

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Аминокислотный состав и структура сигналов ядрышковой локализации Свищунова Д.М.¹, Мусинова Я.Р.²

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

E-mail: darkenety@mail.ru

Ядра эукариотических клеток содержат ядрышки – неограниченные мембранами компактные структуры, в которых происходят процессы биогенеза рибосом. Накопление некоторых белков в ядрышке зависит от особых последовательностей – сигналов ядрышковой локализации (NoLS). В литературе описано примерно 80 различных NoLS из белков вирусов, животных, растений и грибов, однако механизм их функционирования не известен. Мы проанализировали все известные экспериментально определенные сигналы. Все NoLS обогащены положительно заряженными аминокислотами - аргининами и лизинами. Анализ данных показал, что NoLS располагаются преимущественно на концах белковой последовательности, причем в белках животных они могут располагаться как на N-, так и на C-конце, тогда как у вирусов они располагаются преимущественно на N-конце белка. Так же можно отметить различие в аминокислотном составе сигналов у вирусных и животных белков. В белках вирусов сигналы обогащены аргининами. Обращает внимание, что небольшое преобладание аргининов над лизинами характерно и для белков вирусов в целом. Для сигналов из белков животных (как и для белков в целом) характерно обогащение лизинами. Никаких консенсусных мотивов, характерных для NoLS, обнаружено не было. Также в работе были подробно исследованы NoLS двух белков - MAP3K14 и HIV Tat. Были проведены две серии экспериментов. Для первой серии экспериментов нами были созданы конструкторы, кодирующие eGFP, C-конец которого был слит с участком белка, содержащим описанный в литературе NoLS. Кроме самого сигнала, с eGFP сливали удлиненные NoLS, которые помимо описанной в литературе последовательности содержали по 2, 4, 6 или 8 дополнительных аминокислот с C- или N-конца. Было показано, что эффективность накопления eGFP в ядрышке возрастает, если к слитому с ним NoLS добавляются положительно заряженные аминокислоты. В случае добавления к NoLS незаряженных аминокислот эффективность накопления белка в ядрышке не изменяется. Во втором эксперименте были созданы конструкторы eGFP, слитого с описанным в литературе NoLS, в котором 1, 2 или 3 аминокислоты были заменены на глицины. Результаты экспериментов показали, что эффективность накопления белка в ядрышке зависит от числа положительно заряженных аминокислот в NoLS. Снижение эффективности накопления белка происходило пропорционально количеству замененных на нейтральный глицин положительно заряженных аминокислот. Так же было показано, что все аминокислоты в NoLS равноценны – замены любой из них приводили к одинаковому снижению эффективности накопления белка в ядрышке. На основании результатов данной работы можно сделать вывод, что NoLS не имеют общих структурных особенностей строения помимо обогащения положительно заряженными аминокислотами. Так же было показано, что сигналы белков MAP3K14 и HIV Tat не имеют границ и эффективность их функционирования

пропорциональна количеству в них положительно заряженных аминокислот.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-01237.

Слова благодарности

Авторы выражают благодарность своему научному руководителю, ст.н.с. отдела электронной микроскопии НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, к.б.н. Шевалю Е.В.