

Молекулярные механизмы ложных генетических взаимодействий в библиотеке нокаутных дрожжевых штаммов

Научный руководитель – Дмитриев Сергей Евгеньевич

Егоров Артём Арменович

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, Кафедра медицинской физики, Москва, Россия

E-mail: artyom.egorov@belozersky.msu.ru

Гаплоидный геном дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* содержит около 6000 генов. Два десятилетия назад в рамках программы SGDP (англ. Saccharomyces Genome Deletion Project) была создана библиотека нокаутных штаммов. Каждый ген в этой библиотеке был заменен кассетой KanMX, содержащей ген устойчивости к антибиотику G418 под контролем сильного TEF-промотора. Терминатор TEF, а также соседние последовательности, в том числе искусственные уникальные теги и участки из исходного вектора, вставляются в хромосому вместе с геном KanMX. Многие гены дрожжей были функционально охарактеризованы путём анализа фенотипа и генетических взаимодействий соответствующих нокаутных штаммов. Тем не менее, в ходе процедуры производства нокаутного штамма генетический локус претерпевает сильные изменения. Поскольку дрожжи имеют компактный геном с очень короткими расстояниями между генами, введение сильно экспрессирующейся генетической кассеты, в принципе, может существенно изменить профиль транскрипции прилегающих областей, влияя на экспрессию соседних генов. Ранее было проведено исследование влияния соседних генов (англ. neighboring gene effect, NGE) на генетические взаимодействия. Однако молекулярные механизмы такого воздействия никогда не анализировались.

В данной работе, используя данные рибосомного профайлинга для нескольких десятков нокаутных штаммов *S. cerevisiae*, мы проанализировали транскрипционные и трансляционные изменения, индуцированные кассетой KanMX в модифицированных геномных локусах. Во многих случаях мы обнаружили существенные изменения в уровне экспрессии соседних генов, происходящие как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции. Эти изменения включают смещение сайтов начала транскрипции и активацию альтернативных сайтов полиаденилирования. Наиболее существенные изменения наблюдались, когда удаляемый ген располагался в направлении "голова к голове" (5'-конец к 5'-концу) относительно соседнего гена. В этом случае смещение старта транскрипции соседнего гена в 5'-концевом направлении удлиняло 5'-нетранслируемую область мРНК и влияло на её трансляцию через появление новых стартовых кодонов, предшествующих основному. При расположении генов "хвост к хвосту" (3'-конец к 3'-концу) была обнаружена активация альтернативных сайтов полиаденилирования в транскрипте соседнего гена и, как следствие, укорочение 3'-нетранслируемой области.

Наши наблюдения описывают взаимодействие кассеты KanMX с соседними генами и дают представление о молекулярных механизмах, вовлеченных в феномен NGE. Мы предполагаем, что во многих случаях NGE нокаутных штаммов вызван дефектами на трансляционном уровне, аналогичным тем, которые были выявлены в нашем исследовании. Это следует учитывать при использовании коллекции дрожжевых нокаутов для функциональной аннотации генов и анализа генетических взаимодействий, а также при интерпретации

результатов, основанных на аналогичных методах манипулирования генами в других модельных организмах.