

Митохондриальная гетероплазмия и порог патогенности мтДНК с обширными делециями в клетках дрожжей

Научный руководитель – Кнорре Дмитрий Алексеевич

Муравьев Георгий Сергеевич

Student (specialist)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: murgeo13@gmail.com

Состояние, когда в одной эукариотической клетке присутствует несколько вариантов мтДНК с разной нуклеотидной последовательностью, называется гетероплазмией. С митохондриальной гетероплазмией сопряжено большое число генетических заболеваний человека. Поэтому изучение закономерностей наследования мтДНК в череде поколений клеток и многоклеточных организмов представляет как общий, так и прикладной интерес.

Обычно за счёт случайного дрейфа генов через несколько поколений в каждой клетке остается только какой-то один вариант мтДНК (состояние гомоплазии). Однако для некоторых организмов описаны случаи стабильной гетероплазии, сохраняющейся в течение многих поколений. В своей работе мы исследовали возможность поддержания стабильной гетероплазии в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в ситуации, когда в клетках присутствуют мтДНК дикого типа rho^+ и вариант мтДНК с обширной делецией $HS\ rho^-$, сохранивший лишь небольшой фрагмент мтДНК (30300..32496).

Для идентификации rho^- мтДНК была написана такая пара праймеров, что образование продукта ПЦР с ней возможно, только если в пробе присутствует rho^- мтДНК. Однако мы обнаружили, что ПЦР приводила к образованию продукта и в том случае, когда в качестве матрицы использовалась тотальная ДНК дикого типа rho^+ штамма *W303-1A*, но не из rho^+ штамма *BY4741* или rho^0 штамма, в котором отсутствовала мтДНК.

Мы также проанализировали результаты полногеномного секвенирования rho^+ *W303-1A* штамма дрожжей, ранее полученного в нашей лаборатории. Анализ результатов позволил выявить кластеры несогласующихся парных чтений (discordant paired-end reads), которые могут указывать на наличие 318 различных структурных перестройки мтДНК с разным уровнем доверия. В том числе на наличие делеции в области 30300..32496.

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что в гаплоидном штамме дрожжей дикого типа *W303-1A* уже присутствуют варианты мтДНК со сходной делецией. Это возможно, если высока вероятность подобной делеции. Возможно, что такие rho^- мтДНК способны сохраняться длительное время в клетках в состоянии гетероплазии за счет преимущества в скорости репликации внутри клетки и, поэтому, сопутствуют мтДНК дикого типа в штаммах *W303-1A*, использованных в работе.

Чтобы непосредственно проверить такую возможность, мы скрестили rho^- клетки дрожжей с rho^+ клетками дикого типа, в которых отсутствовала сопутствующая rho^- мтДНК. Наши результаты показывают, что в клетках дрожжей возможна ситуация, когда мутантный эгоистичный вариант мтДНК с обширной делецией сопутствует мтДНК дикого типа в течение множества поколений.

Также для оценки числа копий мтДНК на клетку и соотношения различных вариантов мтДНК в клетках в состоянии гетероплазии была проведена количественная ПЦР. Также мы исследовали возможность различать rho^+ и rho^- клетки, а также клетки с различным уровнем гетероплазии методом клеточной цитофлуориметрии.