

Выявление функционально значимых участков METTL4, определяющих ее взаимодействие с мяРНК U2

Научный руководитель – Сергиев Пётр Владимирович

Колодяжная Екатерина Георгиевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: Ekaterina.Kolodyazhnaya@student.msu.ru

METTL4 - это метилтрансфераза, отвечающая за метилирование Am в положении 30 мяРНК U2 в m6Am [1]. Данный фермент локализован преимущественно в цитозоле, митохондриальном матриксе и ядре, что объясняется его функциями: он регулирует репликацию митохондриальной ДНК, а также играет важную роль в процессе метаболизма РНК.

Ранее было показано, что метилирование METTL4 мяРНК U2 регулирует сплайсинг специфических транскриптов пре-мРНК [2]. В то же время - без METTL4 в клетках, в мяРНК U2 отсутствует m6A - и это влияет на множество событий сплайсинга (таких как, к примеру, слабость 3'-сайта и увеличение включения экзона). Не исключено, что поняв в подробностях, как работает данная метилтрансфераза - мы сможем регулировать различные стадии такого сложного процесса как сплайсинг.

В данной работе было проведено исследование клеточных линий с мутациями в гене METTL4 для выявления функциональных частей белка, необходимых для метилирования мяРНК U2.

Изначально, с помощью биоинформатического анализа был произведён поиск наиболее консервативных участков белка. Далее был поставлен ряд экспериментов, в ходе которых клонированием с использованием полимеразной цепной реакции на основе вектора pSB-tet-Neo были получены изменённые конструкции METTL4.

Были получены клеточные линии, индуцибельно экспрессирующие METTL4, содержащий замены или делеции наиболее консервативных участков. В работе производилась трансфекция в клетки фибробластов NIH 3T3 с нокаутом по гену METTL4 с помощью транспозонной системы Sleeping beauty.

Автор выражает благодарность за чуткое руководство и содействие в постановке экспериментов - Заниной А. А. и Сергиеву П. В.

Источники и литература

- 1) METTL4 is an snRNA m6Am methyltransferase that regulates RNA splicing // Hao Chen # 1, Lei Gu # 1, Esteban A Orellana 2, Yuanyuan Wang 3, Jiaojiao Guo 4, Qi Liu 2, Longfei Wang 5 6, Zhangfei Shen 1 5 6, Hao Wu 5 6, Richard I Gregory 2, Yi Xing 7 8, Yang Shi 9 <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0270-4>
- 2) METTL4 catalyzes m6Am methylation in U2 snRNA to regulate pre-mRNA splicing // Yeek Teck Goh 1, Casslynn W Q Koh 1, Donald Yuhui Sim 2, Xavier Roca 2, W S Sho Goh 1 <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa684>