

Внутри- и межвидовые вариации длины теломер Мохообразных

**Intra- and interspecific variations in the telomere length of
Bryophytes**

Санникова Анастасия Валерьевна
Казанский Федеральный Университет, Казань

Anastasya.sannikova@bk.ru



Бриофиты — новые модельные растения в исследованиях биологии теломер

Материалы и методы

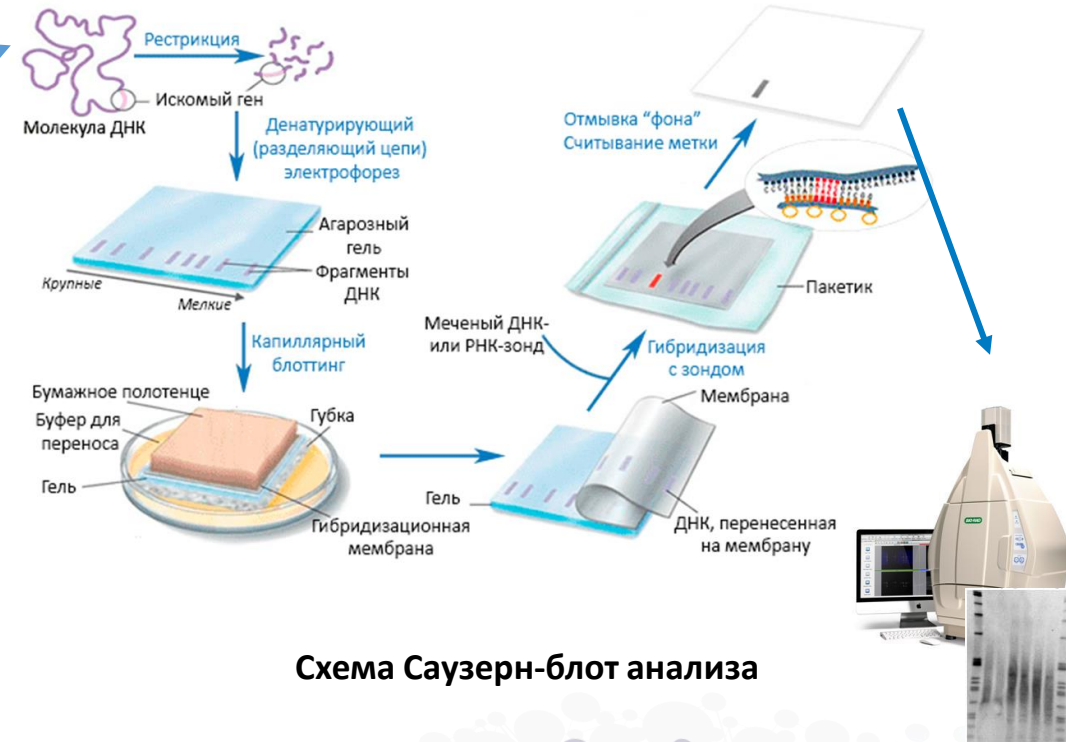
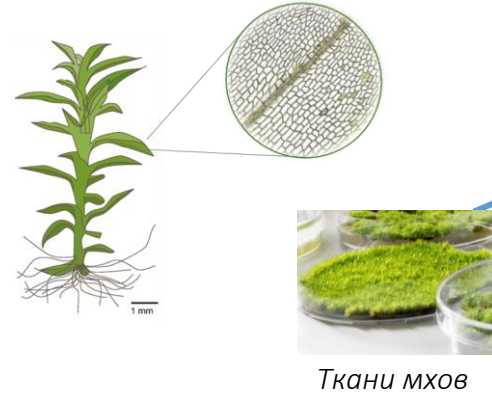
Анализ длины теломер проводили методом TRF, совместно с Саузерн-блот анализом

преимущества

- Космополиты
- Быстрая регенерация
- Простой план строения
- Эволюционная значимость
- Простота культивирования
- Эффективные методы трансформации
- Методы редактирования генома
- Наличие геномных ресурсов в базах данных

Объект

- медленная эволюция генома
- меньшая генетическая избыточность
- не обнаружено дупликаций генома

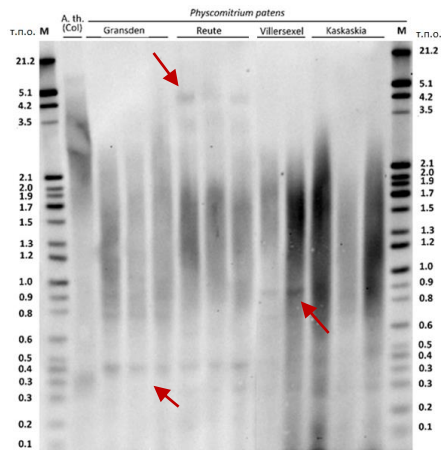


Целью работы был сравнительный анализ длины теломер как между разными видами бриофитов, так и внутри одного вида.

1

Анализ длины теломер мха

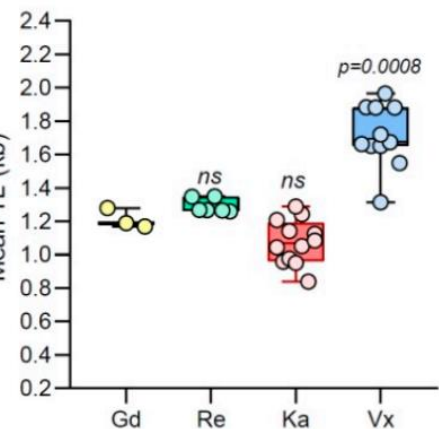
P. patens



А: Слева и справа указаны значения ДНК маркеров молекулярного веса (т.п.о.). (Col) – *A. th.* – *Arabidopsis thaliana* экотип Columbia-0.

В образцах ДНК всех изученных экотипов обнаружены специфические теломерные последовательности внутривитрихромосомной локализации (ITS) и различающиеся по расположению и длине внутри экотипов.

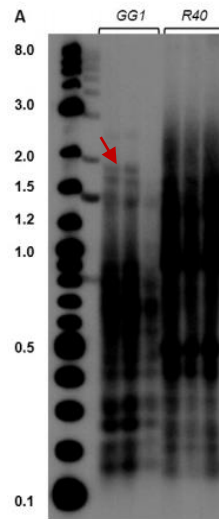
Экотипы мха *P. patens* имеют длину теломер в диапазоне от $1,08 \pm 0,13$ т.п.н до $1,71 \pm 0,19$ т.п.н что в 1.5-3 раза короче по сравнению с теломерами модельного покрытосемянного растения *Arabidopsis thaliana*. Экотип Vx имеет значительно более длинные теломеры по сравнению с другими изученными экотипами.



Б: Среднее распределение TRF в биологических повторах. Точки – биологические повторы. Ns - незначимо

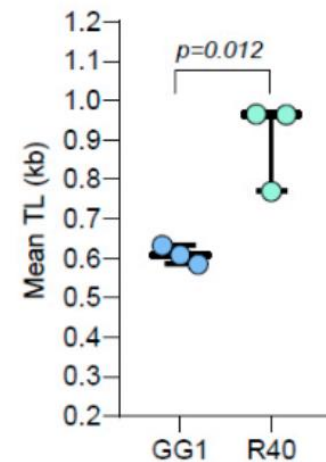
2

Анализ длины теломер мха *C. purpureus*



А: R40 (мужское растение), GG1 (женское растение). Слева указаны значения ДНК маркеров молекулярного веса.

В линии R40 (мужское растение) *C. purpureus* обнаружена теломерная ДНК длиной < 4.5 т.п.о., которая может являться ITS. В линии GG1 (женское растение) была обнаружена теломерная ДНК на уровне ± 2.1 т.п.о;



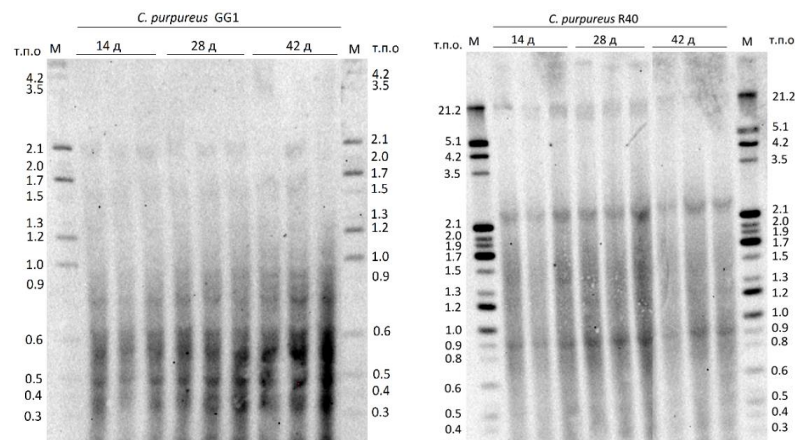
Б: Среднее распределение TRF в биологических повторах. Точки – биологические повторы. Ns - незначимо

Длина теломер в линии GG1 (Австрия) в среднем составляет $0,68 \pm 0,04$ т.п.н. в линии R40 (США) $1,1 \pm 0,14$ т.п.н.

Длина теломер в изученных изолятах отличается в 2 раза, что, предположительно, связано внутривидовым различием регуляции длины теломер.

3

Динамика длины теломер в протонеме *C. purpureus*



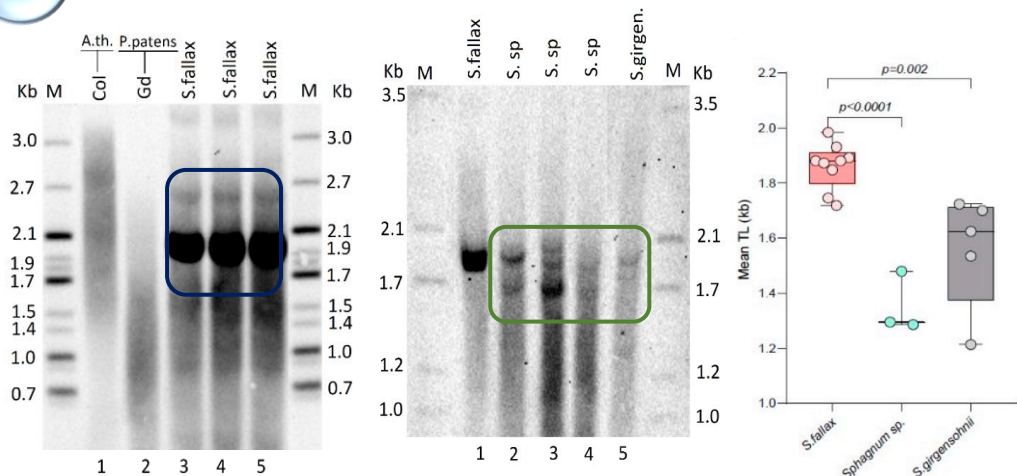
А: GG1 (женское растение). Слева и справа указаны значения ДНК маркеров молекулярного веса (т.п.о.). д. - дней

Б: R40 (мужское растение). Слева и справа указаны значения ДНК маркеров молекулярного веса (т.п.о.). д. - дней

Длина теломер в женской (GG1) и мужской линии (R40) растений не изменяется в течении 42 дней, что указывает на стабильность теломерного комплекса и системы регуляции длины теломер *C. purpureus* в процессе активного деления клеток на стадии роста протонемы.

4

Анализ длины теломер мха *Sphagnum*



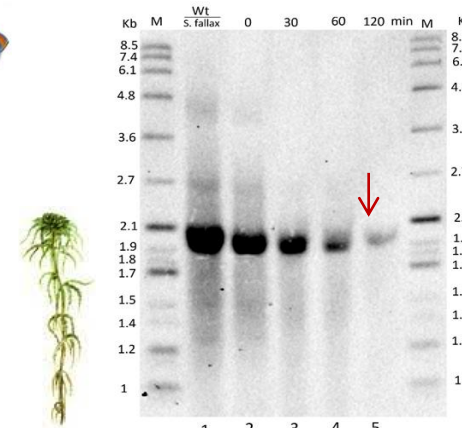
Средняя длина теломер у *S. fallax* составила $1,86 \pm 0,08$ т.п.н.; (А) у *S. girgensohnii* длина теломер в среднем составила $1,56 \pm 0,21$ т.п.н. (Б). Несколько короче оказались теломеры у *Sphagnum sp.*, средняя длина теломер которого составила $1,35 \pm 0,11$ т.п.н. (В) Что указывает на естественные различия в длине теломер между разными видами.

5

Идентификация внутрихромосомных теломерных повторов у *S. fallax*



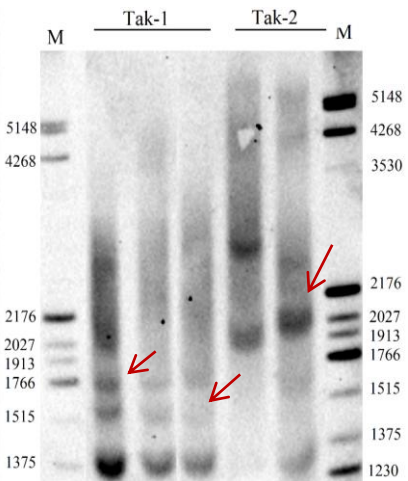
Эксонуклеаза **Bal31** постепенно укорачивает фрагменты ДНК на концах хромосомы. Истинно теломерный сигнал со временем исчезает, в то время как интерстициальная область (ITS) устойчива к обработке ферментом.



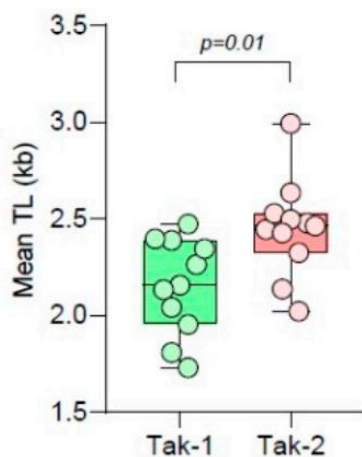
1: расщепление геномной ДНК без обработки Bal 31. 2: расщепление геномной ДНК Bal31 (0 мин) 3-5: расщепление Bal 31 в течение 30, 60 и 120 минут. Красными стрелками указано расположение бэнда.

6

Анализ длины теломер печеночника *M. polymorpha*



Tak-1 (Takaragaike-1) мужское растение. Tak-2 (Takaragaike-2) женское растение. Слева и справа указаны значения ДНК маркеров (M) молекулярного веса (т.п.о.).



Среднее распределение TRF в биологических повторах. Точки – биологические повторы.

Показано, что в мужской линии (Tak-1) имеется теломерная ДНК на уровне ± 1.7 т.п.о. и ± 1.5 т.п.о. которая может являться ITS.

В женской линии (Tak-2) были обнаружены ITS размером около 2 т.п.о.



Выводы

1. Все исследованные виды мохообразных обладают относительно короткими теломерами, в среднем 1.5-2.5 т.п.н. Также в ДНК всех изученных бриофитов были обнаружены многочисленные внутрихромосомные теломерные последовательности.
2. Нами показано, что длина теломер мохообразных может варьировать как между видами, так и внутри одного вида.
3. Были выявлены различия в средней длине теломер в мужском и женском растении *M. polymorpha*.
4. Средняя длина теломер бриофитов остается относительно стабильной в течение времени в разных тканях растений.

Заключение

Таким образом, полученные данные могут служить основой для дальнейшего использования бриофитов в качестве новых модельных растений в изучении биологии теломер растений. Внутривидовые различия в длине теломер бриофитов могут служить основой для исследований локусов количественных признаков, что способствует выявлению новых генетических путей регуляции длины теломер в царстве растений.