

Изучение функциональной роли гипотетической m5C-РНК-метилтрансферазы *Nsun7*

Научный руководитель – Сергиев Петр Владимирович

Гусева Екатерина Алексеевна

Студент (специалист)

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

E-mail: eguseva98@mail.ru

За последние годы накопились данные, свидетельствующие о значительном влиянии модификаций РНК на регуляцию экспрессии генов. Одним из примеров модификации РНК является метилирование цитозина по пятому положению азотистого основания. В клетках человека данную модификацию осуществляют белок DNMT2, а также представители семейства NSUN. Одной из таких РНК-метилтрансфераз является белок NSUN7. Согласно опубликованным данным, экспрессия *NSUN7* наблюдается исключительно в сперматоцитах и сперматиде [1], при этом функция этого белка остается неизвестной. Известно, что мутации в гене *Nsun7* у мышей приводят к стерильности самцов [2].

В нашей лаборатории были получены 2 линии мышей-нокауты по гену *Nsun7*. На электронных микрофотографиях сперматозоидов таких мутантов наблюдается изменение расположения и количества продольных колонн фиброзной оболочки. Также ранее был выявлен предполагаемый белок-партнер NSUN7 - C19ORF81. С помощью сервиса HHpred для него было предсказано наличие РНК-связывающего домена.

Наша работа посвящена исследованию функциональной роли NSUN7 и его предполагаемого белка-партнера, а также изучению эволюции строения фиброзной оболочки.

Мы проанализировали выборки ортологов NSUN7, C19ORF81 и AKAP4 (маркер фиброзной оболочки) на предмет совместного присутствия в геномах Metazoa. Данные о делециях и вставках изучаемых генов были соотнесены с характерными ультраструктурами сперматозоидов таксонов Metazoa. В результате анализа была установлена корреляция между ультраструктурой жгутиков и присутствием изучаемых ортологов в геноме.

Для того, чтобы достичь значимого обогащения фракций сперматоцитов, круглых и элонгированных сперматид нами была отработана методика разделения клеток тестикул на фракции, содержащие половые клетки на разных стадиях развития. Фракции были проанализированы с помощью иммуноблоттинга и количественной ПЦР с обратной транскрипцией. По результатам исследований было установлено, что наибольшее содержание NSUN7 наблюдается во фракции, обогащенной элонгированными сперматидами, что согласуется с нашей гипотезой о его участии в формировании фиброзной оболочки жгутика сперматозоида.

Для выявления отличий в белковом составе сперматозоидов, а также в обогащенных фракциях половых клеток мышей дикого типа и двух линий нокауты, мы провели двумерный дифференциальный гель-электрофорез. Белки со значимым изменением уровня представленности были определены методом MALDI.

Также мы провели сравнительный протеомный анализ клеточных фракций тестикул и сперматозоидов двух линий нокауты и мышей дикого типа для установления влияния инактивации гена *Nsun7* на протеом соответствующих клеток.

Источники и литература

- 1) Chalmel F., et al. 2007. The conserved transcriptome in human and rodent male gametogenesis, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104:8346-8351
- 2) Harris T., et al. 2007. Sperm motility defects and infertility in male mice with a mutation in Nsun7, a member of the Sun domain-containing family of putative RNA methyltransferases, Biol. Reprod., 77:376-382.