

EMBO | EMBL



The Non-Coding Genome

EMBO | EMBL
Symposium

13–16 September 2017
Heidelberg | Germany
EMBL Advanced Training Centre

SPEAKERS

Asifa Ahktar
Max Planck Institute of
Immunobiology and Epigenetics,
Germany

David P. Bartel
HHMI/MIT/Whitehead Institute,
USA

Irene Bozzoni
Sapienza University, Italy

Julius Brennecke
IMBA – Institute of Molecular
Biotechnology, Austria

Pascale Cossart
Institut Pasteur, France

Caroline Dean
John Innes Centre, Norwich
Research Park, UK

Shiv Grewal
National Institutes of
Health/National Cancer Institute,
USA

Mitchell Guttman
California Institute of Technology,
USA

Greg Hannon
Cancer Research UK
Cambridge Institute, UK

Elisa Izaurralde
Max Planck Institute for
Developmental Biology, Germany

Steve Jacobsen
University of California,
Los Angeles, USA

Sebastian Kadener
The Hebrew University of
Jerusalem, Israel

V. Narry Kim
Seoul National University,
South Korea

Daniel A. Lim
University of California,
San Francisco, USA

Ian J. MacRae
The Scripps Research Institute,
USA

Joshua Mendell
The University of Texas Southwestern
Medical Center, USA

Dónal O'Carroll
MRC Centre for
Regenerative Medicine,
The University of Edinburgh, UK

John L. Rinn
Harvard Medical School, USA

Mikiko C. Siomi
University of Tokyo, Japan

Marja Timmermans
University of Tübingen, Germany

John van der Oost
Wageningen University,
The Netherlands

Jörg Vogel
Würzburg University,
Germany

ABSTRACT SUBMISSION
DEADLINE

21 JUNE 2017

REGISTRATION DEADLINE

2 AUGUST 2017

ORGANISERS

David P. Bartel
HHMI/MIT/Whitehead Institute, USA

Elisa Izaurralde
Max Planck Institute for Developmental Biology, Germany

John L. Rinn
Harvard Medical School, USA

Jörg Vogel
Würzburg University, Germany

Additional speakers will be
selected from abstracts.

www.embo-embl-symposia.org

#EESNoncoding

CONTACT events@embl.de

No 13/09/2017 līdz 16/09/2017 esmu piedalījies starptautiskajā simpozijā “Nekodējošais genoms” („*The Non-Coding Genome*”) par nekodējošo ribonukleīnskābju (RNS) pētījumiem. Simpozijš notika Eiropas Molekulārās Bioloģijas Laboratoriju mācību centrā (EMBL-*The European Molecular Biology Laboratory Advanced Training Centre*), Vācijā (Heidelberga). Referāti tika prezentēti sekojošās tematiskajās sesijās: nekodējošās RNS prokariotos; miRNS biogēnēze, funkcijas un mehānismi; siRNS un piRNS; transkripcionāla gēnu inhibēšana; garās nekodējošās RNS (lncRNS) un cirkulārā RNS. Simpozijā izskanēja vairāk nekā 40 referātu un 200 stenda referātu. Dalībnieki prezentēja datus par cilvēka un saistīto modeļorganismu genoma pētījumiem, bioinformātisko un praktisko metožu izstrādi, gēnu darbības molekulārās regulācijas izpēti, bija pārstāvēti arī augu pētījumi. Konferencē uzstājās ar postera prezentāciju “*Investigation of transposable element derived polymorphisms in the Scots pine (Pinus sylvestris L.) genome*” (līdzautori: Angelika Voronova, Dainis Ruņģis).

Sesijā par nekodējošās RNS prokariotos referēja par CRISPR-Cas sistēmas daudzveidību prokariotos, tās funkcionēšanas mehānismiem un saistītām jaunām tehnoloģijām. CRISPR-Cas ir baktēriju un arheju imunitātes sistēma, kas izmanto RNS interferences mehānismu lai bloķētu vīrusu nukleīnskābes, un šo mehānismu pētnieki iemācījušies izmantot priekš precīzas genoma labošanas. Daži vīrusi un retrotranspozoni kodē Cas9 inhibītorus (anti-CRISPR (Arc) proteīnus), kas savukārt spēj apturēt baktērijas imunitātes atbildi. Šos proteīnus ir iespējams izmantot genomisko lokusu piesaistes saitu pētījumiem, proteīnu 3D struktūras pētījumiem eikariotu kodolā *in vivo*. Piemēram, izdevies identificēt 192 proteīnus, kas ņem dalību telomēru uzturēšanā. Nekodējošā RNS transkripti sastāda lielu daļu no ekspresētām sakvencēm eikariotu šūnās, saistoties ar dažādiem proteīnu kompleksiem un ar gēnus kodējošām RNS molekulām, tie ietekmē gēnu transkriptu daudzumu līdz ar to proteīnu translāciju. Ap 75% no garām nekodējošām RNS molekulām cilvēku genomā veidojās no transponējamo elementu sekvencēm. Nekodējošo RNS darbība pārsvarā ir specifiska konkrētiem audiem un šūnu tipiem, kas paver iespēju šo molekulu izmantošanai terapijā. Tomēr nekodējošo RNS izpēte ir sarežģīta dēļ to zemāka ekspresijas līmeņa un vienotās struktūras defīnēšanas komplikētības. Šo molekulu izpēte līdzinās kodējošo gēnu pētījumiem un to darbību pierāda ar mutaģenēzi jeb nekodējošā lokusa izslēgšanu un turpmāku fenotipisko vai gēnu darbības izmaiņu konstatēšanu. Atšķirībā no gēniem, nekodējošo lokusu izslēgšana dzīvajā organismā var būt kompensēta, bet fenotipiskās pazīmes ne vienmēr ir viegli konstatējamas. Tomēr šo lokusu “izslēgšana” noved pie nozīmīgām gēnu darbības izmaiņām, kas var izpausties noteiktajos apstākļos. Piemēram, *CHARME* ir cilvēku lncRNS, kurš ir saistīts ar kardiomiopātijām, bet šī lokusa izslēgšana pelēm būtiski samazina dzīvildzi bez citām fenotipiskām ietekmēm. Embrionālo cilmes šūnu lncRNS *CYRANO* stabili ekspresējoties uztur cilmes šūnu pašatjaunosanas spējas. *CYRANO* veicina specifisku miR-7 degradēšanu un samazina cirkulāra RNS *Cdr1as* sintēzi, tādā veidā tika parādīts, ka lncRNS mijiedarbojās ar citiem funkcionāli nozīmīgiem nekodējošiem RNS. Tika atrasta būtiska saistība trijiem lncRNS ar leukēmiju, šo sekvenču degradēšana būtiski ietekmēja MYC proteīnu līmeni, kas ir viens no nozīmīgiem gēnu

transkripcijas faktoriem un šī proteīna regulācijas traucējumi izraisa onkoloģiskas saslimšanas. Izslēdzot peles piRNS producējošu *piG* lokusu, kurš tiek specifiski ekspresēts spermatogēnēzes procesā, netika atrastas īpašas fenotipiskas izmaiņas, tomēr šo peļu fertilitāte samazinājās no 80% līdz 4 %, kas liecina par lokusa nozīmīgumu. LncRNS *NORAD* ekspresija ir neparasti konservatīva un universāla eikariotu šūnām, tā piesaistās *PUMILIO* proteīniem tikai *in vivo*, aizkavējot proteīna darbību. *NORAD* lokusa izslēgšana veicina *PUMILIO* proteīnu hiperaktivitāti, kas savukārt veicina aneuploīdo šūnu veidošanos gan cilvēka, gan peles audos.

Nekodējošās RNS ņem dalību heterohromatīna veidošanās procesos, kas tiek plaši pētīti arī augu genomos. Uz *Arabidopsis* genoma tika parādīts, ka RNS-atkarīga gēnu metilācija var sākties ne tikai gēna promoteru rajonā, bet arī gēna vidū (gene body), ja tas satur transponējamo elementu vai tā daļas intronā, pie kam metilācija izplešas uz abām pusēm. Interesants Dr. Marja Timmermans pētījums par lapu polaritātes attīstību parādīja, ka lapas pretējās pusēs tiek ekspresēti dažādi gēni, bet mikro RNS *miR-166* un siRNS regulē šo ekspresijas līmeni pretpolos un nosaka lapas formas veidošanos. Pie kam, tika pierādīts, ka nekodējošās RNS darbojas kā signālmolekulas un spēj pārvietoties no augu šūnas šūnā, veidojot noteikto gradientu, kas arī nosaka dažādu gēnu darbību. *FRHI* ir mikroRNS, kura pārprodukcija samazina rizoīdu skaitu un garumu sūnās. Prof. Caroline Dean referēja par vernilizācijā iesaistītā ziedēšanu bloķējošā gēna *FLC* regulēšanas mehānismu. Viens no regulātoriem ir šī gēna apvērsta transkripts lncRNS *COOLAIR*, mutācijas intronu rajonā noved pie dažādas *FLC* gēna regulācijas un nepieciešamās vernilizācijas ilguma.

Nekodējošās RNS mehānismu pētījumiem tiek attīstītas jaunas tehnoloģijas, tādas kā CRISPR-Cas, CLIP – proteīnu piesaistes vietu analīze, RAP –RNS:proteīnu kompleksu analīzei, dažādas sekvenēšanas metodes. Izmantojot *Smart-seq* sekvenēšanas tehnoloģiju un jaunu bioinformātisku analīzes algoritmu, auga modeļorganismam *Arabidopsis thaliana* (kurš tika sekvenēts viens no pirmajiem un tam ir relatīvi mazs genoms) tika pāranalizēti visi genoma transkripti, nosakot precīzu transkripcijas uzsākšanas un beigu pozīciju. Pat tik mazam un izpētītam genomam tika atrastas daudzas kļūdas, identificēti jauni tiešā un apvērsta virziena transkripti.