

Сибирское отделение Российской академии наук
Институт химической биологии и фундаментальной медицины

II Всероссийская конференция
с международным участием
**«Высокопроизводительное секвенирование
в геномике»**

18-23 июня 2017 г.

Новосибирск

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОДИФИКАЦИЙ ДНК *M. GALLISEPTICUM* МЕТОДОМ SMRT СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Семашко Т.А.*, Арзамасов А.А., Гаранина И.А., Фисунов Г.Ю., Говорун В.М.

ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

*e-mail: t.semashko@gmail.com

Mycoplasma gallisepticum – бактерия, принадлежащая к классу Mollicutes, не имеющая клеточной стенки и характеризующаяся малым размером генома. Поэтому она является удобным модельным объектом для системного исследования минимальной клетки. Из аннотированных систем для модификации ДНК в исследуемом нами штамме S6 присутствуют 2 системы рестрикции-модификации (СРМ), которые обе метилируют N6-атом азота аденина (m6A).

Ранее для высокопроизводительной детекции модификаций ДНК широко использовался метод бисульфитного секвенирования, способный детектировать метилирование цитозина по 5 положению (m5C). В настоящее время для высокопроизводительной детекции ряда модификаций ДНК, включающих и m6A, и m5C, набирает популярность SMRT (single-molecule real-time) секвенирование.

С помощью SMRT секвенирования геномной ДНК *M. gallisepticum* дикого типа и ее нокаутного мутанта по субъединице (*hsdS*), узнающей последовательность сайта модификации одной из СРМ было определено, что у

M. gallisepticum S6 активна только одна СРМ I типа, кодируемая генами метилтрансферазы GCW_02355, *hsdS* GCW_02360 и рестриктазы GCW_02365. Эта СРМ не имеет близких гомологов ни всего оперона, ни *hsdS* среди известных СРМ. Был определен её мотив метилирования ANCNNNNCCT (метилирование происходит по обоим аденинам по краям двуцепочечного мотива в прямой и комплементарной цепях), также являющийся уникальным.

Максимальная плотность сайтов метилирования встречается в геноме *M. gallisepticum* в генах некоторых адгезинов и белков ухода от иммунного ответа, в то время как транспозазы и мобильные элементы обычно расположены в неметилированных регионах. Также, сайты метилирования практически не встречаются в промоторах генов. Почти все сайты метилирования модифицированы практически полностью. 3% сайтов полуметилированы, причем метилирование отсутствует в цепи AGGNNNGNT.

Работа поддержана грантом РФФ 14-24-00159
«Системное исследование минимальной клетки на модели *Mycoplasma gallisepticum*».

ВИРУС ГРИППА ПТИЦ, ВЫДЕЛЕННЫЙ ОТ КАСПИЙСКИХ ТЮЛЕНЕЙ (PHOSA CASPICA).

Соболев И.А.^{1*}, Гуляева М.А.¹, Шаршов К.А.¹, Курская О.Г.¹, Щелканов М.Ю.², Алексеев А.Ю.¹, Шестопапов А.М.¹¹ НИИ экспериментальной и клинической медицины, Новосибирск² Дальневосточный федеральный университет, Владивосток.*e-mail: sobolev_i@hotmail.com

Каспийское море расположено в районе пересечения нескольких путей миграции птиц, что обуславливает возможность их контакта с эндемичными млекопитающими и может способствовать межвидовой передаче различных патогенов, в том числе и вируса гриппа. В международных базах данных для большинства штаммов вируса гриппа А, выделенных от тюленей (всего 81 штамм), доступны только частичные последовательности гена НА, а не всех 8 сегментов генома. Кроме того, отсутствует информация о геномах вирусов гриппа А, выделенных от тюленей на территории РФ в целом и в акватории Каспийского моря в частности. Целью этого исследования была оценка возможности межвидовой трансмиссии вируса гриппа от перелетных птиц к водным млекопитающим Каспийского моря, а также изучение генетического разнообразия и филогенетических связей обнаруженных штаммов вируса гриппа на основе сиквенсов всех сегментов генома.

С интервалом в 10 лет (2002 г., 2012 г.) в двух образцах биологического материала от тюленей на побережье Каспийского моря был обнаружен вирус гриппа А [1]. Выделение штаммов *A/Caspian seal/Russia/1884/2002* и

A/Caspian seal/Russia/T1/2012 было выполнено на развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ). Полногеномное секвенирование было выполнено на геномном секвенаторе MiSeq (Illumina) в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского. Филогенетический анализ был осуществлен с использованием последовательностей из баз данных GISAID, GenBank и IRD.

В результате выполненной работы впервые показано присутствие в популяции тюленей вируса гриппа А/Н4N6. При этом выделенные с интервалом в 10 лет штаммы характеризуются значительным сходством геномов (99-100% в зависимости от сегмента) и филогенетически близкородственны штаммам вируса гриппа птиц, циркулирующим в популяциях диких перелетных птиц на территории Евразии.

Работа выполнена при поддержке гранта
РФФИ 17-04-01919 А

1) Алексеев А.Ю. и др. (2015). Выделение гриппа типа А субтипа Н4N6 у каспийских тюленей (*Phoca caspica*). Материалы VIII международной конференции «Морские млекопитающие Голарктики».