

УДК 577

**АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ И ПРЕЖДЕВРЕМЕННАЯ ТЕРМИНАЦИЯ
ТРАНСКРИПЦИИ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА,
ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЕ С ПОМОЩЬЮ НАНОПОРОВОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ****П.Ю. Меркулов, М.Р. Омаров, И.В. Киров***ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия*

Ретротранспозоны (РТ) – мобильные генетические элементы, которые составляют значительную часть эукариотических геномов и вносят существенный вклад в их регуляцию и эволюцию. Данные элементы способны распространяться внутри генома путём РНК-опосредованной репликации и последующей инсерции в последовательность геномной ДНК. Известно, что в нормальных условиях активность РТ подавляется множеством посттранскрипционных и эпигенетических механизмов. Под действием стресса данные механизмы снижают своё репрессивное действие, тем самым позволяя РТ проявлять свою активность.

К настоящему моменту нет полного представления о процессе того, как РТ выходят из-под контроля защитных механизмов клетки и становятся активными в нормальных условиях. Секвенирование транскриптома позволяет выявить по умолчанию активные ретротранспозоны и особенности их транскриптов (полиаденилирование, альтернативный сплайсинг). Одной из технических трудностей анализа данных секвенирования является картирование прочтений на эталонный геном, что в случае РТ усугубляется наличием множества нуклеотидных повторов в их структуре. Подобные проблемы возможно решить, используя длинные прочтения, полученные при помощи технологий секвенирования Oxford Nanopore Technologies (ONT). Такой подход позволяет не только сравнительно точно осуществить транскрипционную аннотацию РТ и выявить варианты сплайсинга, но и детектировать химерные транскрипты, а также события сквозной транскрипции. Однако, данный подход был применён для аннотации транскрипционно активных РТ только у мутантных линий *Arabidopsis thaliana* (Panda and Slotkin, 2020).

Нами было проведено прямое нанопоровое секвенирование мРНК подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.). Полученные транскрипты мы картировали на референсный геном НА412-НО, в результате чего нами были идентифицированы в высокой степени транскрибирующиеся последовательности РТ класса LTR (англ. Long Terminal Repeats). Для многих из них удалось детектировать ряд транскрипционных изоформ, отличающихся открытыми рамками считывания и кодирующих разные белки, характерные для РТ. С помощью ОТ-ПЦР были валидированы результаты нанопорового секвенирования, а также получены сиквенсы малопредставленных изоформ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-2360.2019.4.

ЛИТЕРАТУРА

Panda K, Keith Slotkin R. Long-read cDNA Sequencing Enables a “Gene-Like” Transcript Annotation of Arabidopsis Transposable Elements. doi:10.1101/2020.02.20.956714