

**Влияние гипоксии на содержание микроРНК775А во внеклеточных везикулах в листьях кукурузы**

**Научный руководитель – Федорин Дмитрий Николаевич**

**Хомутова Анна Евгеньевна**

*Студент (бакалавр)*

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*E-mail: anna.khomutova2002@gmail.com*

В условиях гипоксии происходит адаптивная перестройка клеточного метаболизма растений. Наиболее чувствительным процессом к уровню кислорода является митохондриальное дыхание, изменение функционирования которого находит отражение в энергетическом статусе клетки, а также перестройке пластического обмена клетки. Регуляция транскрипционной активности генов при гипоксии осуществляется, в том числе, и за счет малых некодирующих РНК (микроРНК), подавляющих экспрессию целевых генов на посттранскрипционном уровне.

Для оценки количества микроРНК775А методом полимеразной цепной реакции был разработан специфический зонд, представляющий собой вариант «стебель-петля». Количественные изменения свободной микроРНК775А были показаны в листьях кукурузы при развитии гипоксических условий. Показано изменение внутривезикулярного содержания микроРНК775А при развитии гипоксического стресса в листьях кукурузы. С помощью дифференциального ультрацентрифугирования было получено две фракции везикул (Р40 и Р100), анализ размеров которых позволил установить, что в фракции Р40 преобладают более крупные везикулы, размер которых составляет от 0,170 до 0,658 нм, в то время как данный показатель для везикул фракции Р100 составлял от 0,087 до 0,147 мкм. Идентификация микроРНК775А на основе использования специфического зонда «стебель-петля» показала ее наличие только во внеклеточных везикулах фракции Р100. Применение ингибиторного анализа показало различие количественного распределения микроРНК775А в рамках фракции Р100 в листьях кукурузы в норме и при развитии гипоксии, с их преобладающим расположением на поверхности везикул. Доля микроРНК775А, расположенных внутри внеклеточных везикул, составляла не более 34% от ее общего количества, ассоциированного с везикулами фракции Р100. С помощью ПЦР в реальном времени показано изменение количества микроРНК775А, расположенных на поверхности везикул Р100 и внутри их по мере развития гипоксического стресса в сторону увеличения данного показателя. Следовательно, большая часть микроРНК775А располагается на поверхности внеклеточных везикул, ассоциируясь с белком AGO1, который защищает их от действия протеаз. С помощью BLAST показано, что микроРНК775А может ассоциироваться с транскрипционными факторами семейства MYB, участвующими в различных биологических функциях, в том числе, в стрессовом ответе клетки на гипоксию.

Результаты проведенного исследования по анализу содержания и расположения микроРНК775А во внеклеточных везикулах показали, что внеклеточные везикулы могут переносить микроРНК775А, выполняя функцию межклеточной коммуникации. Транспорт анализируемой микроРНК, вероятно, обеспечивает межклеточную сигнализацию развития гипоксического стресса. Увеличение общего содержания свободной микроРНК775А, в том числе, увеличение в составе внеклеточных везикул фракции Р100, обеспечивает развитие адаптивной реакции клеточного метаболизма в ответ на гипоксию.