

Влияние дефицита кислорода на метильный статус промотора гена *gdh-2* глутаматдегидрогеназы в листьях кукурузы (*Zea mays* L.)

Научный руководитель – Епринцев Александр Трофимович

Москвина П.П.¹, Анохина Г.Б.², Оя П.С.³

1 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: polinamoskvina2001@gmail.com*; 2 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: polinamoskvina2001@gmail.com*; 3 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: polinamoskvina2001@gmail.com*

Глутаматдегидрогеназа (ГДГ, L-глутамат: NAD(P)-оксидоредуктаза, КФ 1.4.1.3) - энзим класса оксидоредуктаз, катализирующий обратимую реакцию восстановительного аминирования 2-оксоглутарата до L-глутамата [1]. Ген *gdh-2* (LOC100193614) локализован в 10 хромосоме и кодирует α -субъединицу ГДГ кукурузы.

В качестве объекта использовались 10-дневные проростки кукурузы сорта Воронежская-76, выращенные гидропонно. Контрольная группа помещалась в вакуум-эксикатор с постоянным притоком кислорода воздуха. Опытная группа находилась в вакуум-эксикаторе, куда непрерывно подавался азот. Активность ГДГ определяли спектрофотометрически при 340 нм по реакции аминирования путем регистрации окисленного НАД⁺ [2]. Конверсия ДНК проводилась с использованием NaHSO₃ [3]. Для исследования метильного статуса отдельных CpG-динуклеотидов в промоторах исследуемых генов проводили метил-специфичную ПЦР с применением ScreenMix (ЗАО «Евроген», Москва), используя в качестве матрицы ДНК, модифицированную NaHSO₃.

В ходе исследования было установлено, что инкубация проростков в условиях гипоксии вызывает увеличение ферментативной активности ГДГ. Анализ динамики относительного уровня транскриптов гена, кодирующего α -субъединицу ГДГ - *gdh-2* показал, что в первые часы дефицита кислорода ген инактивируется (Рис. 1). На 6 час воздействия зарегистрирован минимальный уровень мРНК данного гена.

Транскрипция генов может регулироваться за счет изменения величины метильного статуса как отдельных CpG - динуклеотидов, так и целых CpG-островков [4]. Анализ промотора гена *gdh-2* на наличие CpG-островков показал, что в нем находится два островка размером 404 и 383 п.н.

В результате проведения метил-специфичной ПЦР выявили корреляцию между динамикой транскрипционной активности гена *gdh-2* и модуляциями метильного статуса исследуемых CpG-динуклеотидов. Инактивация гена *gdh-2* с первого часа нахождения в условиях гипоксии была обусловлена метилированием CpG-динуклеотидов в составе его промотора до 75% (Рис. 1). У контрольной группы растений степень метилирования промотора в условиях нормоксии составляла 25%.

Таким образом, модуляции в метильном статусе исследуемых CpG-динуклеотидов промотора гена *gdh-2* в условиях действия гипоксии, сопряженные с изменением их транскрипционной активности, указывают на существенную роль эпигенетического механизма в регуляции активности глутаматдегидрогеназы.

Источники и литература

- 1) Forde B. G., Lea P. J. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling // Journal of experimental botany. – 2007. – V. 58. – №. 9. – P. 2339-2358.

- 2) Sarasqueta Gómez A. et al. Nitrogen Source and External Medium pH Interaction Differentially Affects Root and Shoot Metabolism in Arabidopsis// Front. Plant Sci.. 2016. – V. 7. – P. 1–12.
- 3) Hsieh C. L. Evidence that protein binding specifies sites of DNA demethylation //Molecular and cellular biology. – 1999. – V. 19. – №. 1. – P. 46-56.
- 4) Кирнос М. Д., Александровичкина Н. И., Ванюшин Б. Ф. 5-метилцитозин в пиримидиновых последовательностях ДНК растений и животных: специфичность метилирования //Биохимия. – 1981. – Т. 46. – №. 12. – С. 1458-1474.

Иллюстрации

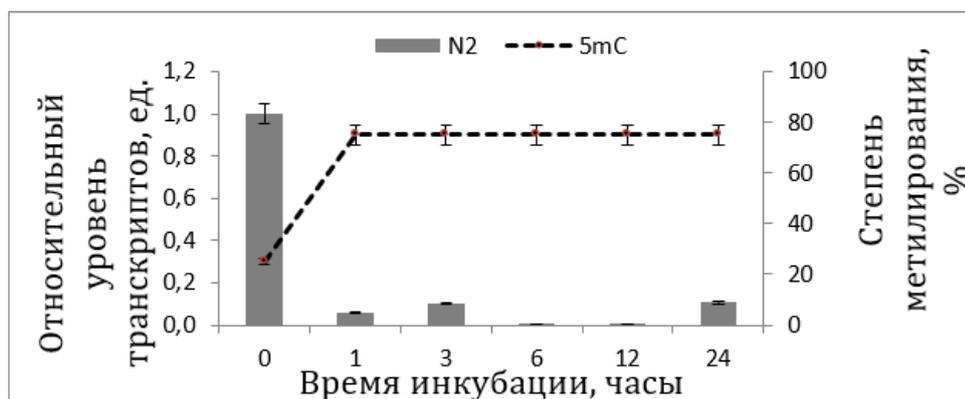


Рис. 1. Динамика изменения относительного уровня транскриптов гена *gdh-2* (N2) от степени метилирования его промотора (5mC) в проростках кукурузы в условиях дефицита кислорода