

Архитектура промоторов планарии *Dugesia japonica*

Reza Bagherzadeh^{1,2,3,5}, Elena Minkina⁷, Ruslan Deviatiiarov⁷, Ali Sharifi-Zarchi^{3,4},
Oleg Gusev^{6,7}, Hossein Bahrvand^{3,5}, Kiyokazu Agata^{1,2}

¹ Department of Biophysics, Kyoto University, Kyoto, Japan

² Department of Life Science, Gakushuin University, Tokyo, Japan

³ Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center,
Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

⁴ Department of Computer Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

⁵ Department of Developmental Biology, University of Science and Culture, Tehran,
Iran

⁶ Division of Genomic Technologies, RIKEN Center for Life Science Technologies
(CLST), Yokohama, Japan

⁷ Extreme Biology Laboratory, Kazan Federal University, Russia

* rezabagherzadeh.email@gmail.com

Аннотация. Взрослые стволовые клетки являются недифференцированными клетками и необходимы для регенерации тканей. Регуляция транскрипции и конформационные изменения хроматина являются фундаментальными механизмами, участвующими в поддержании плюрипотентности и дифференцировки клеток. Однако для популярных животных моделей, используемых в исследованиях регенерации, полногеномная характеристика промоторов на данный момент отсутствует. Данная работа ставит своей целью определение промоторов у планарии *Dugesia japonica*, являющейся модельным организмом во многих исследованиях механизмов регенерации.

Ключевые слова: регенерация, стволовые клетки, *Dugesia japonica*, CAGE.

Транскрипция и изменение конформации хроматина являются фундаментальным механизмом, который поддерживает плюрипотентность, дифференцировку и установление специфичных для клеточного типа профилей экспрессии генов. Непаразитические плоские черви, такие как *Dugesia japonica*, обладают большим количеством взрослых стволовых клеток, необластов [1], что делает планарий популярной моделью для изучения механизмов регенерации. Подобные исследования зависят от точной аннотации сайтов начала транскрипции. Тем не менее, всесторонние полногеномные исследования регуляторных элементов генома в контексте регенеративных способностей планарий на данный момент отсутствуют.

Целью работы была характеристика цис-регуляторного ландшафта у *Dugesia japonica*, с использованием кэп-анализа экспрессии генов (CAGE). Данные CAGE были получены из РНК двух популяций клеток *Dugesia japonica* (пролиферативные клетки X1, постмитотические дифференцированные клетки Xis), выделенных с использованием метода сортировки клеток с активированной флуоресценцией (fluorescence-activated cell sorting, FACS) [2]. Очистка от рРНК и картирование ридов на геном *D. japonica* были проведены с помощью программ TagDust2 и bwa, сайты старта тэгов CAGE (CTSS) были определены с использованием скриптов RIKEN Promoter Pipeline [3]. Консенсусные регионы инициации транскрипции определялись с помощью пакета R CAGEr. Поиск дифференциально экспрессируемых промоторов был выполнен с помощью пакета R edgeR. Поиск мотивов был выполнен с использованием MEME Suite tool.

Идентифицированные промоторы были использованы для создания первого в своем роде Атласа промоторов планарий. Анализ формы промоторов и профилей экспрессии выявил и некоторые особенности регуляторных участков и случаи альтернативного использования планарных промоторов. Сравнение активности промоторов в вышеупомянутых клеточных популяциях позволило идентифицировать группы дифференциально экспрессируемых генов и регуляторные мотивы, дающие представление о особенностях регуляции и дифференцировки стволовых клеток. Атлас промоторов *Dugesia japonica* представляет собой ценный ресурс для сравнения цис-регуляторных регионов у многоклеточных, а также источник фундаментальных данных для исследований транскрипции, генной регуляции и эпигенетики.

Список литературы

1. Fraguas S., Umesono Y., Agata K., Cebrià F. Analyzing pERK Activation During Planarian Regeneration. In: Jimenez G. (eds) ERK Signaling. Methods in Molecular Biology, vol 1487. Humana Press, New York, NY (2017)
2. Hayashi T., Agata K. A Subtractive FACS Method for Isolation of Planarian Stem Cells and Neural Cells. In: Rink J. (eds) Planarian Regeneration. Methods in Molecular Biology, vol 1774. Humana Press, New York, NY (2018)
3. Forrest ARR, et al. A promoter-level mammalian expression atlas. Nature 507, 462–470 (2014). doi: 10.1038/nature13182.