

Влияние метилирования мяРНК U2 и U6 на сплайсинг

Научный руководитель – Сергиев Петр Владимирович

Краснодубец А.М.¹, Марьясина С.С.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail:*

krasnodubets.am@phystech.edu; 2 - Московский государственный университет имени

М.В.Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия, *E-mail: sofia.mariasina@yandex.ru*

Сплайсосома - сложная молекулярная машина, которая катализирует удаление интронов и соединение экзонов, происходящее в ходе созревания мРНК эукариот. В её состав входит множество белков, факторов сплайсинга, а также пять некодирующих мяРНК (U1, U2, U4, U5 и U6), которые распознают сайты сплайсинга за счет спаривания оснований, организуют сборку факторов сплайсинга и катализируют реакции расщепления и лигирования [1]. Процесс сплайсинга состоит из серии событий, повторяющихся для каждого интрона отдельно [2]. Во многих случаях в ходе сплайсинга можно наблюдать использование сплайсосомным аппаратом альтернативных 5'- и 3'-сайтов сплайсинга, пропуск или вставку экзона, удержание интрона [3]. Корректная работа сплайсосомы определяется тем, как мяРНК взаимодействуют в составе сплайсосомы с белками, другими мяРНК и сплайсируемой пре-мРНК. В связи с этим важно понимать, как изменения в структуре мяРНК могут повлиять на весь процесс сплайсинга.

В рамках исследования показано влияние метилирования m6A30 в мяРНК U2 и m2G72 в мяРНК U6 на результат сплайсинга некоторых генов. Для этого проведено сравнение результатов сплайсинга в клетках дикого типа и нокаутных по соответствующим метилтрансферазам. Результат сплайсинга анализировали методом ОТ ПЦР для тех участков мРНК, где, согласно проведенным ранее экспериментам по высокопроизводительному секвенированию, предполагается нарушение сплайсинга. Сравнение проводили независимо на тотальной и ядерной РНК. Продукты ПЦР сравнивали между собой на агарозном геле. Всего проанализировано 54 гена для исследования влияния метилирования мяРНК U6 и 64 гена для мяРНК U2.

В ходе работы выявлено несколько случаев, когда результат сплайсинга зависит от состояния метилирования мяРНК U2 и U6. Подтверждено влияние модификации m6A30 в мяРНК U2 на результат сплайсинга пре-мРНК генов: Ptpf1, Macf1, Azin1, Vps25, Dbnl, Fina, Prmt1, Tmem214, Tmem245, Cep170, Pcf11, а в случае модификации m2G72 в мяРНК U6 — Ppp2r5c2, Taf1d, Eif5, Golh3l, Dlg1, Zfp445, Nrde2, Bin3, Nup88, Uhrf1. В дальнейшем для перечисленных генов планируется проведение ПЦР в режиме реального времени. Следующим этапом работы станет подтверждение полученных результатов на мышах, нокаутных по генам МТаз.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №200400736.

Источники и литература

- 1) Yan C., Wan R., Shi Y. Molecular mechanisms of pre-mRNA splicing through structural biology of the spliceosome // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2019. Vol. 11, № 1.
- 2) Kastner B., Will C. L., Stark H., Lührmann R. Structural insights into nuclear pre-mRNA splicing in higher eukaryotes // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2019. Vol. 11, № 11.
- 3) McManus C. J., Graveley, B. R. RNA structure and the mechanisms of alternative splicing // Current Opinion in Genetics & Development. 2011. Vol. 21, № 4. P. 373–379.