

Изучение экспрессии циклических РНК генов *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1*, *Cdyl* и *Rgs9* в условиях модели обратимой церебральной ишемии

Валиева Л.В.¹, Филиппенков И.Б.¹, Ставчанский В.В.¹, Денисова А.Е.², Губский Л.В.², Лимборская С.А.¹, Дергунова Л.В.¹

1 — ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук
123182, г. Москва, пл. Курчатова, д. 2

2 — ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

Методом ПЦР в реальном времени в подкорковых структурах мозга крыс, содержащих очаг ишемического повреждения, показано активирующее влияние ишемии на экспрессию циклических РНК (циклоРНК) генов *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1* и *Cdyl*, а также репрессирующее влияние на экспрессию циклоРНК гена *Rgs9*. Биоинформатический анализ выявил возможные цис-регуляторные взаимодействия между микроРНК, а также циклоРНК и мРНК исследуемых генов, что указывает на функциональную роль данных циклоРНК в ответе клеток мозга на ишемию.

Ключевые слова: tMCAO, циклические РНК, микроРНК

Для цитирования: Валиева Л.В., Филиппенков И.Б., Ставчанский В.В., Денисова А.Е., Губский Л.В., Лимборская С.А., Дергунова Л.В. Изучение экспрессии циклических РНК генов *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1*, *Cdyl* и *Rgs9* в условиях модели обратимой церебральной ишемии. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 69-70.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.69-70

Автор для корреспонденции: Валиева Лия Валерьевна, e-mail: lia97@mail.ru

Финансирование. Исследование было выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №17-74-10189.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

A study of the expression of circular RNAs of the Ece1, Mvp, Egfem1, Cdyl and Rgs9 genes in transient cerebral ischemia model conditions

Valieva L.V.¹, Filippenkov I.B.¹, Stavchansky V.V.¹, Denisova A.E.², Gubsky L.V.², Limborska S.A.¹, Dergunova L.V.¹

1 — Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences
Kurchatov Sq. 2, Moscow, 123182, Russian Federation

2 — Pirogov Russian National Research Medical University
Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russian Federation

Using real-time PCR, the activating effect of ischemia on the expression of circular RNAs (circRNAs) of *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1* and *Cdyl* genes, as well as the repressing effect on the expression of circRNA of the *Rgs9* gene, is shown in the subcortical structures of the rat brain containing the focus of ischemic damage. Bioinformatics analysis revealed possible cis-regulatory interactions between miRNAs, as well as circRNAs and mRNAs of the studied genes. The result indicates the functional role of these circRNAs in the response of brain cells to ischemia.

Keywords: tMCAO, circular RNAs, microRNAs

For citation: Valieva L.V., Filippenkov I.B., Stavchansky V.V., Denisova A.E., Gubsky L.V., Limborska S.A., Dergunova L.V. A study of the expression of circular RNAs of the *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1*, *Cdyl* and *Rgs9* genes in transient cerebral ischemia model conditions. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 69-70. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.69-70

Corresponding author: Liya V. Valieva, e-mail: lia97@mail.ru

Funding. This work was supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant 17-74-10189.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.05.2020

Ишемический инсульт относится к числу социально значимых проблем в современном мире. Анализ транскриптома является эффективным молекулярно-генетическим инструментом для изуче-

ния механизмов работы мозга, как в норме, так и в условиях ишемии. Особый интерес в последнее время представляет изучение новых классов РНК, обладающих не только способностью к трансляции, но и рядом

специфических регуляторных функций. Показано, что циклические РНК (циклоРНК) имеют замкнутую структуру, могут кодировать белок, а также связывать на своей поверхности значительное количество микроРНК, обеспечивая, таким образом, посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов [1,2]. Они демонстрируют мозгоспецифический характер экспрессии, что делает особенно интересным изучение их роли при церебральной ишемии. Ранее с помощью высокопроизводительного секвенирования РНК нами были получены последовательности циклоРНК, образующиеся в мозге крыс. Однако требуется дальнейшее изучение экспрессии и особенностей функционирования данных РНК в условиях церебральной ишемии.

Цель работы — анализ экспрессии отдельных циклоРНК генов *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1*, *Cdyl* и *Rgs9* в мозге крыс методом ПЦР в реальном времени в условиях модели обратимой церебральной ишемии (tMCAO); поиск сайтов связывания микроРНК в последовательностях мРНК и циклоРНК изучаемых генов.

Материалы и методы

Модель tMCAO основана на окклюзии правой средней мозговой артерии монофиламентом в течение 90 мин с последующей реперфузией (22,5 ч). Оценка поражения тканей головного мозга крыс методом магнитно-резонансной томографии (МРТ) проводилась через 24 часа после tMCAO. Осуществлены выделение РНК из мозга крыс, подвергнутых tMCAO или ложной операции, синтез кДНК, ПЦР в реальном времени, биоинформатический анализ сайтов связывания микроРНК в последовательностях мРНК и циклоРНК.

Результаты

По данным МРТ все животные (n=5) через 24 ч после tMCAO имели сформированный очаг ишемического повреждения, затрагивающий подкорковую область мозга. Из данной области мозга была выделена суммарная РНК и синтезирована комплементарная ДНК с использованием случайных гексамерных праймеров. Для анализа экспрессии были выбраны 5 циклоРНК (*circEce1-13.10*, *circMvp-7.4*, *circEgfem1-4.2*, *circCdyl-7.5* и *circRgs9-8.2*) генов, кодирующих белки, участвующие в протеолизе (*Ece1*), обеспечении устойчивости к инфекции (*Mvp*), передаче нервно-

го сигнала (*Egfem1*, *Rgs9*), функционировании хроматина и сохранении эпигенетического ландшафта (*Cdyl*). Каждая из выбранных циклоРНК содержала экзоны кодирующей области соответствующего гена. На основе ранее полученных последовательностей циклоРНК были подобраны противоположно направленные праймеры, локализованные в экзонах, участвующих в бексплайсинге. С использованием ПЦР в реальном времени и программы REST были получены результаты изменения уровня экспрессии циклоРНК в группе крыс, подвергнутых ишемии, относительно группы ложнопериоперированных животных спустя 24 часа после соответствующего оперативного вмешательства. Для нормализации были использованы гены, кодирующие глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (*Gapdh*) и рибосомальный белок 60SL3 (*Rpl3*). В результате, *circMvp-7.4*, *circEce1-13.10*, *circEgfem1-4.2* и *circCdyl-7.5* достоверно (p<0,05) увеличили экспрессию в 3,16; 1,99; 1,98 и 1,47 раза соответственно, а *circRgs9-8.2* уменьшила экспрессию в 1,86 раза. С помощью биоинформатического анализа базы данных miRMap были выявлены вероятные сайты связывания микроРНК в последовательностях циклоРНК и мРНК соответствующих генов, что указывает на цис-регуляторный потенциал исследуемых циклоРНК.

Выводы

С использованием ПЦР в реальном времени в подкорковых структурах мозга, содержащих очаг ишемического повреждения, показано активирующее влияние ишемии на экспрессию циклоРНК генов *Ece1*, *Mvp*, *Egfem1* и *Cdyl*, а также репрессирующее влияние на экспрессию циклоРНК гена *Rgs9*. Биоинформатический анализ выявил возможные цис-регуляторные взаимодействия между микроРНК, а также циклоРНК и мРНК исследуемых генов, что указывает на функциональную роль данных циклоРНК в ответе клеток мозга на ишемию.

Литература/ References

1. Filippenkov I.B., Kalinichenko E.O., Limborska S.A., Dergunova L.V. Circular RNAs—one of the enigmas of the brain. *Neurogenetics*. 2017; 18(1): 1–6.
2. Mo D., Li X., Raabe C.A., Cui D., Vollmar J.F., Rozhdestvensky T.S., Skryabin B.V., Brosius J. A universal approach to investigate circRNA protein coding function. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 11684.