

УДК 577.113.4 : 577.21

Проверка метилирования митохондриальной 12S рРНК предполагаемой метилтрансферазой METTL17

А. В. Машковская^{1*}, С. С. Марьясина^{2,3,4}, М. В. Серебрякова⁵, М. П. Рубцова³,
О. А. Донцова^{3,5,6,7}, П. В. Сергиев^{2,3,5,6}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, 119192 Россия

²Институт функциональной геномики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119192 Россия

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, 119192 Россия

⁴Российский университет дружбы народов «НОРЦ Фармация», Москва, 117198 Россия

⁵Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119192 Россия

⁶Центр молекулярной и клеточной биологии, Сколтех, Москва, 121205 Россия

⁷Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия

*E-mail: mashkovskayaav@my.msu.ru

Поступила в редакцию 28.08.2023

Принята к печати 26.10.2023

DOI: 10.32607/actanaturae.25441

РЕФЕРАТ Сборка митохондриальной рибосомы является сложным и многоступенчатым процессом, в который вовлечено множество дополнительных факторов. Процесс создания рибосом отличается в разных группах организмов, однако существуют универсальные стадии и консервативные факторы, которые сохраняются в эволюционно далеких таксонах. Одним из таких факторов сборки является белок METTL17, ставший предметом изучения данной работы. Это консервативный фактор, вовлеченный в сборку рибосомы как в бактериях, так и в митохондриях эукариотических организмов, включая мышь и человека. В рамках настоящей работы проверена гипотеза о предполагаемой метилтрансферазной активности METTL17. Для оценки метилирования предполагаемой мишени METTL17 – области 12S рРНК, с которой фактор взаимодействует во время сборки митохондриальной рибосомы – был применен метод MALDI-TOF масс-спектрометрии. Изучение METTL17 и других факторов сборки митохондриальной рибосомы имеет не только фундаментальную, но и практическую значимость: нарушение сборки миторибосомы зачастую сопровождается развитием митохондриальных заболеваний человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА митохондриальная рибосома, факторы сборки рибосомы, метилтрансферазы, метилирование РНК, MALDI-TOF масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

В сборку митохондриальной рибосомы вовлечено множество факторов, которые выполняют свою функцию в строгом порядке [1, 2]. Нарушение работы одного из факторов сборки может существенно снизить эффективность созревания рибосомных частиц. Один из консервативных факторов сборки митохондриальной рибосомы – белок METTL17 из класса I SAM-зависимых метилтрансфераз, об-

ладает сигналом митохондриальной локализации и взаимодействует с малой субчастицей митохондриальной рибосомы во время сборки [3–5].

Фактор METTL17 играет важную роль в созревании малой субчастицы митохондриальной рибосомы, во время сборки рибосомы METTL17 взаимодействует с несколькими интермедиатами малой субчастицы в месте, где в зрелых рибосомах происходит связывание мРНК [4, 5]. Связывание METTL17

приводит к конформационным изменениям 12S рРНК малой субчастицы в области спиралей 31–34 [4, 5]. В отсутствие METTL17 сборка митохондриальной рибосомы протекает некорректно: показано, что нокаут гена белка METTL17 приводит к снижению уровня, но не полному исчезновению метилирования двух нуклеотидных остатков в 12S рРНК [3], что связано с нарушением взаимодействия с интермедиатом сборки миторибосомы известных РНК-метилтрансфераз [6–9]. Ошибки в созревании миторибосом в отсутствие METTL17 приводят к дефектам митохондриальной трансляции и дыхательной функции митохондрий [3–5]. На уровне организма снижение синтеза METTL17 ассоциировано с развитием атаксии Фридрейха, одного из наиболее распространенных митохондриальных заболеваний [4].

Очевидно, что METTL17 крайне важен для корректной сборки миторибосомы, однако потенциальная метилтрансферазная функция, которой может обладать этот фактор, не изучена. Дело в том, что на основе сходства последовательности и наличия в структуре метилтрансферазного домена и сайта связывания S-аденозилметионина METTL17 относится к семейству SAM-связывающих метилтрансфераз класса I. Из структур METTL17 человека и трипаносомы следует, что варианты METTL17 в этих организмах могут связывать SAM, чего, однако, не наблюдается в дрожжевом гомологе [4, 5]. На основании этих фактов можно предположить, что фактор METTL17 потенциально обладает до сих пор не изученной метилтрансферазной активностью.

Мы обратили внимание на то, что во время сборки METTL17 взаимодействует с 12S рРНК в области спиралей 31–34 [4, 5] и предположили, что он может модифицировать какой-то нуклеотидный остаток в этой области рРНК. Известны пять сайтов метилирования митохондриальной 12S рРНК, каждый из которых метилируется соответствующей метилтрансферазой [6–12]. Тем не менее, мы допустили, что какая-то модификация могла быть упущена из виду, и решили проверить гипотезу о том, что METTL17 метилирует участок 12S митохондриальной рРНК в области спиралей 31–34. Общий ход работы и эксперименты, проведенные для проверки гипотезы о мишени METTL17, показаны на рис. 1.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Инактивация гена *Mettl17*

Для инактивации гена *Mettl17* в клеточной линии NIH-3T3 использовали систему CRISPR-Cas9. Гидовая РНК с лучшим рейтингом

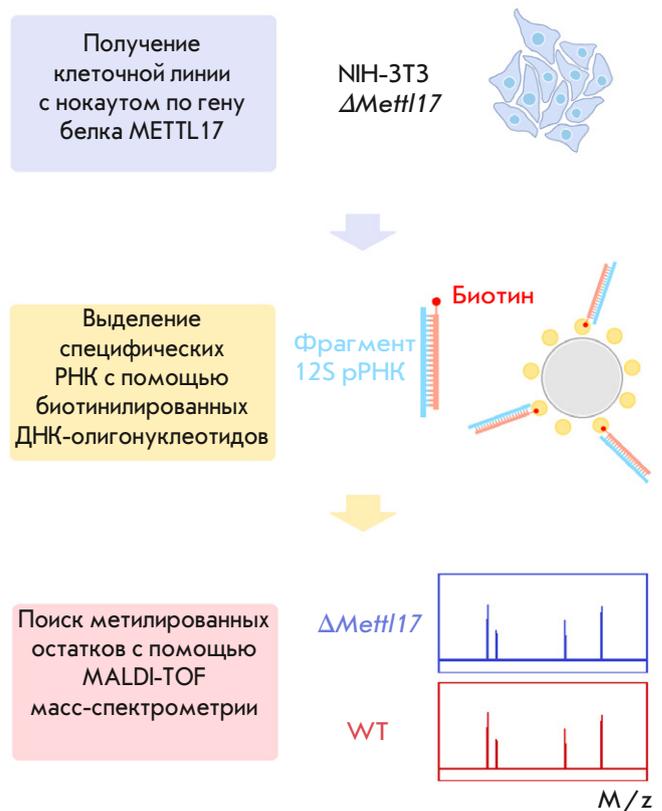


Рис. 1. Схема поиска мишени метилирования митохондриального фактора METTL17

(5'-GACATTTACCTGTAGAGCCGG-3') для внесения разреза в третий экзон гена *Mettl17* была подобрана с помощью сервиса Benchling CRISP designing tool (<https://benchling.com>). Генетическую конструкцию создавали с использованием двух ДНК-олигонуклеотидов, содержащих последовательность гидовой РНК и адаптеры для лигирования в плазмиду (последовательность гидовой РНК показана серым, комплементарная последовательность – светло-серым):



Гибридизацию олигонуклеотидов проводили в буфере для T4-ДНК-лигазы (Thermo Scientific, США): добавляли олигонуклеотиды до концентрации 1 мкМ каждого, инкубировали в течение 5 мин при 95°C и оставляли остывать в закрытом термостате до температуры 30°C. 1 мкл полученного раствора дуплексов лигировали в плазмиду pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458, Addgene #48138), порезанную по сайтам узнавания эндонуклеазы ре-

стрикции BpiI [13]. Лигазной смесью трансформировали компетентные клетки *Escherichia coli* (штамм JM109), колонии выращивали на чашке с добавлением ампициллина (50 мкг/мл). Из ночных культур выделяли плазмидную ДНК с помощью набора реактивов Plasmid Miniprep («Евроген», Россия). Наличие вставки в плазмиде проверяли методом секвенирования по Сэнгеру с помощью праймера на промотор U6 (5'-GACATCATATGCTTACCGT-3').

Клетки линии NIH-3T3 дикого типа трансфицировали плазмидой со вставкой гидовой РНК с использованием реагента Lipofectamine 3000 (Thermo Scientific). Для трансфекции взяли 100000 клеток, 500 нг плазмиды и 1.5 мкл липофектамина. Через 24 ч после трансфекции клетки отбирали по флуоресценции белка GFP с помощью клеточного сортера FACS Aria III BD, сигнал регистрировали при длинах волн поглощения/испускания 488/530 нм. Отобранные клетки рассеивали на моноклоны в 96-луночный планшет (по 200 мкл среды в лунку). Дальнейшее культивирование отдельных моноклонов проводили в лунках 24-луночного планшета. Для проверки нокаута гена *Mettl17* из клеток выделяли суммарную ДНК с помощью раствора QuickExtract DNA Extraction Solution (Lucigen). Далее проводили ПЦР, амплифицируя фрагмент с областью, в которую вносили разрез.

Праймеры для ПЦР:

Прямой праймер:

5'-GTGAGAAACTGCGGGAAGGG-3'

Обратный праймер:

5'-AGCCSTACCTTGTTTTTCCAGG-3'.

Наличие мутации в гене *Mettl17*, приводящей к инактивации гена, проверяли путем секвенирования амплифицированных фрагментов по Сэнгеру.

Культивирование клеточных линий

Клетки NIH-3T3 дикого типа и Δ *Mettl17* культивировали при температуре 37°C и 5% CO₂ в среде DMEM/F12 (Gibco) с добавлением FBS до 10% объема, раствора GlutaMAX (2 mM L-аланин-L-глутамин) смеси антибиотиков (100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина). Клетки растили в культуральных матрасах (25 см²) для адгезивных клеток. При конfluence 90–100% клетки пересевали: клетки дикого типа в разведении 1:10, клетки Δ *Mettl17* – 1:4. Клетки ополаскивали раствором PBS, после чего снимали раствором 1× Трипсин-EDTA (Gibco) в PBS, ресуспендировали необходимую долю клеток в свежей среде.

Большие объемы клеток для выделения суммарной РНК наращивали в чашках Петри диаметром

150 мм. Для сбора клеток вначале удаляли большую часть среды, затем клетки снимали с помощью культурального скребка. Среду с клетками центрифугировали в течение 5 мин при температуре +4°C на скорости 1000 об/мин, далее среду удаляли, а осадок клеток замораживали и хранили при температуре –80°C до проведения эксперимента.

Выделение фрагментов 12S рРНК и MALDI-TOF масс-спектрометрия

Суммарную РНК выделяли с использованием реагента ExtractRNA («Евроген»). Осадки клеток размораживали во льду и гомогенизировали в растворе ExtractRNA (1 мл на 100 мг клеток) в приборе Precellys Evotution в пробирках объемом 15 мл (Tissue grinding CKmix50_15ml). Разрушение проводили при 6000 об/мин в течение 20 с, программе запускали дважды, в перерыве охлаждая раствор во льду в течение 5 мин. После разрушения клеток суммарную РНК выделяли в соответствии с протоколом для реагента ExtractRNA; полученные образцы РНК растворяли в воде miliQ до концентрации 5–7 мг/мл.

Фрагменты 12S рРНК выделяли с помощью трех биотинилированных ДНК-олигонуклеотидов, комплементарных участкам 12S рРНК:

1. 5'-[biotin]GGTTTGCTGAAGATGGCGGTATAT-AGGCTGAATTAGCAAG-3'
2. 5'-[biotin]CCCATTTTCATTTGGCTACACCTTGAC-СТАACGTTTTTATGT-3'
3. 5'-[biotin]GCAAGAGATGGTGAGGTAGAGCGGG-GTTTTATCGATTATAGAACA-3'.

Раствор суммарной РНК (2 мл, 2 мг/мл) с олигонуклеотидом (100 пмоль/мл) в 6× SSC-буфере прогревали при 95°C в течение 5 мин в термостате, после чего охлаждали в закрытом термостате до 40°C. После гибридизации раствор обрабатывали РНКазой T1 (Thermo Scientific) в концентрации 1 U/мл в течение 1.5 ч при температуре 37°C. После инкубации ДНК/РНК-дуплексы выделяли с помощью стрептавидиновых шариков Dynabeads M-280 Streptavidin (Thermo Scientific) по 100 мкл магнитных шариков на пробу. Магнитные шарики трижды промывали 6× SCC-буфером, далее их добавляли к раствору и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре при перемешивании. После инкубации магнитные шарики промывали последовательно 3× SCC-буфером (4 раза), 1× буфером (3 раза), 0.1× буфером (3 раза). Перед последней промывкой шарики переносили в чистую пробирку. Для элюции РНК пробовали два метода: элюция 100 мкл 0.1× SCC-буфера с 6 M мочевиной (70°C, 5 мин на шейкере при 1000 об/мин) и элюция ДНКазой I (100 мкл раствора ДНКазы в 1× буфере

для ДНКазы, инкубация 30 мин при 37°C в термостате при регулярном перемешивании). Элюат отбирали на магнитном штативе и переносили в чистую пробирку. Добавляли изопропанол до 50%, NH₄OAc до 1 М, 0.5 мкл Glycoblue и оставляли на ночь при температуре -20°C.

На следующий день РНК осаждали центрифугированием на максимальных оборотах (+4°C 15 мин), осадок промывали холодным 80% этанолом и высушивали при температуре 42°C в термостате. Осадок РНК растворяли в 1× RNA Loading Dye (Thermo Scientific) и наносили на полиакриламидный 12% гель с 7 М мочевиной, гель окрашивали раствором этидия бромидом. Полоски, соответствующие фрагментам РНК, вырезали из геля, измельчали и дважды промывали раствором 25 мМ цитрата аммония с 50% ацетонитрила, после чего высушивали в 100% ацетонитриле. Для масс-спектрометрии MALDI-TOF кусочки геля высушивали на воздухе, после чего обрабатывали раствором РНКазы Т1 в 50 мМ цитрате аммония в течение 3 ч при 37°C. В качестве матрицы для MALDI масс-спектрометрии использовали раствор 50 мг/мл 2,5-дигидроксибензойной кислоты с добавлением 0.5% ТФУ и 30% ацетонитрила. К 0.5 мкл цитратного раствора РНК-олигонуклеотидов добавляли 1.5 мкл матрицы, после чего смесь наносили на мишень и высушивали. Анализ проводили с помощью прибора Ultraflex III BRUKER с УФ-лазером (Nd, 335 нм) с детекцией положительных ионов.

Программное обеспечение

С помощью общедоступного ресурса Mongo Oligo Mass Calculator [14] был сгенерирован упорядоченный по массе список всех олигонуклеотидов, полученных в результате расщепления участков митохондриальной 12S рРНК РНКазой Т1. Этот список был рассчитан на основе последовательности, полученной из открытого банка последовательностей NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Последовательность митохондриальной 12S рРНК домашней мыши (*Mus musculus*) получена из референсной последовательности митохондриального генома (NC_005089).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе нами была проверена гипотеза о том, что фактор METTL17 метилирует участок 12S рРНК, с которым он взаимодействует во время сборки митохондриальной рибосомы. В первую очередь получили клеточную линию с нокаутом по гену белка METTL17, позволяющую сравнить метилирование участка 12S рРНК в норме и в отсутствие фактора METTL17. Для проверки метили-

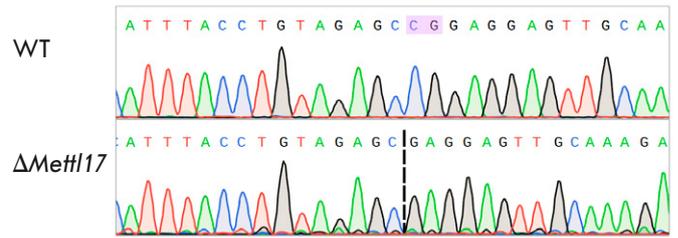


Рис. 2. Сравнение последовательности гена белка METTL17 в линии NIH-3T3 дикого типа (WT) и с нокаутом (Δ Mettl17), секвенирование по Сэнгеру

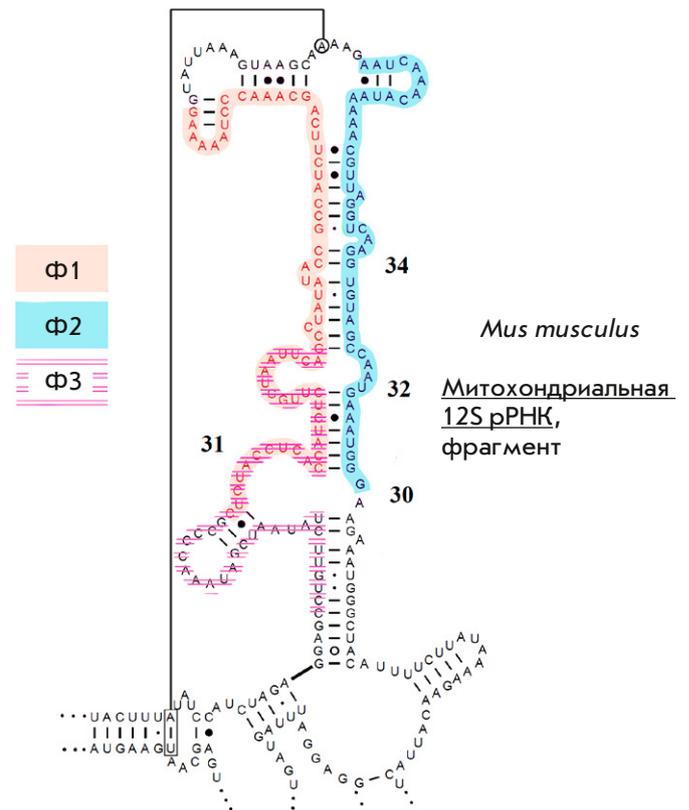


Рис. 3. Фрагменты 12S рРНК мыши, проанализированные с помощью масс-спектрометрии (Ф1, Ф2, Ф3). Два фрагмента (Ф1, Ф3) частично перекрываются. Изображение адаптировано из ресурса [15]

рования 12S рРНК использовали метод выделения специфических РНК с помощью биотинилированных ДНК-олигонуклеотидов. Фрагменты РНК выделяли из клеток дикого типа и клеток с нокаутом по гену белка METTL17. Выделенные и очищенные образцы РНК анализировали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Сравнение масс РНК из клеток дикого типа и из линии с нокаутом и с предварительно рассчитанными теоретическими

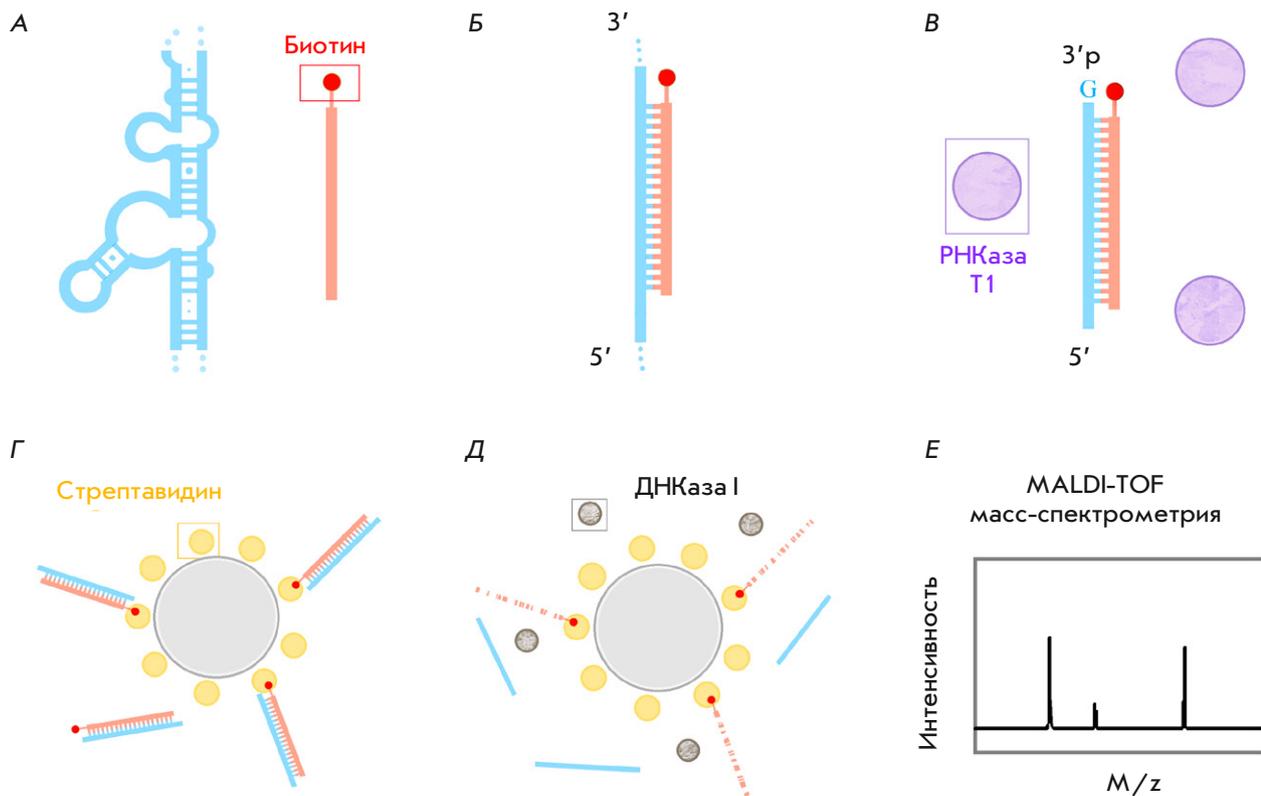


Рис. 4. Схема выделения фрагментов рРНК с помощью биотинилированных олигонуклеотидов. А – участок 12S рРНК (показан голубым) и биотинилированный олигонуклеотид (коралловый, биотин – красный). Б – после отжига вторичные структуры рРНК расплавляются, происходит гибридизация участка рРНК и олигонуклеотида. В – после обработки РНКазой Т1 остается ДНК-рРНК-дуплекс, РНКазы Т1 разрезают оцРНК после остатков гуаниловой кислоты, оставляя 3'-фосфат. Г – дуплексы ДНК-рРНК связываются с магнитными шариками за счет биотин-стрептавидинового взаимодействия. Д – после обработки ДНКазой I ДНК разрушается, рРНК переходит в раствор. Е – анализ выделенных фрагментов рРНК с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии

массами позволило нам проверить гипотезу о метилировании рРНК фактором METTL17.

Получение клеточной линии NIH-3T3 Δ Mettl17

В работе использовали клеточную линию NIH-3T3 – линию адгезивных клеток фибробластического типа, полученную из эмбриональной ткани мыши. Ген *Mettl17* инактивировали с помощью производного плазмиды рХ458 [13], кодирующего компоненты системы CRISPR/Cas9 (ген белка Cas9 и последовательность гидовой РНК). Гидовую РНК подбирали таким образом, чтобы вносить разрез в начало третьего экзона гена *Mettl17*.

В результате была получена клеточная линия с делецией 2 п.н. в экзоне 3 гена *Mettl17*. Такая делеция приводит к сдвигу рамки считывания и инактивации гена. Наличие мутации в гене было проверено с помощью секвенирования по Сэнгеру (рис. 2).

Анализ метилирования фрагментов 12S рРНК

Для проверки метилирования мы выбрали участок 12S рРНК в области спиралей 31–34, с которым взаимодействует METTL17. Это крупный структурированный участок РНК, включающий в себя двухцепочечные фрагменты (рис. 3). Из-за этого мы приняли решение разбить данный участок на три фрагмента (рис. 3), выделили и проанализировали каждый из них по отдельности.

Специфические фрагменты 12S рРНК выделяли с использованием опубликованного ранее подхода [9, 16, 17] с небольшими изменениями на стадии элюции. Общая схема эксперимента представлена на рис. 4. Специфические фрагменты рРНК выделяли с помощью биотинилированных ДНК-олигонуклеотидов, комплементарных интересующим нас фрагментам рРНК длиной 40–50 остатков. После гибридизации и образования ДНК-рРНК-

дуплексов раствор обрабатывали РНКазой Т1, вносящей разрез в оцРНК после гуаниловых остатков. Таким образом, ДНК-РНК-дуплексы остаются в растворе, в то время как вся оцРНК разрушается.

ДНК-РНК-дуплексы выделяли из раствора с помощью стрептавидиновых магнитных шариков, РНК элюировали и разделяли в полиакриламидном геле для нахождения фрагментов необходимой длины (рис. 5). Мы пробовали элюировать РНК с помощью раствора мочевины при нагревании в соответствии с ранее опубликованной методикой [9], а также с помощью раствора ДНКазы (рис. 5). При элюции мочевиной мы столкнулись с тем, что, помимо интересующих фрагментов РНК, в раствор попадает биотинилированный ДНК-олигонуклеотид. Обработка ДНКазой позволяет не только элюировать РНК, но и избавиться от ДНК в растворе. Нанесение элюата на гель позволяет отделить фрагменты РНК от молекул ДНКазы, поэтому применение ферментативной элюции не затрудняет проведение масс-спектрометрического анализа.

Перед масс-спектрометрическим анализом полосы на геле, соответствующие фрагментам РНК, вырезали из геля и дополнительно обрабатывали РНКазой Т1, которая расщепляла РНК на фрагменты меньшей длины. Максимальный вес среди полученных фрагментов составил 6.2 кДа, длина фрагментов составила до 20 нуклеотидных остатков. Теоретические массы всех фрагментов рассчитывали предварительно с помощью онлайн-ресурса [14].

В результате анализа гидролизатов трех фрагментов 12S рРНК из клеток дикого типа и клеток

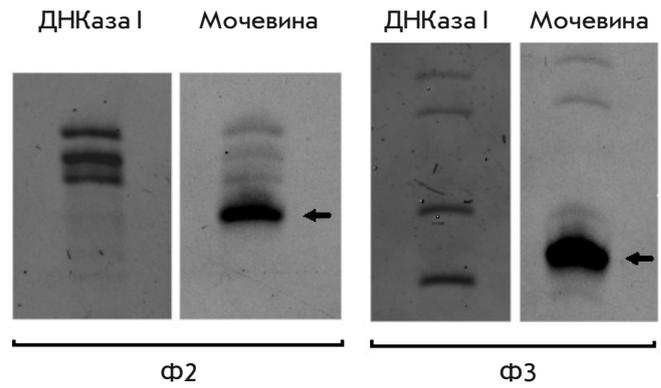


Рис. 5. Результаты выделения фрагментов РНК (Ф2, Ф3) на геле. Элюция проведена с помощью мочевины и ДНКазы I. ДНК-олигонуклеотид, попадающий в раствор при элюции мочевиной, показан стрелкой

ΔMettl17 получены масс-спектры, позволяющие определить, есть ли в РНК клеток дикого типа дополнительная метильная группа, которая отсутствует в клетках *ΔMettl17*. При наличии дополнительной CH_3 -группы вес фрагмента был бы больше на 14 Да. На рис. 6–8 представлены масс-спектры трех фрагментов, сверху показан результат для клеток с нокаутом, снизу – для клеток дикого типа. По результатам масс-спектрометрического анализа мы определили, что участок 12S рРНК, взаимодействующий с METTL17, в клетках дикого типа не метилирован, масса фрагментов не изменяется при нокауте гена белка METTL17.

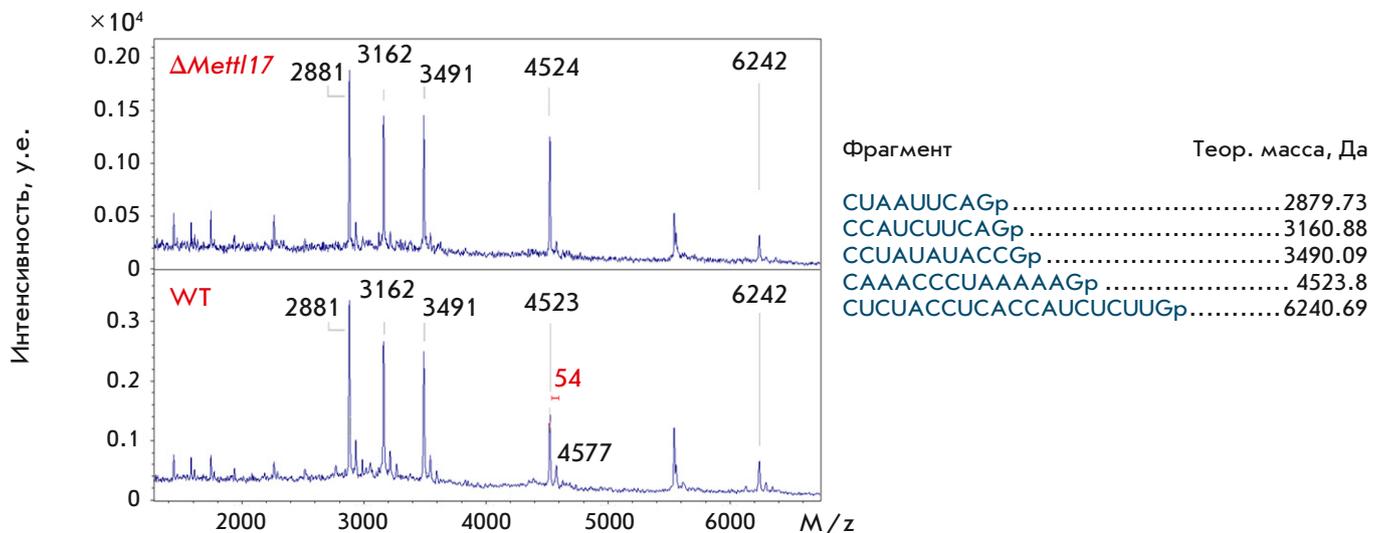


Рис. 6. Масс-спектры Фрагмента 1 (пики на РНК из линии с нокаутом гена белка METTL17 показаны сверху, линии дикого типа – снизу). Масс-спектр получен в линейном режиме. Теоретически рассчитанные пики для Фрагмента 1 подписаны

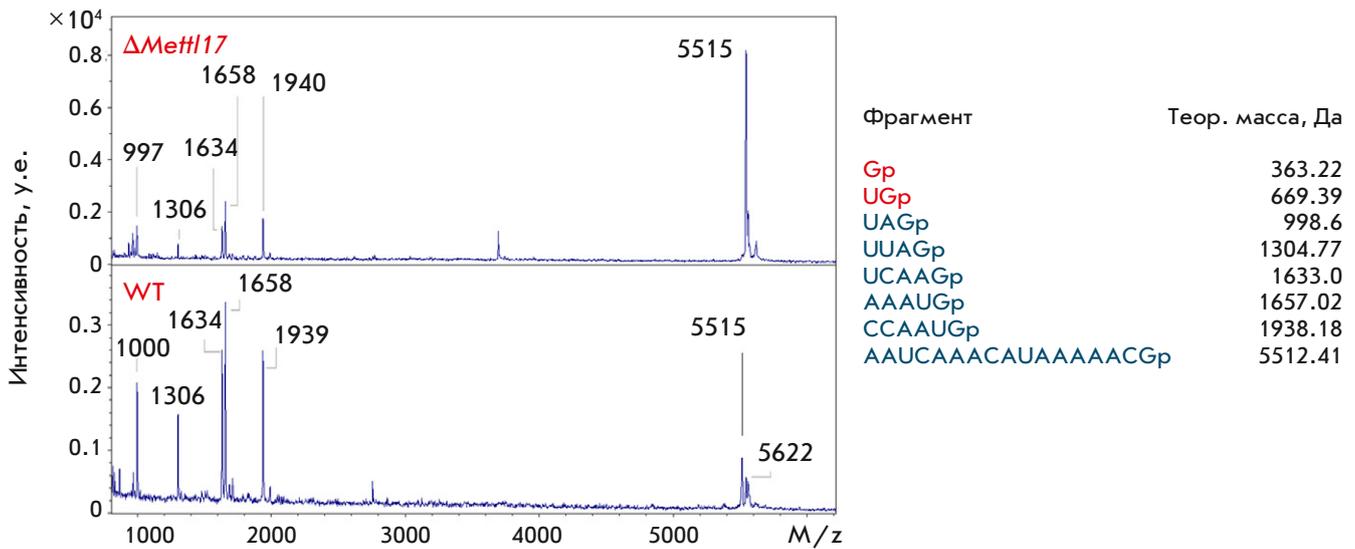


Рис. 7. Масс-спектры Фрагмента 2 (пики на РНК из линии с нокаутом гена белка METTL17 показаны сверху, линии дикого типа – снизу). Масс-спектр получен в линейном режиме. Пики, теоретически рассчитанные для Фрагмента 2, подписаны

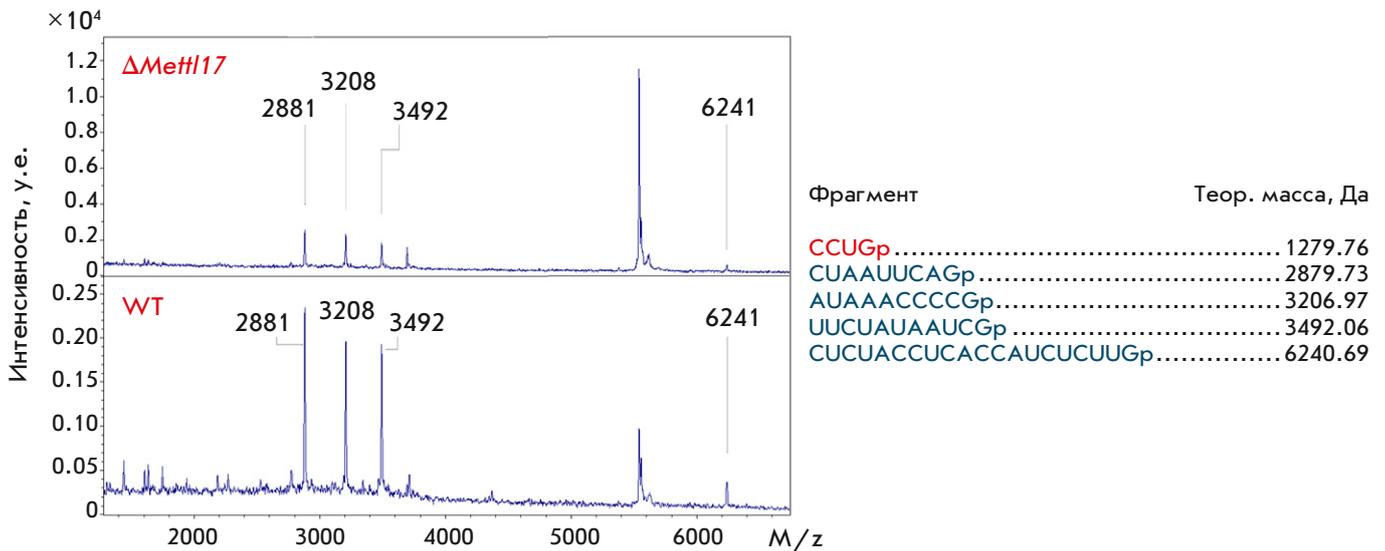


Рис. 8. Масс-спектры Фрагмента 3 (пики в РНК из линии с нокаутом гена белка METTL17 показаны сверху, линии дикого типа – снизу). Масс-спектр получен в линейном режиме. Пики, теоретически рассчитанные для Фрагмента 3, подписаны

На полученных масс-спектрах присутствуют все фрагменты с предсказанной массой, за исключением двух коротких фрагментов (1–2 нуклеотидных остатка) на хроматограмме Фрагмента 2 (рис. 7) и фрагмента длиной 4 нуклеотидных остатка на хроматограмме Фрагмента 3 (рис. 8). В первом случае масса фрагмента была очень мала, из-за этого ее не удалось зафиксировать. Во втором случае мы предполагаем, что фрагмент CCUGp не попал в раствор из-за того, что был отщеплен РНКазой T1. Этот участок расположен на конце анализиру-

емого фрагмента, поэтому возможно отщепление РНКазой из-за короткой длины двухцепочечного участка. Несмотря на это, в процессе эксперимента была проверена вся область 12S рРНК, близко контактирующая с METTL17. Это позволяет заключить, что METTL17 не метилирует фрагмент 12S рРНК в области спиралей 31–34, приводя к изменению пространственной конформации этого участка рРНК.

Таким образом, мы предполагаем, что в сборке малой субчастицы миторибосомы METTL17 играет

в основном структурную роль, не связанную с метилированием. Так, подтверждается предположение [2, 3] о том, что METTL17 – это фактор сборки митоторибосомы, произошедший от метилтрансфераз и сохранивший характерную укладку и способность связывать SAM по крайней мере в некоторых группах организмов, который, вероятно, потерял метилтрансферазную активность и работает как структурный фактор сборки малой субчастицы митохондриальной митоторибосомы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках настоящей статьи проверена гипотеза о наличии метилтрансферазной активности у белка METTL17 – фактора сборки малой субчастицы митохондриальной рибосомы. Показано, что METTL17 не метилирует область 12S рРНК, с которой он кон-

тактирует во время сборки, несмотря на то, что этот фактор сохраняет черты, характерные для SAM-зависимых метилтрансфераз класса I. На основании этого мы полагаем, что во время эволюционного процесса фактор METTL17 потерял свою исходную функцию и на данный момент выполняет структурную роль в процессе сборки митохондриальной рибосомы. ●

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ (№ 17-75-30027).

Авторы благодарят Программу развития МГУ за доступ к приборам Celenax и SeqStudio, использовавшихся для оценки трансфекции и роста клеток и секвенирования генетических конструкций соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bogenhagen D.F., Ostermeyer-Fay A.G., Haley J.D., Garcia-Diaz M. // Cell Reports. 2018. V. 22. № 7. P. 1935–1944.
2. Lopez Sanchez M., Krüger A., Shiriaev D.I., Liu Y., Rorbach J. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 8. P. 3827.
3. Shi Z., Xu S., Xing S., Yao K., Zhang L., Xue L., Zhou P., Wang M., Yan G., Yang P., et al. // FASEB J. 2019. V. 33. № 11. P. 13040–13050.
4. Ast T., Itoh Y., Sadre S., McCoy J.G., Namkoong G., Chicherin I., Joshi P.R., Kamenski P., Suess D.L.M., Amunts A., et al. // bioRxiv. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.11.24.517765>
5. Harper N.J., Burnside C., Klinge S. // Nature. 2023. V. 614. № 7946. P. 175–181.
6. Metodiev M.D., Spähr H., Loguercio Polosa P., Meharg C., Becker C., Altmueller J., Habermann B., Larsson N.G., Ruzzenente B. // PLoS Genet. 2014. V. 10. № 2. P. e1004110.
7. van Haute L., Hendrick A.G., D'Souza A.R., Powell C.A., Rebelo-Guioamar P., Harbour M.E., Ding S., Fearnley I.M., Andrews B., Minczuk M. // Nucl. Acids Res. 2019. V. 47. № 19. P. 10267–10281.
8. Chen H., Shi Z., Guo J., Chang K.J., Chen Q., Yao C.H., Haigis M.C., Shi Y. // J. Biol. Chem. 2020. V. 295. № 25. P. 8505–8513.
9. Laptev I., Shvetsova E., Levitskii S., Serebryakova M., Rubtsova M., Zgoda V., Bogdanov A., Kamenski P., Sergiev P., Dontsova O. // Nucl. Acids Res. 2020. V. 48. № 14. P. 8022–8034.
10. Boehringer D., O'Farrell H.C., Rife J.P., Ban N. // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. № 13. P. 10453–10459.
11. Laptev I., Shvetsova E., Levitskii S., Serebryakova M., Rubtsova M., Bogdanov A., Kamenski P., Sergiev P., Dontsova O. // RNA Biol. 2020. V. 17. № 4. P. 441–450.
12. Powell C.A., Minczuk M. // RNA Biol. 2020. V. 17. № 4. P. 451–462.
13. Ran F.A., Hsu P.D., Wright J., Agarwala V., Scott D.A., Zhang F. // Nat. Protoc. 2013. V. 8. P. 2281–2308.
14. <http://rna.rega.kuleuven.be/masspec/mongo.htm>
15. Cannone J.J., Subramanian S., Schnare M.N., Collett J.R., D'Souza L.M., Du Y., Feng B., Lin N., Madabusi L.V., Müller K.M., et al. // BMC Bioinformatics. 2002. V. 3. P. 2.
16. Golovina A., Dzama M., Osterman I., Sergiev P., Serebryakova M., Bogdanov A., Dontsova O. // RNA. 2012. V. 18. № 9. P. 1725–1734.
17. Golovina A., Sergiev P., Golovin A., Serebryakova M., Demina I., Govorun V., Dontsova O. // RNA. 2009. V. 15. № 6. P. 1134–1141.