

Эффекты продукции химерного белка PrP-Sup35C в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*

Нижников Антон Александрович, Рубель Александр Анатольевич, Сайфитдинова
Алсу Фаритовна

студент, м.н.с., к.б.н., м.н.с.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: antonnizhnikov@rambler.ru

Значительную угрозу, как с медицинской, так и с экономической позиции представляют вызываемые белком prion protein (далее PrP) инфекционные нейродегенеративные заболевания млекопитающих. Причины возникновения таких болезней связывают с накоплением болезнетворных агрегатов PrP в нейронах головного мозга [1]. В настоящее время изучение процессов формирования агрегатов PrP проводится на модельных млекопитающих и культурах клеток, что создает значительные материальные и временные трудности. Недавно было показано, что PrP образует агрегаты в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*, сходные с таковыми из мозга больных млекопитающих, однако агрегация в дрожжах не имеет видимого фенотипического проявления [2].

Мы предприняли попытку визуализировать процесс агрегации PrP. Для этого были сконструированы плазмиды, несущие гибридную конструкцию *PrnP-SUP35C*, которая объединяет нуклеотидные последовательности гена *PrnP* (ген белка PrP) и С-терминального фрагмента гена *SUP35*. Продуктом гена *SUP35* является фактор терминации трансляции дрожжей eRF3. Мы предположили, что химерный белок PrP-Sup35C сможет выполнять функцию eRF3 в штаммах с делецией гена *SUP35*. В случае агрегации белка PrP-Sup35C в таких штаммах произойдет частичная инактивация терминации трансляции. В штаммах, маркированных нонсенс-мутацией *ade1-14*, инактивация терминации трансляции за счет агрегации PrP-Sup35C вызовет фенотипический эффект – рост клонов на среде без аденина.

Нами был сконструирован гаплоидный дрожжевой штамм, несущий плазмидную копию гена *PrnP-SUP35C* на фоне делеции хромосомной копии *SUP35*. Штамм содержит нонсенс-мутацию *ade1-14* и ряд дополнительных маркерных мутаций. Полученный штамм оказался жизнеспособным, то есть белок PrP-Sup35C способен функционально замещать eRF3 дрожжей. На определенном уровне продукции белок PrP-Sup35C эффективно выполняет функцию фактора терминации трансляции eRF3 (клоны не растут на среде без аденина). В то же время сверхпродукция PrP-Sup35C приводит к индукции клонов вторичного роста. Мы предположили, что появление этих клонов вторичного роста может быть связано с прионоподобной агрегацией PrP-Sup35C. Если это предположение найдет подтверждение в наших дальнейших исследованиях, то это может открыть перед нами перспективу проведения масштабного скрининга с целью поиска лекарственных агентов для лечения нейродегенеративных заболеваний млекопитающих.

Литература

1. Prusiner S.B. The prion diseases. // Sci Am. – 1995. – V. 272. - P. 48-57.
2. Ma J., Lindquist S. De novo generation of a PrPSc-like conformation in living cells. // Nat Cell Biol. – 1999. – V. 1 - P. 358-61