

Изучение функциональной активности и биологической роли удлиненной формы eRF1 человека

Клишин А.А.¹, Шувалова Е.Ю.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail*: sanyaklishin@yandex.ru; 2

- Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва, Россия, *E-mail*:

Hritova_Katia@mail.ru

Трансляция является важнейшим процессом, обеспечивающим синтез всех белков и, тем самым, жизнедеятельность клеток. Терминация — один из ключевых этапов трансляции в ходе которого происходит высвобождение синтезированных пептидов из рибосомных комплексов, обеспечиваемое у эукариот фактором терминации eRF1. eRF3 является дополнительным фактором терминации, стимулирующим активность eRF1. Интересно, что основной транскрипционный вариант мРНК, кодирующий eRF1, содержит в 5'-UTR небольшую дополнительную рамку считывания (uORF) со стоп кодоном UAG. Интригующе, что эта uORF находится в одной рамке с CDS eRF1 и, более того, они разделены кодонами, кодирующими преимущественно глицины. Анализ доступных данных по рибосомным профилированиям транскриптомов и протеомных исследований человека с помощью онлайн сервиса Trips-viz [2] показывает, что данный uORF может транслироваться. Известно, что стоп кодон UAG супрессируется как супрессорными, так и близкородственными тРНК [1]. Таким образом, вполне допустима ситуация, когда с определенной вероятностью будет считываться удлиненный с N-конца продукт eRF1 (N-ex-eRF1). Такой белок содержал бы на N-конце последовательность uORF, отделенную подвижным глицин-богатым линкером от основной последовательности eRF1. Для того чтобы подтвердить факт трансляции uORF eRF1 и гипотезу о возможности существования N-ex-eRF1 мы провели анализ клеточных линий, с помощью антител на пептидный продукт uORF eRF1 (puORF). Вестерн-блот анализом мы впервые показали существование N-ex-eRF1 в различных клеточных линиях человека. При этом, абсолютное и относительное содержание eRF1 и N-ex-eRF1 значительно варьировало. В частности, в линии HEK293 содержание N-ex-eRF1 достигало 25 % от всех форм eRF1. Однако, короткий продукт puORF не детектировался ни в одной из клеточных линий. Мы получили рекомбинантные препараты eRF1 и N-ex-eRF1 и сравнили их активности в терминации трансляции *in vitro*: эффективность распознавания стоп кодона, эффективность гидролиза пептидил тРНК, стимулирование ГТФазной активности eRF3. Активность N-ex-eRF1 оказалась снижена на ~50 % относительно eRF1 на всех этапах терминации. N-ex-eRF1 также сохранял способность связываться с eRF3. В трансляционном лизате HeLa мы не обнаружили значительного влияния N-ex-eRF1 на сквозное прочтение стоп кодонов и на трансляцию в целом. Таким образом, нами не только доказано существование удлиненной формы фактора терминации eRF1 в клетках человека, но и описана ее функциональная активность.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-01019, <https://rscf.ru/project/22-24-01019/>

Источники и литература

- 1) Bertram, G., Bell, H. A., Ritchie, D. W., Fullerton, G., & Stansfield, I. Terminating eukaryote translation: domain 1 of release factor eRF1 functions in stop codon recognition // *Rna*. 2000. V. 6. №. 9. p.1236-1247.
- 2) Trips-viz: <https://trips.ucc.ie/>