

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-259

**ВНЕХРОМОСОМНЫЕ КОЛЬЦЕВЫЕ ДНК РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ РАСТЕНИЙ:  
СОСТАВ, СТРУКТУРА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ,  
ВЫЯВЛЕННЫЕ НАНОПОРОВЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЕМ**

**EXTRACHROMOSOMAL CIRCULAR DNA OF PLANT RETROTRANSPOSONS:  
COMPOSITION, STRUCTURE AND ORIGIN  
REVEALED BY NANOPORE SEQUENCING**

П. Ю. Меркулов<sup>1,2</sup>, М. А. Серганова<sup>1,2</sup>,  
Г. А. Петров<sup>2</sup>, И. В. Киров<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

P. Yu. Merkulov<sup>1,2</sup>, M. A. Serganova<sup>1,2</sup>,  
G. A. Petrov<sup>2</sup>, I. V. Kirov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

<sup>2</sup>All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

✉ paulmerkulov97@gmail.com

#### Аннотация

Внехромосомные кольцевые ДНК (вкДНК) растений имеют различное геномное происхождение и могут быть продуцированы мобильными элементами (МЭ). Используя нанопоровое секвенирование вкДНК, мы провели анализ изменений состава и структуры вкДНК МЭ *A. thaliana* в различных условиях. Применение данного подхода для селекционной линии *S. lycopersicum*, в свою очередь, позволило обнаружить МЭ, возникшие в геноме в результате интрогрессии от *S. peruvianum*.

#### Abstract

Plant extrachromosomal circular DNA (eccDNA) have different genomic origins and can be produced by mobile elements (TEs). Using nanopore sequencing of eccDNA, we analyzed changes in the composition and structure of TE eccDNA of *A. thaliana* under different conditions. The application of this approach to *S. lycopersicum* breeding line allowed us to detect TEs that arose in the genome as a result of introgression from *S. peruvianum*.

Известно, что состав и продукция вкДНК являются динамическими процессами. Ранее результаты сравнительного анализа вкДНК в различных органах *Arabidopsis* продемонстрировали, что репертуар вкДНК находится под влиянием уникальных путей и механизмов, участвующих в продукции вкДНК в различных типах клеток [1]. Используя зебуларин в качестве деметилирующего агента и ингибитор PolII  $\alpha$ -аманитин, мы создали условия для снижения метилирования ДНК у *A. thaliana*. Мы также применили к растениям со сниженным метилированием различные виды стресса (обработка флагеллином, тепловой стресс и абсцизовая кислота), ожидая активацию различных семейств МЭ. Проведя нанопоровое секвенирование вкДНК *A. thaliana*, мы обнаружили значительную продукцию вкДНК только в условиях теплового стресса, усиливающуюся в условиях деметилирования ДНК. Тем не менее нам удалось провести анализ структуры обнаруженных вкДНК, выявив полноразмерные и различные укороченные варианты молекул. Интересно, что соотношение вариантов вкДНК было отлично от тех, которые наблюдались у мутанта *A. thaliana ddm1*, что может означать, что репертуар вкДНК может существенно различаться между отдельными МЭ в зависимости от стрессовых условий и генетического фона. Кроме того, наши наблюдения свидетельствуют об ограниченности знаний об условиях, которые могут вызывать экспрессию МЭ и транспозиционную активность.

Томат (*S. lycopersicum*) был выбран нами в качестве другого объекта для изучения МЭ при помощи нанопорового секвенирования вкДНК. Известно, что межвидовая гибридизация широко использовалась для введения ценных генов из диких видов в геном различных линий и сортов томата [2]. Для выяснения того, может ли межвидовая интрогрессия привести новые активные МЭ из других видов, мы провели нанопоровое секвенирование вкДНК и описали активность мобилома в реальном времени, которая наблюдалась в условиях деметилирования ДНК. Последовательности отдельных прочтений вкДНК позволили нам идентифицировать два семейства

активных LTR-ретротранспозонов: *Salsa* и *Ketchup*. Полногеномным секвенированием изучаемой линии томата и сборкой ее генома было установлено, что МЭ данных семейств были интрогрессированы из *S. peruvianum*. Данные результаты демонстрируют то, как активные транспозоны могут быть введены в новый геном, а также могут сохранять активность в течение следующих нескольких поколений.

Таким образом, применением нанопорового секвенирования образцов ДНК, обогащенных вкДНК, нами продемонстрирована эффективность и широкие возможности для изучения мобильных элементов различных видов растений.

### **Литература**

1. Peng H., Mirouze M., Bucher E. Extrachromosomal Circular DNA: A Neglected Nucleic Acid Molecule in Plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2022. Vol. 69, No. 102263.
2. Dominguez M., Dugas E., Benchouaia M. et al. The impact of transposable elements on tomato diversity // *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11, No. 1. P. 4058.