

ГЕНОМ: ЗА ПРЕДЕЛАМИ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

УДК 577.2

ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ РНК С ХРОМАТИНОМ

А.А. Миронов, А.А. Гаврилов, А.А. Жарикова, А.А. Галицына, С.В. Разин

МГУ им. М.В. Ломоносова; Институт биологии гена РАН; Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Известно, что с хроматином ассоциировано большое количество разнообразных РНК. Эти РНК играют регуляторную роль, например, ответственны за инактивацию второй копии X-хромосомы (XIST) или импринтинг (KCNQOT1). Кроме того, есть РНК, участвующие в формировании ядерных структур, например MALAT1 и NEAT1. Возникает задача локализации РНК на хроматине. Мы предложили метод, позволяющий провести полногеномный поиск и локализацию РНК на хроматине. Основные этапы заключаются в следующем (многие важные детали опущены). После обработки формальдегидом и выделения ядер РНК лигируется со специальным биотинелированным линкером. Затем ДНК фрагментируется с помощью рестриктазы и лигируется с линкером, к которому уже лигирована РНК. Далее за биотин вытаскиваются конструкторы вида ДНК-линкер-РНК. РНК достраиваются с помощью обратной транскрипции. После ПЦР конструкторы читаются с двух концов. Далее происходит фильтрация, картирование и аннотация полученных прочтений. Первое наблюдение, которое мы сделали это то, что основную массу чтений составляют белок-кодирующие РНК. Более того, большинство контактов составляют близкие контакты. Отсюда можно сделать первый вывод – мы наблюдаем значительный след свежесинтезированной РНК (далее будем называть это полимеразным следом). Кроме того, есть области хроматина, с которыми преимущественно происходят контакты. По-видимому, это неспецифические контакты. Были разработаны методы анализа этих данных, позволяющие уменьшить вклад неспецифических контактов и сократить вклад полимеразного следа. Далее был проведен разнообразный анализ полученных данных. В частности, были подтверждены ранее известные наблюдения о широком распространении на хроматине контактов MALAT1 и NEAT1. Были получены карты контактов XIST и KCNQOT1, соответствующие известным данным. Кроме того, был обнаружен целый ряд ранее не известных РНК, активно контактирующих с хроматином. Были также обнаружены контакты с хроматином микроРНК и PIWI-РНК. Работа сделана на линии клеток K562 и фибробластах. *Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 18-14-00011.*

Ключевые слова: хроматин, РНК.

Литература

1. Choy J., Fullwood M.J.: Deciphering Noncoding RNA and Chromatin Interactions: Multiplex Chromatin Interaction Analysis by Paired-End Tag Sequencing (mChIA-PET). *Methods Mol Biol* (2017) 1468:63-89
2. Li X., Zhou B., Chen L., Gou L.T. et al.: GRID-seq reveals the global RNA-chromatin interactome. *Nat Biotechnol* (2017) 35:940-950