

АНТОЦИАНОВАЯ ОКРАСКА У BRASSICA OLERACEA L. ОПОСРЕДОВАНА МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ MYBL2

Артюхин Александр Евгеньевич¹, Хуснутдинов Эмиль Айдарович¹, Панфилова Мария Александровна^{1,2}, Михайлова Елена Владимировна^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Проспект Октября 71, Уфа, Россия

²Уфимский государственный нефтяной технический университет, Космонавтов 1, Уфа, Россия

mikhele@list.ru

Биосинтез антоцианов достаточно хорошо изучен. Тем не менее, для большинства видов растений сих пор не выявлены отдельные гены, обуславливающие характерную окраску пурпурных сортов.

Ген дигидрофлавонолредуктазы DFR является ключевым в пути биосинтеза антоцианов, поскольку от соотношения уровня экспрессии этого гена и гена флавонолсинтазы FLS зависит то, будет ли происходить биосинтез антоцианов или флавонолов. Имеются данные о том, что уровень экспрессии гена DFR регулируется более чем 15 различными транскрипционными факторами. Особый интерес представляют негативные регуляторы биосинтеза антоцианов, относящиеся к семейству MYB – MYBL2 и MYB60.

Целью исследования было определить, имеются ли в этих генах мутации, которые могут оказывать влияние на окраску растений.

В исследовании были задействованы семь сортов капусты кочанной (из них 5 краснокочанной), 5 сортов капусты брюссельской (из 2 пурпурных), 6 сортов цветной капусты (из них 2 пурпурных), 6 сортов капусты кольраби (3 пурпурных), 7 сортов горчицы Brassica juncea (из них 5 пурпурных), 5 сортов брюквы Brassica napus (из них 2 аккумулирующих антоцианы в корнеплодах), и 6 сортов капусты японской Brassica rapa ssp. Nipposinica, из которых 3 были антоциановыми. Из семядольных листьев выделяли ДНК, амплифицировали последовательности генов MYBL2 и MYB60, и секвенировали на приборе Applied biosystems 3500.

Тогда как ген MYBL2 у растений семейства Капустных различных видов был достаточно консервативным, в гене MYB60 обнаруживалось большое количество мутаций как в интронах, так и в экзонах, ни одна из которых не была общей для антоциановых сортов. У всех без исключения пурпурных сортов капусты наблюдалась одна и та же мутация в начале ДНК-связывающего домена гена MYBL2, которая приводила к замене двух аминокислот, появлению однонуклеотидного повтора (A)₈ и существенному изменению предполагаемой структуры РНК. Данная мутация с высокой вероятностью приводит к изменению вторичной структуры ДНК, посттранскрипционной регуляции экспрессии гена и его распознавания рибосомами, а также альтернативному полиаденилированию. У растений других исследованных видов значимых мутаций в гене MYBL2 обнаружено не было.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №20-74-10053.

Ключевые слова: Brassica oleracea, MYBL2, секвенирование, антоцианы

ANTHOCYANIN PIGMENTATION IN PURPLE CABBAGE IS ASSOCIATED WITH A MUTATION IN A MYBL2 GENE

Artyukhin Alexander¹, Khusnutdinov Emil¹, Panfilova Maria^{1,2}, Mikhaylova Elena^{1,2}

¹*Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Prospekt Oktyabrya, 71, Ufa, Russia*

²*Ufa State Petroleum Technological University, 1 Kosmonavtov st., Ufa, Russia*
mikhele@list.ru

Anthocyanins biosynthesis is a well studied process. However, for most plant species, individual genes that determine purple pigmentation have not yet been identified.

The dihydroflavonol reductase gene *DFR* plays key role in the anthocyanin biosynthesis pathway, since the ratio of the expression level of this gene and the flavonol synthase gene *FLS* determines whether the biosynthesis of anthocyanins or flavonols will occur. There is evidence that the expression level of the *DFR* gene is regulated by more than 15 different transcription factors. Negative regulators of anthocyanin biosynthesis belonging to the MYB family – MYBL2 and MYB60 – appear to be the most noteworthy.

The aim of the study was to determine whether there are mutations in these genes that can affect anthocyanin accumulation in plants.

The study was focused on 7 varieties of headed cabbage (5 purple), 5 varieties of Brussels sprouts (2 purple), 6 varieties of cauliflower (2 purple), 6 varieties of kohlrabi (3 purple), 7 varieties of *Brassica juncea* mustard (5 purple), 5 varieties of rutabaga *Brassica napus* (2 accumulated anthocyanins in roots), and 6 varieties of Japanese cabbage *Brassica rapa ssp. Nipposinica*, of which 3 were purple. DNA was isolated from cotyledon leaves, sequences of the *MYBL2* and *MYB60* genes were amplified, and analyzed using Applied biosystems 3500 instrument.

While the *MYBL2* gene in various species of the *Brassicaceae* family, the *MYB60* gene contained a large number of mutations in both introns and exons, none of which could be associated with anthocyanin pigmentation. In all purple *B. oleracea* without exception, the same mutation was observed at the beginning of the DNA-binding domain of the *MYBL2* gene, which led to the replacement of two amino acids, the appearance of a single nucleotide repeat (A)₈, and a significant change in the predicted RNA structure. This mutation with a high probability leads to a change in the secondary structure of DNA, post-transcriptional regulation of gene expression and its recognition by ribosomes, as well as alternative polyadenylation. No significant mutations in the *MYBL2* gene were found in other studied species.

The reported study was funded by Russian Science Foundation according to the research project №20-74-10053.

Keywords: Brassica oleracea, MYBL2, sequencing, anthocyanins