

Характеристика ядрышкового транскриптома клеток HeLa

Научный руководитель – Шеваль Евгений Валерьевич

Коновалова Евгения Владимировна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: konzhenya@mail.ru

Ядрышко – немембранный компартмент клеточного ядра, главными функциями которого является синтез и процессинг рибосомных РНК (рРНК) и сборка прерибосом. Ядрышко формируется ядрышковыми организаторами – участками хромосом, содержащими кластеры рРНК генов [1, 2]. Помимо своей основной функции, ядрышко играет важную роль в поддержании архитектуры генома и его стабильности, а также участвует в регуляции многих клеточных процессов, таких как, дифференцировка и ответ на стрессы различной природы [1, 3]. В связи с многообразием функций ядрышка изучение его транскриптома представляет большой интерес. Целью данной работы является характеристика транскриптома ядрышка на основе RNA-seq данных.

Для анализа была изолирована РНК из фракции ядрышек и тотальная РНК клеток линии HeLa. После рРНК деплеции было проведено секвенирование (RNA-seq) по протоколу Illumina TrueSeq с получением одноконцевых цепь-специфических прочтений. Для каждой фракции было отсеквенировано 2 биологические реплики. В качестве референсного генома, на который проводилось картирование, был выбран T2T-CHM13v2.0, что позволило проанализировать экспрессию с повторяющихся участков генома, в частности, с кластеров рРНК генов.

Характер картирования на референсный геном позволил предположить наличие ДНК-контаминации ядрышковых образцов, которая, скорее всего, была обусловлена особенностями их пробоподготовки. Для того, чтобы компенсировать влияние геномной ДНК на ядрышковые образцы, была проведена коррекция экспрессии генов, подсчитанных при помощи HTSeq по аннотации RefSeq.

Анализ дифференциальной локализации РНК позволил выделить группу РНК, накапливающихся в ядрышке, или ядрышко-ассоциированных РНК (яаРНК), среди которых были широко представлены длинные некодирующие РНК. При этом кодирующие РНК ядрышкового транскриптома обогащены категориями тканеспецифичных рецепторов и транскрипционных факторов.

Согласно одностороннему тесту Фишера, гены яаРНК ассоциированы с ядрышко-ассоциированными доменами и, которые составляют околождрышковый гетерохроматин, а также с неактивными состояниями хроматина согласно разметке ChromHMM. Также гены яаРНК являются более GC-богатыми и содержат больше последовательностей мобильных элементов, чем остальные рассматриваемые гены.

На основании прочтений, картирующихся на не аннотированные участки генома, была осуществлена сборка новых транскриптов. Анализ положения новых транскриптов в геноме показал, что в ядрышковой фракции наиболее широко представлены транскрипты, происходящие из обедненных аннотированными генами локусов.

Таким образом, РНК, составляющие ядрышковый транскриптом, не обладают однозначно определенной функцией и, вероятнее всего, локализуются в ядрышке благодаря своим свойствам. В некоторых случаях пространственная близость гена к ядрышку может определять локализацию кодируемой им РНК, однако это верно не для всех РНК,

накапливающихся в ядрышке. При этом гены яаРНК обладают особенностями с точки зрения своей последовательности.

Источники и литература

- 1) Bersaglieri, C., & Santoro, R. (2019). Genome Organization in and around the Nucleolus. Cells, 8(6), 579.
- 2) Henras, A. K., Plisson-Chastang, C., O'Donohue, M. F., Chakraborty, A., & Gleizes, P. E. (2015). An overview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes. Wiley interdisciplinary reviews. RNA, 6(2), 225–242.
- 3) Lee, T.A., Han, H., Polash, A. et al. The nucleolus is the site for inflammatory RNA decay during infection. Nat Commun 13, 5203 (2022).