

Поиск клеточных партнеров продукта трансляции теломеразной РНК человека

Меерсон Марк Борисович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: iron_mark@mail.ru

ДНК эукариот организована в линейные хромосомы, на концах которых располагаются особые участки - теломеры. При каждом акте репликации ДНК теломеры укорачиваются, что ограничивает число делений клетки. Однако в некоторых клетках длина теломер поддерживается на постоянном уровне, что снимает предел делений. За это ответственна теломераза - фермент, который активен, например, в опухолевых и эмбриональных клетках. Теломераза - комплекс, содержащий в своем составе обратную транскриптазу, вспомогательные белки и РНК, которая служит матрицей для достройки теломер[1].

Известно, что теломеразная РНК человека (hTR) синтезируется РНК-полимеразой II изначально в виде кэпированного и полиаденилированного предшественника, из которого потом вырезается «зрелая» форма, входящая в состав активного теломеразного комплекса[2,3]. Показано, что более длинный предшественник содержит рамку считывания, и с нее транслируется белок (hTERP). Ранее в нашей лаборатории был выделен рекомбинантный белок из клеток *E. coli*, который использовали для получения антител. Также обнаружено, что hTERP колокализуется с протеасомами и, возможно, с комплексом JUNQ (околоядерным компартментом контроля качества белков в клетках).

На следующем этапе работы была поставлена цель определить функцию продукта трансляции hTR. Для этого была создана генетическая конструкция, кодирующая белок hTERP с эпитопом из трех гемагглютининов. На следующем шаге проводили иммунопреципитацию с помощью аффинной хроматографии экстрактов клеток НЕК293, трансфицированных данной конструкцией. Результаты анализировали методами Вестерн-блоттинга и электрофореза в полиакриламидном геле. На текущий момент не удалось найти белков-партнеров продукта трансляции hTR.

В публикации 2014 года[4] показана антиапоптотическая роль неактивной формы теломеразной РНК в Т-клетках человека. В связи с этим, было выдвинуто предположение об участии hTERP в апоптозе.

Для проверки данной гипотезы был индуцирован апоптоз доксорубицином в клеточных линиях НЕК293, НЕК293 с нокадауном гена теломеразной РНК человека, НЕК293 с повышенной экспрессией гена hTR. Анализ экстрактов с помощью Вестерн-блоттинга свидетельствовал о том, что в клеточной линии с повышенной экспрессией hTR происходит дегградация фосфорилированного белка p53, который является маркером индукции апоптоза и задержки клеточного цикла.

Кроме того, в hTERP найден участок, сходный по последовательности с доменом белка P62 и белка TIP, который отвечает за связывание белка LCK (тирозинкиназы Т-лимфоцитов). P62 - эукариотический адаптерный белок, принимающий участие в аутофагии. TIP - белок вируса Herpesvirus saimiri, который вызывает лимфому. LCK специфичен для Т-клеток, участвует в нескольких сигнальных каскадах. Исходя из этого, выдвинуто предположение о связывании hTERP с LCK и регуляции клеточных процессов (в том числе аутофагии и апоптоза) в Т-клетках человека. На следующем этапе работы планируется исследование влияния уровня экспрессии гена hTR на транскрипцию генов белков,

участвующих в сигнальных каскадах с участием LCK.

Источники и литература

- 1) Greider C. W. Telomeres, telomerase and senescence //Bioassays. – 1990. - Т.12. - №. 8. - С. 363-369.
- 2) Feng J. et al. The RNA component of human telomerase //Science. – 1995. – Т. 269. - №. 5228. – С. 1236-1241.
- 3) Collins K. The biogenesis and regulation of telomerase holoenzymes //Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2006. – Т.7. - №. 7. – С. 484-494.
- 4) Gazzaniga F. S., Blackburn E. H. An antiapoptotic role for telomerase RNA in human immune cells independent of telomere integrity or telomerase enzymatic activity. //Blood. – 2014. – Т. 124. – С. 3675-3684.

Слова благодарности

Выражаю благодарность своим научным руководителям: Рубцовой Марии Петровне (кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры ХПС Химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова) и Нарайкиной Юлии Валерьевне (аспирант первого года обучения Факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М. В. Ломоносова).