

Изучение генетической регуляции накопления кутикулярного воска ячменя при помощи анализа данных RNA-seq

Вихорев А.^{1,2}, Шмаков Н.¹, Колосовская Е.^{1,2}, Короткова А.¹, Герасимова С.^{1,2}, Хлесткина Е.^{1,2,3}

1 – Институт Цитологии и генетики СО РАН, 2 – Новосибирский государственный университет, 3 – Всероссийский институт растительных ресурсов имени Н.И. Вавилова

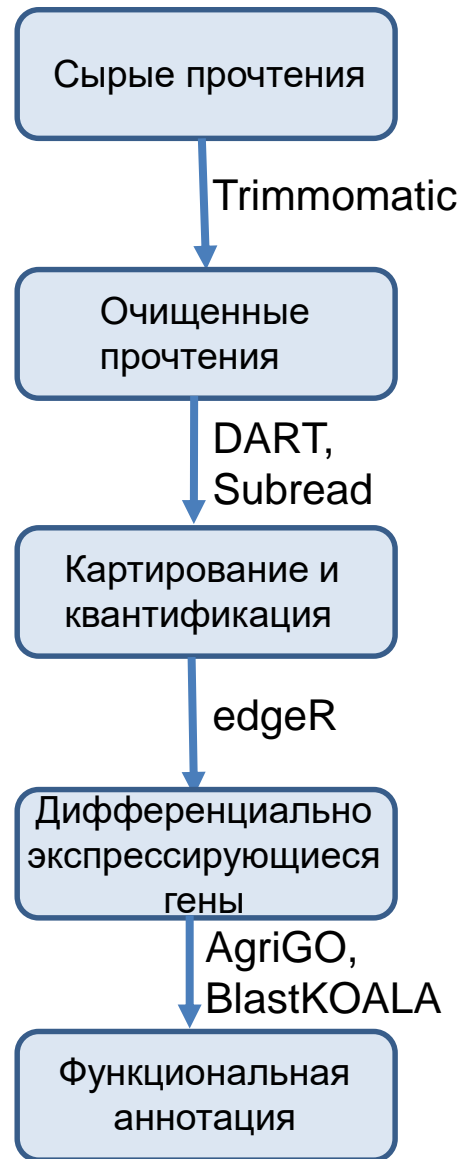
Мотивация и цель

- Наличие и строение эпикутикулярного воскового покрова является селекционно-важным признаком ячменя, связанным с защитой от внешних неблагоприятных факторов. Однако, на данный момент генетика этого признака слабо изучена. Ранее была получена линия ячменя win1 с нокаутированным геном HvWIN1. Для этой линии было показано отсутствие бета-дикетонов на поверхности листового влагалища.
- Цель данной работы – изучение генетической регуляции накопления эпикутикулярного воска ячменя при помощи анализа изменений в экспрессии генов мутантной линии win1 по гену HvWIN1.

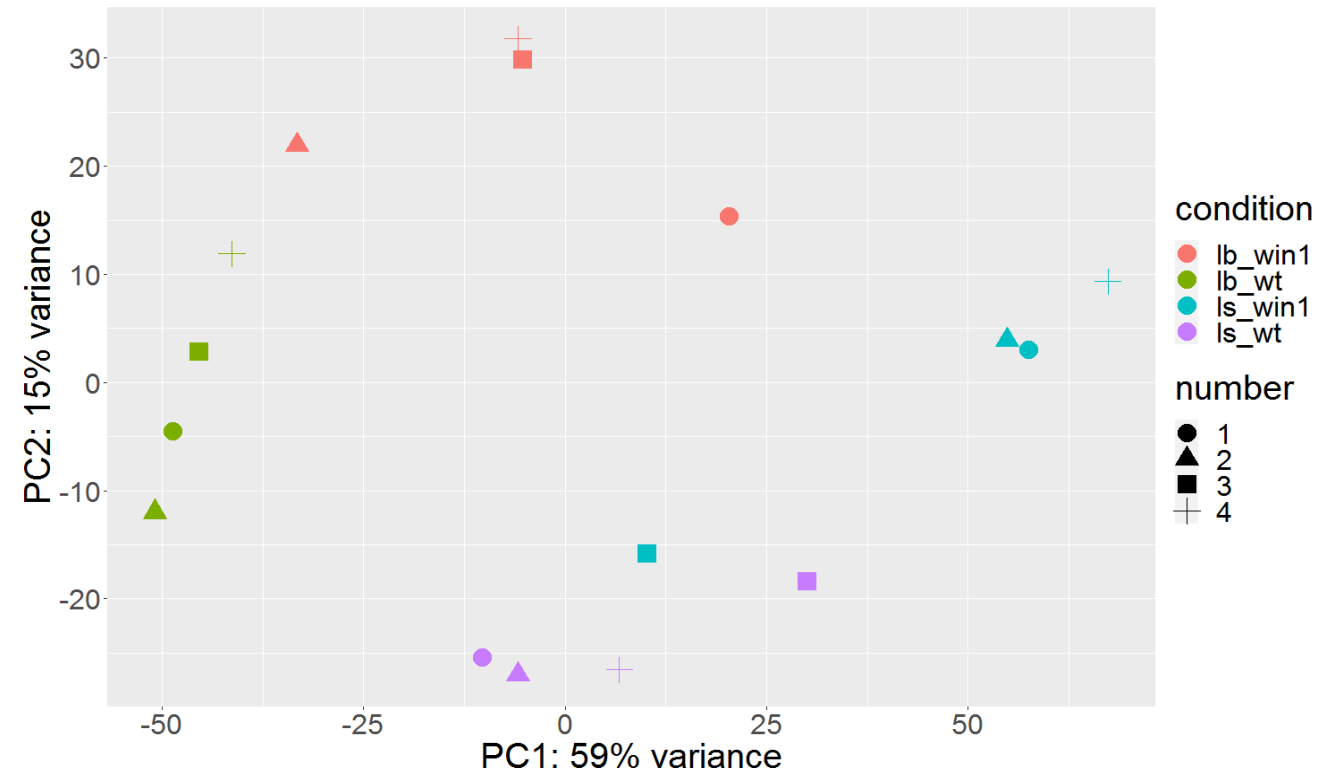
Дизайн эксперимента



РНК для эксперимента была выделена из листовых пластинок (lb) и листовых влагалищ (ls) двух линий: дикий тип (сорт Golden Promise) и мутантная линия win1 по гену HvWin1, в четырех биологических повторностях.



Оценка качества библиотек

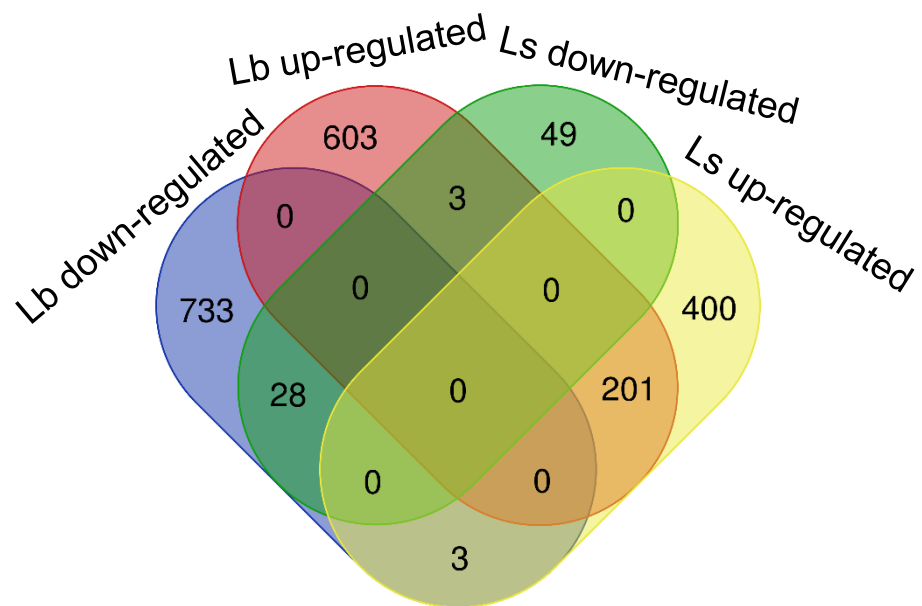


Библиотека ls_win1.3 была исключена из дальнейшего анализа, так как она является выбросом

Верификация данных RNA-seq

Коэффициент корреляции между предсказанными и полученными в результате qPCR значениями экспрессии равен 0.87, что говорит о надежности полученных данных

Количество ДЭГов в сравнениях мутант-дикий тип



Функциональная аннотация ДЭГов

ГО термин	Описание	Количество ДЭГов в листовой пластинке	Количество ДЭГов в листовом влагалище
Cellular component			
GO:0048046	apoplast	13	8
GO:0005618	cell wall	13	8
Biological process			
GO:0042546	cell wall biogenesis	11	10
GO:0010411	xyloglucan metabolic process	8	7
GO:0009733	response to auxin	8	10
GO:0007018	microtubule-based movement	0	11
GO:0006633	fatty acid biosynthetic process	20	0
GO:0030244	cellulose biosynthetic process	6	0
GO:0071555	cell wall organization	9	0

Результаты

Всего было секвенировано 16 библиотек РНК, прошедшие предобработку библиотеки содержат 440 миллионов (94%) прочтений. Успешно картировались на референсный геном в среднем 98,76% прочтений. После удаления генов со слишком низкой экспрессией было обнаружено, что 26807 из 39841 генов ячменя (67,3%) имеют значимую экспрессию в исследуемых органах. Всего было обнаружено 808 генов с повышенной и 765 генов с пониженной экспрессией в листовой пластинке линии win1, а также 605 генов с повышенной и 81 ген с пониженной экспрессией в листовом влагалище линии win1 (при пороге $|\log_{2}FC| > 2$, $FDR < 0.05$). Среди генов с повышенной экспрессией были обнаружены гены, связанные с синтезом жирных кислот и компонентов клеточной стенки. Среди генов с пониженной экспрессией были обнаружены гены, ассоциированные с синтезом компонентов эпикуткулярного воска.