

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В КАРИОСФЕРЕ ООЦИТА ТРАВЯНОЙ ЛЯГУШКИ

Дикая В.А. (Университет ИТМО), Травина А.О. (Институт цитологии РАН)

Научный руководитель – в.н.с, к.б.н Комиссаров А.С.

(Университет ИТМО)

Транскрипция различных элементов в ооцитах, особенно у амфибий, до сих пор остается малоизученной темой. В ходе созревания ооцитов закладываются основные паттерны, которые влияют на дальнейший ход эмбриогенеза и развитие организма, в особенности остается неизвестной роль повторяющихся элементов. Данное исследование проведено с целью изучить экспрессию повторяющихся последовательностей в ооцитах организма *Rana temporaria*.

Введение. В проведенных ранее исследованиях по сравнению транскриптомов ядра и ооплазмы амфибии *Xenopus laevis* показало ассиметричное распределение транскриптов: в ооплазме преобладали белок кодирующие гены, в нуклеоплазме – транскрипты повторов. Также, в одной из лабораторий было выявлено, что тандемные повторы активно транскрибируются в раннем эмбриогенезе при активации родительского генома и при их ингибировании дальнейшее развитие невозможно, помимо этого, их адгезивность играет важную роль при перемещении хромосомных территорий. Основная гипотеза в данном исследовании - проверить, действительно ли транскрипты распределяются по – разному, основываясь на данных из предыдущих исследований и транскрибируются ли повторяющиеся элементы в оогенезе. В качестве объекта была взята кариосфера ооцита травяной лягушки. Кариосфера – область компактно упакованных хромосом, которая формируется на этапе мейоза для инактивации хромосом, ее очень удобно выделять из окружающей белковой оболочки. Она также образуется и в ооцитах человека, что делает *R.temporaria* более специфичным для исследования организмом, чем *X.laevis*.

Основная часть. Препараты РНК кариосферы были получены ранее методом микродиссекции. Полученная из него кДНК была секвенирована на Illumina HiSeq 2500, было получено 11 552 749 парных ридов. После удаления адаптеров с использованием V2_trim осталось 11 083 753 ридов. После удаления оптических дубликатов с использованием rmdup, осталось 9 525 156 ридов. Очищенные риды были собраны с помощью Trinity в 41121 контигов (27126 без учета изоформ). Собранный транскриптом был проаннотирован с помощью Trinotate (нашлось 22.9% совпадений), EggNOG и BLAST (с NCBI Nucleotide было найдено 9.91% совпадений). Однако, 93.48% несобранных ридов были локализованы в черновой версии сборки генома (NCBI assembly: GCA_009802015.1) с помощью программы STAR. Поиск тандемных и диспергированных повторов осуществлялся с помощью программ Tandem Repeat Finder и RepeatModeller2, дополнительно с использованием языка Python и сайта Sensor.

Выводы. Было найдено 6 повторов (сателлитная ДНК) размерами от 5 до 114 Мб с наиболее высокой частотой встречаемости, только два из которых встречаются в базах данных (S1a и CR1). Высокая экспрессия 2-х неизвестных повторов представлена в ридовых данных полученных из разных лабораторий. На основе теоретических расчетов были построены олигонуклеотиды для картирования методами FISH и RNA – FISH. Наличие повторяющихся последовательностей в кариосфере было подтверждено с помощью молекулярных методов, что доказывает ранее поставленную гипотезу об их экспрессии в ооцитах. Биологическую роль найденных элементов можно будет изучить дальше при условии проведения дополнительных исследований в этой области.

Дикая В.А. (автор)

Подпись

Комиссаров А.С. (научный руководитель)

Подпись