

Определение структуры и функции длинной некодирующей РНК LINC01420

Научный руководитель – Скоблов Михаил Юрьевич

Конина Дарья Олеговна

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: darya.konina@phystech.edu

По данным проекта GENCODE (v 2.4) на сегодняшний день проаннотировано 15767 длинных некодирующих РНК (днРНК) у человека, но лишь для малой части из них изучена функция. Было показано, что днРНК действуют как регуляторы на разных уровнях экспрессии генов, включая организацию хроматина, регуляцию транскрипции и посттранскрипционный контроль. Исследования днРНК приведут к более полному пониманию механизмов молекулярно-биологических процессов организма и помогут оптимизировать и систематизировать диагностику наследственных заболеваний человека, а также и разработать подходы для их терапии. Данная работа посвящена определению структуры и функции новой длинной некодирующей РНК LINC01420.

Биоинформатический анализ показал, что ген LINC01420 высоко представлен во многих клеточных линиях и тканях человека и является консервативным у разных видов позвоночных. С помощью ПЦР анализа на кДНК, полученных из клеточных линий НЕК293N, HELA и первичной культуры фибробластов человека, была определена экзон-интронная структура днРНК. Было выявлено две изоформы соответствующих предсказанным транскриптам из баз данных RefSeq и Ensemble. С помощью ПЦР в реальном времени нами был проведён экспрессионный анализ на образцах РНК, полученных из 12 клеточных линий и первичной культуры фибробластов человека. Экспрессионные данные по гену LINC01420 в различных клеточных линиях подтвердили существование двух изоформ: короткой - мажорной и длинной - минорной. В целом, уровень экспрессии LINC01420 оказался высоким. Наиболее сильная экспрессия наблюдалась в клеточных линиях A549, C33A, НЕК293N и в фибробластах человека. Поэтому дальнейшее исследование структуры и функции LINC01420 было проведено на клеточной линии НЕК293N. Также нами были впервые установлены точные 5' и 3' границы транскрипта LINC01420 методом RACE-ПЦР.

Для определения функции LINC01420, была подобрана эффективная система нокдауна с помощью которой мы добились снижения экспрессии на 80%. Исследование влияния нокдауна LINC01420 на жизнеспособность клеточной линии A375 не выявило существенных различий с контролем. Была установлена цитоплазматическая локализация транскрипта LINC01420. Наше дальнейшее исследование будет нацелено на определение РНК-партнеров LINC01420 и установления ее возможной функции.