

ИССЛЕДОВАНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ РИБОСОМНЫХ БЕЛКОВ L27 и L36a ЧЕЛОВЕКА

Прохоров В.А. (СПбГУ), Андрейчук Ю.В. (СПбГУ, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН)

Научный руководитель – кандидат биологических наук Рубель А.А. (СПбГУ)

Введение. Амилоиды – это самоорганизующиеся высокоупорядоченные фибриллярные белковые агрегаты. Молекулы белков в составе амилоидных агрегатов обогащены бета-складками, которые ориентированы перпендикулярно к оси фибриллы. Благодаря упорядоченной структуре амилоиды, как правило, обладают рядом отличительных характеристик: высокая устойчивость к воздействию протеаз и детергентов [1], окрашивание специфическими красителями, такими как Конго красный и Тιοфлавин-Т, и др.

Большое количество амилоидов млекопитающих относится к группе патологических амилоидов, накопление которых в тканях живого организма приводит к различным амилоидозам – неизлечимым нейродегенеративным заболеваниям с часто неспецифическими и неясными симптомами [2] – в том числе болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и др.

Также среди амилоидов выделяют особый класс – прионы – характеризующийся способностью передаваться между организмами особей одного и того же, или, в некоторых случаях, разных видов и индуцировать развитие нейродегенеративных заболеваний [3].

Актуальной задачей при исследовании белков человека и других млекопитающих является выявление как патологических, так и функциональных амилоидогенных белков.

Основная часть. Многие изученные белки, формирующие амилоидные агрегаты, содержат неструктурированные участки. Считается, что наличие таких участков облегчает переход молекулы амилоидогенного белка в амилоидное состояние [4]. На данный момент известно, что многие белки, входящие в состав эукариотической цитоплазматической рибосомы, обладают неупорядоченными участками [5].

В данной работе мы проводим оценку амилоидогенности двух человеческих белков, входящих в состав большой субъединицы цитоплазматической рибосомы – L36a и L27.

Одним из методов оценки амилоидных свойств белков в данной работе является тест-система в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*, основанная на существовании приона [PSI^+] – прионизованного фактора терминации трансляции Sup35. В штаммах с прионизованной формой Sup35, концентрация функционального белка в цитоплазме снижена, поэтому с определённой эффективностью рибосомы прочитывают стоп-кодоны как значимые. В дрожжевой тест-системе используют штаммы, несущие нонсенс-мутацию *ade1-14*, неспособные расти на среде без аденина. Образование приона [PSI^+] приводит к супрессии мутации *ade1-14*, что можно наблюдать фенотипически по восстановлению способности расти на среде без аденина.

При образовании амилоидов исследуемым белком, N-домены, входящие в состав химерной конструкции, взаимодействуют с N-доменами полноразмерного белка Sup35, и индуцируют образование приона [PSI^+]. Таким образом, в данной дрожжевой тест-системе можно выявлять амилоидогенные белки фенотипически [6].

Другими методами исследования амилоидных свойств белков эукариот, используемыми в данной работе, являются флуоресцентная микроскопия, электрофорез в геле SDD-AGE, и бактериальная система C-DAG.

Выводы. В результате анализа рибосомных белков человека L27 и L36a было показано, что фрагмент белка L36a (48-106), а также полноразмерный белок L27 при сверхпродукции вызывают нонсенс-супрессию в дрожжевой тест-системе, что говорит об их потенциальной способности к агрегации. В то же время убедительных доказательств в пользу амилоидной природы данных агрегатов получено не было.

Список использованных источников:

1. Chatani E., Yuzu K., Ohhashi Y., Goto Y. Current understanding of the structure, stability and dynamic properties of amyloid fibrils // International Journal of Molecular Science. – 2021. – Vol. 22. Is. 9. P. 4349.
2. Sipe J. D., Cohen A. S. Review: history of the amyloid fibril // Journal of Structural Biology. – 2000. – Vol. 130. Is. 2–3. P. 88–98.
3. Prusiner, S. B. Prions // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1998. – Vol. 95. Is. 23. P.13363-13383.
4. Mompean M., Laurents D.V. Intrinsically Disordered Domains, Amyloids and Protein Liquid Phases: Evolving Concepts and Open Questions // Protein & Peptide Letters. – 2017. – Vol. 24. P. 281-293.
5. Спирин, А.С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка: учебное пособие // 3-е изд. Москва. Лаборатория знаний. – 2023. – Глава 7. С. 158-161.
6. Liebman S.W., Chernoff Y.O. Prions in Yeast // Genetics. – 2012. – Vol. 191. P. 1041-1072.