Finding of regulatory codes in 5'-UTR of *A. thaliana* mRNAs by polysome profiling method

Kabardaeva K.V.¹, Mustafaev O.N.², Deineko I.V.¹, Suhorukova A.V.¹, Goldenkova-Pavlova I.V.¹

¹Tmiryazev Institute of Plant Physiology, RAS, Moscow, Russia; ²Genetic Resources Institute, ANAS, Baku, Azerbaijan;

³All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

E-mail: kabardaewa@yandex.ru

Key message. The polysome profiling method was used to separate mRNAs depending on their loading by ribosomes into polysomal and monosomal fractions. Pools separation of such mRNAs and analysis of transcripts (mRNAs) which are associated with each mRNA pool due to RNA sequencing allowed to get an idea of the translational efficiency of individual mRNAs. Moreover, subsequent *in silico* analysis make possible searching of regulatory contexts in the 5'-UTR of plant *A. thaliana*, which may be potentially important for efficient translation of mRNA.

Keywords: translation, 5' - untranslated region, nucleotide composition, expression efficiency

According to current opinion, the 5'-untranslated region (5'-UTR) is a key regulatory element which determines the efficiency of heterologous gene expression at the translation initiation stage. Therefore, we conducted researches aimed at effective regulatory codes finding in 5'-UTR. In this study, we applied the polysome profiling method, which is based on the fact that translationally resting mRNAs are associated with single ribosomes (monosomes), while actively translated mRNAs are associated with multiple ribosomes (polysomes). Pools separation of such mRNAs in the sucrose gradient and subsequent analysis of transcripts (mRNAs) which are associated with each mRNA pool due to RNA sequencing allowed to get an idea of the translational efficiency of individual mRNAs. Furthermore, a subsequent *in silico* analysis that applies a new algorithm make possible searching of regulatory contexts in the 5'-UTR of plant *A. thaliana*. The results of the analysis suggest that pyrimidines, including pyrimidine di-nucleotides and five nucleotide motifs, are typical for 5'-UTR mRNAs with high translational efficiency, while purines, purine dinucleotides, and purine motifs of five nucleotides in length are representative parameter for 5'-UTR mRNA with medium and low translational efficiency.

The work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 18-14-00026).

Поиск регуляторных кодов в 5'-НТО мРНК растений *A. thaliana* с использованием метода профилирования полисом

Кабардаева К.В.¹, Мустафаев О.Н.², Дейнеко И.В.¹, Сухорукова А.В.¹, Голденкова-Павлова И.В.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва; ² Институт генетических ресурсов Национальной академии наук Азербайджана, Баку, Азербайджан; ³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский НИИ

сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

Аннотация. Метод профилирования полисом применили для разделения мРНК в зависимости от их загрузки рибосомами на полисомные и моносомные фракции. Разделение пулов таких мРНК и анализ транскриптов (мРНК), ассоциированных с каждым пулом мРНК, за счет секвенирования РНК, позволили получить представление о трансляционной эффективности индивидуальных мРНК, а последующий *in silico* анализ – провести поиск регуляторных контекстов в 5'-области мРНК растений *A. thaliana*, которые могут быть потенциально важными для эффективной трансляции мРНК.

Ключевые слова: трансляция, 5'-нетранслируемая область, нуклеотидный состав, эффективность экспрессии

Согласно текущему мнению 5'-нетранслируемая область (5'-НТО) является ключевым регуляторным элементом, определяющим эффективность экспрессии гетерологичного гена на этапе инициации трансляции. Поэтому мы провели исследования, направленные на поиск эффективных регуляторных кодов в 5'-НТО. В этом исследовании мы применили метод профилирования полисом, который основан на том, что трансляционно покоящиеся мРНК связаны с одиночными рибосомами (моносомами), в то время как активно транслируемые мРНК связаны с множеством рибосом (полисомы). Разделение двух пулов таких мРНК в градиенте сахарозы и последующий анализ транскриптов (мРНК), ассоциированных с каждым пулом мРНК, за счет секвенирования РНК, позволили получить представление о трансляционной эффективности индивидуальных мРНК, а последующий *in silico* анализ с использованием нового алгоритма – провести поиск регуляторных контекстов в 5'-области мРНК растений *A. thaliana*. Результаты проведенного анализа позволили предположить, что пиримидины, в том числе пиримидиновые динуклеотиды и мотивы длиной 5 нуклеотидов характерны для 5'-НТО мРНК с высокой трансляционной эффективностью, тогда как пурины, пуриновые динуклеотиды, а также пуриновые мотивы длиной 5 нуклеотидов являются характерным параметром для 5'-НТО мРНК со средней и низкой трансляционной эффективностью.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 18-14-00026.