Mother of all LIMEs? Evidence of extreme genome conservation obtained from organellar genomes

Мать всех LIME-ов? Свидетельства экстремальной геномной консервативности, полученные из геномов органелл

Authors: Baranov Oleg, Baranova Darya, **Bieliukas Anusha**, Bortnikova Anna, Kaminskaya Elizaveta, Kaurov Rick, **Maksyuta Sofya**, Mashkov Georgy, Katerina Nuzhdina, Daria Shafranskaya, **Masha Selifanova**, Dmitry Korkin

Summary

Problems

→ Are there LIME's in mitochondria and chloroplast genomes?
→ Есть ли LIME-ы в геномах митохондрий и хлоропластов?
→ Can LIME's found in mitochondria and chloroplasts also in other species?
→ Могут ли они быть найдены в геномах других организмов?

Results

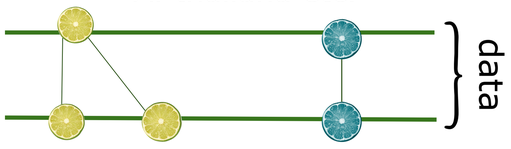
→ Organellar LIMEs are universally conserved in several in tRNA, miRNA, lnkRNA;
→ LIME-ы, найденные в органеллах, консервативны в РНК эукариотов, бактерий, архей и вирусов (тРНК, миРНК, днРНК) ;
→ In spite of this fact they are not conserved in organelles.
→ Несмотря на это, они не консервативны в органеллах.

Background

Ancient LIMEs: shared betwen monocots and eudicots genomes
Древние LIME-ы: общие для геномов однодольных и двудольных

Eudicots-monocots LIMEs dataset:

Eudicots (двудольные)
A. thaliana etc.



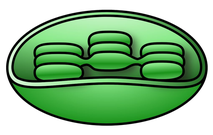
Monocots (однодольные)
Z. mays etc.

LIME: Long Identical Multispecies Elements with ≤ 100 nucleotides that maintain 100% sequence identity

LIME: длинные идентичные межвидовые элементы - около 100 (или меньше) нуклеотидов, 100% совпадающих у группы организмов

- **tRNA:** contents and complexity of it vary among domains:
  Eukarya > Bacteria> Archaea;
  - **тРНК:** содержание и сложность варьируются между доменами:
    эукариоты > бактерии > археи;
- **Derived tRNA fragments:** short molecules that emerge after the mature tRNA cleaves;
  - **Производные тРНК:** короткие молекулы, образующиеся после расщепления зрелой тРНК;
- **miRNA:** small sequences in virus, animals and plants that are involved in gene regulation and mRNA silencing;
  - **миРНК:** короткие последовательности в вирусах, животных и растениях, включенные в регуляцию генов и сайленсинг мРНК;
- **NUMT:** "*nuclear* mitochondrial DNA" (ядерно-митохондриальная ДНК)
- **NUPT:** "*nuclear* chloroplast DNA" (ядерная ДНК хлоропласта)

Are they in organelles?
Есть ли они в органеллах?



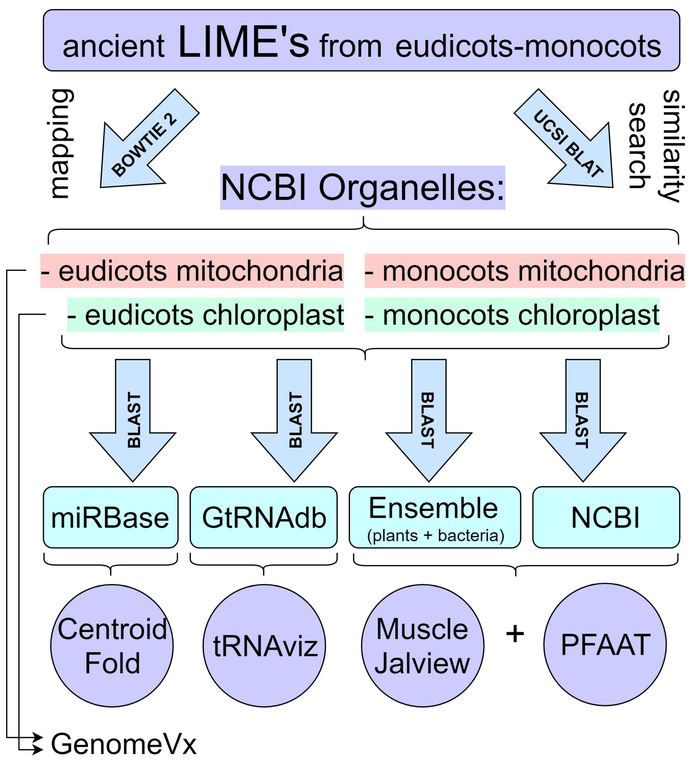
Mitochondrial DNA:
- 1000 kbp
- It can be circular or linear

ДНК Митохондрии:
- 1-1000 kbp.
- Кольцевая или линейная

Chloroplast DNA:
- 120-170 kbp;
- Contain rRNA and tRNA and are highly conserved

ДНК хлоропласта:
120-170 kbp
- содержат высококонсеративные рРНК и тРНК.

Methods



1. Mapping LIMEs on oganelle genomes
   Картирование LIME-ов на геномы органелл
   UCSI BLAT, BOWTIE 2;
2. Exploration of LIMEs in databases
   Изучение находок в базах данных
   NCBI BLAST, Ensembl, GtRNAdb, miRBase;
3. Visualisation of obtained results
   Визуализация полученных результатов
   CentroidFold, tRNAviz, Muscle Jalview, PFAAT.

Results

Statistics

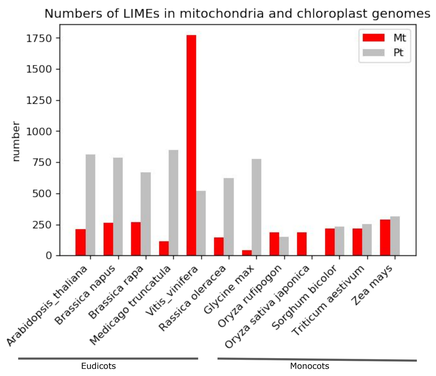
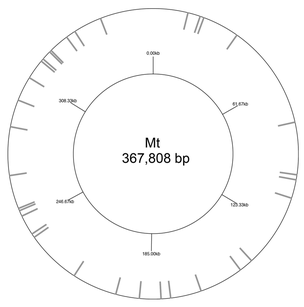


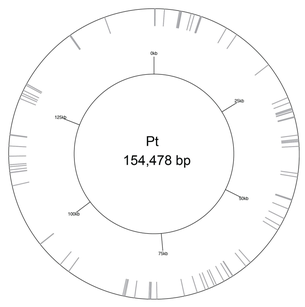
Fig. 1 Complete number of hits from bowtie output for eudicots and monocots organelles.

- Mapped eudicots-monocots ancient LIMEs on eudicots and monocots organellar genomes;
  - Картированы древние LIME-ы;
- BLAT output gave no hits;
  - BLAT не показал находок;
- Decided to make Bowtie 2 our default browser because of the inadequacy of BLAT for our purpose.
  - Bowtie 2 - основной инструмент, так как BLAT не подходит для наших целей.

Plant LIMEs in organellar genomes



- Mapped LIMEs on
- mitochondria cicular chromosome
  Vertical dashes correspond to
- LIME clusters
- Картированные LIME-ы на кольцевой хромосоме митохондрии
- Вертикальные отметки соответствуют кластерам LIME-ов



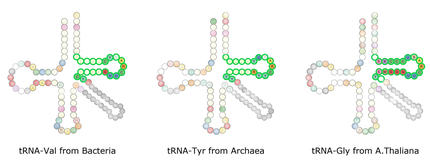
- Mapped LIMEs on
- chromosome cicular chromosome
  Vertical dashes correspond to
- LIME clusters
- Картированные LIME-ы на кольцевой хромосоме хлоропласта
- Вертикальные отметки соответствуют кластерам LIME-ов

What we found

1. Complex LIMEs

	Eudicots (двудольные)	Monocots (однодольные)
Mitochondria	cascade - Tyr-tRNA Gly-tRNA Thr-tRNA Leu-tRNA	cascade - Tyr-tRNA Gly-tRNA Thr-tRNA Ile-tRNA
Chloroplast	cascade - Tyr-tRNA Gly-tRNA	cascade - Tyr-tRNA

Fig. X Types of tRNA found in organelles of eudicots and monocots



LIME in miRNA (and not only)

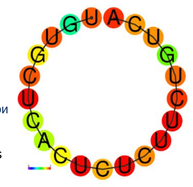
- Mice: B4galt5 protein (related with galactose-pathway regulation);
  - Мышь: белок B4galt5 (регуляция пути галактозы);
- Fish: neuronal growth and hydrolytic catabolism;
  - Рыба: рост нейронов и гидролитический катаболизм;
- Protists: in plasmodium, hydrolase realised during the infection process;
  - Протисты: плазмодии выделяют в среду гидролазы при инфицировании;
- Plants: *
- Non-significant: human (CTCF binding site), viruses and bacteria (coding regions).
  - Не значимо: люди (сайт связывания CTCF), вирусы и бактерии (кодирующие участки).

* Plants
Other functions:
- Seed development and maturation;
- Transition to germination;
- Regulating stress-related pathways;
- Branch angle;
- miRNA in lncRNA.

Другие функции:
- Развитие и созревание семян;
- Переход к прорастанию;
- Регуляция ответа на стресс;
- Углы ветвления;
- микро РНК и длинные некодирующие РНК.

Predicted fold of miRNA 156

2. Simple LIMEs



Predicted fold of secondary structure

Four main patterns of simple LIMEs:

ATATATATATATATAGTTG
- AT/TA-rep + %-smth

AAGTATATATATATATATA
- %-smth + AT/TA-rep

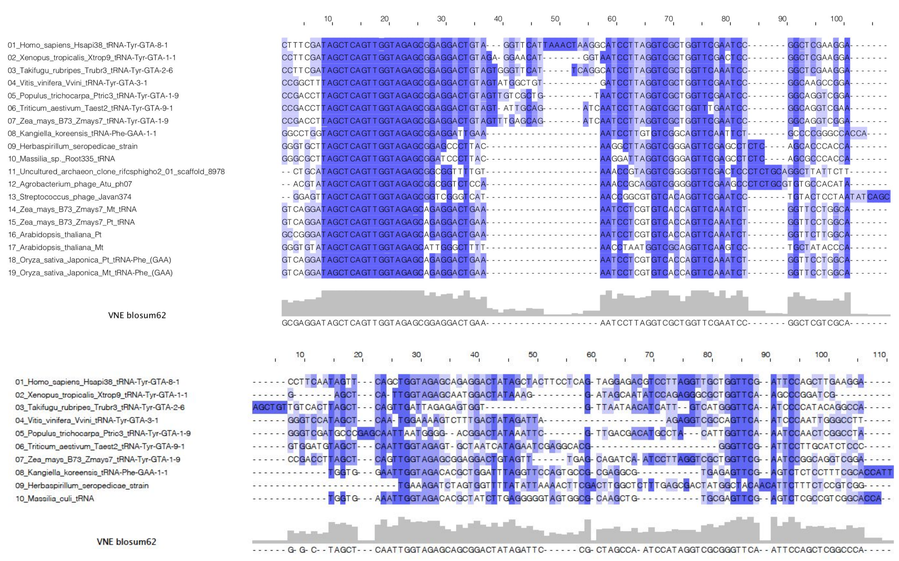
TTTTCCTTTTTTCTTTTTTT
- random C/T alternation

GAAGAAAAGAAGAAGAAAA
- G(A•x) repeats

Main function:

LIME in miRNA structure in Ricinus and Solanum lycoper

Universally conserved tRNA fragment



- Organellar LIMEs found conserved across all kingdoms of life correspond to a T-loop of a Tyr-GTA tRNA (top) and represents a striking conservation of this tRNA fragment
- A tRNA corresponding to the same residue but different codon (bottom) presents no visible conservation of its sequence
- LIME-ы найденные в геномах органелл оказались экстремально консервативными во всех сонвных доменах и вирусах
- Они были найдены в области тРНК которая сооотвествует Т-петле Tyr-GTA РНК (рисунок выше) и представляет удивительную консервативность этой области
- тРНК которое соотвествует той же аминокислоте но другому кодону (рисунок ниже) не имеет похожей консервативности в своей последовательности

Conclusions

- LIMEs were found in organellar genomes
  - LIME-ы были найдены в геномах органелл
- These hits are conserved in eukaryotic, bacterial, archaeal and virus genomes, while non-conserved in organelles' genomes
  - Находки консервативны в геномах эукариотов, бактерий, архей и вирусов, но не консервативны в геномах органелл
- LIMEs could be classified into two groups: simple and complex, simple LIMEs aren't studied yet - we only can see different patterns in them
  - LIME-ы могут быть разделены на две группы: простые и комплексные, простые LIME-ы еще не изучены - мы можем лишь обозначить различные паттерны в них
- Complex LIMEs are related with different types of RNA (tRNA - T-arm, miRNA, lncRNA)
  - Комплексные LIME-ы ассоциированы с разными типами РНК (тРНК - Т-петля, миРНК, днРНК)
- The miRNA organellar LIME has various functions among the species and it has been found in coding regions
  - миРНК, содержащая LIME из геномов органелл, имеет множество функций у разных видов, также была найдена в кодирующих регионах.

Future directions

- Figure out whether some of nuclear LIMEs are NUMTs/NUPTs, if yes - are they present in organelle genomes;
  - Выяснить, являются ли ядерные LIME-ы NUMT-ами/NUPT-ами, если да - представлены ли они в геномах органелл;
- Make a comprehensive analysis of tRNA-related LIMEs when compared with all tRNAs;
  - Сделать сравнительный анализ тРНК, содержащих LIME-ы, со всеми прочими;
- Conclude how short can LIMEs be to be considered a non-random coincidence;
  - Выяснить, насколько коротким может быть LIME, чтобы считаться не случайным совпадением;
- Understand which functions these LIMEs have in viruses and how they are related to other species.
  - Понять, какие функции имеют эти LIME-ы в вирусах и как они соотносятся с другими видами.

References

1. Isenbarger, T.A., Carr, C.E., Johnson, S.S., Finney, M., Church, G.M., Gilbert, W., Zuber, M.T. and Ruvkun, G., 2008. The most conserved genome segments for life detection on Earth and other planets. Origins of Life and Evolution of Biospheres, 38(6), pp.517-533.
2. Huang, Daiqing, Chushin Koh, J. Allan Feurtado, Edward WT Tsang, and Adrian J. Cutler. "MicroRNAs and their putative targets in Brassica napus seed maturation." BMC genomics 14, no. 1 (2013): 140.
3. Reneker J, et al. Long identical multispecies elements in plant and animal genomes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 109(19):E1183-91.
4. Bejerano, G., Pheasant, M., Makunin, I., Stephen, S., Kent, W. J., Mattick, J. S., & Haussler, D. (2004). Ultraconserved elements in the human genome. Science, 304(5675), 1321-1325.
5. Schimmel, Paul. "The emerging complexity of the tRNA world: mammalian tRNAs beyond protein synthesis." *Nature reviews Molecular cell biology*