

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-34

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ С НОРМАЛЬНОЙ И ДЕФЕКТНОЙ МИТОФАГИЕЙ*

TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS OF CELL LINES WITH NORMAL AND DEFECTIVE MITOPHAGY

Е. М. Плешко, Д. Д. Бородко, Н. А. Орехов, А. В. Омельченко

НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва

E. M. Pleshko, D. D. Borodko, N. A. Orekhov, A. V. Omelchenko

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow

✉ lizapleshko@yandex.ru

Аннотация

Поиск генов, участвующих в регуляции митофагии, — перспективное направление в противовоспалительной терапии. Мы провели транскриптомный анализ клеточных линий с нормальной и дефектной митофагией и выявили 7 дифференциально экспрессирующихся генов. Они контролируют ряд важных процессов, в том числе клеточную коммуникацию, и могут являться регуляторами митофагии.

Abstract

The search for genes involved in the regulation of mitophagy is a promising direction in anti-inflammatory therapy. We performed a transcriptomic analysis of cell lines with normal and defective mitophagy and identified 7 differentially expressed genes. They control a number of important processes, including cellular communication, and can be regulators of mitophagy.

Введение. Нарушение митофагии приводит к накоплению в клетках поврежденных митохондрий и может являться причиной ряда воспалительных заболеваний, в том числе атеросклероза. Этот процесс активно исследуется, однако сведения о мастер-регуляторах, запускающих митофагию, на данный момент неполные. Также нет четкого представления о том, какие метаболические и сигнальные пути изменяются в условиях дефектной митофагии. Уточнение этих данных может пролить свет на механизмы развития воспалительной реакции и способствовать поиску новых мишеней для противовоспалительной терапии.

Методы. Для работы было взято 13 гибридных клеточных линий с нормальной и дефектной митофагией, полученных слиянием линии р0 THP-1 с тромбоцитами пациентов, у которых был диагностирован атеросклероз. Мы оценили уровень митофагии в них с помощью стимуляции FCCP и провели транскриптомный анализ образцов до стимуляции с тремя биологическими повторностями.

Для анализа качества чтений была использована программа FastQC (v0.12.1). Для триммирования использовалась программа Trimmomatic (v0.39). С помощью алгоритма STAR (v2.7.0a) чтения были картированы на сборку человеческого генома GRCh38 с аннотацией ensembl и были получены каунты. Далее мы провели анализ дифференциальной экспрессии генов с помощью пакета DESeq2 (1.12.3) на языке R и анализ функционального обогащения с помощью ClusterProfiler (v3.19).

Результаты. Мы идентифицировали 63 гена, экспрессия которых статистически значимо отличается при нормальной и дефектной митофагии (p -value < 0,05). Только у 7 из них экспрессия была повышена или понижена более чем в 4 раза ($|\log_2\text{FoldChange}| > 2$). Всего один ген (PCDH7), удовлетворяющий данным критериям, был даунрегулирован в условиях дефектной митофагии по сравнению с нормальной. Остальные апрегулированы: GPC6, RENBP, RGMA, NEUROG3, LGALS3BP и MPDZ. Из-за малого количества статистически значимых генов не удалось выявить обогащение метаболических путей в данном наборе.

Протокадгерин-7 (продукт PCDH7) участвует в регуляции клеточной коммуникации и адгезии. Было показано, что его нокдаун вызывает изменения в аутофагии [1]. Ренин-связывающий белок является компонентом ренин-ангиотензиновой системы. Для генов PRR и ACE2, также входящих в эту систему, показано участие в регуляции аутофагии [2]. Функция галектин-3-связывающего белка (продукт LGALS3BP) неизвестна, но галектин-3 регулирует ряд клеточных процессов. Было показано, что его даунрегуляция стимулирует митофагию [3]. Для остальных генов связь с аутофагией на данный момент неизвестна, но они участвуют в регуляции ряда кле-

* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 23-65-10014).

© Е. М. Плешко, Д. Д. Бородко, Н. А. Орехов, А. В. Омельченко, 2024

точных процессов и могут в том числе являться мастер-регуляторами митофагии. GPC6 вовлечен в контроль клеточного роста и деления, RGMA регулирует формирование костей, NEUROG3 является транскрипционным фактором, контролирующим пролиферацию эндокринных клеток-предшественников. Функция MPDZ неизвестна, но показано, что он взаимодействует с важными регуляторными белками из класса транскрипционных факторов.

Выводы. Мы выявили 7 генов, статистически значимо изменивших экспрессию при нарушении процесса митофагии. Некоторые из них действительно могут объяснять имеющиеся нарушения при болезнях хронического воспаления, однако механизмы, связывающие эти гены, остаются неясными и требуют дополнительных исследований в контексте контроля митофагии и патологий.

Литература

1. Liu Z. et al. PCDH7 knockdown potentiates colon cancer cells to chemotherapy via inducing ferroptosis and changes in autophagy through restraining MEK1/2/ERK/c-Fos axis // *Biochemistry and Cell Biology*. 2022. Vol. 100, No. 6. P. 445–457.
2. Zhang X. Y. et al. Downregulation of the (pro) renin receptor alleviates ferroptosis-associated cardiac pathological changes via the NCOA 4-mediated ferritinophagy pathway in diabetic cardiomyopathy // *International Immunopharmacology*. 2024. Vol. 138. P. 112605.
3. Huang Z. et al. Galectin-receptor interaction: a key player in liver fibrosis induced by *Schistosoma japonicum* infection // *Parasites & Vectors*. 2024. Vol. 17, No. 1. P. 232.