

Транскриптомные и эпигенетические изменения, вызванные новыми инсерциями мобильных элементов в геноме *Arabidopsis thaliana*

П.Ю. Меркулов^{1,2,*}, К.Н. Тюрин^{1,2}, А.А. Латыпова^{1,2}, М.А. Серганова^{1,2}, И.В. Киров^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

* paulmerkulov97@gmail.com

Цель: Изучить транскрипционные изменения и ДНК-метилирование в местах экспериментально полученных *de novo* инсерций у растений арабидопсиса дикого типа.

Материалы и методы: Для наследуемой транспозиции элементов *ONSEN* растения *A. thaliana* Col-0 (популяция M0) были выращены *in vitro* с добавлением α -аманитина и зебуларина и подвергнуты тепловому стрессу. Полученная в результате самоопыления популяция M2 была генотипирована по количеству новых инсерций *ONSEN* при помощи qPCR и метода транспозонного дисплея. Для оценки изменений транскриптома и метилирования ДНК было проведено нанопоровое секвенирование ДНК и кДНК независимых линий M2. Биоинформатический анализ транскрипционных изменений проводился с использованием инструментов StringTie, DESeq2. Анализ метилирования проводили с использованием инструментов Dorado (v0.7.2) basecaller has и modkit. Для визуализации результатов использовали пакеты matplotlib, ggplot, methylartist.

Результаты: Путем последовательного самоопыления растений *A. thaliana* M0 после активации мобильных элементов нами была получена популяция растений M2, содержащая в геноме новые наследуемые инсерции элементов семейства *ONSEN*. При генотипировании нами были обнаружены существенные различия в копийности *ONSEN* между растениями M2. Определением местоположения новых инсерций *ONSEN* выявлено значительное преимущество сайтов (18 из 57, p -value = 1.065×10^{-14}), обогащенных вариантом гистона H2A.Z совместно с эпигенетическими метками H3K27me3 и H3K4me2. Кроме того, почти половина инсерций (27 из 57) находилась в гетерозиготном состоянии. При анализе транскрипционных изменений мы обнаружили, что многие гены с новыми инсерциями *ONSEN* не экспрессируются ни в Col-0, ни в линиях M2 в условиях отсутствия стресса, но индуцируются стрессом или экспрессируются на определенных стадиях развития. Для половины транскрибируемых генов мы детектировали интронизацию полноразмерных последовательностей *ONSEN*. Более интересным является обнаружение изменений в альтернативном сплайсинге, где элементы *ONSEN* могут вводить новые сайты старта и терминации транскрипции в условиях отсутствия стресса. При анализе ДНК-метилирования оригинальных копий *ONSEN* мы отсутствием повышенного уровня СНН метилирования для центромерных и перичентромерных *ONSEN*. Кроме того, наибольшие отклонения в паттернах метилирования *ONSEN* были обнаружены у элементов, которые произвели наибольшее количество новых инсерций. При оценке ДНК-метилирования новых инсерций мы обнаружили, что паттерн коррелирует с их позицией в геноме, как и для родительских копий. Дополнительно мы также выявили асимметричное распространение СНН метилирование за пределы границ некоторых новых инсерций.

Выводы: Выявленное нами предпочтение интеграции *ONSEN* в специфические регионы еще раз подтверждает модель, где мобильные элементы могут избегать транспозиции, снижающей приспособленность растений. Применение длинных прочтений позволило точно охарактеризовать корреляцию профиля ДНК-метилирования как оригинальных, так и новых копий с их позицией в геноме. Это подчеркивает существование доминанции специфических регуляторных механизмов транспозонов в каждой из хромосомных областей. Кроме того, высокое ДНК-метилирование новых инсерций *ONSEN* свидетельствует их подавлению механизмами РНК-направленного ДНК-метилирования (англ. RNA-dependent DNA methylation – RdDM). Возникающий при этом высокий уровень метилирования СНГ может объяснить, как значительная часть новых внутригенных инсерций нивелируется процессингом РНК. Однако стоит отметить, что взятая под контроль механизмами RdDM, часть инсерций приводила к возникновению aberrантных транскриптов. В сравнении с тем, как тонко отрегулированы давно закрепленные внутригенные инсерции *A. thaliana*, мы предполагаем, что данное явление может быть исключено в последующих поколениях. В заключении, наша работа подчеркивает, насколько быстро возникает баланс между экспрессией генов и сайленсингом транспозонов, что позволяет значительно смягчить негативные последствия всплеск транспозиции на геном и приспособленность растений в целом.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-74-10055.