

УДК 577.12

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОРНК775А И ЕЕ РОЛЬ В ПОСТТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ ПРИ ГИПОКСИИ

© 2024 г. Д. Н. Федорин¹, А. Е. Хомутова¹, А. Т. Епринцев^{1, *}

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

*e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 15.11.2023 г.

После доработки 29.12.2023 г.

Принята к публикации 12.01.2024 г.

Под действием гипоксии в растительном организме изменяется транскрипция генов, ответственных за адаптацию к стрессу, вызванному низким содержанием кислорода. Изменения метаболических путей в стрессовых условиях могут регулироваться микроРНК. Было установлено, что в листьях кукурузы под действием гипоксии увеличивается содержание микроРНК775А. Применение флуоресцентного зонда miR775A-ROX позволило установить увеличение количества РНК-индуцирующих комплексов сайленсинга (RISC), сформированных на основе микроРНК775А, в листьях кукурузы при развитии гипоксического стресса. Полученные результаты свидетельствуют о том, что микроРНК775А участвует в процессах адаптации организма к гипоксическим условиям путем регуляции экспрессии генов-мишеней на посттранскрипционном уровне по механизму РНК-интерференции.

Ключевые слова: *Zea mays*, микроРНК775А, РНК-интерференция, RISC, RITS, гипоксия

DOI: 10.31857/S0042132424030067, **EDN:** PRSVTA

ВВЕДЕНИЕ

Низкий уровень кислорода является одним из абиотических факторов, стимулирующих растения к запуску каскада адаптивных реакций. Несмотря на обилие молекулярных и фенотипических данных о реакциях растений на гипоксию, до сих пор остается неясным, как воспринимается снижение уровня кислорода и контролируются сложные и обширные изменения экспрессии (Bailey-Serres, Chang, 2005). В реакции на дефицит кислорода принимают участие различные транскрипционные факторы, в частности, была выявлена значительная роль в адаптации к гипоксии транскрипционных факторов семейства NIF, активируемых микроРНК (Силина и др., 2023).

МикроРНК – небольшие молекулы РНК (20–22 нт), регулирующие экспрессию целевых генов на посттранскрипционном уровне путем ингибирования трансляции или расщепления их мРНК. В растениях микроРНК действуют путем нацеливания на почти идеально комплементарные мРНК для их эндонуклеолитического расщепления, в том числе и чувствительные к гипоксии (Vazquez, 2006; Moldovan et al., 2010).

МикроРНК участвуют во многих процессах, включая адаптивные реакции на стресс путем подавления соответствующих генов-мишеней, кодирующих регуляторные и функциональные белки (Yanfei et al., 2013).

Свое действие микроРНК осуществляют несколькими механизмами. В случае экспорта в цитоплазму с одной из нитей дуплекса связывается комплекс РНК-индуцированного сайленсинга (RISC), а вторая нить впоследствии деградирует (Iwakawa, Tomari, 2022). У растений действие комплекса RISC включает эндонуклеолитическое расщепление гибридов микроРНК-РНК мишени, посттрансляционную репрессию целевого белка и метилирование цитозиновой ДНК или гистонов (Voinnet, 2009). Большое значение в регуляторном механизме посредством RISC играют нуклеазы AGO1, AGO4, AGO6 и AGO7, особенно AGO1 и AGO4 (Vaucheret, 2008).

Кроме того, микроРНК являются ключевым звеном РНК-направленного метилирования ДНК, которое реализуется в ядре комплексом РНК-индуцированного транскрипционного сайленсинга (RITS). Компоненты RITS локали-

зуются во всех участках гетерохроматина и необходимы для его сборки. Данный комплекс у *Arabidopsis* состоит из трех белков: AGO1, Chp1, Tas3 (Partridge et al., 2002; Sadaie et al., 2004; Verdel et al., 2004). Ключевым компонентом RITS-комплексов является AGO2, содержащий PIWI-домен, сходный с рибонуклеазой H и включающий также консервативные каталитические аминокислотные остатки, формируя каталитический центр RITS (Song et al., 2004; Joshua-Tor et al., 2006). Связываясь с микроРНК, данный комплекс не выходит в цитоплазму в отличие от RISC, а действует в ядре, связываясь непосредственно с ДНК (Bhattacharjee et al., 2019).

Изменение содержания зрелой микроРНК в клетке носит стресс-зависимый характер, что обусловлено ее синтезом из гена-предшественника, и оценка вариации ее содержания в клетках важна для определения стратегии регуляции генов-мишеней (Zhang et al., 2020). ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) является золотым стандартом для количественной оценки экспрессии генов, в том числе его модификация с применением специфических олигонуклеотидов “стебель–петля” может использоваться для мультиплексных реакций обратной транскрипции и клонирования малых РНК с большой эффективностью и специфичностью (Heid et al., 1996; Nicot et al., 2005).

Конструкция олигонуклеотидов “стебель–петля” способна специфически обратно транскрибировать только выбранную зрелую микроРНК, которая впоследствии амплифицируется с помощью ПЦР-РВ (Chen et al., 2005). Типичный праймер для обратной транскрипции (ОТ) “стебель–петля” включает 5–8-нуклеотидную последовательность 3'-элемента, комплементарную 3'-концу зрелой микроРНК, последовательность стебля и петли, которая также содержит универсальный 3'-сайт праймирования для последующего ПЦР-РВ.

Ряд исследований показал, что содержание микроРНК775А изменяется при гипоксии (Moldovan et al., 2010; Mishra et al., 2022). Ингибирование митохондриального дыхания привело к значительному увеличению транскриптов микроРНК775А, что может свидетельствовать о том, что данная микроРНК участвует в регуляции экспрессии генов ферментов, задействованных в процессе дыхания (Moldovan et al., 2010). В связи с этим целью работы было исследование роли микроРНК775А в регуляции генов-мишеней в листьях кукурузы при гипоксии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования в работе использовали листья 14-дневной кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Воронежская 76, выращенной гидропонным методом при 14-часовом световом дне с интенсивностью света 90 мкмоль квантов $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, при температуре окружающей среды 25°C.

Действие низких концентраций кислорода в среде осуществлялось путем помещения растений с предварительно удаленной корневой системой на 24 ч в вакуум-эксикатор, в который подавался азот. В качестве контрольной группы использовались растения с предварительно удаленной корневой системой, помещенные в вакуум-эксикатор в условиях нормальной аэрации. Для исключения влияния фотосинтетической системы обе группы растений предварительно экспонировались в темноте в течение 24 ч до проведения эксперимента. На протяжении всего времени эксперимента растения также находились в условиях отсутствия источников света (Епринцев и др., 2021).

Выделение суммарной РНК из растительных образцов осуществляли методом гуанидин-тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции. В качестве осадителя использовали LiCl (Vennapusa et al., 2020).

Обратную транскрипцию проводили с использованием обратной транскриптазы М-MuLV (СибЭнзим, Россия), согласно инструкции производителя. Для получения кДНК суммарной РНК клетки использовали праймер Oligo(dT)₁₅ (Евроген, Россия). Параметры проведения обратной транскрипции следующие: инкубация смеси при 70°C – 5 мин, 37°C – 60 мин, 70°C – 10 мин.

Для получения кДНК анализируемой микроРНК реакцию обратной транскрипции осуществляли со специфическим разработанным зондом для микроРНК775А. Параметры проведения обратной транскрипции следующие: инкубация смеси при 16°C – 30 мин, 42°C – 30 мин, 85°C – 5 мин (Kramer, 2011).

Схема разработки зонда для количественной оценки микроРНК775А включает формирование 3'-сайта праймирования для последующей ПЦР (Kramer, 2011). Для создания специфического зонда типа “стебель–петля” для проведения обратной транскрипции исследуемой микроРНК использовали последовательность из 44 нуклеотидов, представляющую собой вариант “стебель–петля” HSV-1:

5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGAC-3'

с комплементом из шести к зрелой микроРНК775А. Результатом формирования специфического зонда для количественной оценки зрелой микроРНК775А с помощью ПЦР-РВ является 70-нуклеотидная кДНК второй цепи микроРНК-Н1, формируемая при проведении обратной транскрипции.

ПЦР-РВ проводили с помощью набора реактивов AmpliSence (Хеликон, Россия) на приборе LightCycler 96 (Roche, Швейцария), используя в качестве референсного гена ген фактора элонгации *ef-1 α* (Nicot et al., 2005). Разработка праймеров для количественной оценки микроРНК775А осуществлялась на основании шести дополнительных нуклеотидов на 3'-конце последовательности микроРНК-Н1 и первых 12 нуклеотидов 5'-конца зрелой микроРНК775А, что формирует последовательность прямого праймера для проведения количественной ПЦР-РВ. Обратным праймером для проведения ПЦР-РВ являлась последовательность из 16 нуклеотидов последовательности на 5'-конце. Нуклеотидный состав праймеров микроРНК775А: прямой – 5'-CACTGATTTCGATGTCTAG-3'; обратный – 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'.

Параметры амплификации следующие: предварительная денатурация – 95°C – 5 мин, цикл – 95°C – 30 с, 58°C – 30 с, 72°C – 30 с (детекция), финальная элонгация – 72°C – 10 мин.

Применяли программное обеспечение Opticon Monitor™ Software (Bio-Rad, США) для установления относительного уровня транскриптов генов на основе 2- $\Delta\Delta C$ -метода (Livak, Schmittgen, 2001).

Анализ РНК-интерференции и РНК-зависимого метилирования ДНК проводили с применением флуоресцентного зонда ROX-микроРНК775А, представляющего собой нуклеотидную последовательность, комплементарную зрелой микроРНК775А с флуорофором ROX на 3'-конце. Результаты оценивали электрофоретическим методом в 1%-ном агарозном геле. Интеркалирующим красителем электрофореграмм нуклеиновых кислот выступал SybrGreen I. Фотовозбуждение SYBR Green I проводили облучением при 312 нм и определяли эмиссию ROX.

В работе все эксперименты проводились в трех биологических и трех аналитических повторностях. Данные ПЦР-РВ были подвергнуты двустороннему дисперсионному анализу (ANOVA) с использованием программного обе-

спечения для анализа данных STATISTICA версии 9 (Statsoft Wipro, East Brunswick, NJ, USA). Результаты представлены в виде средних значений и стандартных отклонений (*SD*). Обсуждаются статистически значимые различия при $p < 0.05$ (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки содержания микроРНК775А в образцах растений в условиях гипоксии был использован метод количественной ПЦР-РВ. По результатам ПЦР-РВ было показано, что под действием гипоксии в течение 24 ч наблюдается увеличение микроРНК775А. После 1 ч содержания опытной группы в гипоксических условиях было зафиксировано увеличение количества микроРНК775А в 0.3 раза по сравнению с контролем. После 3 ч содержания опытных образцов в среде азота отмечалось увеличение соответствующей микроРНК775А в 0.7 раз, а после 6 ч – в 1.2 раза. После 24 ч содержания опытной группы в среде азота наблюдалось максимальное количество микроРНК775А. По сравнению с нулевым часом, оно увеличилось в 2.5 раза (рис. 1).

Известно, что микроРНК могут осуществлять посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов путем РНК-интерференции (Jones-Rhoades et al., 2006). Для оценки образования РНК-интерферирующего комплекса с микроРНК775А применяли метод аналитического электрофореза со специфичным флуоресцентным зондом. Данный метод позволил выявить соотношение количества образовавшихся РНК-интерферирующих комплексов с микроРНК775А в образцах при различных по времени гипоксических условиях (рис. 2).

Результаты электрофоретического исследования комплекса мРНК–микроРНК775А-ROX указывают на то, что микроРНК775А действует по пути РНК-интерференции, связываясь с комплексом RISC, и посттранскрипционно взаимодействует с комплементарной ей мРНК. Об этом свидетельствуют образовавшиеся флуоресцентные структуры – триплексы, представляющие собой комплекс мРНК–микроРНК775А-зонд (см. рис. 2). Увеличение интенсивности свечения анализируемых флуоресцентных комплексов при развитии гипоксии может свидетельствовать об интенсификации образования РНК-интерферирующих комплексов, взаимодействующих с мРНК генов-мишеней.

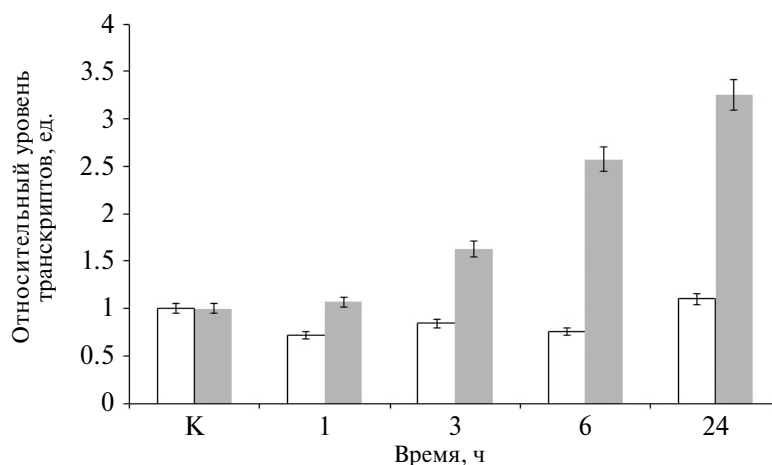


Рис. 1. Относительный уровень микроРНК775А в листьях кукурузы при гипоксии. Белые столбцы — контроль (воздух), серые — среда азота.

Кроме того, известно, что микроРНК принимают участие в РНК-зависимом метилировании ДНК посредством комплексов RITS (Bhattacharjee et al., 2019). Для оценки образования комплекса РНК-индуцированного транскрипционного сайленсинга с микроРНК775А также применяли метод аналитического электрофореза со специфичным флуоресцентным зондом микроРНК775А-ROX (рис. 3), однако значимых изменений в количестве образовавшихся комплексов с геномной ДНК листьев исследуемых растений не наблюдалось. Следовательно, анализируемая в нашей работе микроРНК775А обеспечивает регуляцию генов-мишеней в листьях кукурузы при гипоксическом стрессе на посттранскрипционном уровне.

ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружение и количественное определение микроРНК основано на клонировании, нозерн-блоттинге (Lagos-Quintana et al., 2001) или удлинении праймера (Zeng, Cullen, 2003), однако, современный метод ПЦР-РВ дает возможность количественно оценить их участие в регуляции экспрессии генов (He, Hannon, 2004; Chen et al., 2005). Анализ литературы свидетельствует, что микроРНК775А принимает участие в механизмах регуляции генов-мишеней при гипоксии (Moldovan et al., 2010; Mishra et al., 2022). Для возможности оценки количества микроРНК775А был разработан специфический зонд для количественной оценки зрелой микроРНК на основе 44 нуклеотидов, представляющей со-

бой вариант “стебель—петля”. 70-нуклеотидная кДНК второй цепи мкРНК-Н1, формируемая при проведении обратной транскрипции, позволяет провести количественную оценку свободной микроРНК775А методом ПЦР-РВ.

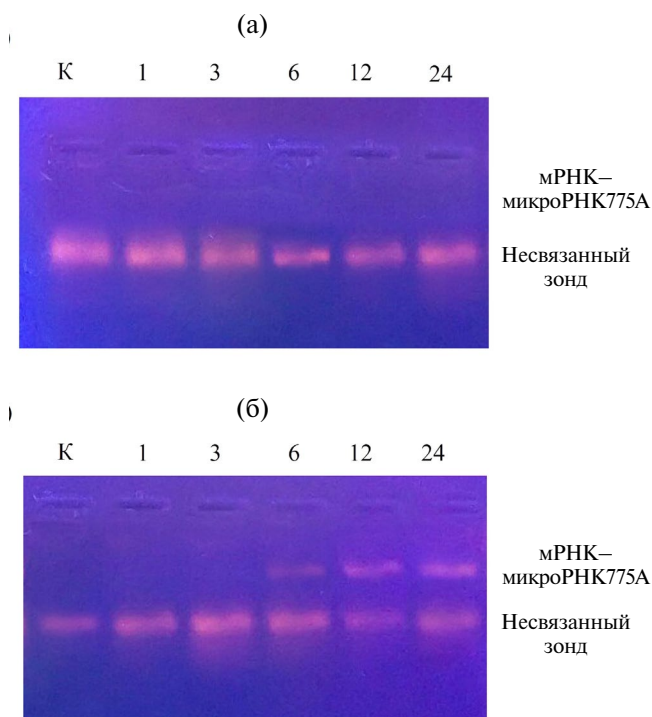


Рис. 2. Электрофореграмма образцов РНК-интерферирующего комплекса с микроРНК775А в листьях кукурузы при нормоксии (а) и гипоксии (б). 0, 1, 3, 6, 24 — время экспозиции растений в соответствующих экспериментальных условиях (здесь и на рис. 3).

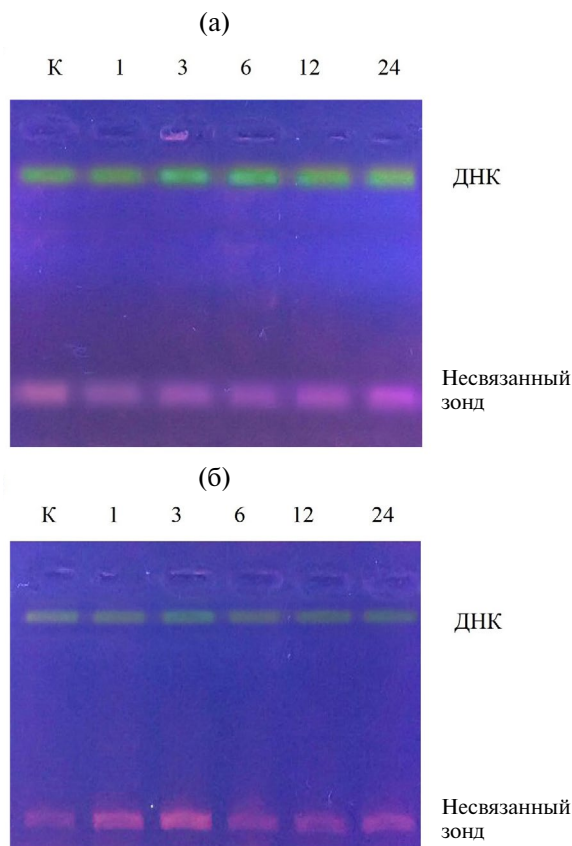


Рис. 3. Электрофореграмма образцов комплекса РНК-индуцированного транскрипционного сайленсинга с микроРНК775А в листьях кукурузы при нормоксии (а) и гипоксии (б).

В ходе нашего исследования было установлено, что содержание зрелой микроРНК775А увеличивается при гипоксии почти в 2.5 раза за 24 ч, что может говорить о ее участии в ответной реакции растительной клетки на гипоксический стресс. Ранее было установлено ингибирование митохондриального дыхания в условиях гипоксии растений (Bailey-Serres, Chang, 2005; Agarwal, Grover, 2006). Выявленное нами увеличение количества микроРНК775А в листьях кукурузы при гипоксии дает возможность предположить, что она может принимать участие в регуляции экспрессии генов ферментов дыхательного метаболизма растений по механизму РНК-интерференции.

Ранее было показано, что микроРНК775А может быть связана с транскрипционным фактором MYB (myeloblastosis), участвующим в различных биологических функциях, в том числе в стрессовом ответе при гипоксии (Ambawat et al., 2013). Была доказана роль AtMYB2 в ин-

дукции гена алкогольдегидрогеназы *Arabidopsis* (ADH1) при низком уровне кислорода (Hoegen et al., 1998). Можно предположить, что микроРНК775А участвует в регуляции ферментативных систем при переходе на альтернативное дыхание растительной клетки при гипоксическом стрессе посредством транскрипционных факторов семейства MYB.

С применением метода аналитического электрофореза со специально разработанным для микроРНК775А флуоресцентным зондом удалось установить, что микроРНК775А может взаимодействовать со зрелой мРНК гена-мишени и действует по пути посттранскрипционного сайленсинга, акцептируясь комплексом RISC. Увеличение содержания микроРНК775А в листьях кукурузы при гипоксии соотносится с увеличением количества РНК-интерферирующего комплекса на основе микроРНК775А (см. рис. 2).

С применением флуоресцентного зонда микроРНК775А-ROX было показано отсутствие формирования соответствующего комплекса RITS и его взаимодействие с геномной ДНК листьев кукурузы при развитии гипоксии. Следовательно, микроРНК775А, по всей видимости, не принимает участия в РНК-зависимом метилировании ДНК, а регулирует экспрессию гена-мишени по типу РНК-интерференции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гипоксия изменяет транскрипцию генов, способствующих реализации клеточного ответа на стресс. Естественным инструментом клеточной регуляции служат микроРНК. Они влияют на ход метаболических процессов растительной клетки, что позволяет растениям адаптироваться к меняющимся условиям, в том числе к действию стрессовых факторов.

Анаэробный или низкокислородный стресс (гипоксия) нарушает митохондриальное дыхание. Под действием гипоксии происходят изменения в транскриптоме и переключение с аэробного на анаэробное дыхание. Участие микроРНК в реакции растений на гипоксию было подтверждено в экспериментах с ингибированием митохондриального дыхания. На примере микроРНК775А продемонстрировано количественное изменение микроРНК при низкокислородном стрессе. Кроме этого установлено, что данная микроРНК действует только по пути посттранскрипционного сайленсинга и не участвует в ремоделировании гетерохроматина.

Ранее проведенные исследования профиля экспрессии МЫВ кукурузы показали его зависимость от гипоксических условий (Du et al., 2012), что соотносится с полученными данными по изменению содержания микроРНК775А в листьях кукурузы в тех же экспериментальных условиях, что позволяет предположить роль данной микроРНК в посттранскрипционной регуляции гипоксически-зависимых генов-мишеней, регулируемых фактором транскрипции МЫВ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023–2025 годы, проект № FZGU-2023-0009.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Епринцев А.Т., Анохина Г.Б., Гатаулина М.О., Федорин Д.Н. Роль эпигенетических механизмов в регуляции активности 2-ОГДГ и МДГ в листьях кукурузы (*Zea mays* L.) при гипоксии // Физиол. раст. 2021. Т. 68 (2). С. 187–193.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 351 с.
- Силина М.В., Джалилова Д.Ш., Макарова О.В. Роль микроРНК в регуляции клеточного ответа на гипоксию // Биохимия. 2023. Т. 88 (6). С. 913–932.
- Agarwal S., Grover A. Molecular biology, biotechnology and genomics of flooding-associated low O₂ stress response in plants // Crit. Rev. Plant Sci. 2006. V. 25. P. 1–21.
- Ambawat S., Sharma P., Yadav N.R. et al. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2013. V. 3. P. 307–321.
- Bailey-Serres J., Chang R. Sensing and signalling in response to oxygen deprivation in plants and other organisms // Ann. Botan. 2005. V. 96. P. 507–518.
- Bhattacharjee S., Roche B., Martienssen R.A. RNA-induced initiation of transcriptional silencing (RITS) complex structure and function // RNA Biol. 2019. V. 9. P. 1133–1146.
- Chen C., Ridzon D.A., Broomer A.J. et al. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR // Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. P. e179.
- Du H., Feng B.R., Yang S.S. et al. The R2R3-MYB transcription factor gene family in maize // PLoS One. 2012. V. 6. P. e37463.
- He L., Hannon G.J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation // Nat. Rev. Genet. 2004. V. 5. P. 522–531.
- Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., Williams P.M. Real time quantitative PCR // Genome Res. 1996. V. 6. P. 986–994.
- Hoeren F.U., Dolferus R., Wu Y., Peacock W.J., Dennis E.S. Evidence for a role for AtMYB2 in the induction of the *Arabidopsis* alcohol dehydrogenase gene (ADH1) by low oxygen // Genetics. 1998. V. 149. P. 479–490.
- Iwakawa H.O., Tomari Y. Life of RISC: formation, action, and degradation of RNA-induced silencing complex // Mol. Cell. 2022. V. 82. P. 30–43.
- Jones-Rhoades M.W., Bartel D.P., Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants // Annu. Rev. Plant Biol. 2006. V. 57. P. 19–53.
- Joshua-Tor L. The Argonautes // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 2006. V. 71. P. 67–72.
- Kramer M.F. Stem-loop RT-qPCR for miRNAs // Curr. Protoc. Mol. Biol. 2011. CHAPTER: Unit15.10.
- Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W. et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs // Science. 2001. V. 294. P. 853–858.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCt} method // Methods. 2001. V. 25. P. 402.
- Mishra V., Singh A., Gandhi N. et al. A unique miR775-GALT9 module regulates leaf senescence in *Arabidopsis* during post-submergence recovery by modulating ethylene and the abscisic acid pathway // Development. 2022. V. 149 (4). P. dev199974.
- Moldovan D., Spriggs A., Yang J. et al. Hypoxia-responsive microRNAs and trans-acting small interfering RNAs in *Arabidopsis* // J. Exp. Bot. 2010. V. 6. P. 165–177.
- Nicot N., Hausman J.F., Hoffmann L. et al. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress // J. Exp. Bot. 2005. V. 56. P. 2907–2914.
- Partridge J.F., Scott K.S., Bannister A.J. et al. cis-acting DNA from fission yeast centromeres mediates histone H3 methylation and recruitment of silencing factors and cohesin to an ectopic site // Curr. Biol. 2002. V. 12. P. 1652–1660.
- Sadaie M., Iida T., Urano T. et al. A chromodomain protein, Chp1, is required for the establishment of heterochromatin in fission yeast // EMBO J. 2004. V. 23. P. 3825–3835.
- Song J.J., Smith S.K., Hannon G.J. et al. Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity // Science. 2004. V. 305. P. 1434–1437.
- Vaucheret H. Plant ARGONAUTES // Trends Plant Sci. 2008. V. 13. P. 350–358.

- Vazquez F. *Arabidopsis* endogenous small RNAs: highways and byways // Trends Plant Sci. 2006. V. 11. P. 460–468.
- Verdel A., Jia S., Gerber S. et al. RNAi-mediated targeting of heterochromatin by the RITS complex // Science. 2004. V. 303. P. 672–676.
- Vennapusa A.R., Somayanda I.M., Doherty C.J., Jagadish S.K. A universal method for high-quality RNA extraction from plant tissues rich in starch, proteins and fiber // Sci. Rep. 2020. V. 10 (1). P. 1–13.
- Voinnet O. Origin biogenesis, and activity of plant micro-RNAs // Cell. 2009. V. 136. P. 669–687.
- Yanfei D., Yueliang T., Cheng Z. Emerging roles of microRNAs in the mediation of drought stress response in plants // Experim. Bot. 2013. V. 64. P. 3077–3086.
- Zhang C., Fan L., Le B.H. et al. Regulation of ARGONAUTE10 expression enables temporal and spatial precision in axillary meristem initiation in *Arabidopsis* // Dev. Cell. 2020. V. 55. P. 603–616.
- Zeng Y., Cullen B.R. Sequence requirements for micro RNA processing and function in human cells // RNA. 2003. V. 9. P. 112–123.
<https://doi.org/10.1261/rna.2780503>

Changes in the Content of microRNA775a and its Role in Post-Transcriptional Regulation of Targeted Genes in Corn Leaves under Hypoxia

D. N. Fedorin^a, A. E. Khomutova^a, A. T. Eprintsev^{a,*}

^aVoronezh State University, Voronezh, Russia

*e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Under the influence of hypoxia in the plant organism, the transcription of genes responsible for adaptation to stress caused by low oxygen levels changes. Changes in metabolic pathways under stress conditions may be regulated by microRNAs. It was found that the content of microRNA775A increases in corn leaves under the influence of hypoxia. The use of the fluorescent probe miR775A-ROX made it possible to establish an increase in the number of RNA-inducing silencing complexes (RISC), formed on the basis of microRNA775A, in maize leaves during the development of hypoxic stress. The results obtained indicate that microRNA775A is involved in the processes of adaptation of the body to hypoxic conditions by regulating the expression of target genes at the post-transcriptional level using the RNA interference mechanism.

Keywords: *Zea mays*, microRNA775A, RNA interference, RISC, RITS, hypoxia