



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

VI. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2025eko maiatzaren 28, 29 eta 30a
Bilbo, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 4.0

OSASUN ZIENTZIAK

**METTL1 metilasaren eragina
gaixotasun autoimmuneen
garapenean**

*Izei Pascual-González,
Henar Rojas-Márquez,
Koldo Garcia-Etxebarria,
Leire Bergara-Muguruza,
Ainara Castellanos-Rubio
eta Izortze Santin*

193-200 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.vi.04.23>

ANTOLATZAILEA



BABESLEAK



LAGUNTZAILEAK



METTL1 metilasaren eragina gaixotasun autoimmuneen garapenean

Izei Pascual-González¹, Henar Rojas-Márquez^{1,2}, Koldo Garcia-Etxebarria³, Leire Bergara-Muguruza^{2,4}, Ainara Castellanos-Rubio^{1,2,5,6} eta Izortze Santin^{2,3,5}.

¹Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalia Fisiologia saila, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV-EHU), Leioa. ²Biobizkaia Osasun Ikerketarako Institutoa, Barakaldo. ³Gaixotasun Hepatiko eta Gastrointestinal saila, Biodonostia Osasun Ikerketarako Institutoa, Donostia.

⁴Biokimika eta Biologia Molekular saila, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV-EHU), Leioa.

⁵CIBERDEM, Madril. ⁶IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao.

izei.pascual@ehu.eus

Laburpena

RNA eraldaketek gaixotasun autoimmuneen garapenean duten eragina geroz eta ikertuagoa da, baina oraindik patogenian duten inplikazioa ez dago guztiz argi. METTL1 entzimak katalizatutako m⁷G metilazioa hainbat gaixotasun autoimmuneekin lotu dira, baina honen eragina 1 motako diabetesen eta eritasun zeliakoan ez da oraindik ikertu. Ikerketa honetan METTL1ak bi gaixotasun hauen garapenean eta patogenian izan dezakeen eragina aztertu dugu. Orokorrean, gure emaitzek METTL1en desregulazioa azpimarratzen dute, METTL1 gainadierazita baitago eritasun zeliakoa pariatzen duten pazienteetan eta azpiadierazita infekzio birikoen edo hantura zitokinen eraginez zelula beta pankreatikoetan.

Hitz gakoak: METTL1, 1 motako diabetesa, eritasun zeliakoa, m⁷G.

Abstract

The study of RNA modifications and their role in the development of autoimmune diseases has gained significant attention in recent years. However, their precise impact on disease pathogenesis remains largely unknown. Among these modifications, m⁷G methylation, catalyzed by the enzyme METTL1, has been implicated in various autoimmune diseases. Nonetheless, its specific effects on type 1 diabetes and celiac disease have yet to be fully elucidated. In this study, we investigate the role of METTL1 in the development and pathogenesis of these two autoimmune conditions. Our findings highlight the dysregulation of METTL1, which is upregulated in patients with celiac disease and downregulated in pancreatic beta cells exposed to inflammatory cytokines and viral infections.

Keywords: METTL1, type 1 diabetes, celiac disease, m⁷G

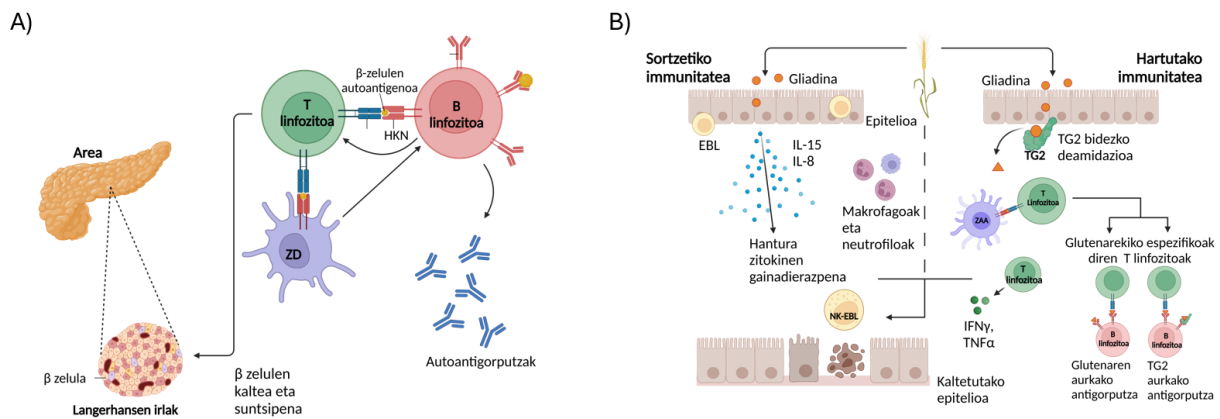
1. Sarrera eta motibazioa

Gaixotasun autoimmuneak immunitate-sistemaren desorekaren ondorioz sortzen dira, immunitate-zelulek gorputzaren berezko ehunak eta zelulak erasotzen dituztenean. Gaixotasun hauen artean 1 motako diabetesa (1MD) eta eritasun zeliakoa (EZ) aurkitzen dira. 1MDean pankreako beta zelulak, insulina hormona jariatzen duten zelulak, eta beraz, odoleko glukosaren xurgapena erregulatzen duten zelulak, norberaren T linfozitoen bidez suntsituak dira. Hau gerta dadin organismoak norberaren antigenoak ezagutzen dituzten T zelulak izan behar ditu. Kasu honetan, pankreako Langerhansen irletan dauden beta zelulen berezko antigenoak (antigorputzek ezagutzen dituzten proteinen zatiak) zelula dendritikoen (ZD) bidez norberaren kontra egiten duten T linfozitoei aurkezten zatzaizkio, autoantigorputzak ekoizten dituzten B linfozitoak aktibatuz, antigorputz hauek norberaren proteinak detektatzen dituzte (1.A irudia). Beta zelulen suntsipenak insulina urritasuna dakar, honek organismoan hainbat kalte eragin ditzakeelarik, hala nola, erretinopatia (begiko erretinan kaltea), oin diabetikoa, nefropatia (giltzurruneako kaltea), neuropatia (nerbio sistemako kalteak) edo arazo kardiobaskularrak (Katsarou et al., 2017).

EZan hainbat zerealetan (garian, zekalean eta garagarrean) dagoen glutenak hantura erantzuna eragiten du norberaren hesteetan, heste meharrean kalteak eraginez (Lindfors et al., 2019). Bai sortzetiko immunitateak, jaiotzatik dagoen immunitate erantzuna, bai hartutako immunitateak, antigeno

espezifikoen kontra garatzen dena, parte hartzen dute glutenaren kontrako erreakzioa sortzeko. Alde batetik, glutenaren presentzian, heste-epitelioko zelulek hantura zitokinak (IL-15 eta IL-8) jariatzen dituzte. Zitokina hauek heste-epitelioaren barnean daude linfozitoak (EBLak) aktibatzen dituzte, eta makrofagoak eta neutrofiloak erakartzen dituzte, heste-epitelioko kaltea eraginez. Bestetik, glutenaren TG2 entzimaren bidez deamidatu egiten da (amino taldea kentzen zaio) eta sortutako antigenoak zelula antigeno aurkezleen (ZAAen) bidez T linfozitoei aurkezten zaizkie (Schuppan et al., 2009). Honek hauen aktibazioa eragiten du, glutenaren aurkako antigorputzak edo TG2ren aurkako antigorputzak sortzen dituzten B linfozitoak aktibatzen dituztelarik. Beste aldetik, T linfozitoek zitokinak (IFN γ , TNF α) jariatzen dituzte (Lindfors et al., 2019; Schuppan et al., 2009). Guzti honek epitelioaren kaltea eragiten du (1.B irudia).

1. irudia. (A) 1 motako diabetesa eta **(B)** eritasun zeliakoaren patogenesisaren eskema. EBL=Epitelio Barneko Linfozitoa, HKN= Histokonpatibilitate Konplexu Nagusia, ZAA= Zelula Antigeno Aurkezlea, ZD= Zelula Dendritikoa.



Gaixotasun hauek garatzeko parte hartzen duten faktoreei dagokionez, bi eritasunak multifaktorialak dira, hau da, faktore genetiko eta ingurune faktoreen arteko elkarrekintza gertatu behar da gaixotasuna garatzeko (Katsarou et al., 2017; Lindfors et al., 2019). Faktore genetikoei dagokionez, genomak dauden aldaera genetiko konkretuak dira gaixotasunaren garapenean eragina dutenak. Bai IMD zein EZan faktore genetiko garrantzitsuena Histokonpatibilitate Konplexu Nagusiko (HKN) proteinak kodetzen dituzten geneetan dauden aldaera genetikoak dira. Gene hauek antigenoen aurkezpenaz arduratzen diren proteinak kodetzen dituzte (Klak et al., 2020; Lindfors et al., 2019). Ingurune faktoreei dagokionez, gaixotasunen artean heterogeneoak dira eta ez daude guztiz argi. Azkenengo urteetan birusak izan dira garrantzia hartu duten ingurune-faktoreak, zehazki enterobirusak izan dira IMD zein EZan proposatu direnak (Kim et al., 2019; Oikarinen et al., 2021).

Tratamenduari dagokionez, ez dago tratamendu ezagunik gaixotasun hauek sendatzeko, baina neurriak hartu daitezke gaixotasunaren sintomak eta kalteak eteteko. IMDaren kasuan, gaixoek norberaren beta zelulek ekoiztu ezin duten insulina hartu behar dute (Katsarou et al., 2017). Aldiz, EZan elikaduran glutenaren ez hartzea da neurri bakarra hesteetan eragin den kaltea sendatzeko (Lindfors et al., 2019). Gaixotasunaren garapenean parte hartzen duten mekanismo molekularren azterketa egitea ezinbestekoa da, bi gaixotasun horiek ekidin edota tratatzeko estrategia terapeutiko berriak diseinatzeko.

Zentzu horretan, azkenengo urteetan garrantzi bizia hartu duen biokimikaren arloa RNA molekulen nukleotidoen eraldaketak dira (epitranskriptomika izenarekin ezagutzen dena). RNA molekulak osatzen dituzten nukleotidoak, adenina, zitosina, guanina eta uraziloa, transkripzioa eta gero entzimen bidez kimikoki eraldatuak izan daitezke. Eraldaketa horiek RNA molekulen propietateak alda ditzakete, hala nola tolesturan, estabilitatean edo/eta itzulpenean eraginez (Delaunay et al., 2024). Azken urteetan epitranskriptomika eta hanturaren arteko loturak aurkitu dituzten ikerketak argitaratu dira. Adibidez, *XPO1* 5' UTRan, RNAREN 5' muturrean proteina sintetizatzen erabiltzen ez den RNA zatian, dagoen nukleotido bakarrek polimorfismo (ingelesez *single nucleotide polymorphism*, SNP) batek RNAREN egitura sekundarioa aldatzen du, zeinak N⁶-metiladenosina (m⁶A) metilazio maila aldatzen duen. Metilazio maila aldaketa honek hantura zitokinen produkzioa erregulatzen du, metilazio gutxi dagoenean zitokina gutxi eta metilazio asko dagoenean zitokina gehiago ekoizten dira (Olazagoitia-

Garmendia et al., 2022). Hau kontuan izanik, IMDaren eta EZren garapenean RNA modifikazioek eta hauen erregulazioan parte hartzen duten proteinek izan ditzaketen funtzioa aztertzea interesgarria izan daiteke. m⁶A RNA eraldaketarik ugariena eta ikertuena da, baina ez da bakarra. Izan ere, METTL1 entzimak guaninak metilatzen ditu N⁷-metilguanosina (m⁷G) sortuz. Eraldaketa hau mRNAetan, microRNAetan eta tRNAetan ugaria da, beraz, gehienbat proteinen itzulpenean eragina daukala uste da (Alexandrov et al., 2002). METTL1ek eragiten duen m⁷G metilazioa gehienbat minbizian aztertu da, eta IMD edo EZ bezalako gaixotasun autoimmuneetan izan ditzaken eraginak ez dira oso ikertuak izan.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Bai IMDean zein EZan arrisku genetikoa duten indibiduoetan ingurune faktoreak gaixotasunaren garapena eta hantura eragin dezakete, baina prozesu honetan parte hartzen duten aldagai guztiak ez dira guztiz ezagunak oraindik (Katsarou et al., 2017; Lindfors et al., 2019). Azkenengo urteetan zenbait eraldaketa epitranskriptomiko gaixotasun autoimmuneen patogenesiarekin lotu dira, gehienbat m⁶A eraldaketa (Cui et al., 2022; Geng et al., 2022; Lu et al., 2020; Olazagoitia-Garmendia et al., 2022; Zhou et al., 2021). Horregatik, beste eraldaketa epitranskriptomikoek hanturan duten eragina ulertzeak eritasun konplexu hauen patogenia ulertzen lagundu dezake.

Lan honetan, METTL1 metilasak eta katalizatzen dituen barneko m⁷G RNA eraldaketak IMDaren eta EZaren garapenean duten eragina aztertu dugu. METTL1 proteina kodetzen duen genea (*METTL1*) 12. kromosomako beso luzeko 12q13 eskualdean kokatzen da, eskualde honek gaixotasun autoimmuneekin asoziazio handia daukalarik (Alcina et al., 2013). Hortaz, hautagai hau interesgarria da gaixotasun autoimmune hauetan izan dezakeen eragina ikertzeko. Horretarako, EndoC-βH1 pankreako zelula-lerroa eta HCT-15 hesteetako zelula-lerroa erabili ditugu. Gainera, EZaren kasuan, gaixo eta kontrolen heste meharreko biopsiak ere aztertu ditugu, geneen adierazpena analizatuz, giza laginetan zer gertatzen den ikusi ahal izateko. Helburu hau aurrera eramateko hurrengo helburu espezifikoak proposatu ditugu:

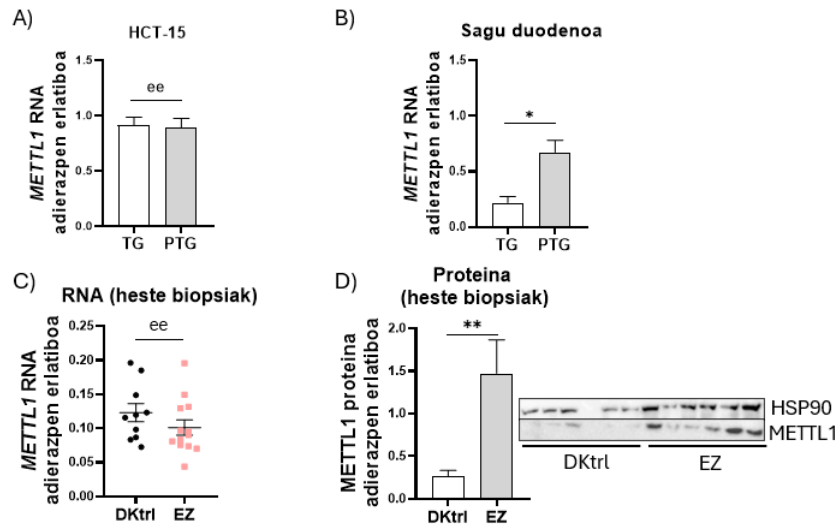
- METTL1 RNA eta proteina adierazpen maila glutenarekin estimulatutako HCT-15 zelula-lerroan, saguetan eta EZ biopsietan analizatzea.
- Beta zelula pankreatikoetan infekzio birikoak eta hantura zitokinek METTL1 adierazpenean eta m⁷G metilazioan duten eragina ikertzea.
- METTL1en desregulazioak RNA molekulen adierazpenean aldaketak eragiten dituen ikertzea eta metilatuta egon daitezkeen gene hautagaien aukeraketa egitea.
- M⁷G metilaturiko gene hautagaien eragina EZ eta IMD garapenean karakterizatzea.

3. Ikerketaren muina

3.1 METTL1 proteina gainadierazita dago eritasun zeliakoan

METTL1 metilasaren adierazpena glutenaren presentzian aldatzen den ikertzeko, HCT-15 hesteetako zelula-lerroa pepsina eta tripsinarekin digeritutako gliadinarekin (PTG) estimatuak izan dira, gliadinak EZan erantzun immunea eragiten duten glutenaren proteinak baitira. HCT-15 zelula estimulatuetan RNA mailan ez dugu *METTL1*en adierazpenean eraginik ikusi (2.A irudia). HCT-15 zeluletan PTGaren eragina ikusi ez arren, saguen duodenoan PTGdun dietak *METTL1*en adierazpenaren emendioa eragiten duela ikusi dugu (2.B irudia). Zelula-lerroan *METTL1*en adierazpena aldatzen ez denez eta sagu duodenoan glutenak *METTL1*en adierazpena igo egiten duenez, giza biopsietan metilasaren adierazpena neurtzea erabaki genuen. Giza duodenoan ez dago desberdintasun esangarririk *METTL1*en RNA adierazpenean kontrolak eta EZ gaixoak konparatzerakoan (2.C irudia). Aldiz, Western blot (WB) teknikaren bidez proteina maila kuantifikatzerakoan, EZko duodeno biopsietan *METTL1*en gainadierazpena ikusten da (2.D irudia). Honekin esan dezakegu, EZan *METTL1* proteina maila desregulatu egiten dela, horrek gaixotasunaren garapenean eragina izan dezakeelarik.

2. irudia. (A) *METTL1* RNA adierazpen maila erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatua PTGrekin tratatutako HCT-15 zeluletan. Datuak batez bestekoak $\pm$ batezbestekoaren errore estandarra (BEE) dira (n=4). p-balioak bi isatseko Student t-testaren bidez kalkulatuak. (B) *METTL1* RNA adierazpen maila erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta PTGdun dietarekin elikatutako saguen duodenoan. Datuak batez bestekoak $\pm$ BEE dira (n=9). p-balioak bi isatseko Mann-Whitney bidez kalkulatuak. (C-D) EZ gaixoen duodeno biopsietan (C) *METTL1* RNA adierazpen erlatiboa (Dktrl n=10 eta EZ n=13) eta (D) METTL1 proteina adierazpen maila erlatiboa Western Blot bidez kuantifikatua eta WB irudi adierazgarria (Dktrl n=6 eta EZ n=12). Datuak batez bestekoak $\pm$ BEE dira. p-balioak bi isatseko Mann-Whitney bidez kalkulatuak. ee=ez esangarria, *p<0,05, **p<0,01. Dktrl= Duodeno kontrola, EZ= Eritasun Zeliakoa, TG= Tratatu Gabea.

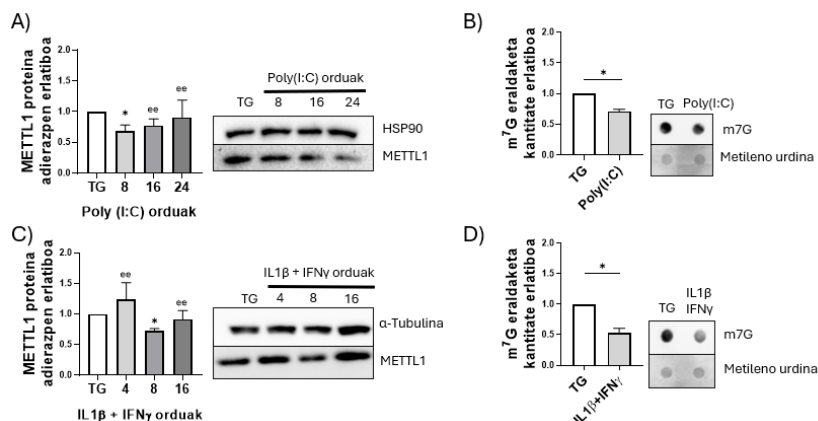


3.2 Poly(I:C) eta hantura zitokinek METTL1 proteina adierazpena eta m⁷G maila jaisten dute pankreako beta zeluletan

Azkenengo urteetan infekzio birikoek diabetesaren garapenean eragina izan dezaketela deskribatu da (Kim et al., 2019). Infekzio biriko bat simulatzeko asmoz, EndoC- β H1 zelula-lerroa RNA biriko sintetikoa den Poly(I:C)rekin inkubatu da. Beta zelulak 8, 16 eta 24 orduz Poly(I:C)rekin inkubatu ostean, METTL1en proteina adierazpena neurtu dugu, eta 8 orduko tartean METTL1en azpiadierazpena ikusi dugu (3.A irudia). METTL1ek RNA molekuletan barneko guaninak metilatzen ditu, m⁷G bihurtuz, baina RNA molekula askok, METTL1ek katalizatzen ez duen m⁷G markak ere badaukate, haien 5' muturrean, txapela deitzen dena (Ghosh & Lima, 2010). Hori dela eta, barneko m⁷G maila totala ikusteko, RNA osoaren txapela kendu eta Dot Blot teknika aurrera eraman da. Teknika honetan m⁷Gren kontrako antigorputz bat erabiltzen da mintz batera lotutako RNAREN m⁷G maila neurtzeko. Mintz bera metileno urdinez tindatzen da, laginean dagoen RNA maila totala neurtzeko. Beta zelulak Poly(I:C)rekin 8 orduz tratatzean, METTL1ren adierazpena eta m⁷G maila jaitsi egiten dela ikusi dugu (3.A eta 3.B irudiak).

IMDean beta zelulak hantura ingurunean daude, beraz, ingurune hori in vitro zelula sistema batean simulatzeko, beta zelulak γ interferona (IFN γ) eta interleukina 1 β (IL1 β)-rekin tratatu ziren. EndoC- β H1 beta zelulak IFN γ eta IL1 β rekin 4, 8 eta 16 orduz inkubatzerakoan, 8 ordutan METTL1en proteina mailan esangarria den jaitsiera ikusi dugu (3.C irudia), halaber, IL1 β eta IFN γ z 8 orduz tratatutako beta zeluletan m⁷G metilazio-maila jaitsi egiten dela ikusi dugu (3.D irudia).

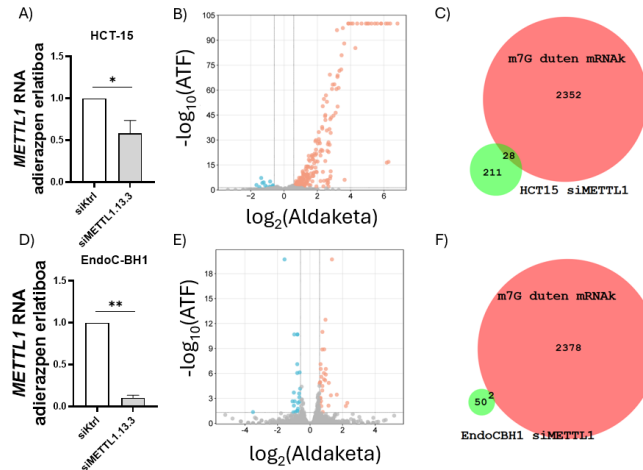
3. irudia. (A) METTL1 proteinaren adierazpen erlatiboa 8, 16 eta 24 h-tan Poly(I:C)rekin tratatutako EndoC- β H1 zeluletan. (B) m⁷G metilazio maila erlatiboa Dot Blot bidez kuantifikatua 8 h-z EndoC- β H1 zelulak Poly(I:C)rekin tratatu ostean. (C) METTL1 proteina adierazpen erlatiboa 4, 8 eta 16 h-tan IL1 β eta IFN γ rekin tratatutako EndoC- β H1 zeluletan. (D) m⁷G metilazio maila erlatiboa Dot Blot bidez kuantifikatua 8 h-z EndoC- β H1 zelulak IL1 β eta IFN γ rekin tratatu ostean. Datuak batez bestekoak $\pm$ BEE dira (n $\geq$ 3). p-balioak bi isatseko Student t-testaren bidez. ee=ez esangarria, *p<0,05.



3.3 METTL1 isilarazterakoan m⁷G markak dituzten gene batzuen adierazpena aldatzen da

METTL1en inhibizioaren eragina transkritoen, transkribatzen diren RNA molekulen, adierazpen-dinamikan aztertzeko, METTL1 interferentzia RNA txikien (ingelesetik *small interfering RNA*, siRNA) bidez isilarazi dugu, siMETTL1.13.3 siRNA erabiliz. Gero, isilarazitako eta kontrol laginetan RNA osoaren sekuentziazioa (RNAseq) aurrera eraman dugu. Adierazpena aldatuta duten transkritoen zerrenda, aurretiaz argitaratutako HeLa, HEPG2 eta HEK293T zeluletan dauden m⁷Gdun transkritoen zerrendarekin konparatu da (Zhang et al., 2019), adierazpena aldatuta eta potentzialki m⁷G duten geneen zerrenda definitzeko asmoz. Ondoren, HCT-15 zelula-lerroan METTL1 isilarazi egin dugu (4.A irudia) eta RNAseq bidez isilarazpenak 245 transkritoen gainadierazpena eta 14en azpiadierazpena eragin duela ikusi dugu (4.B irudia). Adierazpen diferentziala duten transkritoetatik 28k aurretik aipatutako hiru zelula-lerroetan m⁷G metilazioak dituzte (4.C irudia). EndoC- β H1 beta zeluletan siMETTL1.13.3 bidez, METTL1 isilarazi (4.D irudia) eta honek 30 transkritoen gainadierazpena eta 22en azpiadierazpena eragin du (4.E irudia). 52 transkrito hauetatik bik aurretik aipatutako zelula-lerrotan m⁷G metilatuta daude, konkretuki, *PLK1* eta *CBX1* (4.F irudia).

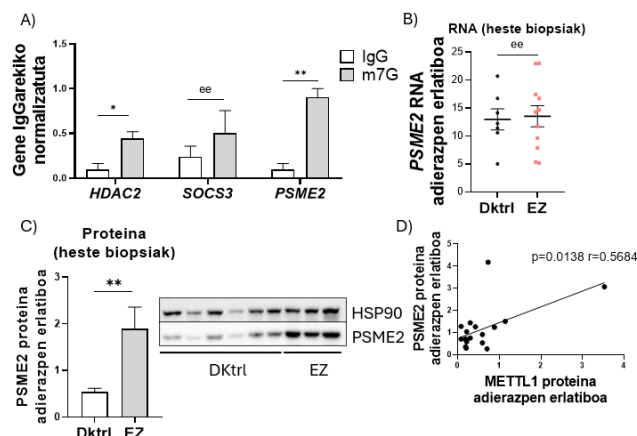
4. irudia. (A-C) METTL1 isilarazitako HCT-15 zeluletan, (A) *METTL1* RNA adierazpen maila, (B) RNA sekuentziazioan adierazpen diferentziala duten geneak eta (C) RNA sekuentziazioan adierazpen aldaketa jasan duten transkrito eta jakinak diren m⁷G metilatutako transkriptoen arteko konparaketa. (D-F) METTL1 isilarazitako EndoC-βH1 zeluletan, (D) *METTL1* RNA adierazpen maila, (E) RNA sekuentziazioan adierazpen diferentziala duten geneak eta (F) RNA sekuentziazioan adierazpen aldaketa jasan duten transkrito eta jakinak diren m⁷G metilatutako transkriptoen arteko konparaketa. (A,D) Datuak batez bestekoak ± BEE dira (n=3). p-balioak bi isatseko Student t-testaren bidez. siKtrl= siRNA kontrola, ATF= Aurkikuntza-tasa faltsua.



3.4 *PSME2* m⁷G metilatuta dago eta haren proteina adierazpenak METTL1en adierazpenarekin korrelazionatzen da eritasun zeliakoan

HCT-15 zelula-lerroan METTL1 isilarazterakoan gainadierazten den transkrito bat *PSME2* da. Transkrito hau HeLa, HEPG2 eta HEK293T zeluletan m⁷G metilatuta dagoela deskribatu da (Zhang et al., 2019). Hori dela eta, HCT-15 heste zelula-lerroan berdina gertatzen dela frogatzeko, RNA immunoprezipitazioa (ingelesez methylated RNA immunoprecipitation, meRIP) aurrera eraman da. Honetan, m⁷Gren aurkako antigorputzak erabiltzen dira metilatutako RNA molekulak ez metilatuetatik banatzeko eta qPCR bidez transkrito hauen kopurua detektatzen da. Horrela, heste zelula-lerroan *PSME2* m⁷G metilatuta dagoela konfirmatu dugu (5.A irudia). *PSME2* RNA maila ez da aldatzen EZ pairatzen duten gaixoetan kontrolekiko konparatuta (5.B irudia), halaber, proteina mailan *PSME2* gainadierazita dago EZ gaixoetan (5.C irudia). Azkenik, *PSME2* eta METTL1 proteina adierazpenak positiboki korrelazionatuta daude heste meharreko biopsietan, $r=0.5684$ (5.D irudia), baina kausalitaterik dagoen oraindik ez dugu ikertu.

5. irudia. (A) *PSME2*ren m⁷G metilazio maila metilatutako RNA immunoprezipitazioaren bidez (methylated RNA immunoprecipitation edo meRIP) HCT-15 zelula-lerroan, *HDAC2* kontrol positiboa eta *SOCS3* kontrol negatiboa. Datuak batez bestekoak ± BEE dira (n=3). p-balioak bi isatseko Student t-testaren bidez kalkulatuak. (B-D) EZ gaixoen duodeno biopsietan (B) *PSME2* RNA adierazpen erlatiboa (Dktrl n=8 eta EZ n=11), (C) *PSME2* proteina adierazpen maila erlatiboa Western Blot bidez kuantifikatua (Dktrl n=6 eta EZ n=7) eta (D) METTL1 eta *PSME2* proteina adierazpenaren arteko korrelazioa (n=18). (B,C) Datuak batez bestekoak ± BEE dira. p-balioak bi isatseko Mann-Whitney bidez kalkulatuak. (D) p-balioa Pearson korrelazio testaren bidez kalkulatuak. DKtrl= Duodeno kontrola, ee= ez esangarria, EZ= Eritasun zeliakoa. *p<0,05 eta **p<0.01



4. Ondorioak

Ikerketa honetan, RNA molekulen nukleotidoak kimikoki eraldatzen dituen proteina batek, METTL1 hain zuzen ere, IMD eta EZan izan dezakeen eragina aztertzeko lehenengo esperimentuak aurrera eramanez ditugu. Deskribatu dugu nola METTL1 EZ pairatzen duten gaixotetan gainadierazita dagoen. Gainera, beta zeluletan estimulu birikoek zein hantura estimuluek METTL1 zein m⁷G metilazio maila jaitsi egiten dutela ikusi dugu. METTL1 isilarazteak, HCT-15 zeluletan 259 transkriptoen adierazpenean eragiten du, zeinetatik 28 metilatu bezala deskribatu diren hiru zelula-lerro ezberdinetan. Beta zeluletan, aldiz, METTL1en isilarazpenak 52 transkriptoen adierazpenean eragina dauka, zeinetatik bi metilatura daudela deskribatu den. Azkenik, ikusi dugu HCT-15 zelula-lerroan *PSME2* m⁷G metilatura dagoela eta, gainera, EZ pairatzen duten gaixoak *PSME2* proteina maila altuagoa dutela. Gainera, heste-zeluletan *PSME2*ren adierazpena METTL1en adierazpenarekin korrelazionatuta dagoela ikusi dugu.

Orokorrean, gure emaitzek ikerketa sakonago baterako atea irekitzen dute. Badirudi epitranskriptomikak eragina izan dezakeela gaixotasun autoimmuneen garapenean, eta ondorioz, prozesu honetan parte hartzen duen METTL1 entzimaren funtzioa sakonki aztertzea interesgarria izan daiteke.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Azkenaldian, epitranskriptomikaren ikerketak indarra hartu du, alde batetik zenbait gaixotasunetan duen eraginagatik, minbizia kasu; eta bestetik, haren modulazioa itu terapeutikoa izan daitekelako (Cheng et al., 2022). Hori dela eta, METTL1 EZarekin zein IMDarekin duen erlazioa zehaztea izan da lan honen helburua. EZari dagokionez, jadanik kandidato bat aukeratu dugu, *PSME2*, zeina EZan gainadierazten den eta m⁷G metilazioa daukan. METTL1en adierazpenarekin korrelazionatzen da, baina korrelazio horretatik atera eta kausalitatera pasatu behar gara. Horretarako, METTL1en isilarazpenak *PSME2*ren adierazpenean duen eragina sakonki ikertu behar dugu. IMDari dagokionez, *PLK1* eta *CBX1* transkriptoen metilazio maila ikertu behar dugu, baita METTL1en modulazioaren ondorioz, hauen adierazpenean egon daitezkeen aldaketak aztertu.

Jakina da marka epitranskriptomiko askok proteina adierazpenean eragina dutela (Wiener & Schwartz, 2021), beraz RNAseq-ean transkriptoen adierazpenean ikusitako aldaketek ez dute zertan transkripto horietan emandako metilazio-aldaketen ondorioa izan behar. Izan ere, metilazioek RNA molekula hauen adierazpena erregulatzen duten proteinen adierazpena erregula ditzakete. RNA transkripzioa erregulatzen duten proteina hauek transkripzio faktoreak izan daitezke edo/eta bidezidorrean dauden beste proteinak. Hori dela eta, interesgarria izango litzateke analisi proteomiko bat egitea METTL1 isilarazterakoan, proteina adierazpenak nola aldatzen diren ikusi ahal izateko eta hautagai berriak aurkitzeko.

6. Erreferentziak

- Alcina, A., Fedetz, M., Fernández, Ó., Saiz, A., Izquierdo, G., Lucas, M., Leyva, L., García-León, J.-A., Abad-Grau, M. del M., Alloza, I., Antigüedad, A., García-Barcina, M. J., Vandenbroeck, K., Varadé, J., de la Hera, B., Arroyo, R., Comabella, M., Montalban, X., Petit-Marty, N., ... Matesanz, F. (2013). Identification of a functional variant in the *KIF5A-CYP27B1-METTL1-FAM119B* locus associated with multiple sclerosis. *Journal of Medical Genetics*, 50(1), 25–33. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101085>
- Alexandrov, A., Martzen, M. R., & Phizicky, E. M. (2002). Two proteins that form a complex are required for 7-methylguanosine modification of yeast tRNA. *RNA*, 8(10), S1355838202024019. <https://doi.org/10.1017/S1355838202024019>
- Cheng, W., Gao, A., Lin, H., & Zhang, W. (2022). Novel roles of METTL1/WDR4 in tumor via m⁷G methylation. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 26, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2022.05.009>
- Cui, L., Ma, R., Cai, J., Guo, C., Chen, Z., Yao, L., Wang, Y., Fan, R., Wang, X., & Shi, Y. (2022). RNA modifications: importance in immune cell biology and related diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 334. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01175-9>
- Delaunay, S., Helm, M., & Frye, M. (2024). RNA modifications in physiology and disease: towards clinical applications. *Nature Reviews Genetics*, 25(2), 104–122. <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00645-2>
- Geng, X., Li, Z., & Yang, Y. (2022). Emerging Role of Epitranscriptomics in Diabetes Mellitus and Its Complications. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.907060>
- Ghosh, A., & Lima, C. D. (2010). Enzymology of RNA cap synthesis. *WIREs RNA*, 1(1), 152–172. <https://doi.org/10.1002/wrna.19>

- Katsarou, A., Gudbjörnsdóttir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>
- Kim, K. W., Horton, J. L., Pang, C. N. I., Jain, K., Leung, P., Isaacs, S. R., Bull, R. A., Luciani, F., Wilkins, M. R., Catteau, J., Lipkin, W. I., Rawlinson, W. D., Briesse, T., & Craig, M. E. (2019). Higher abundance of enterovirus A species in the gut of children with islet autoimmunity. *Scientific Reports*, 9(1), 1749. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38368-8>
- Klak, M., Gomółka, M., Kowalska, P., Cichoń, J., Ambrozkiewicz, F., Serwańska-Świątek, M., Berman, A., & Wszola, M. (2020). Type 1 diabetes: genes associated with disease development. *Central European Journal of Immunology*, 45(4), 439–453. <https://doi.org/10.5114/ceji.2020.103386>
- Lindfors, K., Ciacci, C., Kurppa, K., Lundin, K. E. A., Makharia, G. K., Mearin, M. L., Murray, J. A., Verdu, E. F., & Kaukinen, K. (2019). Coeliac disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0054-z>
- Lu, T. X., Zheng, Z., Zhang, L., Sun, H.-L., Bissonnette, M., Huang, H., & He, C. (2020). A New Model of Spontaneous Colitis in Mice Induced by Deletion of an RNA m6A Methyltransferase Component METTL14 in T Cells. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 10(4), 747–761. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2020.07.001>
- Oikarinen, M., Puustinen, L., Lehtonen, J., Hakola, L., Simell, S., Toppari, J., Ilonen, J., Veijola, R., Virtanen, S. M., Knip, M., & Hyöty, H. (2021). Enterovirus Infections Are Associated With the Development of Celiac Disease in a Birth Cohort Study. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.604529>
- Olazagoitia-Garmendia, A., Zhang, L., Mera, P., Godbout, J. K., Sebastian-DelaCruz, M., Garcia-Santisteban, I., Mendoza, L. M., Huerta, A., Irastorza, I., Bhagat, G., Green, P. H., Herrero, L., Serra, D., Rodriguez, J. A., Verdu, E. F., He, C., Bilbao, J. R., & Castellanos-Rubio, A. (2022). Gluten-induced RNA methylation changes regulate intestinal inflammation via allele-specific *XPO1* translation in epithelial cells. *Gut*, 71(1), 68–76. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322566>
- Schuppan, D., Junker, Y., & Barisani, D. (2009). Celiac Disease: From Pathogenesis to Novel Therapies. *Gastroenterology*, 137(6), 1912–1933. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.008>
- Wiener, D., & Schwartz, S. (2021). The epitranscriptome beyond m6A. *Nature Reviews Genetics*, 22(2), 119–131. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-00295-8>
- Zhang, L.-S., Liu, C., Ma, H., Dai, Q., Sun, H.-L., Luo, G., Zhang, Z., Zhang, L., Hu, L., Dong, X., & He, C. (2019). Transcriptome-wide Mapping of Internal N7-Methylguanosine Methylome in Mammalian mRNA. *Molecular Cell*, 74(6), 1304–1316.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.03.036>
- Zhou, J., Zhang, X., Hu, J., Qu, R., Yu, Z., Xu, H., Chen, H., Yan, L., Ding, C., Zou, Q., Ye, Y., Wang, Z., Flavell, R. A., & Li, H.-B. (2021). m⁶A demethylase ALKBH5 controls CD4⁺ T cell pathogenicity and promotes autoimmunity. *Science Advances*, 7(25). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg0470>

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau hurrengo ikerketa proiektuen bidez finantziatu da: Eusko Jaurlaritzako Osasun Saileko diru-laguntza (erreferentzia: 2021111001), Espainiako Zientzia, Teknologia eta Berrikuntza Ministeritzak emandako diru-laguntza (erreferentzia: PID2023-150479NB-I00) eta Eusko Jaurlaritzako Osasun Sailaeko diru-laguntza (erreferentzia: 2023111056).