

Изучение взаимодействия микроРНК с 3'-нетранслируемой областью гена FMR1 на модельной генно-инженерной конструкции.

Научный руководитель – Юдкин Дмитрий Владимирович

Крайникова Лада Вадимовна

Сотрудник

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово,
Россия

E-mail: krainikova.lada@gmail.com

Заболевания, ассоциированные с ломкой X-хромосомой, обусловлены экспансией ЦГГ-повторов в 5'-нетранслируемой области гена *FMR1*. Для гена описано 3 аллеля в зависимости от длины ЦГГ-повторов: норма, премутация и полная мутация. Экспансия приводит к нарушению синтеза белка FMRP, который необходим для нормального развития и правильного функционирования нейронов. Механизм возникновения заболеваний сложен и до конца не изучен. На мышинных моделях уже показано, что помимо экспансии ЦГГ-повторов в патогенез также вовлечены пути, регулируемые микроРНК. Например, у мышей - моделей синдрома тремора/атаксии изменяется уровень экспрессии микроРНК, комплементарных 3'-нетранслируемой области мРНК гена *FMR1*, относительно нормального контроля, что указывает на непосредственное участие микроРНК в регуляции экспрессии гена при патологии [1]. На сегодняшний день вовлеченность микроРНК в патогенезе заболеваний, связанных с экспансией ЦГГ-повторов в гене *FMR1* у человека, не изучена. В связи с этим целью данной работы является исследование взаимодействия микроРНК с 3'-нетранслируемой областью мРНК гена *FMR1* человека.

Исследование уровней экспрессии микроРНК, комплементарных 3'-нетранслируемой области мРНК гена *FMR1* было проведено на клеточных линиях, полученных от пациентов с полной мутацией, премутацией, а также в контрольных клеточных линиях. Было показано, что уровни некоторых микроРНК зависят от генотипов исследуемых клеточных линий. МикроРНК, показавшую максимальную разницу в экспрессии в зависимости от генотипа отобрали для дальнейших экспериментов. В качестве контроля решено было использовать микроРНК, экспрессия которой постоянна и не зависит от генотипа.

Для исследования взаимодействия микроРНК и 3'-нетранслируемой области гена *FMR1* были созданы генно-инженерные конструкции, каждая из которых несет один ген микроРНК под индуцируемым промотором, 3'-нетранслируемую область гена, связанную с 3'-концом гена зеленого репортерного белка и ген красного репортерного белка. Гены репортерных белков расположены под конститутивными промоторами и экспрессируются на постоянном уровне.

При добавлении индуктора начинается синтез микроРНК, которая в случае взаимодействия с 3'-нетранслируемой областью гена *FMR1* будет подавлять экспрессию зеленого репортерного белка. По соотношению интенсивностей свечения репортерных белков мы можем определить уровень взаимодействия микроРНК с 3'-нетранслируемой областью гена.

Полученными конструкциями трансфицировали клетки линии НЕК293А. В результате проведенного исследования с помощью полученных генно-инженерных конструкций показано влияние микроРНК на экспрессию репортерного белка, связанного с 3'-нетранслируемой областью мРНК гена *FMR1*.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант 18-15-00099.

Источники и литература

- 1) Zongaro S. et al. The 3' UTR of FMR1 mRNA is a target of miR-101, miR-129-5p and miR-221: implications for the molecular pathology of FXTAS at the synapse //Human molecular genetics. – 2013. – Т. 22. – №. 10. – С. 1971-1982.