

## Влияние генов RPA2a и NOP2a на регуляцию длины теломер растений *Arabidopsis thaliana*

Научный руководитель – Шакиров Евгений Витальевич

Люшненко А.Ю.<sup>1</sup>, Агабежян И.А.<sup>2</sup>, Абдулкина Л.Р.<sup>3</sup>, Валеева Л.Р.<sup>4</sup>

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия, E-mail: lushnenko.a@mail.ru; 2 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия, E-mail: nuseq929@mail.ru; 3 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия, E-mail: nigmatullinalili@mail.ru; 4 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия, E-mail: lia2107@yandex.ru

Теломеры - это эволюционно консервативные комплексы на концах эукариотических хромосом, которые состоят из теломерной ДНК и комплекса специфических белков. Теломеры играют важную роль в поддержании целостности генома и регуляции продолжительности жизни клеток. Они необходимы для предотвращения хромосомных слипаний и защиты хромосомных концов от дегградации. С каждым делением клетки теломеры укорачиваются, а при достижении критической величины клетка перестает делиться и умирает. Установлено, что длина теломерной ДНК находится в определенном диапазоне для каждого биологического вида, однако, точный механизм регуляции длины теломер на сегодняшний день неизвестен. Для изучения генов, регулирующих длину теломер, мы использовали модельное растение *Arabidopsis thaliana*. Преимуществом использования данного объекта является его выживаемость в отсутствие экспрессии важнейших для жизнедеятельности генов. Другим преимуществом является полностью секвенированный и аннотированный геном этого растения.

Ранее было показано, что мутация в гене *NOP2a* приводит к стабильному укорочению теломер по сравнению с диким типом. Этот ген кодирует S-аденозил-L-метионин-зависимую метилтрансферазу и вовлечен в биогенез рибосом. Целью данной работы является исследование влияния укорочения теломер у мутантов *nor2a* на состояние общего метаболизма ДНК. Для этого мы исследовали, как одновременная инактивация генов *NOP2A* и основного компонента комплекса репликации / репарации ДНК *RPA2a* (Replication Protein A) влияет на состояние теломер.

Семена мутантов по генам *NOP2a* и *RPA2a* были заказаны из коллекции семян SALK. С помощью ПЦР-генотипирования исследуемых генов были найдены гетерозиготные по T-ДНК вставке растения *nor2a*(+/-), *rap2a*(+/-) и скрещены друг с другом. Двойные гомозиготные мутанты были получены в следующем поколении путем самоопыления этих гетерозиготных растений, что было также подтверждено генотипированием. Далее был проведен Саузерн блоттинг для анализа длины теломер одиночных и двойных мутантов путем гибридизации геномной ДНК с меченой DIG - теломерной пробой.

Проведенный анализ подтвердил данные предыдущих результатов о том, что одиночные мутанты *nor2a* и *rap2a* имели более короткие теломеры, чем растения дикого типа. Среднее уменьшение длины теломер составило 0.7 кб у мутантов *nor2a* и ~ 1.3кб у мутантов *rap2a*. Интересно, что двойные *nor2a rap2a* мутанты демонстрировали еще более короткие теломеры, в среднем на 1.5 кб короче, чем дикий тип. Таким образом, наши данные показывают, что *NOP2a* и *RPA2a* регулируют длину теломер различными генетическими путями, и инактивация обоих генов приводит к более тяжелым последствиям,

чем инактивация каждого гена по отдельности.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и поддержана грантом РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00629.