

Влияние кадмия и теплового шока на процессы в хлоропластах

Е.А. Лысенко^{1*}, Н.А. Саввина^{1,2}, В.В. Кузнецов¹

¹Институт физиологии растений Российской академии наук, Москва, Россия

²Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

* genlysenko@mail.ru

Цель: Провести сравнительный анализ влияния двух разных, сильно действующих факторов стресса на сплайсинг интронов группы 2 в хлоропластах растений, а также провести поиск механизма выведения кадмия из хлоропластов растений.

Материалы и методы: Растения ячменя и кукурузы подвергали воздействию нескольких концентраций кадмия и ряда высоких температур. Выделяли хлоропласты, из них выделяли хлоропластную РНК. При помощи специально подобранных праймеров, одновременно анализировали содержание сплайсированных и несплайсированных транскриптов методом ОТ-ПЦР. В пробном эксперименте, в одном из генов изучали степень редактирования С/Т-сайтов как в сплайсированных, так и в несплайсированных транскриптах. Соответствующие транскрипты разделяли в геле, элюировали и производили Сэнгеровское секвенирование. Используя изотопы ¹¹¹Cd и ¹¹⁴Cd, изучали динамику накопления кадмия в хлоропластах ячменя *in vivo*.

Результаты: В условиях повышенной температуры наблюдается уменьшение количества сплайсированных транскриптов и увеличение количества несплайсированных транскриптов, выявляемых методом ОТ-ПЦР. Этот эффект обнаружен для всех 11 интронов группы 2, существующих в пластомах ячменя и кукурузы. При повышенных температурах наблюдается уменьшение количества зрелого транскрипта гена *gps12*, объединяемого при помощи механизма транс-сплайсинга. В условиях высоких и почти летальных концентраций кадмия, паттерн сплайсированных и несплайсированных мРНК всех этих генов остается без изменений. Пробный эксперимент показал, что при повышенных температурах наблюдается снижение доли отредактированных нуклеотидов (Т) и повышение доли нередактированных нуклеотидов (С). В отличие от сплайсинга, эффект на редактирование РНК не был универсальным. В некоторых сайтах наблюдался рост нередактированных нуклеотидов, а в некоторых степень редактирования была близка к 100% при любой температуре.

Применяя изотопно чистые соли кадмия, мы изучили динамику ранее накопленного кадмия в хлоропластах ячменя *in vivo*. Соли применялись в реципрокных парах – ¹¹¹Cd/¹¹⁴Cd и ¹¹⁴Cd/¹¹¹Cd – чтобы исключить специфичное влияние изотопа. После восьми дней воздействия, суммарное содержание кадмия в хлоропластах первого настоящего листа ячменя практически не изменялось. При этом количество ранее накопленного кадмия уменьшалось, и добавлялось примерно такое же количество кадмия, накопленного за эти восемь дней. Этот эффект наблюдался как в строме, так и в тилакоидах хлоропластов ячменя.

Выводы: Тепловой шок подавляет сплайсинг интронов группы 2 в хлоропластах растений. Данный эффект теплового шока универсальный и специфичный. Тепловой шок ингибирует сплайсинг всех интронов группы 2 в белок-кодирующих генах хлоропластов, тогда как редактирование мРНК подавляется лишь в части сайтов. Кадмий даже в летальной концентрации не вызывает нарушения процесса сплайсинга мРНК в хлоропластах, что указывает на специфичность ингибирования тепловым шоком.

При росте растений в присутствии кадмия, его количество в хлоропластах остается на одном уровне. По-видимому, поступление новых порций кадмия компенсируется выведением ранее накопленного кадмия. Таким образом, растения применяют две стратегии защиты хлоропластов: ограничивают поступление кадмия в хлоропласты и выводят кадмий из хлоропластов. Существование второй стратегии у обычных растений (исключателей) показано впервые.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-24-00009.