

НАНОПОРОВОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ РНК МУТАНТА АРАБИДОПСИСА (DDM1) С АКТИВНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ

С.А. Гварамия, П.Ю. Меркулов, М.Р. Омаров, И.В. Киров

ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

Повторяющиеся генетические элементы широко распространены в геномах высших растений и оказывают большое влияние на их эволюцию [1]. Подавляющее большинство из них составляют LTR-ретротранспозоны – мобильные генетические элементы, перемещающиеся в геноме хозяина посредством транскрипции РНК, обратной транскрипции с образованием кДНК и ее вставки в геном.

Последние исследования отмечают наличие экспрессии транспозонов и в стрессовых, и в нормальных условиях, несмотря на то, что их активность подавляется на транскрипционном и пост-транскрипционном уровнях. Такое ингибирование активности ретротранспозонов осложняет изучение их биологии [2]. Однако, для модельного растения, *Arabidopsis thaliana*, были получены различные мутантные линии с нарушением активности систем сайленсинга ретротранспозонов. Один из таких мутантов – *ddm1* (Decreased DNA Methylation I), несущий однонуклеотидную замену в гене *DDM1* и обладающий высокой активностью различных транспозонов. Кроме низкой активности самих ретротранспозонов, существенным препятствием к их изучению является низкое качество сборки их геномных и транскриптомных сиквенсов, что связано с высокой (по сравнению с генами) копийностью в геноме.

Чтобы решить сразу обе проблемы изучения ретротранспозонов, в данной работе нами было проведено прямое секвенирование полиА РНК *ddm1* мутанта на приборе ONT MinION. Нами было получено более 700 000 качественных ридов. С помощью этих и ранее полученных данных для «дикого типа» мы выявили большое количество транскрипционно активных ретротранспозонов и определили их изоформы. В частности, были идентифицированы изоформы известного ретротранспозона EVD [6], [7] с доказанной активностью у *ddm1*. Полученные данные будут использованы для дальнейшего изучения биологии и активности ретротранспозонов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ грант № 20–34–70032).

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Slotkin R.K., Martienssen R.A. (2008) Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Rev. Genet.* 8: 272–285.
- [2] Oberlin S., Sarazin A., Chevalier C., Voinnet O., Mari-Ordonez A. (2017) A genome-wide transcriptome and translatome analysis of *Arabidopsis* transposons identifies a unique and conserved genome expression strategy for Ty1/Copia retroelements. *Genome Res.* 27: 1549–1562.
- [3] Quadrona L., Etcheverry M., Gilly A., Caillieux E., Madoui M.A., Guy J... & Aury J.M. (2019). Transposition favors the generation of large effect mutations that may facilitate rapid adaptation. *Nature communications*, 10(1), 3421.
- [4] Vongs A., Kakutani T., Martienssen R.A., Richards E.J. (1993) *Arabidopsis thaliana* DNA methylation mutants. *Science.* 260: 1926–1928.
- [5] Ozsolak F., Platt A., Jones D., Reifengerger J., Sass L., McInerney P., Thompson J., Bowers J., Jarosz M., Milos P. (2009). Direct RNA sequencing. *Nature.* 461: 814–818.
- [6] Reinders J., Mirouze M., Nicolet J., Paszkowski J. (2009) Parent-of-origin control of transgenerational retrotransposon proliferation in *Arabidopsis*. *EMBO reports.* 14(9): 823–828.
- [7] Tsukahara S., Kobayashi A., Kawabe A., Mathieu O., Miura A., Kakutani T. (2009) Bursts of retrotransposition reproduced in *Arabidopsis*. *Nature.* 461: 423–426.