

Yanyan Wang

Dr. Med

Cell-specific Multi-omics Analyses of Human Bone Marrow

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Carsten Müller-Tidow

RNA-Modifikationen sind wichtige Bestandteile zur Bestimmung der Zellidentität und des Zellschicksals. Kleine nukleolare RNAs (snoRNA) steuern die Pseudouridylierung und 2'-O-Methylierung von RNA-Species. Unsere früheren Arbeiten haben gezeigt, dass C / D-Box-snoRNAs notwendig für die AML1 / ETO-induzierte Leukämie sind (Zhou et al., Nat Cell Biol 2017). Jedoch sind Dynamik und Relevanz dieser Modifikationen in der gesunden Hämatopoese bisher unbekannt. In diesem Projekt wollen wir die Plastizität von ribosomalen 2'-O-Methylierungsmustern (Ribomethylome) in hämatopoetischen Zellpopulationen und die Interdependenz mit snoRNA-Expression, Transkriptomik und Proteomik bestimmen.

Gesunde Spender (19-86 Jahre) spendeten Knochenmark und sechs Zellpopulationen wurden sortiert und wie folgt präpariert: Hämatopoetische Stamm- / Vorläuferzellen (HPCs), Monozyten / Makrophagen-Vorläufer (MONs), Granulozyten-Vorläufer (GRAs), Erythroid-Vorläufer (ERYs), Lymphozyten- Vorläufer (LYMs) und mesenchymale Stamm- / Stromazellen (MSCs). 65 bzw. 5 Proben wurden zur Small RNA Sequenzierung und Ribometh-Seq verwendet. Die Daten wurden zusammen mit den zugehörigen Proteomics-Daten zu RNA-seq und Mass-spec analysiert, die bereits für alle Proben verfügbar waren. Bioinformatik-Analysen basierten auf PCA, tSNE, Spearman-Korrelation, gepaartem t-Test, GSEA und ANOVA.

Die Analysen der 2'-O-Methylierung (das Ribomethylom) in sechs Knochenmarkzelltypen von gesunden Spendern zeigten, dass ribosomale Modifikationen während des Prozesses der hämatopoetischen Differenzierung unterschiedlich auftraten. Weiterhin zeigten HPCs und die myeloide Linie eine signifikante Variabilität. Die Ribomethylommuster unterschieden sich

zwischen den Zelltypen, wobei die zelluläre Identität mit einem spezifischen Ribomethylomuster anhand von PCA Analysen übereinstimmte. Die Plastizität in Ribomethylomen war am deutlichsten bei HPCs, LYMs, GRAs und MONs, die einen hohen Grad an 2'-O-Methylierung zeigten (fast 100% der rRNA methyliert), während der Methylierungsgrad in MSC-Zellen viel niedriger lag (Spearman-Korrelation $<0,4$). Diese Befunde zeigten, dass Ribomethylomuster zelltypspezifisch waren. Mithilfe der snoRNA-Sequenzierung haben wir gezeigt, dass sich die snoRNA-Expressionsniveaus auch zwischen den verschiedenen Zelltypen unterscheiden. C / D-Box-snoRNAs wurden variabel exprimiert, und die Expressionsunterschiede für SNORD68 und, SNORD87 und SNORD127 waren mit jeweiligen rRibomethylom-Änderungen der vorhergesagten Zielstellen verbunden. Als nächstes analysierten wir den Zusammenhang zwischen spezifischen 2'-O-Methylierungsniveaus und den Niveaus der Proteinexpression. Nur diejenigen Proteine wurden zur Analyse herangezogen, für die keine Assoziationskorrelation zwischen mRNA und Gesamtproteinspiegeln beobachtet werden konnte. Spearman-Ranganalysen deuteten darauf hin, dass RAB7A und PSME1, die an der „Antigenverarbeitung und -präsentation“ beteiligt sind, und FLNA und RCC2, die an der „Zellmigration“ beteiligt sind, eng mit der 2'-O-Methylierung der dynamisch regulierten Stellen 28S_3723_SNORD87 und 5.8S_14_SNORD71 korrelieren. Zuallerletzt identifizierte unser auf Multi-Omics-Analysen basierender Befund zelltypspezifische Ribomethylome. Die myeloide Differenzierung ist mit spezifischen Ribomethylomveränderungen verbunden. Unterschiedliche Ribomethylome können durch das Steuern der Translation von spezifischen mRNA Gruppen zur zellulären Identität beitragen.