

Исследование взаимодействия белка PCID2 с мРНК у *Drosophila melanogaster*

Научный руководитель – Копытова Дарья Владимировна

Вдовина Юлия Андреевна

Аспирант

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

E-mail: yuvdov2020@gmail.com

Белок PCID2 является субъединицей комплекса TREX-2, ответственного за общий ядерный экспорт мРНК у эукариот. Нокдаун субъединиц TREX-2 приводит к нарушению этого процесса и накоплению мРНК в ядре. Известно, что PCID2 также присутствует в цитоплазме клетки и принимает участие в цитоплазматическом транспорте мРНК у дрозофилы [2]. Молекулярная основа процесса экспорта и дальнейшего транспорта мРНК в цитоплазме мало изучена.

Ранее, на модели дрожжей, было показано, что гомологичные субъединицы PCID2 и Xmas-2 образуют внутри комплекса TREX-2 общую поверхность для взаимодействия с мРНК [1]. Для проверки гипотезы о прямом взаимодействии PCID2 дрозофилы с мРНК было проведено исследование взаимодействия PCID2 с $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ -мечеными фрагментами мРНК гена *ras64B* методом EMSA. Было показано, что PCID2 специфично связывает фрагмент из 3'-нетранслируемой области мРНК независимо от белка Xmas-2.

У гомолога PCID2 дрожжей на С-конце белка были определены консервативные аминокислоты, отвечающие за взаимодействие с мРНК [1]. Для подтверждения взаимодействия этого участка PCID2 дрозофилы с мРНК был получен вариант белка PCID2 с делецией в С-концевом домене. Такой белок показал более слабое взаимодействие с мРНК, что доказало участие С-концевого домена в связывании мРНК, но, с другой стороны, выявило существование другого сайта связывания в белке. Для выявления доменов взаимодействия с мРНК были получены белки, содержащие N, M и C последовательности белка PCID2. В экспериментах EMSA было обнаружено взаимодействие двух доменов белка с мРНК *ras64B* - M и C. С-домен показывал специфичное взаимодействие, тогда как M-домен - неспецифичное.

По результатам выравнивания последовательностей M-домена ортологов PCID2 было выявлено несколько аминокислотных остатков, потенциально отвечающих за связывание с РНК. С помощью сайт-направленного мутагенеза в M-домен полноразмерного PCID2 были внесены соответствующие точечные замены. Внесение этих мутаций привело к исчезновению связывания РНК белком PCID2.

Таким образом, было показано, что белок PCID2 дрозофилы напрямую специфично взаимодействует с мРНК; в этом взаимодействии участвуют несколько сайтов белка - в серединной и С-концевой областях; взаимодействие в серединном условном M-домеене необходимо для взаимодействия С-концевого домена PCID2 с мРНК.

Источники и литература

- 1) Ellisdon A. M. et al. Structural basis for the assembly and nucleic acid binding of the TREX-2 transcription-export complex // Nature Structural & Molecular Biology. 2012. V. 19. No 3. P. 328-336.
- 2) Glukhova A. A. et al. PCID2, a subunit of the *Drosophila* TREX-2 nuclear export complex, is essential for both mRNA nuclear export and its subsequent cytoplasmic trafficking // RNA biology. 2021. V. 18. No 11. P. 1969-1980.