

Роль факторов TMA20/MCTS1 и TMA64/eIF2D в трансляции мРНК, содержащих uORF

Анисимова Александра Сергеевна¹, Макеева Десислава Станимировна²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: alessandrick@gmail.com

Эукариотический трансляционный фактор eIF2D, открытый в нашей лаборатории в 2010 году, способен стабилизировать тРНК в Р-сайте 40S субчастицы рибосомы [1]. Аналогичная активность была показана также для гетеродимера белков MCTS1 и DENR, гомологичных N- и C-концевым доменам eIF2D, соответственно [3]. Данные, полученные в системе реконструкции трансляционных комплексов из очищенных компонентов, позволяют предположить участие этого семейства факторов как в инициации трансляции, так и в терминации или рециклинге [1,3]. Это делает их хорошими кандидатами на роль регуляторов трансляции мРНК с короткими рамками считывания (uORF) в 5'-нетранслируемых областях [2]. Однако истинная функция и механизм работы этих факторов в живой клетке на данный момент неясен.

В геноме дрожжей *S.cerevisiae* закодированы гомологи факторов eIF2D, MCTS1 и DENR человека - белки TMA64, TMA20 и TMA22, соответственно. Целью нашей работы было изучить роль данных факторов в трансляции мРНК с uORF в бесклеточной дрожжевой системе. В ходе работы были получены системы для *in vitro*-трансляции на основе штамма дрожжей, несущего двойную делецию по генам *TMA20* и *TMA64* ($\Delta tma20/\Delta tma64$), и дикого типа (*wt*). Был создан набор мРНК, кодирующих люциферазу светлячка и содержащих искусственные 5'-нетранслируемые области с короткими uORF разного вида. Эти мРНК транслировали в бесклеточной системе, для доказательства специфичности эффектов в неё добавляли очищенные препараты белка eIF2D или димера MCTS1-DENR человека.

Было показано, что в системе на основе мутантного штамма $\Delta tma64/\Delta tma20$ эффективность трансляции мРНК с uORF в несколько раз увеличена по сравнению с системой из штамма *wt*. Степень выраженности этого эффекта зависела от длины uORF и от расстояния между uORF и основной кодирующей частью, причём при существенном перекрытии uORF с основной рамкой (когда невозможна реинициация) эффект пропал. В мРНК, содержащей две протяжённых неперекрывающихся кодирующих части, трансляция второй рамки в системе $\Delta tma64/\Delta tma20$ была усилена в 10 раз по сравнению с системой из дрожжей *wt*. Добавление препаратов человеческого eIF2D и димера MCT-1/DENR специфически снижало уровень трансляции мРНК с uORF в системе из дрожжей $\Delta tma64/\Delta tma20$ до уровня, наблюдаемого в системе из штамма *wt*, никак не влияя на их трансляцию в последней.

Таким образом, отсутствие в бесклеточной дрожжевой системе белков TMA20 и TMA64 приводит к повышенной частоте реинициации после прочтения рибосомами uORF, и этот дефект может быть устранён добавлением их человеческих гомологов. На основании полученных результатов мы предлагаем оригинальную модель работы этих белков. Согласно этой модели, их функция в клетке заключается в том, что они связываются с посттерминационным комплексом и препятствуют нежелательной повторной инициации после трансляции uORF, а также, вероятно, и основной кодирующей части гена.

Источники и литература

- 1) Dmitriev et al. (2010) J.Biol.Chem. 285, 26779–87
- 2) Schleich et al. (2014) Nature 512, 208-12
- 3) Skabkin et al. (2010) Genes Dev. 24, 1787–801