

**Выявление белков-партнёров биологически активного пептида PSEP1,  
кодируемого длинной некодирующей РНК**

**Научный руководитель – Фесенко Игорь Александрович**

*Седлов Илья Андреевич*

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

*E-mail: sedlov8@yandex.ru*

Короткие рамки считывания (sORF) кодируют пептидные продукты длиной менее 100 аминокислот и поэтому обычно пропускаются автоматическими алгоритмами по аннотации геномов. Продукты трансляции таких коротких рамок часто выполняют важные биологические функции в клетке [1]. Ранее сотрудниками нашей лаборатории в геноме модельного растения *Physcomitrella patens* была обнаружена короткая рамка считывания, находящаяся внутри последовательности длинной некодирующей РНК (lncRNA)[1]. Пептидный продукт был назван PSEP1. Его экспрессия подтверждена на транскрипционном и трансляционном уровнях. Мы показали, что эндогенный пептид PSEP1 участвует в регуляции скорости роста: сверхэкспрессия этого пептида у растений приводит к значительному ускорению роста, однако, снижается устойчивость к стрессам [2].

Известно, что биологически активные пептиды могут выполнять свои функции, взаимодействуя с белками и белок-белковыми комплексами, модулируя их работу и влияя на их стабильность [1]. Для нахождения белковых партнёров применяется метод коиммунопреципитации, в ходе которого в живой организм вводят генетическую конструкцию, содержащую кодирующую последовательность ДНК интересующего полипептида с присоединённой последовательностью (тэгом), кодирующей известный полипептид, имеющий высокое сродство к другому известному белку или низкомолекулярному соединению, которое иммобилизовано на твёрдом носителе. При обработке последнего лизатом ткани организма, содержащей экспрессированный слитный белок, сильное взаимодействие обозначенных выше тэга и его лиганда приведёт к иммобилизации полипептида интереса и его партнёров. Разрушив лиганд-белковые комплексы, можно элюировать белки с твёрдого носителя и идентифицировать их. Из многочисленных систем коиммунопреципитации мы выбрали ту, в которой к интересующей нас небольшой молекуле (пептиду PSEP1) присоединяется также короткая пептидная последовательность (FLAG, состоящий из 8 аминокислотных остатков).

Мы получили две мутантные линии *P. patens*, экспрессирующие PSEP1 с присоединённым через гибкие линкеры FLAG-пептидом либо к N-, либо к C-концу исходного пептида. Для изоляции белковых партнёров был применён метод коиммунопреципитации с использованием магнитных бус с иммобилизованными антителами против FLAG-пептида. Связавшиеся белки элюировали с бус, после чего провели трипсинолиз в растворе. Полученные триптические пептиды анализировали масс-спектрометрически. Список выявленных кандидатов белковых партнёров пептида PSEP1 включает кальмодулин, белок, ассоциированный с патогенезом (PR-10) и несимбиотический гемоглобин класса 1. Поскольку эти белки задействованы в регуляции ответов растения на различные виды стресса, мы предполагаем, что пептид может быть модулятором ростовых и стрессовых ответов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00938.

**Источники и литература**

- 1) Crappé J., Crieckinge W., Menschaert G. Little things make big things happen: A summary of micropeptide encoding genes // *EuPA Open Proteomics*. 2014. V.3. P. 128-137.
- 2) Fesenko I., et al. Distinct types of short open reading frames are translated in plant cells // *Genome Res*. 2019. V. 29. P. 1464-1477.