**Изучение кинетики сплайсинга в клетках с нокаутом**

**генов метилтрансфераз мяРНК**

Болихова А.К.1, Марьясина С.С.2, Буян А. И.3, Донцова О.А.4,5, Сергиев П.В.2,4,5 1Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

2Институт функциональной геномики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

3Институт белка РАН, Пущино, Россия.

4Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

5Центр наук о жизни, Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия;

anastasia\_b7@mail.ru

Сплайсинг является одним из важнейших этапов созревания большинства РНК в эукариотической клетке. Чаще всего за осуществление данного процесса, заключающегося в вырезании из молекулы РНК интронов и соединении вместе экзонов, отвечает сплайсосомный комплекс. Основой функционирования сплайсосомного комплекса служат пять малых ядерных РНК (мяРНК).

В данной работе мы изучили влияние двух модификаций мяРНК (m6Am30 в U2 и m2G72 в U6) на скорость и точность сплайсинга.

Сравнение клеток дикого типа и клеток с нокаутом генов метилтрансфераз, осуществляющих указанные модификации, позволило выявить различия в соотношении альтернативных продуктов сплайсинга. Используя метод выделения новосинтезированной РНК, мы сравнили кинетику сплайсинга в трех клеточных линиях: диком типе и двух линиях без модификаций m6Am30 в U2 и m2G72 в U6 соответственно.

Оба нокаута по генам метилтрансфераз показали общее увеличение концентрации интронов по отношению к экзонам и снижение скорости сплайсинга. Данные эффекты были наиболее заметны ряда генов. В ходе анализа было замечено общее снижение точности сплайсинга у нокаутов, сигнализирующее о важной роли изучаемых модификаций для функционирования сплайсосмы. В свою очередь, анализ зависимости замеченных изменений от типа сайтов сплайсинга продемонстрировал, что степень замедления сплайсинга зависит от положения интрона, но почти не зависит от последовательности сайтов сплайсинга.

Таким образом, удалось показать, что при исчезновении модификаций m6Am30 в U2 мяРНК и m2G72 в U6 мяРНК уменьшается точность и скорость сплайсинга, причем данный эффект проявляется в разной степени для разных РНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ #21-64-00006.