

Могут ли человеческие гены ингибировать ретротранспозицию у *Danio rerio*?

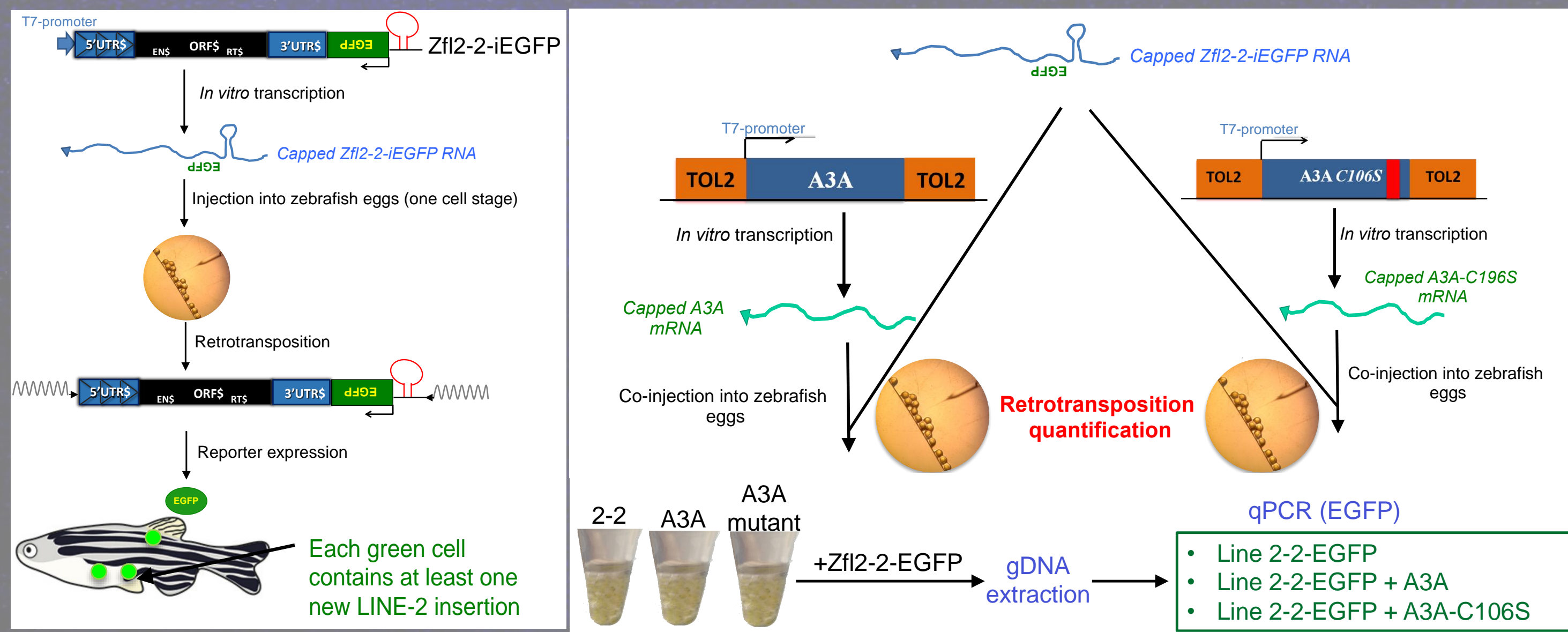
Аннотация

Транспозоны - это мобильные элементы ДНК, которые могут «прыгать» в разные места генома. Транспозоны типа LINE могут перемещаться, используя механизм копирования и вставки с помощью обратной транскриптазы. LINE очень часто встречаются в геномах, включая наш геном и геном модельного организма *Danio rerio* (zebrafish). Их мобильность иногда приводит к мутациям, так как транспозоны способны совершать вставки в кодирующие последовательности. Это может иметь как положительный, так и нейтральный или отрицательный эффект на организм, что делает геномные способы контроля активности транспозонов интересной темой для исследования. Существуют некоторые гены, способные ингибировать ретротранспозоны типа LINE, такие как Аробес3А (А3А), представленный только у гоминид. Поскольку этого гена нет у *Danio rerio*, мы можем использовать данный модельный организм для изучения эффективности и механизмов действия А3А *in vivo*. Для этого мы использовали количественный анализ мобильности LINE-EGFP *in vivo*, сделав инъекции РНК LINE-EGFP в эмбрионы *Danio rerio* вместе с РНК, кодирующей человеческий А3А или мутантный контроль. Наши результаты показали, что А3А может ингибировать мобильность LINE-элементов *Danio rerio*. Мы предполагаем, что А3А является генетическим репрессором ретротранспозиции LINE.

Гипотеза

В существующих работах было показано, что человеческий ген А3А может ингибировать человеческий ретротранспозон LINE-1 *in vitro*. Чтобы понять, может ли А3А ингибировать другие LINE-элементы, в нашей работе мы протестировали, способен ли человеческий А3А ингибировать мобильность ретротранспозонов LINE *Danio rerio*, используя количественный анализ *in vivo*.

Методы

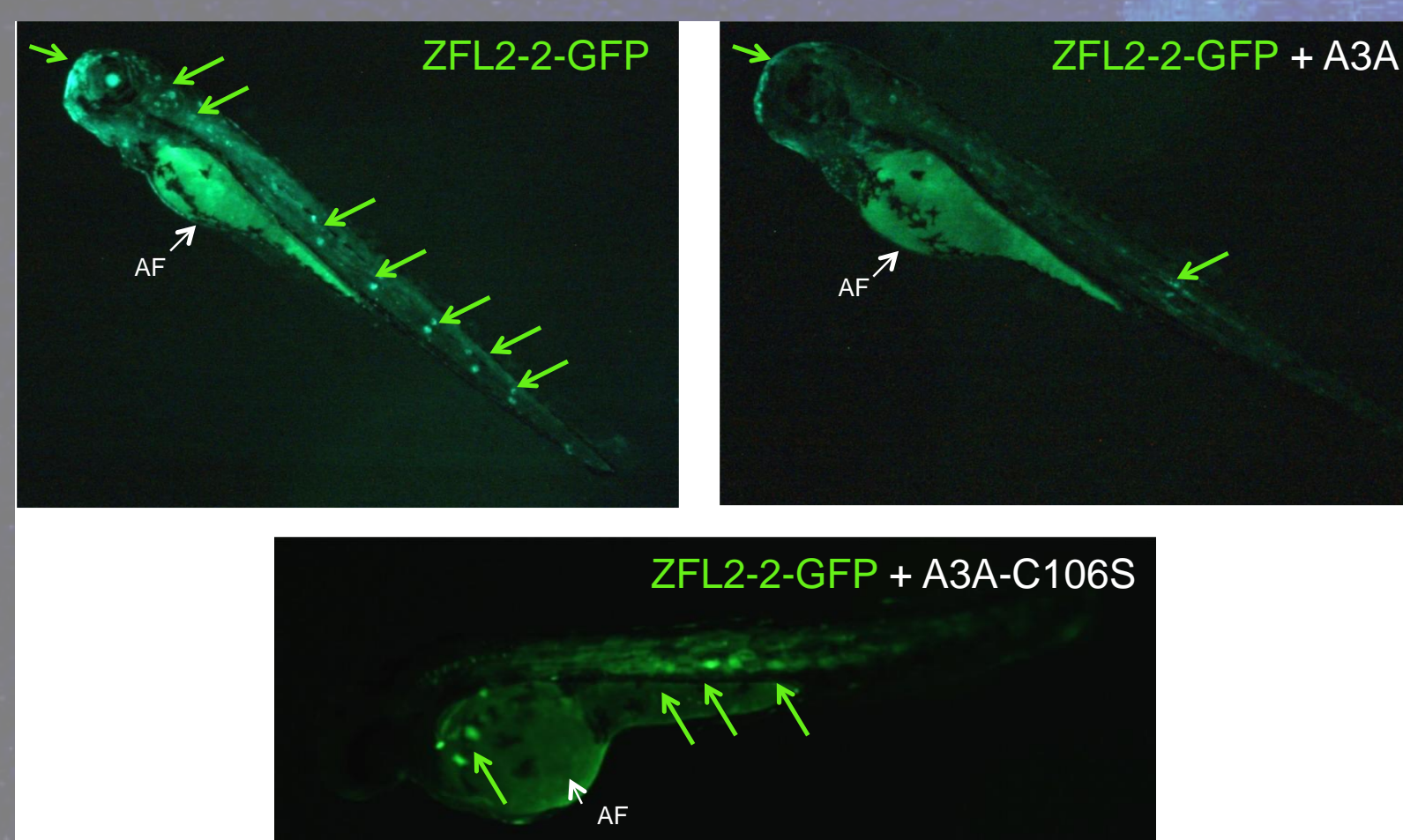


Результаты

Мы разделили икру *Danio rerio* на 3 группы. В каждую группу мы инъектировали один из следующих типов транскрибированной *in vitro* РНК:

- LINE 2-2-EGFP (активный ретротранспозон с геном-репортером EGFP)
- LINE 2-2-EGFP + А3А (с РНК человеческого А3А)
- LINE 2-2-EGFP + А3А-С106S (с РНК мутантного человеческого А3А)

Ниже представлены результаты количественного анализа.



На фотографиях видно, что мы зафиксировали меньшее количество клеток, экспрессирующих EGFP в группе организмов, инъектированных РНК А3А. То есть, наши данные показывают, что А3А может ингибировать мобильность LINE-2 у *Danio rerio*.

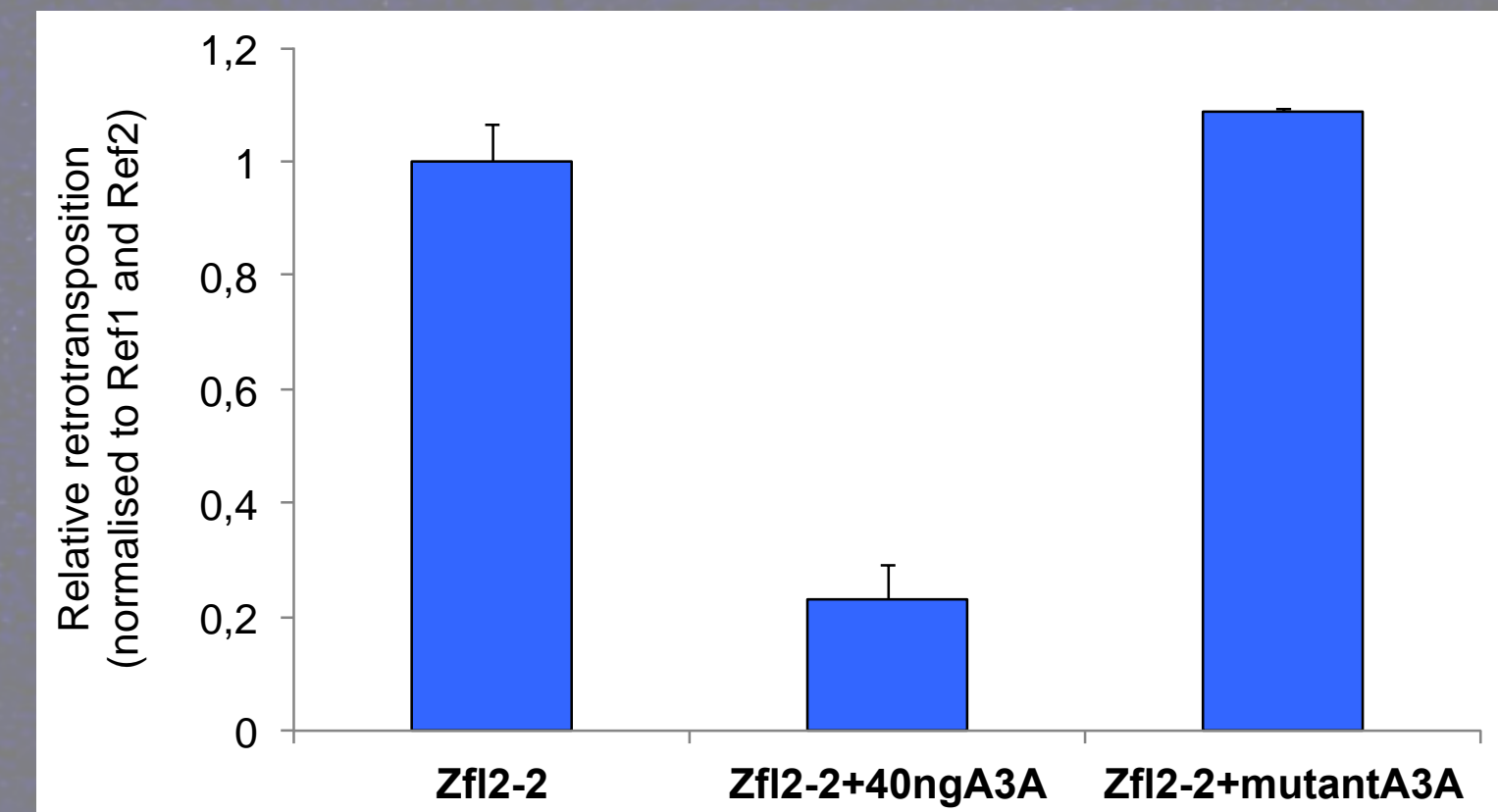
Благодарности

Мы благодарим Сергея Моргунова за фотографии эмбрионов *Danio rerio*, представленные в данном постере и виварий CRG за предоставленную нам икру *Danio rerio* дикого типа, сотрудников лаборатории Кристины Пужадес за оказанную помощь с инъекциями РНК. Также мы выражаем свою благодарность за поддержку нашего фонда Zimic Foundation.



Александра Чурганова, Фернандо Гастон, Тамара Лосева, Марта Масрамон, Олеся Пастухова, Арсений Пелевин, Габриэлла Волкова, Мила Зудина, Ева Вильчез, Нурия Руис, Томас Вилдман, Хосе Луис Гарсиа.

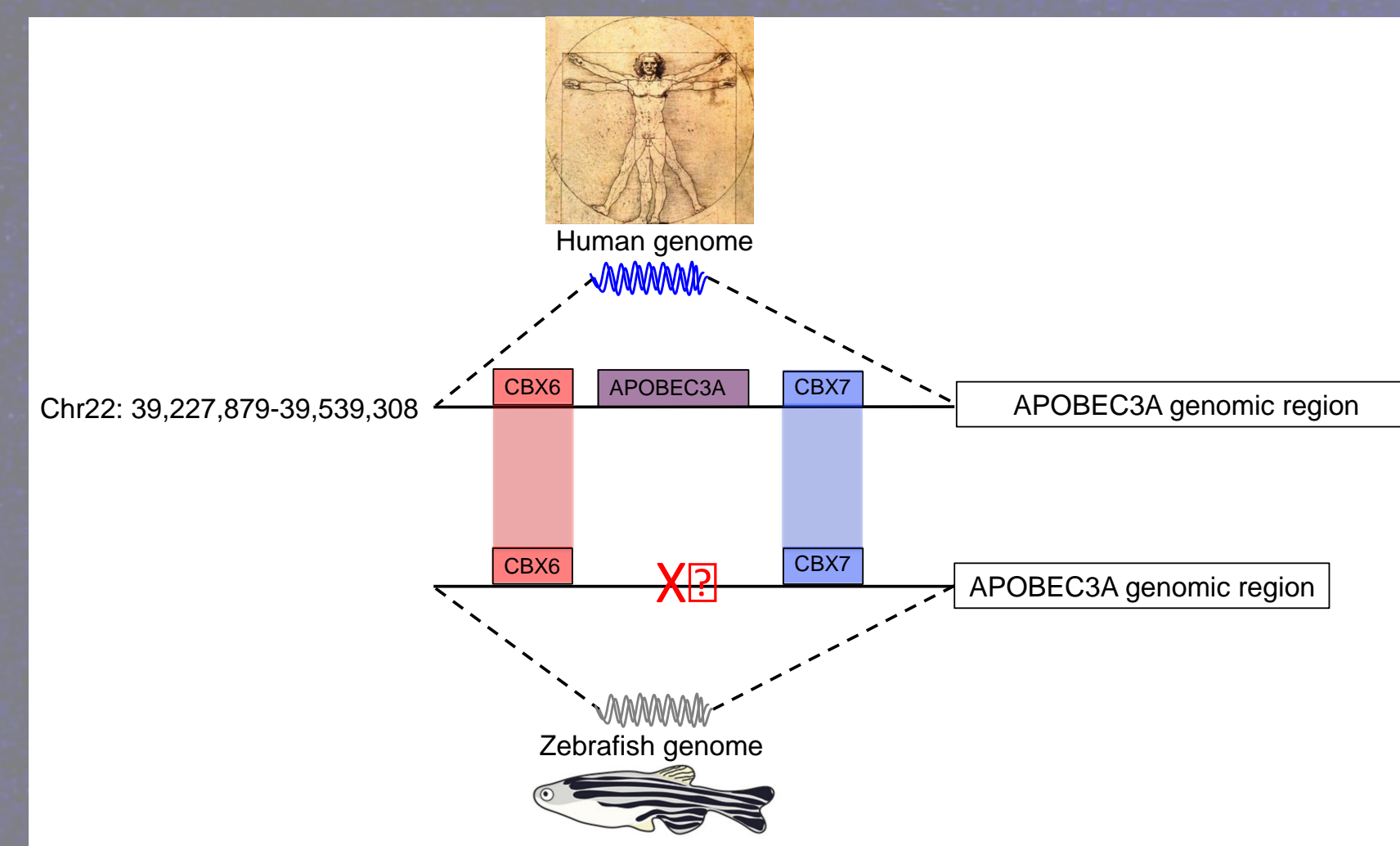
Чтобы оценить уровень мобильности LINE-2, мы экстрагировали геномную ДНК из трех групп инъектированных эмбрионов и провели количественную ПЦР, с помощью чего определили число вставленных копий EGFP. В этом количественном анализе каждая копия EGFP соответствует одной инсерции.



Как и ожидалось, график показывает, что инъектированные А3А РНК эмбрионы имеют меньшее число копий EGFP. Фактически, мы видим, что количество инсерций LINE-2 в пять раз меньше при наличии А3А. В качестве контроля РНК мутантного А3А не произвела никакого эффекта на количество вставок EGFP в геноме.

Обсуждение

Ген Аробес3А ингибирует ретротранспозицию в человеческих клетках, а также при введении его в эмбрионы *Danio rerio*. А3А не представлен у нашего модельного организма, хотя геномы человека и *Danio rerio* идентичны на 40%.



Отсутствие этого гена у *Danio rerio* может означать, что данный организм обычно имеет больше инсерций LINE-элементов, чем человек.

Другим важным аспектом нашего исследования является тот факт, что А3А может эффективно ингибировать ретротранспозицию *in vivo*. Таким образом, мы планируем создать трансгенную *Danio rerio*, экспрессирующую А3А, чтобы снизить мобильность LINE-элемента *in vivo* и изучить эффект ретротранспозиций в мозге *Danio rerio*.

Выводы

- Человеческий ген Аробес3А способен ингибировать ретротранспозиции LINE-2 у *Danio rerio* при количественном анализе мобильности LINE-элемента *in vivo*.
- Ингибирование ретротранспозиции LINE-2 геном А3А требует его цитидиндеаминазной активности, поэтому мутантный А3А не способен ингибировать мобильность LINE-2.В.



School of molecular and theoretical biology