

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-188

АКТИВАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ И ТРАНСПОЗИЦИИ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ВИРУС-ОПОСРЕДОВАННОГО ПОДХОДА TE-STORM***ACTIVATION MOBILE ELEMENTS TRANSCRIPTION AND TRANSPOSITION USING NOVEL APPROACH OF VIRUS-INDUCED TE-STORM**Е. Д. Камараули^{1,2}, А. В. Власова^{1,2}, Д. В. Перевозчиков^{2,3}, И. В. Киров^{1,2}¹*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва*²*Московский физико-технический институт, Долгопрудный*³*Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва*E. D. Kamarauli^{1,2}, A. V. Vlasova^{1,2}, D. V. Perevozchikov^{2,3}, I. V. Kirov^{1,2}¹*All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow*²*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny*³*Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy*

✉ kamarauli.ed@phystech.edu

Аннотация

В работе представлен новый метод TE-storm для активации мобильных элементов растений, основанный на транзистентном подавлении механизмов сайленсинга транспозонов с помощью рекомбинантных вирусов. Разработка TE-storm открывает новые возможности для внесения в геном мутаций с помощью естественных биологических мутагенов — мобильных элементов.

Abstract

In this work, we represent a new TE-storm method for activation plant mobile elements. Our approach is based on transient suppression of the transposon silencing mechanisms using recombinant viral constructs. The development of TE-storm opens new possibilities for introducing mutations into the genome using the natural biological mutagens — mobile elements.

Мобильные элементы составляют значительную часть геномов эукариот, особенно у растений. Например, у кукурузы они занимают около 85 % генома [1]. Кроме увеличения размера генома, мобильные элементы способны изменять экспрессию генов и влиять на генетическое и фенотипическое разнообразие, что значительно повлияло на эволюцию растений [2]. Более того, генетическое разнообразие, создаваемое мобильными элементами, играет ключевую роль в получении исходного материала для селекции растений.

Транспозиционная активность мобильных элементов в растениях подавляется на различных уровнях, при этом ключевым сдерживающим механизмом выступает РНК-зависимое метилирование ДНК (RdDM). Действие RdDM приводит к метилированию мобильных элементов посредством привлечения эпигенетических факторов с помощью малых РНК [3]. Благодаря механизмам метилирования ДНК частота активации мобильных элементов в естественных условиях чрезвычайно низка. Для повышения активности мобильных элементов используются разные стрессовые условия, специальные линии растений, мутантные по генам метилирования ДНК и химические соединения, способные блокировать работу систем сайленсинга транспозонов. Наиболее эффективным среди перечисленных подходов является использование растений, мутантных по генам, вовлеченным в регуляцию мобильных элементов, однако получение таких растений — это сложная и трудоемкая задача. Одним из методов транзистентного воздействия на гены является вирус-опосредованный сайленсинг генов (VIGS) [4]. Помимо гипометилирования для активации транскрипции многих мобильных элементов необходимы стрессовые условия, например повышение температуры. В работе был разработан новый подход, названный нами TE-storm, для активации мобильных элементов растений, основанный на комплексном воздействии на механизмы метилирования с помощью VIGS и теплового стресса. В качестве мишеней для сайленсинга с помощью VIGS были выбраны гены растения *Arabidopsis thaliana*, участвующие в RdDM: NRPE (Pol V), NRPD (Pol IV), RDR2, RDR6, DRM. С помощью TE-storm нам удалось активировать ретротранспозон ONSEN во всех вариантах растений, однако наиболее эффективной мишенью оказался ген NRPD, кодирующий большую субъединицу Pol IV.

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ (№ 22-64-00076).

© Е. Д. Камараули, А. В. Власова, Д. В. Перевозчиков, И. В. Киров, 2024

После успешной активации мобильных элементов с помощью метода TE-storm нами было проанализировано следующее поколение на наличие инсерций. Было найдено 4 растения из 15, в которых обнаружены новые инсерции мобильных элементов.

Таким образом, TE-storm является новым методом биологического мутагенеза для активации мобильных элементов растений и обеспечения наследования их инсерций.

Литература

1. Vicient C. M. Transcriptional activity of transposable elements in maize // *BMC Genomics*. 2010. Vol. 11, No. 1. P. 601.
2. Bennetzen J. L. Transposable element contributions to plant gene and genome evolution // *Plant Mol. Evol.* / ed. J. J. Doyle, B. S. Gaut. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000. P. 251–269.
3. Ito H. et al. A Stress-Activated Transposon in Arabidopsis Induces Transgenerational Abscisic Acid Insensitivity // *Sci. Rep. Nature Publishing Group*, 2016. Vol. 6, No. 1. P. 23181.
4. Burch-Smith T. M. et al. Applications and advantages of virus-induced gene silencing for gene function studies in plants // *Plant J. Cell Mol. Biol.* 2004. Vol. 39, No. 5. P. 734–746.