

Влияние убиквитинлигазы MKRN3 на стабильность мРНК DMPK

Научный руководитель – Сергиев Пётр Владимирович

Липченчук Д.А.¹, Бугев В.С.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: m.lipchenchuk@yandex.ru*; 2 - Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия, *E-mail: vittaria.fern@gmail.com*

MKRN3 – E3-убиквитинлигаза, играющая ключевую роль в регуляции начала полового созревания у плацентарных млекопитающих. Нарушения в *MKRN3* приводит к преждевременному половому развитию. Белки семейства MKRN связываются с РНК и регулируют её транспорт и трансляцию. Чтобы проверить, способен ли MKRN3 напрямую связываться с РНК, в нашей лаборатории было проведено CLIP-секвенирование. Анализ данных показал, что MKRN3 часто связывает РНК в области 3'UTR. Одной из мишеней MKRN3 является мРНК миотонин-протеинкиназы (*DMPK*), 3'UTR которой содержит CTG-повторы, экспансия которых вызывает миотоническую дистрофию I типа и иногда связана с нарушениями полового развития [1]. Цель работы – изучить влияние MKRN3 на стабильность мРНК *DMPK*.

На основе данных CLIP-секвенирования были выделены последовательности трёх мотивов в 3'UTR *DMPK*, с которыми предположительно взаимодействует MKRN3. Для исследования влияния MKRN3 на стабильность мРНК *DMPK* были сконструированы плазмиды рGL3, содержащие люциферазу Renilla (*Rluc*) (служащую контролем трансфекции) и люциферазу светлячка (*Fluc*), 3'UTR которой был заменен на нормальную последовательность 3'UTR *DMPK*, а также на варианты с делецией каждого из выбранных мотивов по отдельности и всех трёх одновременно. Плазмидами трансфецировали клетки нейробластомы человека SH-SY5Y с инактивированным *MKRN3* и с оверэкспрессией *MKRN3*. Уровень люминесценции отражает экспрессию репортерного гена в зависимости от присутствия MKRN3. Люциферазный тест показал, что MKRN3 понижает экспрессию *Fluc* с 3'UTR *DMPK*, причём CTG-повторы оказались необходимы такого эффекта.

Анализ последовательностей гена *DMPK* млекопитающих показал, что CTG-повторы различной длины в 3'UTR мРНК *DMPK* встречаются только у плацентарных млекопитающих, но отсутствуют у однопроходных и сумчатых, у которых отсутствует *MKRN3*. У некоторых плацентарных (например, кошачьих) CTG-шпилька не формируется, но присутствует структурно сходная шпилька из других повторов. Похожие структуры были найдены в последовательностях UTR других мишеней MKRN3, определенных по результатам CLIP. Было выдвинуто предположение, что MKRN3 связывается с подобными шпильками не сиквенс-специфично, но для подтверждения этой гипотезы необходимы дополнительные исследования.

Таким образом, MKRN3 регулирует стабильность мРНК *DMPK* через взаимодействие с 3'UTR, при этом CTG-повторы (или иные шпильки) необходимы для эффекта, что указывает на консервативный механизм распознавания вторичной структуры РНК у плацентарных млекопитающих.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-14-00048.

Источники и литература

- 1) Miranda PSF et al. PREPUBERTAL GYNECOMASTIA: A RARE MANIFESTATION OF MYOTONIC DYSTROPHY TYPE 1. Rev Paul Pediatr. 2020 Feb 14;38:e2018294