

УДК 577.218

DOI 10.34014/2227-1848-2022-4-149-159

ЭКСПРЕССИЯ H/АСА мякРНК В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ С ХРОМОСОМНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

Е.В. Расторгуева, Е.С. Погодина, Е.В. Юрова, Е.А. Белобородов,
Д.Е. Сугак, Ю.В. Саенко, А.Н. Фомин

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Семейство H/АСА мякРНК участвует в биогенезе псевдоуридина, препятствуя генетическим изменениям в клетках, делая их более устойчивыми, через стабильность рибосомальной РНК. Поэтому изучение экспрессии H/АСА мякРНК в клеточных линиях при хромосомных нарушениях после облучения представляет особый интерес.

Цель исследования – изучение влияния хромосомных нарушений на экспрессию H/АСА мякРНК в радиорезистентной K562 и радиочувствительной HL-60 клеточных линиях после радиационного воздействия.

Материалы и методы. Клеточные линии K562 и HL-60 облучали в дозе 4 Гр. Экспрессию H/АСА мякРНК анализировали с помощью NGS-секвенирования через 1, 4 и 24 ч после облучения.

Результаты. Выявили отличия экспрессии H/АСА мякРНК по хромосомам в изучаемых клеточных линиях, а также влияние хромосомных аномалий на экспрессию H/АСА мякРНК после радиационного воздействия. Изменение количества копий нормальных хромосом ведет к незначительным изменениям экспрессии H/АСА мякРНК. Наличие маркерных хромосом приводит к нарушению экспрессии H/АСА мякРНК, что делает невозможным использование H/АСА мякРНК, локализованных в аномальных хромосомах, в качестве маркеров радиорезистентности. Кроме того, при наличии маркерных хромосом снижается количество экспрессирующихся H/АСА мякРНК в K562, несмотря на большее количество генетического материала.

Ключевые слова: семейство H/АСА мякРНК, раковые клетки, маркерные хромосомы.

Введение. Все большее значение в патофизиологических процессах приобретают малые некодирующие РНК, одними из которых являются малые ядрышковые РНК (мяк(мяо)РНК). Литературные данные [1] свидетельствуют о том, что мякРНК обладают опухоль-супрессивными или онкогенными функциями при различных типах рака. МякРНК участвуют во многих биологических процессах рака, включая инвазию супрессоров роста и гибель клеток, активацию инвазии и метастазирования, а также ангиогенез и устойчивую пролиферативную передачу сигналов. Регуляция экспрессии мякРНК может способствовать достижению цели лечения рака. Например, опосредованное антисмысловыми олигонуклеотидами подавление экспрессии SNORA23 уменьшало рост опухоли, диссеминацию и метастазирование в печень при аденокарциноме протоков поджелудочной железы у мышей [2]. Wenjing Zhu et al. идентифицировали сигнатуру из девяти

мякРНК в качестве биомаркеров для прогнозирования рака яичников [3]. Возможно, в ближайшем будущем мякРНК станут одними из мишеней для лечения рака [1].

В своей предыдущей работе [4] мы исследовали влияние хромосомных нарушений на экспрессию мякРНК в радиорезистентной и радиочувствительной клеточных линиях после радиационного воздействия. Здесь мы сфокусировались на одном из семейств мякРНК. Большинство мякРНК можно разделить на два семейства: C/D и H/АСА, названные в честь консервативных консенсусных частей, которые они содержат. Дополнительные РНК, такие как микроРНК (miRNAs), которые могут быть обнаружены в ядрышках, не рассматриваются как мякРНК. Некоторые малые РНК тельца Кахаля (скаРНК), обычно участвующие в направлении модификаций малых ядерных РНК (снРНК) сплайсосомы, содержат C/D, H/АСА или оба типа консервативных блоков, а фрагмент РНК теломеразного ком-

плекса (hTR/TERC), участвующий в поддержании концов хромосом, содержит блок Н/АСА [5]. Эти мякРНК широко распространены в различных хромосомах, при этом хромосома 1 содержит наибольшее количество мякРНК (188 мякРНК), за ней следует хромосома 15, в которой находится 183 мякРНК [6]. Биогенез С/D- и Н/АСА-блоков мякРНК включает биосинтез и сборку малых ядрышковых рибонуклеопротеиновых частиц (мякРНП) с последующей их локализацией в тельцах Кахаля и ядрышках [1].

Основная функция Н/АСА мякРНК – превращение специфических остатков уридина в псевдоуридин на рибосомальной РНК (рРНК). Псевдоуридин стабилизирует рРНК, тем самым потенциально влияя на структуру, белковый состав и функцию рибосомы [5, 7].

Возможно, экспрессия Н/АСА мякРНК и биогенез Н/АСА мякРНП изменяются в ответ на повышенную потребность в синтезе белка (при повышенных требованиях к клеточному росту). Например, несколько генов [7, 8], содержащих Н/АСА мякРНК, включая ДКС1, кодирующий псевдоуридинсинтазу дискерин, являются прямыми мишенями хорошо охарактеризованного онкогена и фактора транскрипции Мус [8]. Мутации дискерина и последующее снижение псевдоуридилирования рРНК характерны для Х-сцепленного врожденного дискератоza (рибосомопатии), при этом у пациентов наблюдается явное увеличение восприимчивости к раку [9]. Мутанты дискерина и нарушение псевдоуридилирования снова связаны со сниженной IRES-зависимой трансляцией р53 мРНК. Дискерин также является частью теломеразного РНП, поскольку РНК TERC разделяет блок Н/АСА с одноименным семейством мякРНК, а активация теломеразы является общим признаком многих видов рака. Отдельные мякРНК, особенно U3 или U8, необходимы для онкогенеза, их истощение приводит к противоопухолевому ответу посредством повышения уровня р53 и апоптоза, а затем к нарушению биогенеза рибосом [5].

Исследования показывают, что мякРНК играют критическую роль в микроокружении опухоли [10]. Псевдоуридин стабилизирует РНК. Наше исследование может показать, меняется ли экспрессия семейства Н/АСА

мякРНК после радиационного воздействия и играют ли роль данные нуклеиновые кислоты в изменении радиочувствительности опухолевых клеток при хромосомных нарушениях.

Цель исследования. Изучение влияния хромосомных нарушений на экспрессию Н/АСА мякРНК в радиорезистентной K562 и радиочувствительной HL-60 клеточных линиях после радиационного воздействия.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись радиочувствительная клеточная линия промиелоцитарного лейкоза человека HL-60 и радиорезистентная клеточная линия хронической миелоидной лейкемии человека K562 (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург). Клетки культивировались при температуре 37 °С, содержании 5 % CO₂ и 98 % влажности. В экспериментах использовалась среда RPMI-1640 с L-глутамином («ПанЭко», Россия), содержащая 50 мкг/мл гентамицина («ПанЭко», Россия) и 10 % эмбриональную бычью сыворотку (PAA Laboratories GmbH, Австрия).

Клеточные линии подвергались γ -облучению в дозе 4 Гр (энергия фотонов 10 МэВ) линейным ускорителем Elekta Synergy (Elekta, Швеция). Облучение происходило при комнатной температуре и длилось 55 с. Перед облучением клетки переносились в 6-луночные планшеты. Транспортировка планшетов с клеточными культурами до места облучения и обратно производилась в термостатном контейнере при температуре 37 °С. Все эксперименты проводились во время логарифмической фазы роста клеток. Манипуляции с контрольной группой были аналогичны манипуляциям с экспериментальной группой, за исключением облучения.

Выживаемость клеток оценивалась с использованием смеси флуоресцентных красителей – пропидиум йодида и акридинового оранжевого. Анализ окрашенных клеток проводился с помощью методов флуоресцентной микроскопии [12].

Тотальная РНК выделялась из клеток набором Absolutely RNA miRNA Kit (Agilent Technologies, США) через 1, 4 и 24 ч после облучения. Качество выделенной РНК оценивалось по соотношению 18S/28S РНК капиллярным электрофорезом Agilent 2100 Bioanalyzer

(Agilent Technologies, США). Для эксперимента отбирались образцы с индексом сохранности РНК $RIN > 8,0$. Библиотеки кДНК из мягРНК готовились с использованием набора NEBNext Small RNA Library Prep Set (NEB, Великобритания). Очистка библиотек кДНК мягРНК осуществлялась в 6 % полиакриламидном геле с помощью электрофореза. Из геля вырезались участки кДНК соответствующих мягРНК между 145 и 160 п.н. и выделялись кДНК. Во всех полученных библиотеках мягРНК количество кДНК измерялось флуорометром Qubit (Invitrogen, США). Из каждой библиотеки отобраны эквимоларные количества (2 нМ) образца для пула библиотек, который секвенировался с помощью системы высокопроизводительного секвенирования MiSeq System (Illumina, США) с использованием набора для одноконцевого чтения 150 п.н.

После секвенирования получились файлы формата FASTQ. Обработка данных осуществлялась с использованием сервиса GenXPro omiRas. В результате формировались таблицы с данными, которые включали название Н/АСА мягРНК и нормализованное на 10^5 прочтений количество Н/АСА мягРНК. При обработке полученных данных вычислялось количество дифференциально экспрессирующихся Н/АСА мягРНК и количество одноименных дифферен-

циально экспрессирующихся Н/АСА мягРНК в двух клеточных линиях через 1, 4 и 24 ч после облучения. Величина экспрессии Н/АСА мягРНК выражалась через \log_2 отношения нормализованной экспрессии мягРНК в опыте к аналогичному показателю в контроле ($\log_2 fc$).

Определение локализации Н/АСА мягРНК в хромосомах проводилось с использованием базы данных National Center for Biotechnology Information Search data base (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Каждый эксперимент проводился в трех повторах. Результаты представлялись как среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm SD$). Для оценки статистической значимости различий применялся t-критерий Стьюдента для парных переменных. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. На рис. 1 показан процент живых клеток после однократного облучения в дозе 4 Гр раковых клеточных линий HL-60 и K562 от общего числа. Доля живых клеток в клеточной линии HL-60 в контроле составила 94 %. После радиационного воздействия данный показатель снизился до 79 %. В радиорезистентной клеточной линии K562 доля выживших клеток от общего количества клеток снизилась с 92,5 % до 88 %.

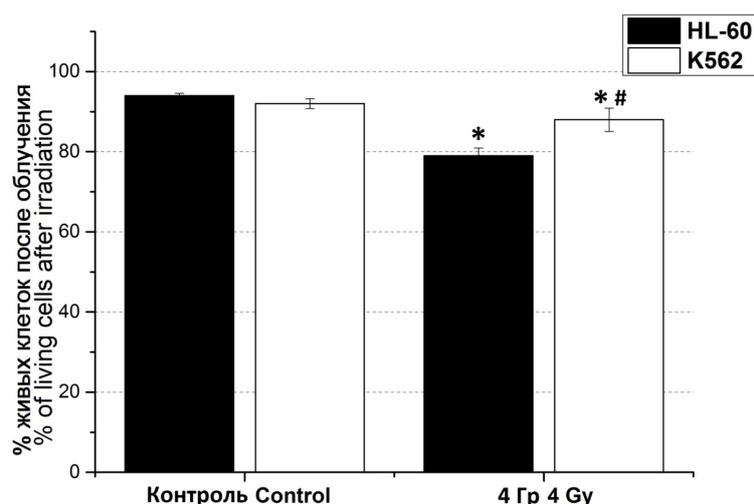


Рис. 1. Процент живых клеток в контроле и после радиационного облучения в дозе 4 Гр в клеточных линиях HL-60 и K562.

* – статистически значимые отличия по отношению к контролю;

– статистически значимые отличия по отношению к клеточной линии HL-60 ($p < 0,05$)

Fig. 1. Percentage of living cells in the control and after radiation exposure (4 Gy) in HL-60 and K562 cell lines.

* – the differences are statistically significant compared to the control;

– the differences are statistically significant compared to HL-60 cell line, $p < 0,05$

Количество типов экспрессирующихся мРНК, локализованных в каждой хромосоме, в каждой точке эксперимента представлено на рис. 2. В клеточной линии K562 наибольшее количество экспрессирующихся РНК локализовано в 1, 3, 17-й хромосомах, а в клеточной линии HL-60 – в 1-й и 11-й хромо-

сомах. В обеих клеточных линиях есть хромосомы, в которых мРНК не экспрессируются, например 15, 21 и 22-я. Распределение экспрессирующихся Н/АСА мРНК по хромосомам в клеточных линиях различается и изменяется в течение эксперимента.

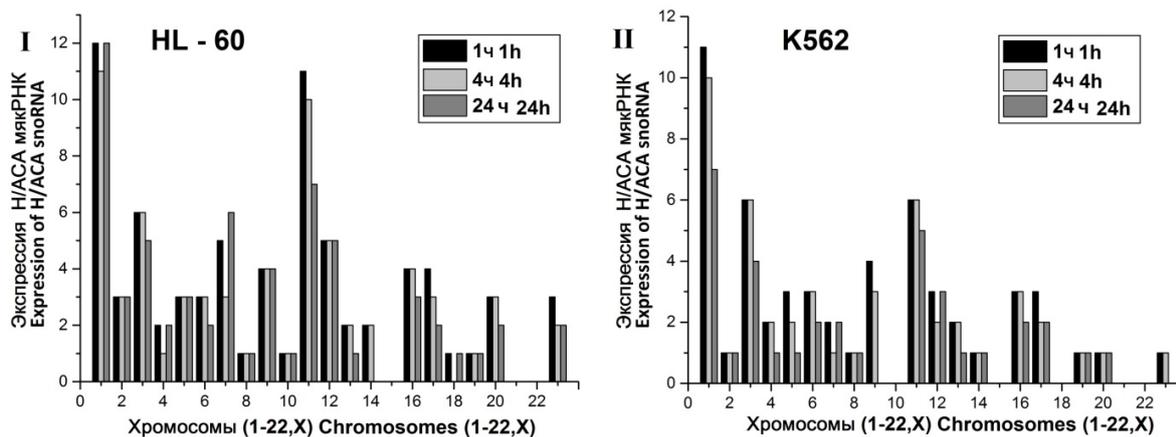


Рис. 2. Количество экспрессирующихся Н/АСА мРНК в зависимости от хромосомной локализации в клеточных линиях HL-60 (I) и K562 (II) через 1, 4 и 24 ч после облучения

Fig. 2. The number of expressed H/ACA snoRNAs depending on the chromosomal localization in HL-60 (I) and K562 (II) cell lines (1, 4 and 24 hours after irradiation)

На рис. 3 представлен разброс значений экспрессии (выраженных через \log_2fc) Н/АСА мРНК, распределенных в соответствии с их локализацией в хромосомах, в клеточных линиях HL-60 и K562. В клеточной линии K562 во всех точках эксперимента (рис. 3, I–III) Н/АСА мРНК имеют более широкий разброс значений \log_2fc (от -1 до +1 через 1 ч после облучения, от -1 до +2 через 4 ч, от -2 до +1 через 24 ч), что говорит о значительных отличиях в экспрессии Н/АСА мРНК после радиационного воздействия в сравнении с контрольной группой. Клеточная линия HL-60 характеризуется меньшим разбросом значений \log_2fc , их основное количество сосредоточено в интервале от -1 до +1,5 через 1, 4 и 24 ч после облучения (рис. 3, IV–VI).

Таким образом, изменения экспрессии Н/АСА мРНК в клеточных линиях K562 и HL-60 характерны для всех хромосом. Наибольшие отличия в значениях \log_2fc экспрессирующихся мРНК зафиксированы в кле-

точной линии K562 на протяжении всего эксперимента.

На рис. 4 представлен кластерный анализ экспрессии Н/АСА мРНК, локализованных в хромосомах 3, 5 и 11 в клеточных линиях K562 и HL-60: I и II – кластеризация экспрессирующихся Н/АСА мРНК, локализованных в хромосоме 3, в клеточных линиях K562 и HL-60 соответственно; III – кластеризация экспрессирующихся Н/АСА мРНК, локализованных в хромосоме 5, в клеточной линии K562 (трисомия хромосомы 5); IV – кластеризация экспрессирующихся Н/АСА мРНК, локализованных в хромосоме 5, в клеточной линии HL-60 (моносомия хромосомы 5); V – кластеризация экспрессирующихся Н/АСА мРНК, локализованных в хромосоме 11, в клеточной линии K562 (трисомия хромосомы 11, маркерная хромосома); VI – кластеризация экспрессирующихся Н/АСА мРНК, локализованных в хромосоме 11, в клеточной линии HL-60 (две нормальные хромосомы 11).

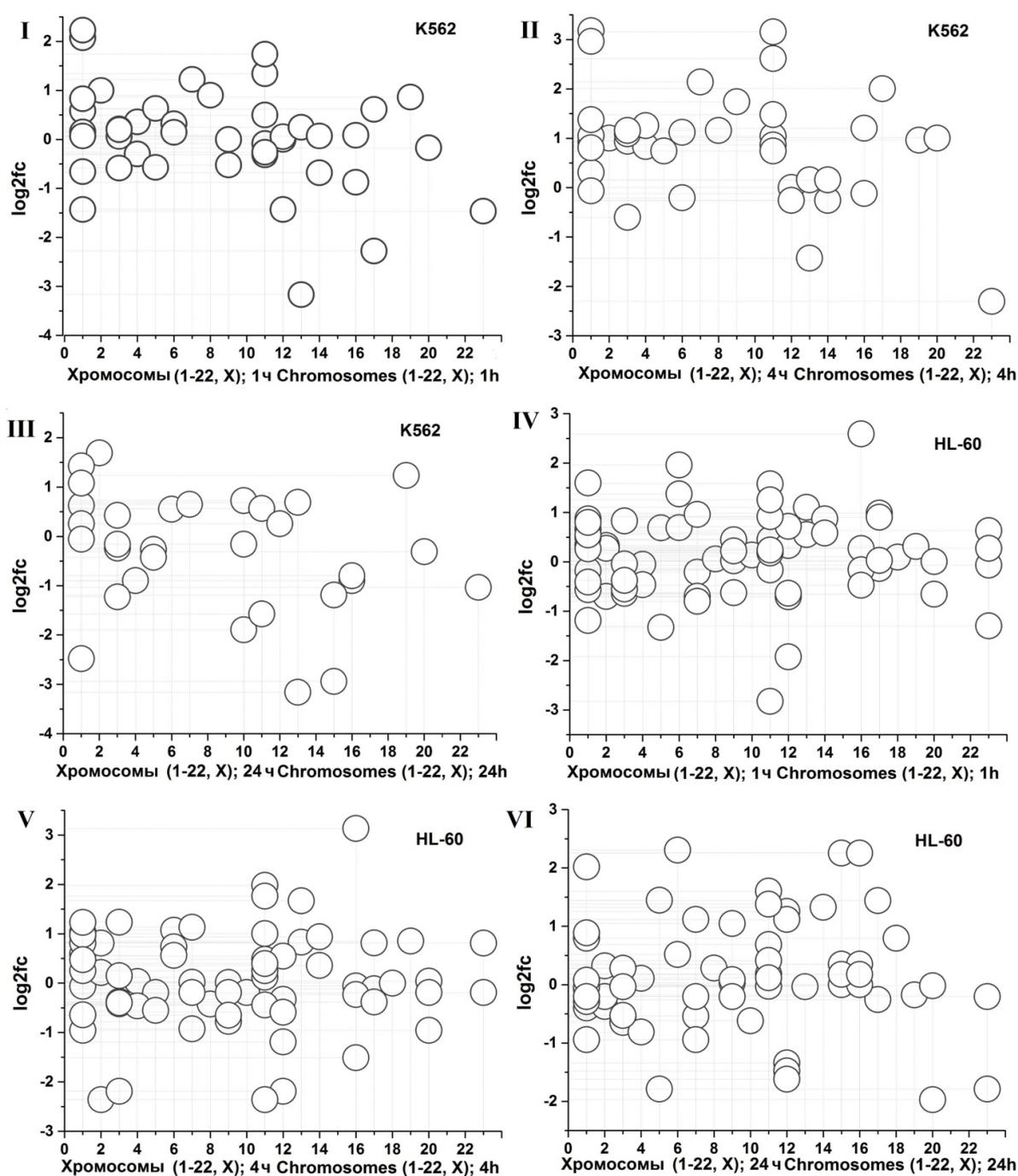


Рис. 3. Анализ экспрессии Н/АСА мякРНК в зависимости от хромосомной локализации после радиационного воздействия в дозе 4 Гр в сравнении с контролем

Fig. 3. Dynamics of H/ACA snoRNA expression depending on chromosomal localization after radiation exposure (4 Gy) compared to the control

Как видно из рис. 4, экспрессия Н/АСА мякРНК в хромосоме 3 в рассматриваемых клеточных линиях, которые имеют по две нормальные хромосомы из каждой пары, примерно одинаковая. В хромосоме 5, в которой у клеточной линии K562 выявлена трисомия,

а у клеточной линии HL-60 – моносомия, виды и кластеризация Н/АСА мякРНК также имеют лишь незначительные отличия.

Однако в хромосоме 11 кластеризация и виды экспрессирующихся Н/АСА мякРНК достаточно сильно отличаются. В K562 – 9 Н/АСА

мякРНК (помимо общих Н/АСА мякРНК экспрессируется *has-sno-U97*), а в HL-60 – 12 Н/АСА мякРНК (отличается от K562 экспрессией *has-sno-ACA52*, *has-sno-ACA32*,

has-sno-ACA40, *has-sno-U90*). Наблюдаемые различия в кластеризации и типах экспрессирующихся Н/АСА мякРНК говорят о влиянии хромосомных мутаций на экспрессию генов.

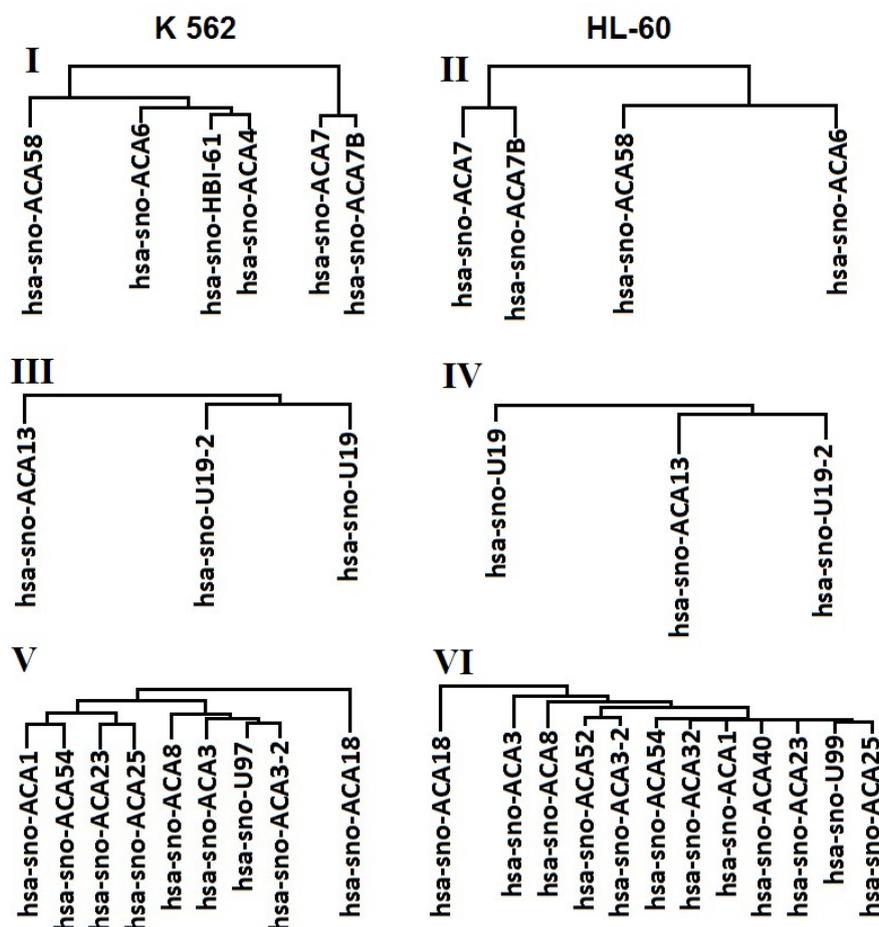


Рис. 4. Кластерный анализ экспрессии Н/АСА мякРНК, локализованных в хромосомах 3 (I, II), 5 (III, IV) и 11 (V, VI), в клеточных линиях K562 и HL-60

Fig. 4. Cluster analysis of H/ACA snoRNA expression localized in 3 (I, II), 5 (III, IV), and 11 (V, VI) chromosomes, K562 and HL-60 cell lines

Обсуждение. В данной работе были использованы две раковые клеточные линии лейкемии, которые имеют разную чувствительность к радиационному воздействию и разный уровень хромосомных аномалий. Клеточная линия HL-60 характеризуется небольшим количеством геномных аномалий (моносомия хромосом 5, 15 и X, трисомия хромосомы 18) и обладает умеренной радиочувствительностью [12]. Клеточная линия K562 имеет 14 геномных мутаций (моносомия хромосом 7, 12, 13, 17, 19, X, трисомия хромосом 1, 4, 5,

8, 11, 15, 16, нулисомия хромосомы 9) и маркерную хромосому 21 и является менее радиочувствительной [13]. Подобные различия в геноме будут влиять на экспрессию всех генов. По данным наших экспериментов, около половины всех Н/АСА мякРНК в клетках K562 и HL-60 изменяют свою экспрессию после радиационного воздействия в дозе 4 Гр, литературные данные также свидетельствуют о том, что измененная экспрессия – это часть сложной реакции в клетках после облучения [14]. Анализ экспрессии мякРНК с учетом хромосом-

ной локализации после радиационного воздействия показал, что изменения в количестве экспрессирующихся Н/АСА мякРНК характерны для большинства хромосом (рис. 2). Наибольшие отличия в профиле экспрессии Н/АСА мякРНК наблюдаются в радиорезистентной клеточной линии K562 (рис. 2).

В нашей работе было показано, что клеточная линия K562 экспрессирует меньшее количество Н/АСА мякРНК по сравнению с клеточной линией HL-60 (рис. 2 и 3), хотя и имеет большее количество генетического материала. Увеличение количества генетического материала в клеточной линии K562 связано с наличием большого числа трисомий и маркерной хромосомы. Однако эти хромосомы, появившиеся в результате геномных мутаций и хромосомных aberrаций, обладают нарушенной функциональной целостностью, что в конечном итоге сказывается на снижении их функциональной активности [15]. Показано, что Н/АСА мякРНК участвуют в биогенезе псевдоуридина, который в свою очередь препятствует генетическим изменениям в клетках, делает их более устойчивыми через стабильность рибосомальной РНК [16]. Следовательно, увеличение количества экспрессирующихся Н/АСА мякРНК можно связать с генетически более стабильной клеточной линией HL-60.

На рис. 4 (I и II) показаны экспрессирующиеся Н/АСА мякРНК, локализованные в хромосоме 3 клеточных линий K562 и HL-60. Обе клеточные линии имеют по две нормальные копии хромосомы 3. Кластеризация Н/АСА мякРНК в обеих клеточных линиях схожа, при этом экспрессируются одинаковые Н/АСА мякРНК. Аналогичные результаты получены нами и для других нормальных хромосом клеточных линий K562 и HL-60 (хромосомы 14 и 20). Данные результаты говорят о том, что экспрессия Н/АСА мякРНК, локализованных в нормальных хромосомах родственных клеточных линий, может иметь лишь незначительные отличия.

Количество, кластеризация и типы экспрессирующихся Н/АСА мякРНК, локализованных в хромосоме 5, в двух исследуемых клеточных линиях одинаковы. Экспрессия Н/АСА мякРНК при наличии трисомии и мо-

носомии отличается незначительно (рис. 4). Это обусловлено отсутствием функциональных перестроек внутри хромосомы при данных видах хромосомных аномалий. Поэтому можно предположить, что регуляция экспрессии генов должна быть такая же, как и у нормальных хромосом.

Для дальнейшего анализа была выбрана хромосома 11, которая представлена в клеточной линии HL-60 двумя нормальными копиями, а в K562 тремя нормальными копиями хромосомы 11 и маркерной хромосомой. В наших экспериментах было продемонстрировано, что при наличии дополнительной маркерной хромосомы экспрессия Н/АСА мякРНК и кластеризация существенно отличаются по сравнению с нормальной хромосомой 11 (рис. 4, V и VI). Подобная картина наблюдается и при сравнении экспрессии Н/АСА мякРНК других нормальных хромосом клеточной линии HL-60 с аномальными хромосомами клеточной линии K562 (хромосомы 2, 6, 17, 19, 22). О маркерных хромосомах и их влиянии на экспрессию генов у людей известно немного. Исследования сперматозоидов с маркерными хромосомами показали, что данное нарушение приводит к изменению экспрессии генов и бесплодию [17], у пациентов с маркерными хромосомами наблюдаются отклонения в развитии и различные патологии [18]. Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что маркерные хромосомы оказывают значительное влияние на экспрессию Н/АСА мякРНК и экспрессию генов в целом. Но из-за большого разнообразия маркерных хромосом соотнести определенную маркерную хромосому с конкретным нарушением или заболеванием достаточно трудно.

Заключение. Проанализировав динамику экспрессии семейства Н/АСА мякРНК в раковых клеточных линиях K562 и HL-60, можно сделать вывод, что характер и изменение экспрессии в ответ на ионизирующее облучение в наших экспериментах могут зависеть от наличия хромосомных аномалий. Трисомии и моносомии не оказывают такого существенного влияния на экспрессию Н/АСА мякРНК, как наличие маркерных хромосом. Маркерные хромосомы приводят к нарушению экспрессии Н/АСА мякРНК, что делает невоз-

возможным использование H/ACA мякРНК, локализованных в аномальных хромосомах, в качестве маркеров радиорезистентности.

Данное исследование позволяет ближе подойти к пониманию значения нарушений

экспрессии H/ACA мякРНК для использования их в качестве маркеров для лечения онкологических заболеваний человека и будет способствовать дальнейшему развитию персонализированной медицины.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания № 0830-2020-0008.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Liang J., Wen J., Huang Z., Chen X.P., Zhang B.X., Chu L. Small Nucleolar RNAs: Insight Into Their Function in Cancer. *Front Oncol.* 2019; 9: 587.
2. Cui L., Nakano K., Obchoei S. Small Nucleolar Noncoding RNA SNORA23, Up-Regulated in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, Regulates Expression of Spectrin Repeat-Containing Nuclear Envelope 2 to Promote Growth and Metastasis of Xenograft Tumors in Mice. *Gastroenterology.* 2017; 153 (1): 292–306.e2.
3. Zhu W., Zhang T., Luan S. Identification of a novel nine-SnoRNA signature with potential prognostic and therapeutic value in ovarian cancer. *Cancer Med.* 2022; 11 (10): 2159–2170.
4. Rastorgueva E., Liamina D., Panchenko I. The effect of chromosome abnormalities on expression of SnoRNA in radioresistant and radiosensitive cell lines after irradiation. *Cancer Biomark.* 2022; 34 (4): 545–553.
5. Abel Y., Rederstorff M. SnoRNAs and the emerging class of sdRNAs: Multifaceted players in oncogenesis. *Biochimie.* 2019; 164: 17–21.
6. Dsouza V.L., Adiga D., Sriharikrishna S., Suresh P.S., Chatterjee A., Kabekkodu S.P. Small nucleolar RNA and its potential role in breast cancer - A comprehensive review. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021; 1875 (1): 188501.
7. McMahon M., Contreras A., Holm M. A single H/ACA small nucleolar RNA mediates tumor suppression downstream of oncogenic RAS. *Elife.* 2019; 8: e48847.
8. McMahon M., Contreras A., Ruggero D. Small RNAs with big implications: new insights into H/ACA snoRNA function and their role in human disease. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2015; 6 (2): 173–189.
9. Garus A., Autexier C. Dyskerin: an essential pseudouridine synthase with multifaceted roles in ribosome biogenesis, splicing, and telomere maintenance. *RNA.* 2021; 27 (12): 1441–1458.
10. Cai C., Peng Y., Shen E. Identification of tumour immune infiltration-associated snoRNAs (TIIsno) for predicting prognosis and immune landscape in patients with colon cancer via a TIIsno score model. *EBio Medicine.* 2022; 76: 103866.
11. Mascotti K., McCullough J., Burger S.R. HPC viability measurement: Trypan blue versus acridine orange and propidium iodide. *Transfusion.* 2000; 40: 693–696.
12. Liang J.C., Ning Y., Wang R.Y. Spectral karyotypic study of the HL-60 cell line: detection of complex rearrangements involving chromosomes 5, 7, and 16 and delineation of critical region of deletion on 5q31.1. *Cancer Genet Cytogenet.* 1999; 113 (2): 105–109.
13. Naumann S., Reutzel D., Speicher M., Decker H.J. Complete karyotype characterization of the K562 cell line by combined application of G-banding, multiplex-fluorescence in situ hybridization, fluorescence in situ hybridization, and comparative genomic hybridization. *Leuk Res.* 2001; 25 (4): 313–322.
14. Chaudhry M.A. Expression pattern of small nucleolar RNA host genes and long non-coding RNA in X-rays-treated lymphoblastoid cells. *Int J Mol Sci.* 2013; 14 (5): 9099–9110.
15. De Falco G., Ambrosio M.R., Fuligni F. Burkitt lymphoma beyond MYC translocation: N-MYC and DNA methyltransferases dysregulation. *BMC Cancer.* 2015; 15: 668.
16. Barozzi C., Zacchini F., Asghar S., Montanaro L. Ribosomal RNA Pseudouridylation: Will Newly Available Methods Finally Define the Contribution of This Modification to Human Ribosome Plasticity? *Front Genet.* 2022; 13: 920987.

17. *Slimani W., Jelloul A., Al-Rikabi A.* Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) and male infertility: characterization of five new cases, review of the literature, and perspectives. *J Assist Reprod Genet.* 2020; 37 (7): 1729–1736.
18. *An N., Yu Y., Xi Q.* Molecular Characterization of Mosaicism for a Small Supernumerary Marker Chromosome Derived from Chromosome Y in an Infertile Male with Apparently Normal Phenotype: A Case Report and Literature Review. *Biomed ResInt.* 2019; 2019: 9398275.

Поступила в редакцию 10.08.2022; принята 20.11.2022.

Авторский коллектив

Расторгуева Евгения Владимировна – старший преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии с курсом микробиологии, младший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: rastorgueva.e.v@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1518-4677>.

Погодина Евгения Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: janeg1411@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8183-5103>.

Юрова Елена Валерьевна – аспирант, младший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: urovaev523@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7484-2671>.

Белобородов Евгений Алексеевич – аспирант, младший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: beloborodov.evgeniy.a@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-5666-5154>.

Сугак Дмитрий Евгеньевич – инженер-исследователь НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: dmitriysugak@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3276-8976>.

Саенко Юрий Владимирович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: saenkojuv@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4402-1482>.

Фомин Александр Николаевич – кандидат технических наук, директор, старший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: mr.fominan@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0826-1857>.

Образец цитирования

Расторгуева Е.В., Погодина Е.С., Юрова Е.В., Белобородов Е.А., Сугак Д.Е., Саенко Ю.В., Фомин А.Н. Экспрессия H/ACA мякРНК в клеточных линиях с хромосомными нарушениями после облучения. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 4: 149–159. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-4-149-159.

EXPRESSION OF H/ACA snoRNA IN CELL LINES WITH CHROMOSOMAL ABNORMALITIES AFTER IRRADIATION

E.V. Rastorgueva, E.S. Pogodina, E.V. Yurova, E.A. Beloborodov, D.E. Sugak, Yu.V. Saenko, A.N. Fomin

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

The H/ACA snoRNA family is involved in pseudouridine biogenesis. It prevents genetic changes in cells and makes them more stable due to ribosomal RNA characteristics. Therefore, the study of H/ACA snoRNA expression in cell lines with chromosomal disorders after irradiation is of particular interest.

The purpose of the study is to analyze the effect of chromosomal disorders on H/ACA snoRNA expression in radioresistant K562 and radiosensitive HL-60 cell lines after radiation exposure.

Materials and Methods. K562 and HL-60 cell lines were exposed to radiation (4 Gy). H/ACA snoRNA expression was analyzed by NGS sequencing (1, 4, and 24 hours after irradiation).

Results. The authors revealed differences in H/ACA snoRNA expression by chromosomes in the studied cell lines, as well as the impact of chromosomal abnormalities on H/ACA snoRNA expression after radiation exposure. Changes in the copy number of normal chromosomes lead to minor changes in H/ACA snoRNA expression. Marker chromosomes disrupt H/ACA snoRNA expression. Thus, it becomes impossible to use H/ACA snoRNAs located in abnormal chromosomes as radioresistance markers. Moreover, marker chromosomes decrease the number of H/ACA snoRNAs expressed in K562, despite the greater amount of genetic material.

Key words: H/ACA snoRNA family, cancer cells, marker chromosomes.

The work is supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project No. 0830-2020-0008).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Liang J., Wen J., Huang Z., Chen X.P., Zhang B.X., Chu L. Small Nucleolar RNAs: Insight Into Their Function in Cancer. *Front Oncol.* 2019; 9: 587.
2. Cui L., Nakano K., Obchoei S. Small Nucleolar Noncoding RNA SNORA23, Up-Regulated in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, Regulates Expression of Spectrin Repeat-Containing Nuclear Envelope 2 to Promote Growth and Metastasis of Xenograft Tumors in Mice. *Gastroenterology.* 2017; 153 (1): 292–306.e2.
3. Zhu W., Zhang T., Luan S. Identification of a novel nine-SnoRNA signature with potential prognostic and therapeutic value in ovarian cancer. *Cancer Med.* 2022; 11 (10): 2159–2170.
4. Rastorgueva E., Liamina D., Panchenko I. The effect of chromosome abnormalities on expression of SnoRNA in radioresistant and radiosensitive cell lines after irradiation. *Cancer Biomark.* 2022; 34 (4): 545–553.
5. Abel Y., Rederstorff M. SnoRNAs and the emerging class of sdRNAs: Multifaceted players in oncogenesis. *Biochimie.* 2019; 164: 17–21.
6. Dsouza V.L., Adiga D., Sriharikrishna S., Suresh P.S., Chatterjee A., Kabekkodu S.P. Small nucleolar RNA and its potential role in breast cancer – A comprehensive review. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021; 1875 (1): 188501.
7. McMahon M., Contreras A., Holm M. A single H/ACA small nucleolar RNA mediates tumor suppression downstream of oncogenic RAS. *Elife.* 2019; 8: e48847.
8. McMahon M., Contreras A., Ruggero D. Small RNAs with big implications: new insights into H/ACA snoRNA function and their role in human disease. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2015; 6 (2): 173–189.
9. Garus A., Autexier C. Dyskerin: an essential pseudouridine synthase with multifaceted roles in ribosome biogenesis, splicing, and telomere maintenance. *RNA.* 2021; 27 (12): 1441–1458.
10. Cai C., Peng Y., Shen E. Identification of tumour immune infiltration-associated snoRNAs (TIIsno) for predicting prognosis and immune landscape in patients with colon cancer via a TIIsno score model. *EBio Medicine.* 2022; 76: 103866.
11. Mascotti K., McCullough J., Burger S.R. HPC viability measurement: Trypan blue versus acridine orange and propidium iodide. *Transfusion.* 2000; 40: 693–696.
12. Liang J.C., Ning Y., Wang R.Y. Spectral karyotypic study of the HL-60 cell line: detection of complex rearrangements involving chromosomes 5, 7, and 16 and delineation of critical region of deletion on 5q31.1. *Cancer Genet Cytogenet.* 1999; 113 (2): 105–109.
13. Naumann S., Reutzel D., Speicher M., Decker H.J. Complete karyotype characterization of the K562 cell line by combined application of G-banding, multiplex-fluorescence in situ hybridization, fluorescence in situ hybridization, and comparative genomic hybridization. *Leuk Res.* 2001; 25 (4): 313–322.
14. Chaudhry M.A. Expression pattern of small nucleolar RNA host genes and long non-coding RNA in X-rays-treated lymphoblastoid cells. *Int J Mol Sci.* 2013; 14 (5): 9099–9110.
15. De Falco G., Ambrosio M.R., Fuligni F. Burkitt lymphoma beyond MYC translocation: N-MYC and DNA methyltransferases dysregulation. *BMC Cancer.* 2015; 15: 668.

16. Barozzi C., Zacchini F., Asghar S., Montanaro L. Ribosomal RNA Pseudouridylation: Will Newly Available Methods Finally Define the Contribution of This Modification to Human Ribosome Plasticity? *Front Genet.* 2022; 13: 920987.
17. Slimani W., Jelloul A., Al-Rikabi A. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) and male infertility: characterization of five new cases, review of the literature, and perspectives. *J Assist Reprod Genet.* 2020; 37 (7): 1729–1736.
18. An N., Yu Y., Xi Q. Molecular Characterization of Mosaicism for a Small Supernumerary Marker Chromosome Derived from Chromosome Y in an Infertile Male with Apparently Normal Phenotype: A Case Report and Literature Review. *Biomed ResInt.* 2019; 2019: 9398275.

Received 10 August 2022; accepted 20 November 2022.

Information about the authors

Rastorgueva Evgeniya Vladimirovna, Senior Lecturer, Chair of General and Clinical Pharmacology with a Course in Microbiology, Junior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: rastorgueva.e.v@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1518-4677>.

Pogodina Evgeniya Sergeevna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: janeg1411@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8183-5103>.

Yurova Elena Valer'evna, Post-graduate Student, Junior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: urovaev523@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7484-2671>.

Beloborodov Evgeniy Alekseevich, Post-graduate Student, Junior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: beloborodov.evgeniy.a@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5666-5154>.

Sugak Dmitriy Evgen'evich, Research Engineer, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: dmitriysugak@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3276-8976>.

Saenko Yuriy Vladimirovich, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Leading Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: saenkoyv@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4402-1482>.

Fomin Aleksandr Nikolaevich, Candidate of Sciences (Technical Sciences), Director, Senior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: mr.fominan@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0826-1857>.

For citation

Rastorgueva E.V., Pogodina E.S., Yurova E.V., Beloborodov E.A., Sugak D.E., Saenko Yu.V., Fomin A.N. Ekspressiya H/ACA myakRNK v kletochnykh liniyakh s khromosomnymi narusheniyami posle oblucheniya [Expression of H/ACA snoRNA in cell lines with chromosomal abnormalities after irradiation]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal.* 2022; 4: 149–159. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-4-149-159 (in Russian).