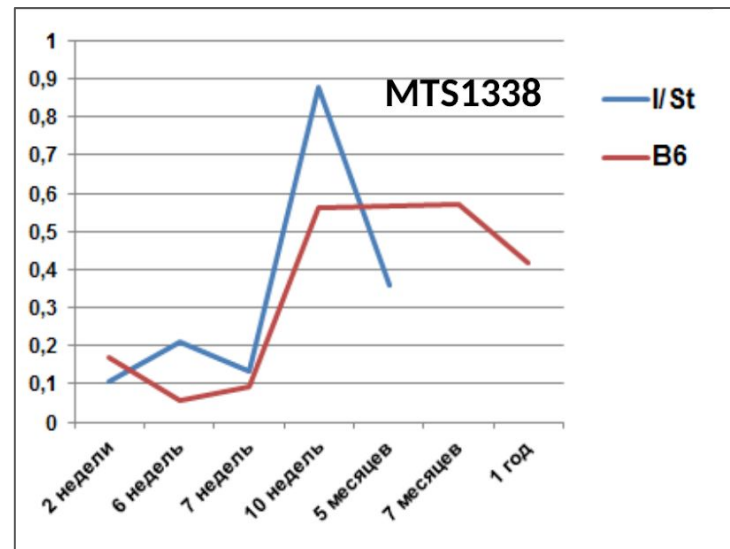
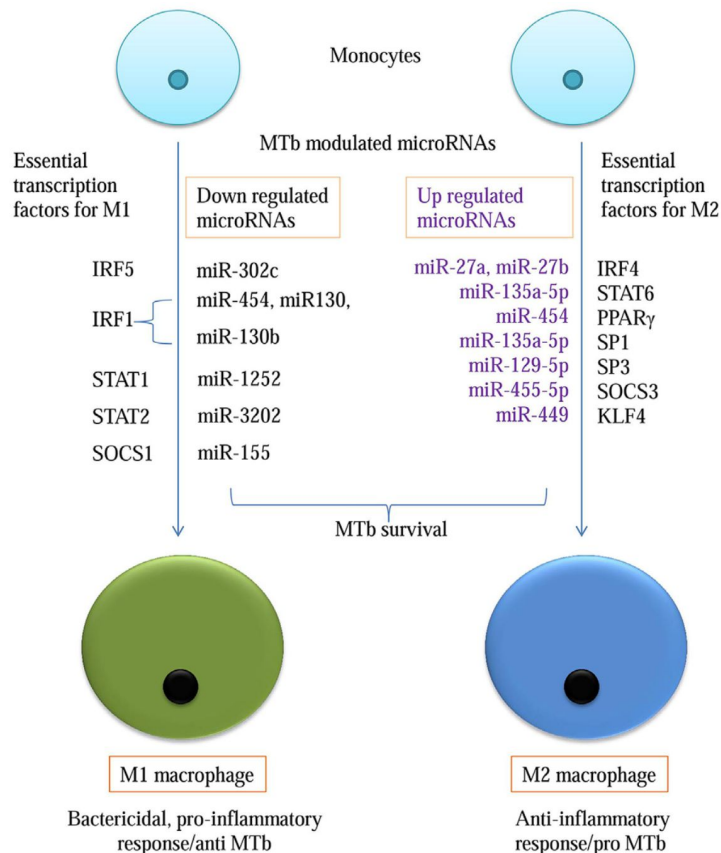


Малая РНК *Mycobacterium tuberculosis* MTS1338 как фактор модуляции иммунного ответа при туберкулезе

Потанина Дарья Михайловна

**Научный руководитель: д.б.н. Т.Л. Ажикина
Куратор: к.б.н. Т.В. Неретина**

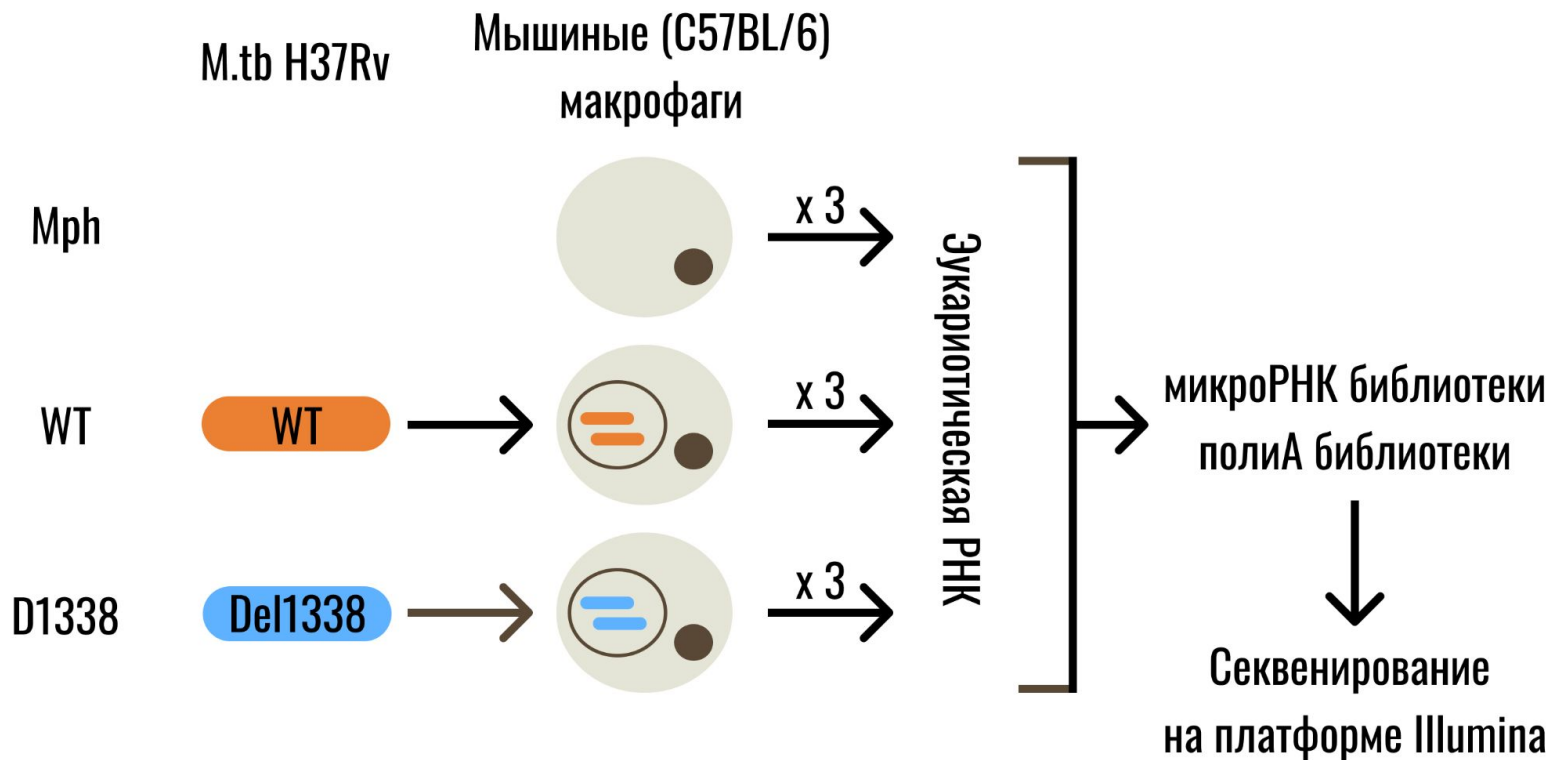
Влияние *M. tuberculosis* на инфицированные макрофаги



doi: 10.1134/s1068162014020058

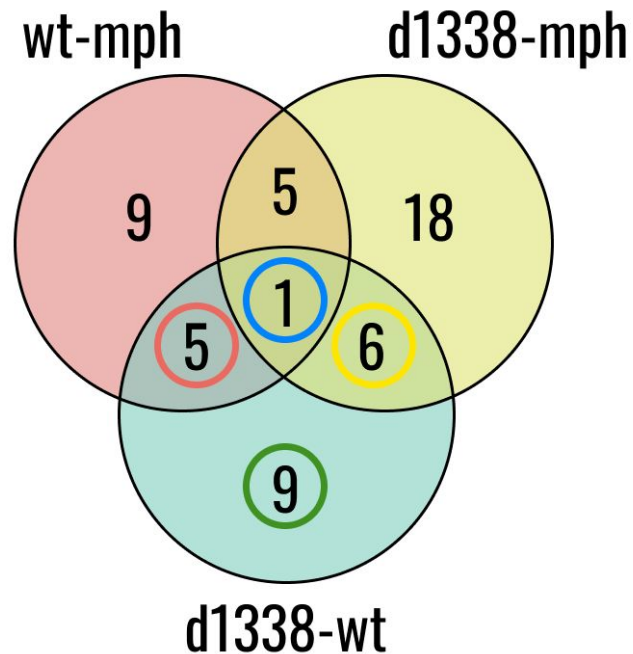
Какова же роль MTS1338 в иммуномодуляции?

Схема эксперимента*



* проведенного в рамках курсовой работы 4 курса

Дифференциально экспрессированные микроРНК

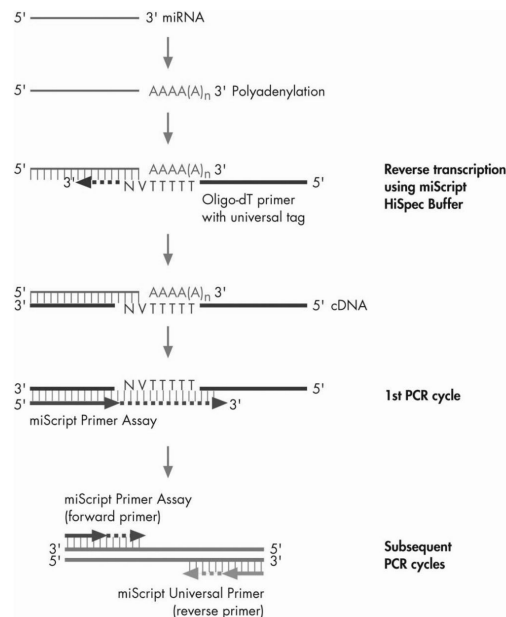


No	МикроРНК	wt-mph		d1338-mph		d1338-wt	
		FC	padj	FC	padj	FC	padj
1	mmu-miR-486a-5p	-6.1105435	1.41E-165	-2.30772	0.000281	3.71585078	1.35618E-08
1	mmu-miR-486a-3p	-4.343991	8.41E-12			2.29653426	0.028860817
2	mmu-miR-455-5p	-2.6183244	0.0000162			2.46300746	0.002339571
3	mmu-miR-451a	-6.2018565	1.71E-117			5.66498914	7.41034E-15
4	mmu-miR-144-5p	-6.6105942	2.67E-10			6.56727787	1.97085E-09
5	mmu-miR-144-3p	-7.1737477	1.09E-20			6.5857582	1.64889E-09
1	mmu-miR-466i-3p			-2.99525	0.00000355	-2.8633062	0.001973975
2	mmu-miR-379-5p			-2.14211	0.000000225	-2.5226461	6.61441E-07
3	mmu-miR-434-5p			-2.38055	0.002568	-2.6466169	0.009087156
4	mmu-miR-409-3p			-2.52373	0.000537	-2.3070946	0.026907707
5	mmu-miR-300-3p			-2.52763	0.000126	-2.282867	0.025845229
6	mmu-let-7c-1-3p			2.560615	0.000934	4.44277703	0.006236294
1	mmu-miR-134-5p					-2.0504746	0.063511082
2	mmu-miR-99a-5p					2.0874122	4.51168E-74
3	mmu-miR-147-3p					-2.017543	1.47989E-54
4	mmu-miR-147-5p					-2.1130288	6.20485E-25
5	mmu-miR-370-3p					-2.2349066	0.060233802
6	mmu-miR-541-5p					-2.2714726	1.5705E-07
7	mmu-miR-96-5p					-2.0856806	1.09027E-06
8	mmu-miR-182-5p					-2.5573759	2.04821E-59
9	mmu-miR-183-5p					-2.4717292	3.93063E-46

Подтверждение данных секвенирования микроРНК

Матрицы: Mph, WT, D1338

Праймеры на микроРНК miR-21a-5p и универсальный адаптер miScript.

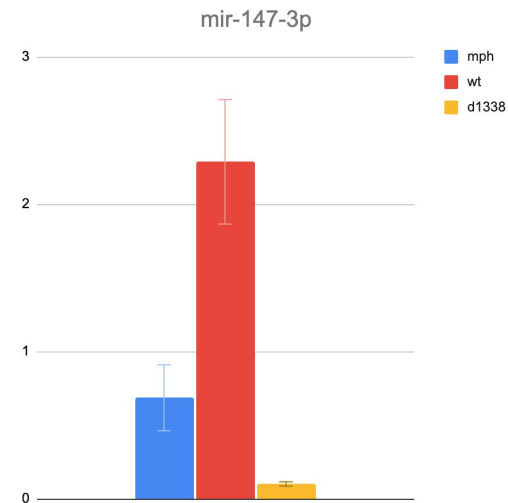
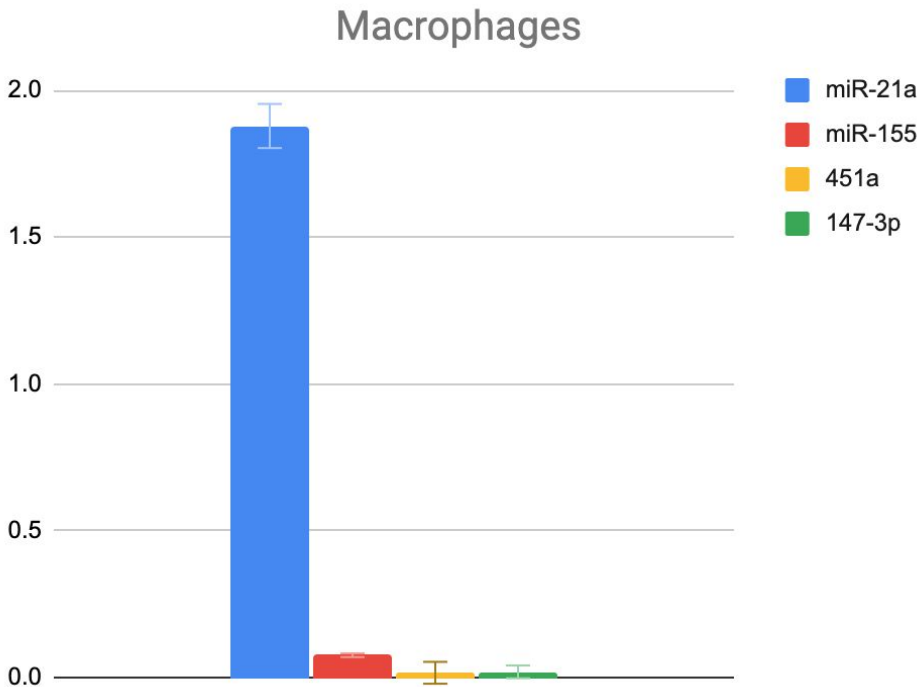


5' -TAGCTTATCAGACTGATGTTGA-3'

3' -ATCGAATAGTCTGTCTACAACCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGATCCTTCAGCTG

GAGCCGTACGCATTGACCACGAGCTAAG-5'

Подтверждение данных секвенирования микроРНК

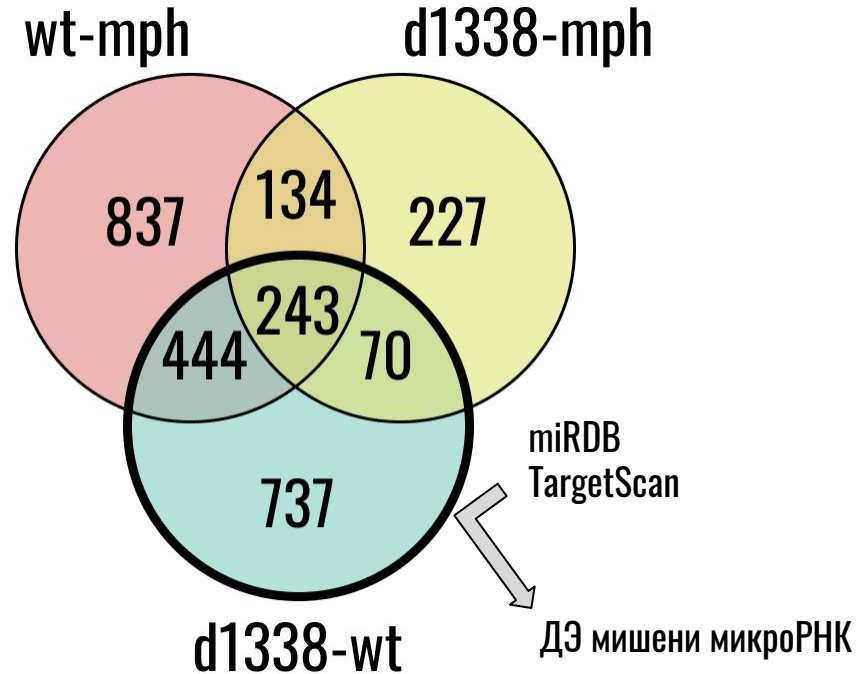


Усредненное нормированное количество ридов в библиотеках.

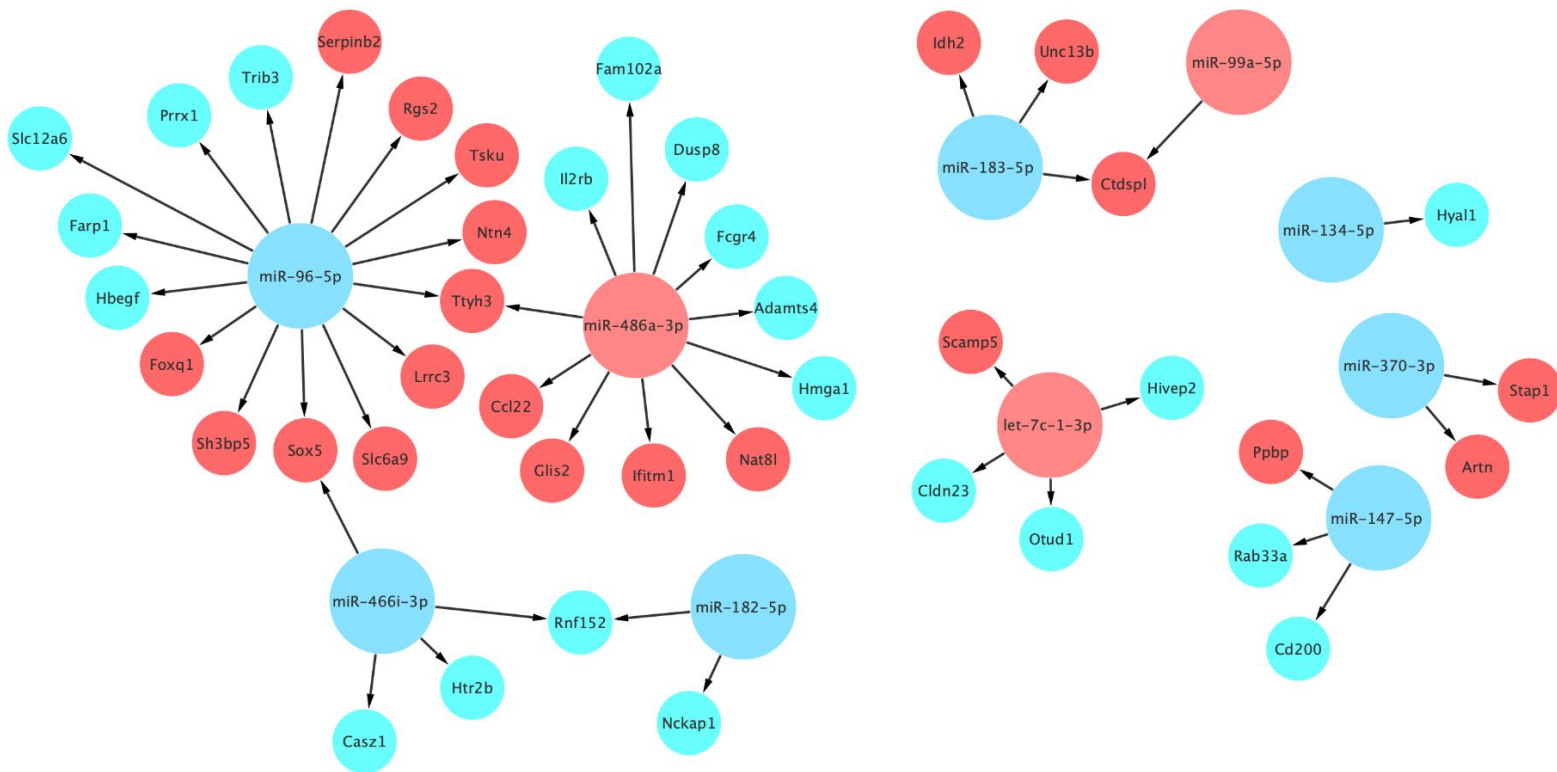
miRNA	Mph	WT	d1338
mmu-miR-21a-5p	239890	263287	225898
mmu-miR-155-5p	5323	10833	3994
mmu-miR-147-3p	1547	1240	360
mmu-miR-451a	678	7	387

ДЭ белок-кодирующие гены

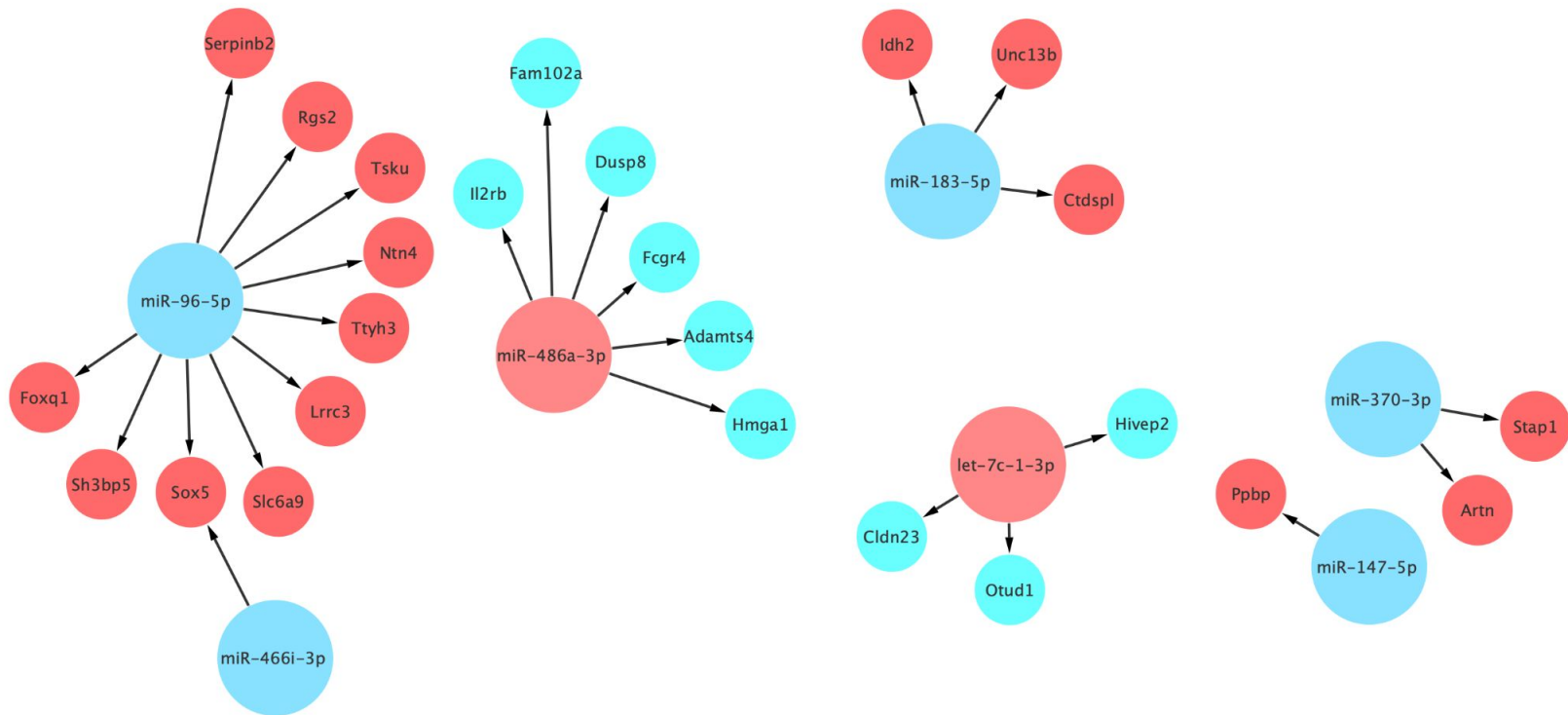
Было отобрано 1494 генов, экспрессия которых менялась в d1338 по сравнению с wt.



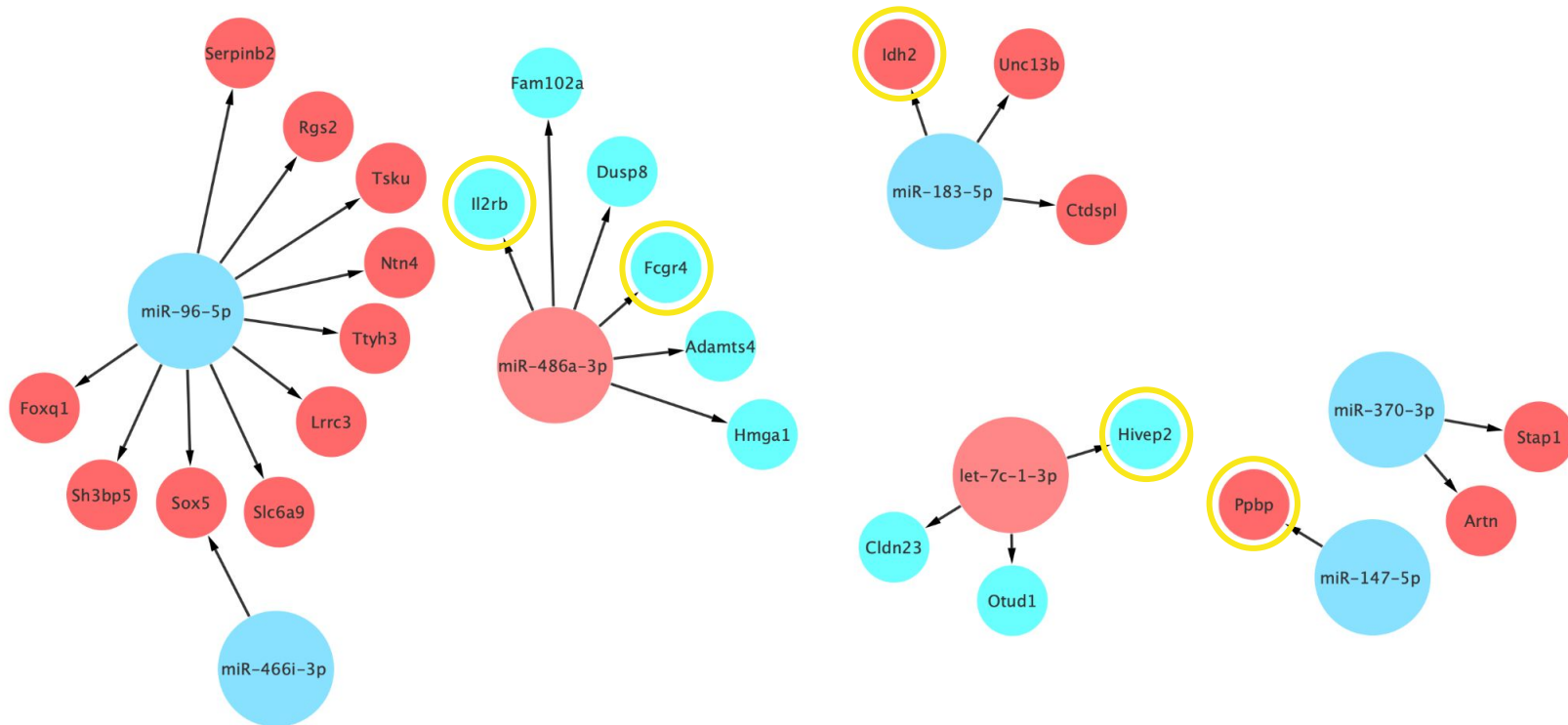
Сеть взаимодействий микроРНК-мишень



Сеть взаимодействий микроРНК-мишень



Сеть взаимодействий микроРНК-мишень



Эффект присутствия MTS1338

МикроРНК	Ген	MTB (литература)	MTB WT	Нокаут MTS1338
miR-183-5p ↓	Idh2	↓	↓	↑
miR-147-5p ↓	Ppbp	↓	-	↑
miR-486a-3p ↑	Il2rb	↑	↑	↓
miR-486a-3p ↑	Fcgr4	↑	-	↓
let-7c-1-3p ↑	Hivep2	↑	↑	↓

Idh2

Idh2 235-242 3' UTR

5' ...CUCUGGAAUCACAUGGUGCCAUA... 3'

mmu-miR-183-5p

3' UCACUUAAGAUGGUCACGGUAU 5'

|||||

Фермент цикла Кребса, осуществляет окислительное декарбоксилирование изоцитрата. В инфицированных макрофагах снижается общий уровень окислительного метаболизма в митохондриях, падает экспрессия ферментов цикла Кребса, в том числе Idh2.

Недостаток Idh2 вызывает:

- разрыв цикла на этапе превращения изоцитрата в α -кетоглутарат, в результате чего накапливается промежуточный цитрат, что может индуцировать воспаление;
- понижение концентрации NADPH и повышение mtROS, что может сопровождаться некрозом макрофагов, что формирует благоприятную для патогенов воспалительную среду во время хронической фазы инфекции.

Prbp

Prbp 582-589 3' UTR

5' ...AUCCCUAGAAUGUCUUGUUUCCA... 3'

mmu-miR-147-5p

3' GAUCAAACACGUCUUUACAAAGGU 5'

||||||

Белок тромбоцитов, являющийся хемоаттрактантом и активатором нейтрофилов. При различных инфекциях экспрессируется макрофагами.

- Показано, что экспрессия Prbp падает при инфекции *M.tb*.
- У младенцев при инфекции *M.tb* повышается экспрессия хемокинов, которые привлекают нейтрофилы, в частности Prbp. Накопление нейтрофилов пагубно сказывается на протекании инфекции, так как они способствуют некрозу макрофагов и высвобождению бактерий.

Il2rb

Рецептор интерлейкина 2 (бета-субъединица).

- Экспрессия Il2rb растет на ранних стадиях инфекции *M.tb*, параллельно с индукцией интерлейкинов 1β , IL-12b, IL-15, IL-16 и IL-21.

Fcgr4, Nivp2

Fcgr4 - Fc-подобный рецептор IgG с низкой аффинностью, Nivp2 - транскрипционный фактор.

- Уровень белков Fcgr4 и Nivp2 растет в макрофагах, инфицированных *M.tb*.

Выводы

- Присутствие в системе MTS1338 влияет на профили экспрессии микроРНК и белок-кодирующих генов;
- Уровни экспрессии белков *Idh2*, *Il2rb*, *Ppbr*, *Hiver* и *Fcgr4* меняются в противоположную сторону при отсутствии в системе MTS1338 по сравнению с тем, как меняется их экспрессия при инфекции *M.tb* по литературным данным.

Благодарности

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

Лаборатория регуляторной транскриптомики

Татьяна Леодоровна Ажикина

Юлия Скворцова

Артем Григоров



Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

Факультет биоинженерии и биоинформатики

Анастасия Александровна Жарикова

Андрей Александрович Миронов



Спасибо за внимание!
