

**Роль м6А-метилирования РНК в регуляции внутриклеточного
противовирусного ответа**

Научный руководитель – Костюшев Дмитрий Сергеевич

Дукич Мария Миятовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический
факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

E-mail: dukich1999@mail.ru

Введение: N6-метиладенозин (м6А) - одна из наиболее распространенных модификаций РНК, которая обнаруживается в РНК у ДНК- и РНК-содержащих вирусов. м6А-маркированные транскрипты играют важную роль на репликации вирусов и патогенезе вирусных инфекций. м6А модификации рассматриваются как возможный прогностический маркер для предсказания ответа на терапию, скорости прогрессии и рецидивирования заболевания. Хронический гепатит В (ХГВ), вызываемый вирусом гепатита В (ВГВ), является одним из самых распространенных инфекционных заболеваний. Инфицирование пациентов с ХГВ вирусом гепатита D (ВГD), вызывает значительное ускорение прогрессии заболевания. Пятилетняя выживаемость пациентов с ВГВ-ВГD составляет менее 50%. Целью данной работы является изучение м6А метилирования РНК ВГВ и ВГD и его роли в вирусной инфекции.

Материалы и методы: м6А сайты определяли в изолятах биопсий печени пациентов и клеток с ВГВ-ВГD инфекцией методом секвенирования м6А-модифицированной РНК и подтверждали с помощью цифровой ПЦР (ddПЦР). Эффекты м6А-метилирования на репликацию вирусов, локализацию вирусных РНК, экспрессию, стабильность и локализацию факторов внутриклеточного иммунитета, изучали в экспериментах с направленным м6А-метилированием РНК с помощью инструмента dCas13-Mettl3-Mettl14 с РНК-проводниками к сайтам для м6А-метилирования. Трансфекцию клеток HepG2 с рекомбинантным геномом ВГВ или плазмидой, кодирующей геном ВГD, проводили с помощью Lipofectamine3000. Для оценки влияния м6А метилирования проводили ПЦР-анализ вирусных и клеточных РНК в фракциях клеточных ядер и цитоплазмы. Уровни белков ВГD анализировали методом вестерн-блоттинга, белков ВГВ – с помощью ELISA секретируемых HBsAg и HBeAg.

Результаты: в биопсиях пациентов с ХГВ+D были идентифицированы новые сайты м6А-метилирования; сайты были подтверждены с помощью ddПЦР. При внесении м6А-меток в РНК вирусов на модели ко-трансфекции клеток HepG2 были выявлены позиции, метилирование в которых на 50-90% снижает уровни транскрипции, репликации и продукции вирусных белков. Анализ уровней мРНК противовирусных факторов в ядре и цитоплазме продемонстрировал, что при м6А-метилировании ряда позиций в вирусном геноме происходит усиление экспорта противовирусных факторов из ядра в цитоплазму (STING, IRF3).

Заключение: исследование м6А метилирования вирусной РНК вносит вклад в фундаментальное изучение эпитранскриптомных модификаций РНК вируса, является потенциальной мишенью для разработки методов терапии и создания новых прогностических биомаркеров у пациентов с гепатитом В и дельта.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-75-10032