

Исследование влияния метилирования мяРНК U6 на сплайсинг

Научный руководитель – Сергиев Петр Владимирович

Болихова А.К.¹, Марьясина С.С.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: anastasia_b7@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия, *E-mail: sofia.mariasina@yandex.ru*

В последние годы все большее внимание уделяется пост-транскрипционным модификациям РНК. Одним из наиболее распространенных типов модификаций РНК является метилирование. Ферменты, переносящие метильную группу от кофактора на молекулу РНК, называются РНК-метилтрансферазами. Метилирование РНК играет очень важную роль в жизнедеятельности клетки. Оно, например, может способствовать образованию правильной конформации или влиять на степень сродства молекулы к различными лигандам [2]. Таким образом, изучение роли каждой модификации является важным этапом для понимания природы разнообразных внутриклеточных процессов.

Ранее нашей группой была идентифицирована метилтрансфераза (МТ), отвечающая за метилирование гуанозина в 72-м положении малой ядерной РНК (мяРНК) U6 мыши. Данная РНК входит в состав сплайсосомного комплекса [1]. Метилирование сплайсосомных РНК может оказывать влияние на скорость сплайсинга, причем степень проявления данного эффекта варьирует для различных интронов. В настоящей работе мы постарались понять, как модификация m2G72 в сплайсосомной РНК U6 влияет на сплайсинг.

Для сравнения скорости сплайсинга были выбраны интроны, сплайсинг которых наиболее подвержен исчезновению метилирования U6. Для выбора таких интронов мы сравнили результаты высокопроизводительного секвенирования мРНК из клеток, нокаутных по гену МТ, и клеток дикого типа. В ходе анализа искали участки мРНК, соотношение сплайсированной и несплайсированной форм которых отличалось наиболее значимо. Таким образом, для дальнейшей работы были выбраны интроны трех генов: *Tisg*, *Ppp2r5c* и *Taf1d*, а также модельного гена *Gapdh*.

Мы сравнили скорость сплайсинга выбранных интронов в клетках, нокаутных по гену МТ, и клетках дикого типа, а также проанализировали изменение скорости сплайсинга в нокаутных по МТ клетках после комплементации удаленного гена, приводящей к частичному восстановлению метилирования. Чтобы изучить динамику сплайсинга, клетки в течение короткого периода времени инкубировали с этинилуридином, а затем собирали через различные промежутки времени. Далее с использованием клик-химии выделили меченую этинилуридином РНК и сравнили относительное количество сплайсированной и несплайсированной форм методом ПЦР в реальном времени.

Мы продемонстрировали, что нокаутные по МТ клетки заметно и воспроизводимо отстают от дикого типа как по скорости образования пре-мРНК, так и по скорости сплайсинга, а при сравнении нокаутных клеток с комплементацией удалось показать, что даже частичное восстановление модификации ведет к небольшому, но воспроизводимому увеличению скорости транскрипции и сплайсинга.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №200400736.

Источники и литература

- 1) Didychuk A.L., Butcher S.E., Brow D.A. The life of U6 small nuclear RNA, from cradle to grave // RNA. 2018. No. 24. p. 437-460

- 2) Motorin Y., Helm M. RNA nucleotide methylation // Wiley Interdiscip Rev. No. 2. p. 611–31