

ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ПРОФИЛЯ *ESCHERICHIA COLI* K-12 SUBSTR. MG1655 В ОТВЕТ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИММУНОГЛОБУЛИНОМ А *IN VITRO*

И.А. Байчурина¹, М.И. Маркелова¹, М.Н. Синягина¹, А.В. Лайков¹, Е.А. Булыгина¹, Я.К. Семин², А.А. Круглов^{2,3}, Д.С. Матюшкина⁴, В.А. Мусарова⁴, Т.В. Григорьева¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; ²МГУ им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва; ³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, Центр точного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины, Москва; ⁴ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

Иммуноглобулин А (IgA) секретируется В-лимфоцитами слизистой оболочки кишечника для предотвращения вторжения патогенов и воспаления эпителия. Нарушения мукозального иммунитета ассоциированы с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), при которых часто отмечают увеличение доли *Escherichia coli*. Нам ранее было показано, что на геномном уровне вирулентный потенциал штаммов *E. coli*, выделенных из фекалий пациентов с ВЗК и здоровых людей, не отличается. В связи с этим, целью данного исследования являлось определение влияния секреторных IgA на *E. coli* K-12 substr. MG1655 *in vitro* методом транскриптомного анализа. Для этого 1,2x10⁸ клеток инкубировали с моноклональными IgA (300 мкг) и с фосфатно-солевым буфером (контроль) 1 час при 25°C. Тотальную РНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Деплецированные по рРНК библиотеки секвенировали на NextSeq 500. Полученные риды картировали на референсный геном *E. coli* MG1655 с помощью программы Bowtie2, подсчет производили с помощью featureCounts. Анализ дифференциально экспрессирующихся генов проводили с помощью пакета Deseq2. Было установлено, что воздействие IgA приводит к достоверному изменению экспрессии 517 генов ($p < 0,05$): экспрессия 253 генов увеличивалась и 264 генов - снижалась. Анализ показал, что инкубация с антителами приводит к увеличению экспрессии генов *hcsA* и *lexA*, играющих ключевую роль в репарации ДНК и выживании бактерий. Наблюдалась повышенная экспрессия регуляторного гена *cysB*, участвующего в метаболизме цистеина. Также было отмечено увеличение экспрессии гена поверхностного белка *Wog*, являющегося одним из факторов вирулентности. Установлено снижение экспрессии генов *mtlA*, *pagE*, *sgt*, *malY* и *mirP*, которые входят в фосфотрансферазную систему, участвующую в транспорте углеводов и важную для колонизации кишечника патогенами. Таким образом, взаимодействие IgA и *E. coli* приводит к изменениям экспрессии ряда регуляторных белков и факторов вирулентности, способствующих эффективной колонизации кишечного эпителия.

Исследование выполнено за счет средств субсидии, выделенных Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности № 0671-2020-0058.

КООРДИНИРОВАННОЕ УЧАСТИЕ ГЕНОВ микроРНК, НО НЕ ДРУГИХ ГЕНОВ ИМПРИНТИРОВАННОГО ЛОКУСА DLK1-DIO3, В РАЗВИТИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Н.М. Баулина¹, А.Р. Кабаева², О.О. Фаворова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ; ²Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва

Использование высокопроизводительного секвенирования в качестве скринингового метода позволило выявить повышенную экспрессию большого количества генов микроРНК из импринтированного локуса DLK1-DIO3 в мононуклеарных клетках периферической крови (МНК) больных с ремиттирующим рассеянным склерозом (РС) по сравнению со здоровыми контролями; эти изменения наблюдались у мужчин, но не у женщин [Baulina et al, 2019]. Помимо 54 генов микроРНК, этот локус содержит белок-кодирующие гены (*DLK1*, *RTL1*, *DIO3*), гены длинных некодирующих РНК (*MEG3*, *MEG8*, *MEG9*) и малых ядерных РНК (*SNORD112*, *SNORD113*, *SNORD114*). Гены импринтированных локусов обычно характеризуются координированной регуляцией экспрессии и как правило сообща участвуют в биологических процессах. Чтобы оценить, реализуется ли принцип универсальной согласованной экспрессии всех генов локуса в случае РС, провели комплексный анализ экспрессии в МНК генов микроРНК, белок-кодирующих и белок-некодирующих генов более чувствительным методом обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени. Анализ экспрессии 17 генов микроРНК (*miR-431*, *-127-3p*, *-379*, *-376c*, *-381*, *-410*, *-656*, *-337-3p*, *-370*, *-655*, *-494*, *-323b-3p*, *-654-3p*, *-539*, *-668*, *-300* и *-380*) из локуса DLK1-DIO3 с последующим