

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МЕМБРАНОСВЯЗАННОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ С СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЕНАХ КУКУРУЗЫ

© 2022 г. А. Т. Епринцев^а, *, Д. Н. Федорин^а, О. Х. Флорес Каро^а

^аФедеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
“Воронежский государственный университет”, Воронеж, Россия

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

Поступила в редакцию 28.06.2021 г.

После доработки 29.07.2021 г.

Принята к публикации 04.08.2021 г.

Активация или репрессия транскрипции гена обусловлена уровнем метилирования, особенно в CG-последовательностях в промоторной области гена. При прорастании семян регуляция ЭТЦ митохондрий может определяться на уровне сукцинатдегидрогеназы (СДГ), в частности, корреляцией между уровнем метилирования промоторов генов, кодирующих мембраносвязанные субъединицы СДГ и их экспрессией. Проведена оценка степени метилирования промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2*, кодирующих мембраносвязанную субъединицу С СДГ, при прорастании семян кукурузы (*Zea mays* L., сорт Воронежская 76). Результаты бисульфитного секвенирования ампликонов исследуемых генов показали, что в первый день прорастания семян CG-последовательности в промоторной области гиперметилированы, т.е. метильный статус составлял 100%. В последующие дни уровни метилирования значительно снизились, и на 8 день прорастания семян этот показатель равнялся 40.0% для *SDH3-1* и 30.8% для *SDH3-2*. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении скорости функционирования альтернативной оксидазы (АОХ) по мере прорастания семян кукурузы при стабильном уровне экспрессии гена комплекса I дыхательной цепи. Кроме того, увеличение уровня транскрипции генов мембраносвязанной субъединицы С СДГ совместно с активацией АОХ указывает на осуществление альтернативного транспорта электронов в ЭТЦ митохондрий, не связанного с синтезом АТФ. Выявлен эпигенетический механизм регуляции экспрессии генов *SDH3-1* и *SDH3-2* субъединицы С СДГ, обеспечивающий альтернативный транспорт электронов на поздних этапах прорастания семян кукурузы. Выявлена прямая зависимость между статусом метилирования CpG-островков промотора гена *SDH3-2* и количеством его транскриптов, что связано, по-видимому, с адаптивной реакцией митохондриального метаболизма на переход клетки с гетеротрофного типа питания на автотрофный.

Ключевые слова: *Zea mays*, сукцинатдегидрогеназа, метилирование, субъединица, экспрессия, промотор, CG-динуклеотид, электрон-транспортная цепь

DOI: 10.31857/S0015330322020051

ВВЕДЕНИЕ

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.5.1) является единственным ферментом, который участвует как в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК), так и электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий [1]. СДГ играет важную роль в катаболизме митохондрий, поскольку снижение скорости ферментативной реакции вызывает изменения в интенсивности метаболизма митохондрий за счет накопления сукцината и снижения выработки энергии [1]. В ЦТК СДГ катализирует окисление сукцината

до fumarата, связанное с восстановлением убихинона до убихинола, являющегося субстратом комплекса III. Таким образом, комплекс II обеспечивает прямую связь между ЦТК и дыхательной цепью [2]. Белковый комплекс СДГ в эукариотических организмах состоит из 4 субъединиц (СДГ1–4), кодируемых ядерным геномом. В частности, флавопротеин (СДГ1) содержит связанный кофактор ФАД, тогда как железо-серный белок (Fe-S) (СДГ2) – три кластера Fe-S и два интегральных мембранных белка (СДГ3 и СДГ4), которые образуют цитохром b-типа путем связывания гема [3].

Сокращения: СДГ – сукцинатдегидрогеназа, АОХ – альтернативная оксидаза.

Экспрессия генов СДГ и ее активность строго регулируются на многих уровнях, таких как генетический, эпигенетический и биохимический [4]. Известно, что метилирование ДНК является важным эпигенетическим механизмом, регулирующим стабильность генома и экспрессию генов у растений и животных. Репрессия или активация транскрипции может быть связана с уровнями метилирования CG-последовательностей в промоторной области различных генов [5–7]. В последнее время нами была изучена взаимосвязь между экспрессией генов, кодирующих различные субъединицы СДГ, и уровнями метилирования их промоторов в растениях. Доказано подавление транскрипции генов *SDH1-1* и *SDH1-2*, кодирующих субъединицу А СДГ, в результате изменений метилирования их промоторов во время прорастания семян кукурузы [8]. Аналогичные результаты были получены для генов *SDH2-1*, *SDH2-2*, *SDH2-3*, кодирующих субъединицу В СДГ, при этом для гена *SDH2-3* метилирование его промотора не являлось важным фактором в регуляции экспрессии этого гена [9].

Изучение механизмов регуляции функционирования генома, таких как метилирование ДНК, позволяет лучше понять механизмы адаптации клетки при различных стрессовых воздействиях. В бескислородных условиях было обнаружено, что у проростков кукурузы, подвергшихся воздействию атмосферы N_2 и CO_2 , уровни транскрипции генов *SDH1-2*, *SDH2-3* и *SDH3-1* были значительно снижены [10]. Для гена *SDH1-2* это согласуется с повышенным метилированием соответствующих промоторов. Для генов *SDH2-3* и *SDH3-1* изменения метилирования промоторов были менее выражены. В этих условиях наблюдалось снижение каталитической активности СДГ и накопление сукцината в клетке [10].

Недавние исследования механизмов регуляции генов, кодирующих гидрофильные субъединицы А и В СДГ в растениях при гипоксии и на начальных этапах прорастания семян, обеспечили лучшее понимание влияния метилирования ДНК и его роли в контроле экспрессии их генов. Однако исследование эпигенетического механизма регуляции функционирования гидрофобной структуры СДГ, т.е. субъединиц С и D, позволит полнее оценить роль исследуемого фермента в регуляции функционирования ЭТЦ митохондрий.

Целью данной работы было изучение изменений метилирования промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2*, кодирующих субъединицу С СДГ и его влияние на функционирование ЭТЦ в щитках при прорастании семян кукурузы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. В качестве объектов исследования использовали щитки семян кукурузы (*Zea mays* L., сорт Воронежская 76). Растения выращивали гидропонным способом при температуре 25°C и 12-часовом световом дне с интенсивностью света 25 Вт/м². Щитки для анализа отбирали через каждые 24 ч в течение 10 дней с начала эксперимента.

Выделение РНК. Суммарную РНК из растительного материала (0.3 г) выделяли методом фенол-хлороформной экстракции с использованием в качестве осадителя LiCl [11].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с разработанными праймерами для генов СДГ проводили с набором AmpliSence (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и кДНК, полученной на основе РНК. Анализ изменения уровня экспрессии генов субъединицы С СДГ проводили с помощью ПЦР в реальном времени на приборе LightCycler96 (“Roche”, Швейцария), используя в качестве красителя SYBR Green I. Праймеры для ПЦР имели следующие нуклеотидные последовательности: *SDH3-1* – 5'-aaggagctctctccatctcc-3' (F) и 5'-cagagctgctacaggggaag-3' (R); *SDH3-2* – 5'-ccagatctctctccatctga-3' (F) и 5'-tgctagaggggaagacgtg-3' (R); *NDHA* – 5'-gacggactttgctcggattc-3' (F) и 5'-ctcaaccggtaaccsaatg-3' (R); *AOX1* – 5'-caagtgaggagagacaaga-3' (F) и 5'-tcatgggtctggtgaggtc-3' (R). Условия амплификации: предварительная денатурация при 95°C в течение 5 мин, затем 40 циклов: 95°C – 20 с, 59°C – 30 с, 72°C – 40 с и 72°C – 4 мин. Количество матрицы контролировали параллельной амплификацией мРНК референсного гена *EF1A* (LOC542581) [12] с праймерами следующего состава: 5'-gctgtgaagatctgaagcg-3' (F) и 5'-agctcagcaaaactgacagc-3' (R). Относительный уровень транскриптов исследуемых генов оценивали методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [13].

Выделение ДНК. Суммарную ДНК из щитков кукурузы выделяли с использованием 2х ЦТАБ-буфера, имеющего следующий состав: 2% цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ), 1.4 М NaCl, 100 мМ Трис-НСl буфер (pH 8.0), 20 мМ ЭДТА и последующей фенол-хлороформной экстракции. Осаждение ДНК проводили 96% этанолом. Для визуализации и анализа качества выделенной ДНК использовали электрофорез в 1% агарозном геле. Визуализацию результатов проводили с использованием трансиллюминатора с длиной волны 312 нм. Результаты фиксировали с помощью системы фото-видео документирования DNA Analyzer (“ДНК-технология”, Россия) и обрабатывали с использованием программы Gel Explorer 1.0.

Бисульфитная конверсия ДНК. Модификацию ДНК бисульфитом натрия проводили согласно ранее разработанной методике [14]. Исходную пробу ДНК (50 мкг) денатурировали 0.3 М NaOH

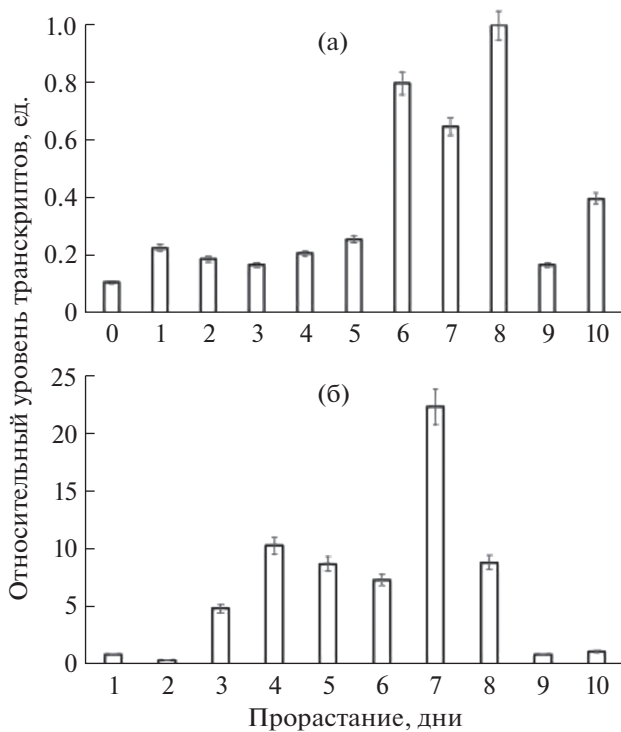


Рис. 1. Изменение уровня транскриптов генов *SDH3-1* (а) и *SDH3-2* (б), кодирующих субъединицу С сукцинатдегидрогеназы в щитках кукурузы, при прорастании семян. Уровень экспрессии генов *SDH3-1* и *SDH3-2* рассчитывали относительно уровня экспрессии референсного гена фактора элонгации (*EF1A*) методом $2^{-\Delta\Delta C_t}$. Достоверность различий оценивалась по критерию Шапиро–Уилка ($P < 0.05$).

и подвергали дезаминированию, используя 4.15 М раствор бисульфита натрия и 0.2 М раствор гидрохинона, pH 5.0. Осаждение ДНК осуществляли с помощью 98% изопропанола, pH 5.6. Десульфирование проводили 0.3 М NaOH с последующей нейтрализацией 10 М раствором ацетата аммония и 96% этанолом при pH 5.6.

Бисульфитное секвенирование. В качестве праймеров для проведения бисульфитного секвенирования использовали следующие нуклеотидные последовательности: к промотору гена *SDH3-1* (LOC100281355) – 5'-tttggatgagttgtataattaa-3' (F) и 5'-ttataaaacttacaaaaaaacacctaattat-3' (R); к промотору гена *SDH3-2* (LOC100283351) – 5'-tagataattgaaaattttggata-3' (F) и 5'-aatatcaataccsaacaasaatc-3' (R). Условия амплификации: предварительная денатурация при 95°C в течение 5 мин, затем 35 циклов: 95°C – 20 с, 50°C – 20 с, 72°C – 15 с, 72°C – 15 с и 72°C – 4 мин. Сиквенс ампликонов проводили в компании “Евроген” (Россия).

Статистический анализ. Опыты проводили в 3–4-кратной биологической повторности, аналитические определения для каждой пробы осуществляли в 3 повторностях. Полученные данные

обрабатывали с использованием программы Stat-Tech v. 1.2.0 (“Статтех”, Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка. Различия считались достоверными при $P < 0.05$. На рисунках приведены средние арифметические значения и их стандартные отклонения. Данные бисульфитного сиквенса (рис. 2) представлены в виде средних значений двух биологических повторностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования показали, что уровень транскриптов генов *SDH3-1* и *SDH3-2* СДГ при прорастании семян кукурузы имеет дифференциальный характер. Незначительные изменения в содержании мРНК гена *SDH3-1* в клетках на начальных этапах развития семян обусловлены невысоким стабильным уровнем его экспрессии (рис. 1а). После 6 дней развития в семенах кукурузы наблюдали значительное увеличение количества транскриптов гена *SDH3-1* СДГ, при этом максимальное значение данного показателя обнаружено на 8 день.

В разные дни прорастания в клетках семян кукурузы наблюдали различное содержание мРНК для гена *SDH3-2* (рис. 1б). Установлено, что увеличение анализируемого показателя характерно на 4 и 7 дни прорастания семян с максимальным значением на 7 день. Дифференциальная экспрессия генов мембраносвязанных субъединиц СДГ может быть обусловлена наличием регулирующих механизмов их экспрессии. Одним из механизмов регуляции экспрессии генов *SDH3-1* и *SDH3-2* может быть степень метилирования их промоторов. Так, для генов *SDH1-1* и *SDH1-2* *Arabidopsis thaliana* была обнаружена прямая корреляция между уровнем транскрипции и степенью метилирования промоторов этих генов [8].

Определение метильного статуса промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2* субъединицы С СДГ проводили с ДНК, полученной из щитков кукурузы на 1, 4 и 8 дни прорастания семян. Обработанный образец амплифицировали с помощью ПЦР с праймерами для бисульфитного секвенирования к промоторам генов *SDH3-1* и *SDH3-2*, подобранными с учетом оценки CG-динуклеотидов в составе CpG-островков. Предварительно было установлено, что в промоторе гена *SDH3-1* CpG-островок имеет положение –328...–597 п.н., а в промоторе гена *SDH3-2* – положение –48...–276 п.н. Были получены сиквенсы ампликонов промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2* для анализируемых дней прорастания семян кукурузы после бисульфитной конверсии ДНК, и проведен анализ степени метилирования отдельных CG-динуклеотидов в их составе. Анализ результатов проведенного бисульфитного секвенирования промотора гена

SDH3-1 в щитках кукурузы на 1, 4 и 8 дни прорастания семян показал, что уровень метилирования CpG-островков изменился от полностью метилированных в первый день прорастания до уровня 40.0% метилирования на 8 день (табл. 1). В случае промотора гена *SDH3-2* показано, что в первый день прорастания семян CpG-островок был полностью метилирован, тогда как через 4 дня уровень метилирования снижается до 53.8%, а на восьмой день составляет 30.8%.

Результаты проведенного исследования по анализу метильного статуса промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2*, кодирующих мембраносвязанную субъединицу С СДГ, выявили отличие в проявлении его зависимости от уровня транскриптов (рис. 2). Для гена *SDH3-1* было показано отсутствие зависимости между степенью метилирования промотора и уровнем транскриптов на начальных этапах прорастания семян, что, вероятно связано с его регуляцией за счет иных механизмов, в частности, транскрипционных факторов различной природы (рис. 2а). В течение первых 4 дней прорастания семян, несмотря на значительные изменения в метильном статусе промотора, не наблюдалось изменений в экспрессии гена *SDH3-1*. Однако увеличение содержания его мРНК в клетках щитка кукурузы на 8 день прорастания семян соотносится со снижением метильного статуса промотора до 40.0% (рис. 2а). Напротив, для гена *SDH3-2* был обнаружен другой характер метилирования и экспрессии, где относительный уровень транскриптов зависел от метильного статуса его промотора (рис. 2б). Было показано, что увеличение количества транскриптов гена *SDH3-2* коррелировало со значительным снижением метильного статуса его промотора на 4 день прорастания семян. За этот период наблюдалось снижение уровня состояния метилирования на 46.2% (рис. 2б). Следовательно, эпигенетический механизм является одним из способов регуляции транскрипции гена *SDH3-2* мембраносвязанной субъединицы СДГ при прорастании семян кукурузы.

Исследование уровня транскриптов генов, кодирующих альтернативную оксидазу (*AOX1*) и НАДН-дегидрогеназу (*NDHA*), позволило вы-

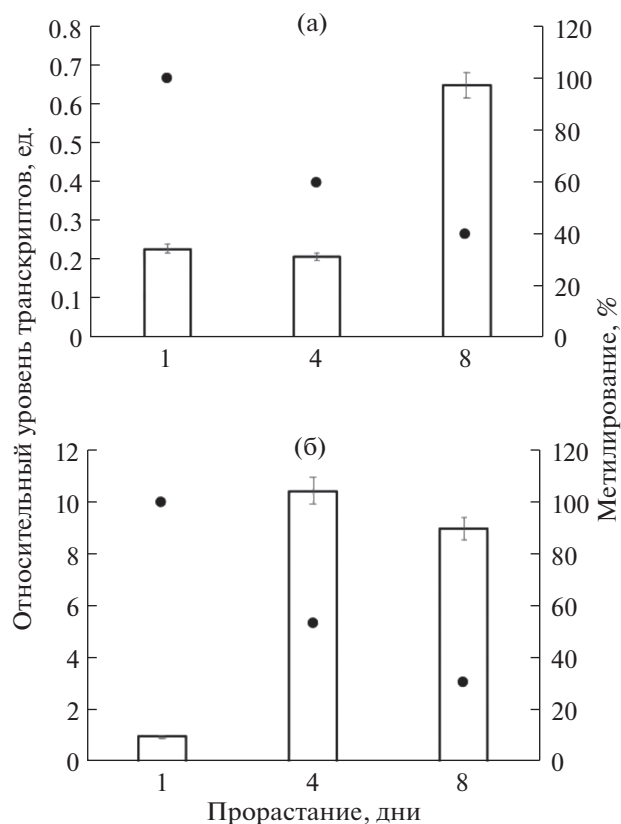


Рис. 2. Степень метилирования CG-нуклеотидов промотора и уровень транскриптов генов *SDH3-1* (а) и *SDH3-2* (б), кодирующих субъединицу С сукцинатдегидрогеназы, при прорастании семян кукурузы. Точками обозначена степень метилирования. Достоверность различий оценивалась по критерию Шапиро–Уилка ($P < 0.05$).

явить для них специфический характер в процессе прорастания семян кукурузы. Количество транскриптов гена *AOX1* постепенно увеличивалось в первые 5 дней прорастания семян, достигая максимального уровня на 8 день и резко снижалось на 10 день (рис. 3).

Уровень транскриптов гена *NDHA* оставался относительно стабильным на всем протяжении

Таблица 1. Количество метилированных CG-динуклеотидов в составе CpG-островков промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2*, кодирующих субъединицу С сукцинатдегидрогеназы в щитках кукурузы, при прорастании семян

Показатель	<i>SDH3-1</i>			<i>SDH3-2</i>		
	Прорастание, дни					
	1	4	8	1	4	8
Количество CpG-островков	5	5	5	13	13	13
Количество метилированных CpG-островков	5	3	2	13	7	4
Метилирование ДНК, %	100.0	60.0	40.0	100.0	53.8	30.8
Бисульфитная конверсия ДНК, %	87.8	84.1	85.4	81.1	87.7	84.5

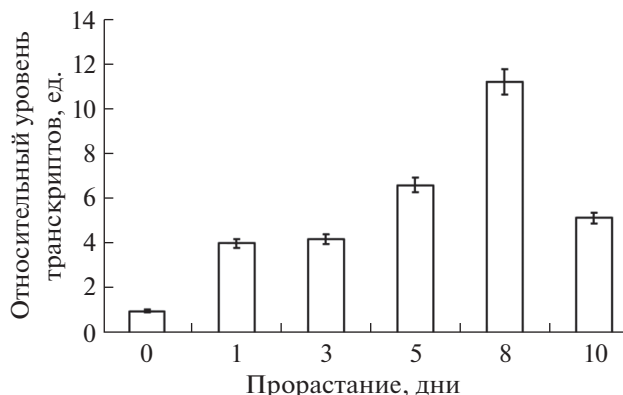


Рис. 3. Относительный уровень транскриптов гена *AOX1*, кодирующего альтернативную оксидазу, в щитках кукурузы при прорастании семян. Достоверность различий оценивалась по критерию Шапиро–Уилка ($P < 0.05$).

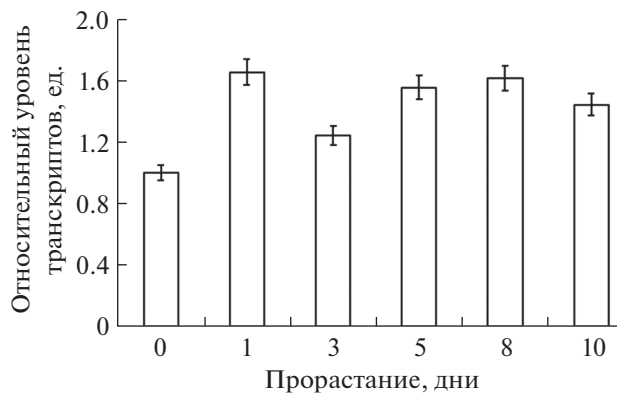


Рис. 4. Относительный уровень транскриптов гена *NDHA*, кодирующего НАДН-дегидрогеназу, в щитках кукурузы при прорастании семян. Достоверность различий оценивалась по критерию Шапиро–Уилка ($P < 0.05$).

развития семян кукурузы (рис. 4). Так, в первые сутки после набухания содержание мРНК увеличилось, а в последующие 10 дней значительных изменений уровней транскрипции не наблюдалось.

ОБСУЖДЕНИЕ

Субъединица С является одним из трансмембранных пептидов белкового комплекса СДГ, находящегося во внутренней митохондриальной мембране и кодирующегося двумя генами – *SDH3-1* и *SDH3-2* [15]. Вместе с субъединицей D СДГ она участвует в связывании убихинона, который восстанавливается, чтобы обеспечить субстрат для комплекса III в ЭТЦ [2]. Изменения в генетических регуляторных механизмах, такие как метилирование промоторов генов субъединицы С СДГ во время развития растения, могут отражаться на функциональности ферментного комплекса и приводить к метаболическим трансформациям функционирования цикла Кребса и ЭТЦ.

При анализе уровней экспрессии генов, кодирующих субъединицу С СДГ, было обнаружено, что транскрипция гена *SDH3-1* довольно низкая в первые дни прорастания семян кукурузы. Значительное увеличение этого показателя в последующие дни соответствует интенсификации утилизации углеводов и липидов в период автотрофного питания растительной клетки. Этот дифференциальный уровень транскриптов, вероятно, влияет на образование изоформ СДГ, необходимых для организации биосинтетических и энергетических процессов клеточного метаболизма. Для гена *SDH3-2* самые высокие значения транскриптов достигаются в тот же период, что и для гена *SDH3-1*, на 8 день прорастания семян. Изменение экспрессии генов, кодирующих субъединицу С СДГ, указывает на то, что ген *SDH3-1* менее активен, чем

SDH3-2 в первые дни прорастания семян. Изменение содержания транскриптов исследуемых генов при прорастании семян может осуществляться регуляцией функциональной активности их промоторов, в том числе за счет метильного статуса.

Интенсификация метаболических процессов на начальных этапах развития семян кукурузы, осуществляющих гетеротрофный тип питания за счет запасных веществ эндосперма, вероятно, обусловлена высоким уровнем мРНК гена *SDH3-2*. Первые 5 дней интенсивно используются липиды, локализованные в щитках семян [16]. В дальнейшем происходит трансформация метаболизма и на 5 день включается утилизация запасного крахмала из эндосперма семени. Усиление экспрессии гена *SDH3-2* на поздних стадиях (после 8 дня) прорастания семян, вероятно, обусловлено трансформацией метаболизма (индукцией фотосинтетической ассимиляции CO_2) и требует синтеза дополнительных белковых компонентов исследуемой ферментной системы. Увеличение содержания транскриптов исследуемых генов СДГ на поздних стадиях прорастания семян, вероятно, необходимо для синтеза дополнительных изоферментов, обеспечивающих протекание альтернативных метаболических процессов, связанных с переходом к автотрофному типу питания [8].

Данные, полученные методом бисульфитного секвенирования ампликонов промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2* субъединицы С СДГ, позволили выявить зависимость между степенью метилирования отдельных CG-динуклеотидов и содержанием мРНК их генов. Для гена *SDH3-2* установлено, что уровни метилирования исследуемых последовательностей на 4 и 8 день прорастания семян кукурузы снижались относительно данных, полученных для первого дня, при этом показано увеличение экспрессии этого гена на 4 и 8 день. Для

гена *SDH3-1* данный характер анализируемых показателей менее выражен на 4 день прорастания семян, но аналогичен с таковым для гена *SDH3-2* на 8 день.

На начальных этапах прорастания семян функциональные митохондрии остаются стабильными за счет сборки митохондриальных белковых комплексов [17]. Кроме того, все компоненты транскрипционного аппарата хранятся в сухих семенах и быстро активируются после набухания [18, 19]. Показано, что в первый день прорастания семян кукурузы промоторы генов *SDH3-1* и *SDH3-2* были полностью метилированы. Это гиперметилирование обуславливает снижение уровня их транскрипции, поскольку набухшие семена неактивны и не требуют много энергии [20]. На 4 день прорастания семян уровни метилирования промоторов генов *SDH3-1* и *SDH3-2* снизились до 60% и 53.8% соответственно, что обусловлено повышенной метаболической активностью клеток при автотрофном типе питания, требующем дополнительных компонентов дыхательного метаболизма клетки. Это деметилирование является пассивным механизмом [21] и может быть основным фактором регуляции экспрессии генов при прорастании семян [22]. На экспрессию гена *SDH3-1*, на начальных этапах (1–4 дни) прорастания семян кукурузы, не влияет метильный статус промотора, что подтверждается небольшими изменениями содержания транскриптов и может быть связано с иными механизмами его регуляции. Установлена зависимость между величиной деметилирования CpG-островков промотора гена *SDH3-2* и содержанием его транскриптов при прорастании семян кукурузы. Предполагается, что для гена *SDH3-2* этот эпигенетический механизм является регуляторным фактором скорости его транскрипции [8].

Увеличение количества транскриптов генов *SDH3-1* и *SDH3-2*, наблюдаемое в поздние сроки (5–10 дни) прорастания семян, вероятно, связано с необходимостью синтеза дополнительных форм сукцинатдегидрогеназной системы, участвующих в анаэробных реакциях, в том числе альтернативных способах электронного транспорта в митохондриях [23].

Анализ изменения экспрессии генов *NDHA* и *AOX1* позволяет предположить интенсивность функционирования ЭТЦ в первые 10 дней прорастания семян кукурузы. Увеличение уровней транскрипции генов *NDHA* и *AOX1* в течение первого дня прорастания семян свидетельствует об активации митохондриального дыхания и метаболических изменениях, происходящих в митохондриях. В последующие дни развития семян экспрессия гена *NDHA* оставалась относительно постоянной, показывая стабильное функционирование ЭТЦ. Уровни транскриптов *AOX1* увеличивались на

протяжении первых 8 дней прорастания, достигая максимального значения.

Альтернативная оксидаза (АОХ) является компонентом растительной ЭТЦ, и электроны от убинола распределяются между ней и комплексом III. Активно функционирующая АОХ резко снижает выход макроэргической энергии при дыхании, поскольку электроны, поступающие на нее, обходят протонные комплексы III и IV [24]. Полученные нами результаты, вероятно, указывают на увеличение скорости функционирования АОХ по мере прорастания семян кукурузы при стабильной работе комплекса I. Кроме того, увеличение уровня транскриптов генов мембраносвязанной субъединицы С СДГ совместно с увеличением мРНК АОХ позволяют предположить активацию альтернативного транспорта электронов в ЭТЦ митохондрий, не связанным с синтезом АТФ.

Таким образом, установлен эпигенетический механизм регулирования экспрессии генов *SDH3-1* и *SDH3-2* субъединицы С СДГ, который, вероятно, может обеспечивать альтернативный транспорт электронов на поздних этапах прорастания семян кукурузы. Выявлена прямая зависимость между статусом метилирования CpG-островков промотора гена *SDH3-2* и содержанием его транскриптов, что связано, по-видимому, с адаптивной реакцией митохондриального метаболизма на переход клетки с гетеротрофного типа питания на автотрофный.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2020–2022 годы, проект № FZGU-2020-0044.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Huang S., Braun H.P., Gawryluk R., Millar A.H. Mitochondrial complex II of plants: subunit composition, assembly, and function in respiration and signaling // *Plant J.* 2019. V. 98. P. 405. <https://doi.org/10.1111/tpj.14227>
2. Sousa J.S., D'Imprima E., Vonck J. Mitochondrial respiratory chain complexes // *Membrane Protein Complexes: Structure and Function* / Eds. Harris J., Boekema E. Springer, Singapore, 2018. P. 167. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9_7
3. Huang S., Millar A.H. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2013. V. 16. P. 344. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.007>
4. Moosavi B., Zhu X.L., Yang W.C., Yang G.F. Genetic, epigenetic and biochemical regulation of succinate dehydrogenase function // *Biol. Chem.* 2020. V. 401.

- P. 319.
<https://doi.org/10.1515/hsz-2019-0264>
5. *Bewick A.J., Schmitz R.J.* Gene body DNA methylation in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2017. V. 36. P. 103.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.12.007>
 6. *Teixeira F.K., Colot V.* Gene body DNA methylation in plants: a means to an end or an end to a means? // *EMBO J.* 2009. V. 28. P. 997.
<https://doi.org/10.1038/emboj.2009.87>
 7. *Zhang H., Lang Z., Zhu J.K.* Dynamics and function of DNA methylation in plants // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2018. V. 19. P. 489.
<https://doi.org/10.1038/s41580-018-0016-z>
 8. *Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Selivanova N.V., Wu T.L., Makhmud A.S., Popov V.N.* The role of promoter methylation in the regulation of genes encoding succinate dehydrogenase in maize seedlings // *Russ. J. Plant Physiol.* 2012. V. 59. P. 299.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.08.008>
 9. *Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Karabutova L.A., Igamberdiev A.U.* Expression of genes encoding subunits A and B of succinate dehydrogenase in germinating maize seeds is regulated by methylation of their promoters // *J. Plant Physiol.* 2016. V. 205. P. 33.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.08.008>
 10. *Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Dobychina M.A., Igamberdiev A.U.* Expression and promoter methylation of succinate dehydrogenase and fumarase genes in maize under anoxic conditions // *J. Plant Physiol.* 2017. V. 216. P. 197.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.06.011>
 11. *Chomczynski P., Sacchi N.* Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* 1987. V. 162. P. 156.
<https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>
 12. *Nicot N., Hausman J.F., Hoffmann L., Evers D.* House-keeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56. P. 2907.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eri285>
 13. *Livak K.J., Schmittgen T.D.* Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method // *Methods.* 2001. V. 25. P. 402.
<https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
 14. *Patterson K., Molloy L., Qu W., Clark S.* DNA methylation: bisulphite modification and analysis // *J. Vis. Exp.* 2011. V. 56. P. 3170.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2006.324>
 15. *Leon G., Holuigue L., Jordana X.* Mitochondrial complex II Is essential for gametophyte development in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2007. V. 143. P. 1534.
<https://doi.org/10.1104/pp.106.095158>
 16. *Игамбердиев А.У.* Микротельца в метаболизме растений. Воронеж: изд-во Воронеж. ун-та, 1990. 147 с.
 17. *Luo T., Xian M., Zhang C., Zhang C., Chunni H., Liyong H., Zhenghua Xu.* Associating transcriptional regulation for rapid germination of rapeseed (*Brassica napus* L.) under low temperature stress through weighted gene co-expression network analysis // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 55.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-37099-0>
 18. *Kimura M., Nambara E.* Stored and neosynthesized mRNA in *Arabidopsis* seeds: effects of cycloheximide and controlled deterioration treatment on the resumption of transcription during imbibition // *Plant Mol. Biol.* 2010. V. 73. P. 119.
<https://doi.org/10.1007/s11103-010-9603-x>
 19. *Zafari S., Hebelstrup K.H., Igamberdiev A.U.* Transcriptional and metabolic changes associated with phytohemoglobin expression during germination of barley seeds // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 2796.
<https://doi.org/10.3390/ijms21082796>
 20. *Bouyer D., Kramdi A., Kassam M., Heese M., Schnittger A., Roudier F., Colot V.* DNA methylation dynamics during early plant life // *Genome Biol.* 2017. V. 18. P. 179.
<https://doi.org/10.1186/s13059-017-1313-0>
 21. *Kawakatsu T., Nery J.R., Castanon R., Ecker J.R.* Dynamic DNA methylation reconfiguration during seed development and germination // *Genome Biol.* 2017. V. 18. P. 171.
<https://doi.org/10.1186/s13059-017-1251-x>
 22. *Narsai R., Gouil Q., Secco D., Srivastava A., Karpievitch Y.V., Liew L.C., Lister R., Lewsey M.G., Whelan J.* Extensive transcriptomic and epigenomic remodelling occurs during *Arabidopsis thaliana* germination // *Genome Biol.* 2017. V. 18. P. 1.
<https://doi.org/10.1186/s13059-017-1302-3>
 23. *Eprintsev A.T., Fedorin D.N., Selivanova N.V., Akhmad G.A., Popov V.N.* Role of differential expression of *sdh 1-1* and *sdh 1-2* genes in alteration of isoenzyme composition of succinate dehydrogenase in germinating maize seeds // *Biol. Bull.* 2010. V. 37. P. 368.
 24. *Vanlerberghe G.C.* Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. P. 6805.
<https://doi.org/10.3390/ijms14046805>