

Analiza transkryptomu omułka bałtyckiego

Tomasz Sańko

W królestwie zwierząt mitochondria dziedziczone są głównie w linii żeńskiej. Zaobserwowano jedynie kilka wyjątków od tej reguły. Prawdopodobnie najbardziej wyraźnym odstępstwem jest przypadek małży z rodziny Mytilidae (morskie), Unionidae (słodkowodne) oraz niektórych małży z rodziny Veneridae. Ich mitochondria dziedziczone są dwoma niezależnymi drogami. Samice otrzymują tylko matczyne mitochondria (z genomem typu F), natomiast samce zarówno matczyne jak i ojcowskie mitochondria (z genomem typu M) przez co osobniki te są heteroplazmatyczne. Ojcowskie mitochondria zlokalizowane są głównie w komórkach generatywnych i stanowią jedyne mitochondria plemników. Ten sposób dziedziczenia nazwany został podwójnie uniparentalnym (DUI) i jego mechanizm pozostaje niewyjaśniony. Oba genomy mogą osiągać znaczny stopień dywergencji (20-50%) nukleotydowej jednak ich poziom dywergencji może ulec zmniejszeniu dzięki słabo jeszcze poznanemu zjawisku maskulinizacji, podczas którego genom żeński zastępuje genom męski w jego linii dziedziczenia.

Pomimo tak egzotycznego sposobu dziedziczenia, skład mitochondrialnego DNA (mtDNA) małży wykazujących DUI pozostaje typowy dla zwierząt. Wszystkie geny mitochondrialne omułka (*Mytilus* spp.) usytuowane są na nici H bogatszej w pary GC a sekwencje niekodujące ograniczają się do krótkich odcinków. Występuje tylko jeden dłuższy odcinek niekodujący żadnego białka tzw. rejon kontrolny. Sądzi się, iż odgrywa on główną rolę w replikacji i transkrypcji mtDNA. Jednym z etapów transkrypcji genów zarówno mitochondrialnych jak i jądrowych, jest dojrzewanie RNA, które wymaga zajścia kilku procesów: endonukleolitycznego podzielenia na odpowiednie fragmenty prekursorowego RNA, jego ewentualnej edycji i poliadenylacji. Podczas tych procesów z policystronowego prekursora wyłaniają się monocystronowe cząsteczki RNA o odpowiednio zmodyfikowanych 5' i 3' końcach.

Głównym zadaniem w mojej pracy było rozpoznanie systemu obróbki post-transkrypcyjnej mRNA bałtyckiego omułka (*Mytilus trossulus*). Jest to pierwsza analiza transkryptomowa dla tej linii ewolucyjnej. Zastosowano trzy niezależne podejścia: i) analiza transkryptomu zrekombinowanego i zmaskulinizowanego; ii) analiza modyfikacji post-transkrypcyjnych zachodzących w mitochondrialnym mRNA; iii) analiza

wpływu dywergencji wewnątrzgatunkowej na stopień zakonserwowania procesów post-transkryptycznych.

Pierwsze podejście pozwoliło wytypować zmaskulinizowany genom mitochondrialny, który następnie został w pełni zsekwencjonowany. Dzięki temu możliwe było wyjaśnienie jakim zmianom ulegają geny w zmaskulinizowanym genomie F, niedługo po tym, jak ten zaczyna być przekazywany w linii męskiej. Wykazano, że rekombinacja genomu żeńskiego jest tylko początkiem na drodze tranzycji genomu typu F w genom typu M. Konsekwencją tego jest rozluźnienie presji selekcyjnej i gromadzenie mutacji niesynonimicznych przez geny w genomie mitochondrialnym.

Drugie podejście pozwoliło zmapować transkrypty genów występujących tandemowo na mtDNA oraz odpowiedzieć na pytanie jakim procesom post-transkrypcyjnym ulega mitochondrialne mRNA. Wykazano zatem, że same geny przepisane zostają na jedną nić mRNA, z której następnie sekwencje kodujące, otoczone z obu stron tRNA, zostają wycięte i poliadenylowane zgodnie z „modelem przerwy tRNA”. W transkryptach zawierających geny połączone tandemowo, uwolnienie się genów poprzedzone jest utworzeniem się struktury pseudo-tRNA na 5' końcu ostatniego z genów. W ten sposób „wolne” geny zostają poliadenylowane.

Ostatnim badanym aspektem był stopień zakonserwowania ewolucyjnego procesów post-transkrypcyjnych w obrębie rodzaju *Mytilus*. W tym celu przeprowadzono szeroką analizę porównawczą transkryptomów kilku gatunków omułka. Analiza ta pozwoliła stwierdzić, że proces dojrzewania mRNA wydaje się być silnie zakonserwowany i uwarunkowany topologią genomu niezależnie od poziomu dywergencji genomów w populacji omułka na całym świecie.