью отредактированными генами риса за последние шесть лет, что привело к улучшению хозяйственно ценных признаков сортов.

Редактирование генов, кодирующих ТФ GATA, с целью влияния на регуляцию фотопериодизма и циркадных ритмов с использованием технологии CRISPR/Cas9 является перспективным направлением для получения новых ценных линий сельскохозяйственных растений, в том числе риса, с повышенной урожайностью и устойчивостью к климатическим факторам среды.

References / Литература

- Alam M.S., Kong J., Tao R., Ahmed T., Alamin M., Alotaibi S.S. et al. CRISPR/Cas9 mediated knockout of the OsbHLH024 transcription factor improves salt stress resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plants (Basel)*. 2022;11(9):1184. DOI: 10.3390/plants11091184
- Behringer C., Bastakis E., Ranftl Q.L., Mayer K.F., Schwechheimer C. Functional diversification within the family of B-GATA transcription factors through the leucine-leucine-methionine domain. *Plant Physiology*. 2014;166(1):293-305. DOI: 10.1104/pp.114.246660
- Behringer C., Schwechheimer C. B-GATA transcription factors – insights into their structure, regulation, and role in plant development. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6:90. DOI: 10.3389/fpls.2015.00090
- Biswal A.K., Mangrauthia S.K., Reddy M.R., Yugandhar P. CRISPR mediated genome engineering to develop climate smart rice: Challenges and opportunities. *Seminars in Cell*

- and Developmental Biology. 2019;96:100-106. DOI: 10.1016/j.semcd.2019.04.005
- Caddell D., Langenfeld N.J., Eckels M.J., Zhen S., Klaras R., Mishra L. et al. Photosynthesis in rice is increased by CRISPR/Cas9-mediated transformation of two truncated light-harvesting antenna. *Frontiers in Plant Science*. 2023;14:1050483. DOI: 10.3389/fpls.2023.1050483
- Chandra D., Cho K., Pham H.A., Lee J.Y., Han O. Down-regulation of rice glutelin by CRISPR-Cas9 gene editing decreases carbohydrate content and grain weight and modulates synthesis of seed storage proteins during seed maturation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(23):16941. DOI: 10.3390/ijms242316941
- Charpentier E., Richter H., van der Oost J., White M.F. Biogenesis pathways of RNA guides in archaeal and bacterial CRISPR-Cas adaptive immunity. *FEMS Microbiology Reviews*. 2015;39(3):428-441. DOI: 10.1093/femsre/fuv023
- Dong S., Dong X., Han X., Zhang F., Zhu Y., Xin X. et al. OsPDCD5 negatively regulates plant architecture and grain yield in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2021;118(29):e2018799118. DOI: 10.1073/pnas.2018799118
- Duy P.N., Lan D.T., Thu H.P., Thu H.P.T., Thanh H.N., Pham N.P. et al. Improved bacterial leaf blight disease resistance in the major elite Vietnamese rice cultivar TBR225 via editing of the OsSWEET14 promoter. *PLoS One*. 2021;16(9):e0255470. DOI: 10.1371/journal.pone.0255470
- Fan X., Wang P., Qi F., Hu Y., Li S., Zhang J. et al. The CCT transcriptional activator Ghd2 constantly delays the heading date by upregulating CO₃ in rice. *Journal of Genetics and Genomics*. 2023;50(10):755-764. DOI: 10.1016/j.jgg.2023.03.002
- Federal State Statistics Service: [website]. [in Russian] (Федеральная служба государственной статистики: [сайт]). URL: <http://rosstat.gov.ru/shmp/2021> [дата обращения: 03.10.2024].
- Feng Y., Zhao Y., Ma Y., Liu D., Shi H. Single-cell transcriptome analyses reveal cellular and molecular responses to low nitrogen in burley tobacco leaves. *Physiologia Plantarum*. 2023;175(6):e14118. DOI: 10.1111/ppl.14118
- Feng Z., Zhang B., Ding W., Liu X., Yang D.L., Wei P. et al. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Research*. 2013;23(10):1229-1232. DOI: 10.1038/cr.2013.114
- Fu S., Wang K., Ma T., Liang Y., Ma Z., Wu J. et al. An evolutionarily conserved C4HC3-type E3 ligase regulates plant broad-spectrum resistance against pathogens. *The Plant Cell*. 2022;34(5):1822-1843. DOI: 10.1093/plcell/koac055
- Guo M., Chen H., Dong S., Zhang Z., Luo H. CRISPR-Cas gene editing technology and its application prospect in medicinal plants. *Chinese Medicine*. 2022;17(1):33. DOI: 10.1186/s13020-022-00584-w
- Gupta P., Nutan K.K., Sinha-Pareek S.L., Pareek A. Abiotic stresses cause differential regulation of alternative splice forms of GATA transcription factor in rice. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1944. DOI: 10.3389/fpls.2017.01944
- He L., Li P., Xiang X., Li J., Zhang K. Some photosynthetic characteristics in transgenic rice with maize phosphoenolpyruvate carboxylase gene (*pepc*). *Plant Physiology Communications*. 2005;41:461-463.
- He P., Wang X., Zhang X., Jiang Y., Tian W., Zhang X. et al. Short and narrow flag leaf1, a GATA zinc finger domain-containing protein, regulates flag leaf size in rice (*Oryza sativa*). *BMC Plant Biology*. 2018;18(1):273. DOI: 10.1186/s12870-018-1452-9
- Heredia M.C., Kant J., Prodhan M.A., Dixit S., Wissuwa M. Breeding rice for a changing climate by improving adaptations to water saving technologies. *Theoretical and Applied Genetics*. 2022;135(1):17-33. DOI: 10.1007/s00122-021-03899-8
- Honma Y., Adhikari P.B., Kuwata K., Kagenishi T., Yokawa K., Notaguchi M. et al. High-quality sugar production by osgcs1 rice. *Communication Biology*. 2020;3(1):617. DOI: 10.1038/s42003-020-01329-x
- Huang Q., Lin B., Cao Y., Zhang Y., Song H., Huang C. et al. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the susceptibility gene *OsHPP04* in rice confers enhanced resistance to rice root-knot nematode. *Frontiers in Plant Science*. 2023;14:1134653. DOI: 10.3389/fpls.2023.1134653
- Hudson D., Guevara D.R., Hand A.J., Xu Z., Hao L., Chen X. et al. Rice cytokinin GATA transcription Factor1 regulates chloroplast development and plant architecture. *Plant Physiology*. 2013;162(1):132-144. DOI: 10.1104/pp.113.217265
- International Rice Genome Sequencing Project, Sasaki T. The map-based sequence of the rice genome. *Nature*. 2005;436(7052):793-800. DOI: 10.1038/nature03895
- Ishino Y., Shinagawa H., Makino K., Amemura M., Nakata A. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of Bacteriology*. 1987;169(12):5429-5433. DOI: 10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987
- Itoh J.I., Nonomura K.I., Ikeda K., Yamaki S., Inukai Y., Yamagishi H. et al. Rice plant development: from zygote to spikelet. *Plant and Cell Physiology*. 2005;46(1):23-47. DOI: 10.1093/pcp/pci501
- Izawa T. Daylength measurements by rice plants in photoperiodic short-day flowering. *International Review of Cytology*. 2007;256:191-222. DOI: 10.1016/S0074-7696(07)56006-7
- Jiang W., Zhou H., Bi H., Fromm M., Yang B., Weeks D.P. Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in *Arabidopsis*, tobacco, sorghum and rice. *Nucleic Acids Research*. 2013;41(20):e188. DOI: 10.1093/nar/gkt780
- Jin J., Gui S., Li Q., Wang Y., Zhang H., Zhu Z. et al. The transcription factor GATA10 regulates fertility conversion of a two-line hybrid tms5 mutant rice via the modulation of Ub_{L40} expression. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2020;62(7):1034-1056. DOI: 10.1111/jipb.12871
- Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J.A., Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science (New York, N.Y.)*. 2012;337(6096):816-821. DOI: 10.1126/science.1225829
- Khandagale K.S., Chavhan R., Nadaf A.B. RNAi-mediated down regulation of *BADH2* gene for expression of 2-acetyl-1-pyrroline in non-scented indica rice IR-64 (*Oryza sativa* L.). *3 Biotech*. 2020;10(4):145. DOI: 10.1007/s13205-020-2131-8
- Lee J.H., Won H.J., Tran P.H.N., Lee S.M., Kim H.Y., Jung J.H. Improving lignocellulosic biofuel production by CRISPR/Cas9-mediated lignin modification in barley. *GCB Bioenergy*. 2021;13(4):742-752. DOI: 10.1111/gcbb.12808
- Li B., Cui G., Shen G., Zhan Z., Huang L., Chen J. et al. Targeted mutagenesis in the medicinal plant *Salvia miltiorrhiza*. *Scientific Reports*. 2017;7:43320. DOI: 10.1038/srep43320
- Li Y., Lu Y.F., Zhou Y., Wei X., Peng Y., Dai Y. et al. Diurnal transcriptomics analysis reveals the regulatory role of the circadian rhythm in super-hybrid rice LY2186. *Genomics*. 2021;113(3):1281-1290. DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.12.046
- Lim C., Kim Y., Shim Y., Cho S.H., Yang T.J., Song Y.H. et al. Rice OsGATA16 is a positive regulator for chlorophyll biosynthesis and chloroplast development. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*. 2024;117(2):599-615. DOI: 10.1111/tpj.16517

- Lisch D.R., Freeling M., Langham R.J., Choy M.Y. Mutator transposase is widespread in the grasses. *Plant Physiology*. 2001;125(3):1293-1303. DOI: 10.1104/pp.125.3.1293
- Liu M., Rehman S., Tang X., Gu K., Fan Q., Chen D. et al. Methodologies for improving HDR efficiency. *Frontiers in Genetics*. 2019;9:691. DOI: 10.3389/fgene.2018.00691
- Liu Q., Yang F., Zhang J., Liu H., Rahman S., Islam S. et al. Application of CRISPR/Cas9 in crop quality improvement. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(8):4206. DOI: 10.3390/ijms22084206
- Lu G., Casaretto J.A., Ying S., Mahmood K., Liu F., Bi Y.M. et al. Overexpression of *OsGATA12* regulates chlorophyll content, delays plant senescence and improves rice yield under high density planting. *Plant Molecular Biology*. 2017;94(1-2):215-227. DOI: 10.1007/s11103-017-0604-x
- Matsumoto T., Wu J., Itoh T., Numa H., Antonio B., Sasaki T. The Nipponbare genome and the next-generation of rice genomics research in Japan. *Rice (New York, N.Y.)*. 2016;9(1):33. DOI: 10.1186/s12284-016-0107-4
- McWatters H.G., Roden L.C., Staiger D. Picking out parallels: plant circadian clocks in context. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 2001;356(1415):1735-1743. DOI: 10.1098/rstb.2001.0936
- Miao C., Xiao L., Hua K., Zou C., Zhao Y., Bressan R.A. et al. Mutations in a subfamily of abscisic acid receptor genes promote rice growth and productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018;115(23):6058-6063. DOI: 10.1073/pnas.1804774115
- Miao J., Guo D., Zhang J., Huang Q., Qin G., Zhang X. et al. Targeted mutagenesis in rice using CRISPR-Cas system. *Cell Research*. 2013;23(10):1233-1236. DOI: 10.1038/cr.2013.123
- NCBI. National Center for Biotechnology Information: [website]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> [accessed Apr. 15, 2024].
- Nurhayati, Ardie S.W., Santoso T.J., Sudarsono. CRISPR/Cas9-mediated genome editing in rice cv. IPB3S results in a semi-dwarf phenotypic mutant. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 2021;22(9):3792-3800. DOI: 10.13057/biodiv/d220924
- Nutan K.K., Singla-Pareek S.L., Pareek A. The *Saltol* QTL-localized transcription factor *OsGATA8* plays an important role in stress tolerance and seed development in *Arabidopsis* and rice. *Journal of Experimental Botany*. 2020;71(2):684-698. DOI: 10.1093/jxb/erz368
- Oryzabase, sponsored by NBRP. Integrated Rice Science Database: [website]. Available from: <https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/> [accessed Apr. 15, 2024].
- Paajanen P., de Barros Dantas L.L., Dodd A.N. Layers of crosstalk between circadian regulation and environmental signalling in plants. *Current Biology*. 2021;31(8):R399-R413. DOI: 10.1016/j.cub.2021.03.046
- Phytozome 13. The Plant Genomics Resource: [website]. Available from: <https://phytozome-next.jgi.doe.gov/> [accessed Apr. 15, 2024].
- Rao Y., Li Y., Qian Q. Recent progress on molecular breeding of rice in China. *Plant Cell Reports*. 2014;33(4):551-564. DOI: 10.1007/s00299-013-1551-x
- RAP-DB. The Rice Annotation Project Database: [website]. Available from: <https://rapdb.dna.affrc.go.jp/> [accessed Apr. 15, 2024].
- Reyes J.C., Muro-Pastor M.I., Florencio F.J. The GATA family of transcription factors in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiology*. 2004;134(4):1718-1732. DOI: 10.1104/pp.103.037788
- Richter R., Behringer C., Müller I.K., Schwechheimer C. The GATA-type transcription factors GNC and GNL/CGA1 repress gibberellin signaling downstream from DELLA proteins and PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS. *Genes and Development*. 2010;24(18):2093-2104. DOI: 10.1101/gad.594910
- Schwechheimer C., Schröder P.M., Blaby-Haas C.E. Plant GATA factors: their biology, phylogeny, and phylogenomics. *Annual Review of Plant Biology*. 2022;73:123-148. DOI: 10.1146/annurev-arplant-072221-092913
- Shan Q., Wang Y., Li J., Zhang Y., Chen K., Liang Z. et al. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotechnology*. 2013;31(8):686-688. DOI: 10.1038/nbt.2650
- Shen G., Hu W., Zhang B., Xing Y. The regulatory network mediated by circadian clock genes is related to heterosis in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2015;57(3):300-312. DOI: 10.1111/jipb.12240
- Sheng X., Ai Z., Tan Y., Hu Y., Guo X., Liu X. et al. Novel salinity-tolerant third-generation hybrid rice developed via CRISPR/Cas9-mediated gene editing. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(9):8025. DOI: 10.3390/ijms24098025
- Sun C., He C., Zhong C., Liu S., Liu H., Luo X. et al. Bifunctional regulators of photoperiodic flowering in short day plant rice. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:1044790. DOI: 10.3389/fpls.2022.1044790
- Sun Y., Zhang X., Wu C., He Y., Ma Y., Hou H. et al. Engineering herbicide-resistant rice plants through CRISPR/Cas9-mediated homologous recombination of acetolactate synthase. *Molecular Plant*. 2016;9(4):628-631. DOI: 10.1016/j.molp.2016.01.001
- Swinnen G., Jacobs T., Pauwels L., Goossens A. CRISPR-Cas-mediated gene knockout in tomato. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. 2020;2083:321-341. DOI: 10.1007/978-1-4939-9952-1_25
- Toniutti L., Breitler J.C., Guittin C., Doulbeau S., Etienne H., Campa C. et al. An altered circadian clock coupled with a higher photosynthesis efficiency could explain the better agronomic performance of a new coffee clone when compared with a standard variety. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(3):736. DOI: 10.3390/ijms20030736
- Ukhatova Y.V., Erastenkova M.V., Korshikova E.S., Krylova E.A., Mikhailova A.S., Semilet T.V. et al. Improvement of crops using the CRISPR/Cas system: new target genes. *Molecular Biology*. 2023;57(3):387-410. [in Russian] [Ухатова Ю.В., Ерастенкова М.В., Коршикова Е.С., Крылова Е.А., Михайлова А.С., Семилет Т.В. и др. Улучшение культурных растений при помощи системы CRISPR/Cas: новые гены-мишени. *Молекулярная биология*. 2023;57(3):387-410). DOI: 10.31857/S0026898423030151
- Usman B., Nawaz G., Zhao N., Liao S., Liu Y., Li R. Precise editing of the *OsPYL9* gene by RNA-guided Cas9 nuclease confers enhanced drought tolerance and grain yield in rice (*Oryza sativa* L.) by regulating circadian rhythm and abiotic stress responsive proteins. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020a;21(21):7854. DOI: 10.3390/ijms21217854
- Usman B., Nawaz G., Zhao N., Liu Y., Li R. Generation of high yielding and fragrant rice (*Oryza sativa* L.) lines by CRISPR/Cas9 targeted mutagenesis of three homoeologs of cytochrome P450 gene family and *OsBADH2* and transcriptome and proteome profiling of revealed changes triggered by mutations. *Plants (Basel)*. 2020b;9(6):788. DOI: 10.3390/plants9060788
- Vicentini G., Biancucci M., Mineri L., Chirivì D., Giaume F., Miao Y. et al. Environmental control of rice flowering time.

- Plant Communications*. 2023;4(5):100610. DOI: 10.1016/j.xplc.2023.100610
- Vorobyev N.V. Physiological bases of rice harvest formation: a monograph (Fiziologicheskiye osnovy formirovaniya uroznya risa: monografiya). Krasnodar: All-Russian Rice Research Institute; 2013. [in Russian] [Воробьев Н.В. Физиологические основы формирования урожая риса: монография. Краснодар: Всероссийский научно-исследовательский институт риса; 2013].
- Wang G., Wang C., Lu G., Wang W., Mao G., Habben J.E. et al. Knockouts of a late flowering gene via CRISPR-Cas9 confer early maturity in rice at multiple field locations. *Plant Molecular Biology*. 2020;104(1-2):137-150. DOI: 10.1007/s11103-020-01031-w
- Wang L., Yin H., Qian Q., Yang J., Huang C., Hu X. et al. *NECK LEAF 1*, a GATA type transcription factor, modulates organogenesis by regulating the expression of multiple regulatory genes during reproductive development in rice. *Cell Research*. 2009;19(5):598-611. DOI: 10.1038/cr.2009.36
- Wu Q., Liu Y., Huang J. CRISPR-Cas9 mediated mutation in *OsPUB43* improves grain length and weight in rice by promoting cell proliferation in spikelet hull. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(4):2347. DOI: 10.3390/ijms23042347
- Wyman C., Kanaar R. DNA double-strand break repair: all's well that ends well. *Annual Review of Genetics*. 2006;40:363-383. DOI: 10.1146/annurev.genet.40.110405.090451
- Xu Y., Wang H., Lu Z., Wen L., Gu Z., Zhang X. et al. Developmental analysis of the GATA factor HANABA TARANU mutants in *Medicago truncatula* reveals their roles in nodule formation. *Frontiers in Plant Science*. 2021;12:616776. DOI: 10.3389/fpls.2021.616776
- Yadavalli V., Neelam S., Rao A.S.V.C., Reddy A.R., Subramanyam R. Differential degradation of photosystem I subunits under iron deficiency in rice. *Journal of Plant Physiology*. 2012;169(8):753-759. DOI: 10.1016/j.jplph.2012.02.008
- Yang J., Fang Y., Wu H., Zhao N., Guo X., Mackon E. et al. Improvement of resistance to rice blast and bacterial leaf streak by CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of *Pi21* and *OsSULTR3;6* in rice (*Oryza sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2023;14:1209384. DOI: 10.3389/fpls.2023.1209384
- Yang T., Zeng R., Zhu H., Chen L., Zhang Z., Ding X. et al. Effect of grain length gene *GS3* in pyramiding breeding of rice. *Molecular Plant Breeding*. 2010;8:59-66.
- Yano K., Yamamoto E., Aya K., Takeuchi H., Lo P.C., Hu L. et al. Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice. *Nature Genetics*. 2016;48(8):927-934. DOI: 10.1038/ng.3596
- Ye H., Du H., Tang N., Li X., Xiong L. Identification and expression profiling analysis of *TIFY* family genes involved in stress and phytohormone responses in rice. *Plant Molecular Biology*. 2009;71(3):291-305. DOI: 10.1007/s11103-009-9524-8
- Zegeye W.A., Chen D., Islam M.A., Wang H., Riaz A., Rani M.H. et al. *OsFBK4*, a novel GA insensitive gene positively regulates plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Ecological Genetics and Genomics*. 2022;23:100115. DOI: 10.1016/j.egg.2022.100115
- Zeng X., Luo Y., Vu N.T.Q., Shen S., Xia K., Zhang M. CRISPR/Cas9-mediated mutation of *OsSWEET14* in rice cv. Zhonghua11 confers resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* without yield penalty. *BMC Plant Biology*. 2020;20(1):313. DOI: 10.1186/s12870-020-02524-y
- Zhang H., Wu T., Li Z., Huang K., Kim N.E., Ma Z. et al. *OsGATA16*, a GATA transcription factor, confers cold tolerance by repressing *OsWRKY45-1* at the seedling stage in rice. *Rice (New York, N.Y.)*. 2021;14(1):42. DOI: 10.1186/s12284-021-00485-w
- Zhang J., Zeng D., Zhu Y., Xie H., Cai Q., Lian L. et al. Breeding of rice restore lines with white-backed planthopper resistance by marker-assisted selection. *Chinese Journal of Rice Science*. 2013;27(3):329-334.
- Zhang Y., Chen G., Deng L., Gao B., Yang J., Ding C. et al. Integrated 3D genome, epigenome and transcriptome analyses reveal transcriptional coordination of circadian rhythm in rice. *Nucleic Acids Research*. 2023;51(17):9001-9018. DOI: 10.1093/nar/gkad658
- Zhang Y.J., Zhang Y., Zhang L.L., He J.X., Xue H.W., Wang J.W. et al. The transcription factor *OsGATA6* regulates rice heading date and grain number per panicle. *Journal of Experimental Botany*. 2022;73(18):6133-6149. DOI: 10.1093/jxb/erac247
- Zhang Y.J., Zhang Y., Zhang L.L., Huang H.Y., Yang B.J., Luan S. et al. *OsGATA7* modulates brassinosteroids-mediated growth regulation and influences architecture and grain shape. *Plant Biotechnology Journal*. 2018;16(7):1261-1264. DOI: 10.1111/pbi.12887
- Zhao Y., Medrano L., Ohashi K., Fletcher J.C., Yu H., Sakai H. et al. HANABA TARANU is a GATA transcription factor that regulates shoot apical meristem and flower development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 2004;16(10):2586-2600. DOI: 10.1105/tpc.104.024869
- Zheng S., Ye C., Lu J., Liufu J., Lin L., Dong Z. et al. Improving the rice photosynthetic efficiency and yield by editing *OsHXX1* via CRISPR/Cas9 system. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(17):9554. DOI: 10.3390/ijms22179554
- Zheng Y., Sun Y., Liu Y. Emerging roles of *FHY3* and *FAR1* as system integrators in plant development. *Plant and Cell Physiology*. 2023;64(10):1139-1145. DOI: 10.1093/pcp/pcad068
- Zong G., Wang A., Wang L., Liang G., Gu M., Sang T. et al. A pyramid breeding of eight grain-yield related quantitative trait loci based on marker-assistant and phenotype selection in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Genetics and Genomics*. 2012;39(7):335-350. DOI: 10.1016/j.jgg.2012.06.004

Информация об авторах

Екатерина Артемовна Нестерова, и. о. младшего научного сотрудника, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, ea.nesterova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0006-7806-4647>

Наталья Альбертовна Швачко, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, и. о. заведующего лабораторией, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

Information about the authors

Ekaterina A. Nesterova, Acting Associate Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, ea.nesterova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0006-7806-4647>

Nataliya A. Shvachko, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Acting Head of a Laboratory, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 13.08.2024; одобрена после рецензирования 28.10.2024; принята к публикации 03.12.2024.
The article was submitted on 13.08.2024; approved after reviewing on 28.10.2024; accepted for publication on 03.12.2024.