

Секреция м6А-модифицированных РНК экзосомами клеток человека

Научный руководитель – Костюшев Дмитрий Сергеевич

Пономарева Н.И.¹, Костюшева А.П.², Костюшев Д.С.³, Брезгин С.А.⁴

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: pomomareva.n.i13@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия, *E-mail: zueva_ap@mail.ru*; 3 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: dkostushev@gmail.com*; 4 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: qip_20@mail.ru*

Введение: экзосомы - небольшие мембранные везикулы размером 30-150 нм, которые секретируются практически всеми типами клеток. Экзосомы играют важную роль в межклеточной коммуникации, а также могут использоваться для направленной доставки лекарственных средств [2]. Метилирование аденозиновых остатков РНК по атому N6 (m6A) является наиболее распространенной эпигенетической модификацией. Известно, что наличие метки m6A влияет на основные процессы, связанные с метаболизмом РНК, включая сплайсинг, трансляцию, внутриклеточную локализацию и стабильность РНК. Формирование, распознавание и удаление меток m6A происходит за счет сложных взаимоотношений между тремя классами белков: «writers» (METTL3, METTL14, WTAP), «erasers» (ALKBH5, FTO) и «reader» (YTHDF1, YTHDF2, YTHDC2) [1,4]. Модификация метки m6A РНК может контролировать внутриклеточный иммунный ответ за счет изменения уровней метилирования РНК ключевых факторов клетки [3]. Секреция m6A РНК во внеклеточные везикулы ранее не была изучена.

Материалы и методы: клетки НЕК293Т трансфицировали плазмидами, кодирующими м6А-деметилазу ALKBH5, фактор внутриклеточного ответа cGAS и деметилазу JMJD6. Внеклеточные везикулы выделяли из культуральной среды с помощью анионообменной хроматографии. Полученные экзосомы были охарактеризованы с помощью динамического светорассеяния (DLS) и оценены по значению z-потенциала. Выделение РНК из экзосом осуществлялось с помощью реактива TRIZOL. Анализ уровня m6A в фракции экзосомальной РНК проводили с помощью набора «m6A RNA Methylation Assay Kit».

Результаты: по данным DLS выделенные частицы имеют характерный для экзосом средний размер ≈ 100 нм. Дзета-потенциал экзосом, выделенных методом анионообменной хроматографии составляет $\approx -12,5$ мВ. Впервые было показано, что экзосомы содержат метилированную РНК. При гиперэкспрессии фактора cGAS происходит увеличение уровня m6A, а при трансфекции плазмидой фактора ALKBH5 уровень m6A снижается. Гиперэкспрессия фактора JMJD6 не дает значимых изменений в сравнении с контролем.

Заключение: РНК экзосом, выделенных из клеток НЕК293Т, содержит метки m6A. Уровни m6A РНК в экзосомах изменяются при гиперэкспрессии факторов пути m6A и факторов иммунного ответа. Механизмы транспорта m6A РНК в экзосомы, их роли во внеклеточной коммуникации и регуляции иммунного ответа требуют дальнейшего изучения.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 20-15-00373.

Источники и литература

- 1) Saletore Y, Meyer K, Korlach J, Vilfan ID, Jaffrey S, Mason CE. The birth of the Epitranscriptome: deciphering the function of RNA modifications. *Genome Biol.* 2012 Oct 31;13(10):175.
- 2) Thery, C., Zitvogel, L., Amigorena, S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol.* 2002, №2, p. 569–579
- 3) Wang L, Wen M, Cao X. Nuclear hnRNPA2B1 initiates and amplifies the innate immune response to DNA viruses. *Science.* 2019 Aug 16;365(6454)
- 4) Zhang, Y., Geng, X., Li, Q. et al. m6A modification in RNA: biogenesis, functions and roles in gliomas. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020, №39, 192