

## Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

### Кодирующая некодирующая теломеразная РНК человека

*Нарайкина Ю.В.<sup>1</sup>, Василькова Д.П.<sup>2</sup>*

*1 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, 2 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия  
E-mail: julia270692@mail.ru*

На концах хромосом всех эукариот расположены ДНК - белковые комплексы - теломеры. За каждый цикл репликации длина теломер уменьшается на 50-200 нуклеотидов, что ограничивает число делений клетки. Поддержание постоянной длины теломер в некоторых клетках (стволовых, опухолевых и др.) происходит с помощью фермента теломеразы - обратной транскриптазы, синтезирующей ДНК на собственной РНК-матрице.

Известно, что теломеразная РНК человека (hTR - human telomerase RNA) синтезируется РНК-полимеразой II и поначалу содержит полиаденилированную последовательность на 3'-конце и "кэп" на 5'-конце. В процессе созревания РНК подвергается процессингу, в результате которого в составе теломеразы hTR лишена поли-А последовательности и считается нетранслируемой [1].

Анализ первичной структуры гена hTR показал наличие открытой рамки считывания в его составе. Для выяснения возможности трансляции теломеразной РНК человека и получения антител ранее была создана конструкция (вектор pET32b(+)) для экспрессии гена рекомбинантного белка в клетках *E.coli*.

С использованием аффинно-очищенных антител проводили иммуноцитохимическое окрашивание эукариотических клеток с последующим анализом с помощью конфокального и электронного микроскопов. Серия экспериментов на клетках НЕК293 показала колокализацию белка hTERP с протеасомами рядом с ядром. В клеточной линии VA13, в которой по литературным данным и результатам RT-PCR отсутствует теломеразная РНК, белок не обнаруживался.

Анализ клеточных экстрактов методом вестерн блоттинга и mRm-масс-спектрометрии подтвердил полученные результаты.

Биоинформатический анализ первичной структуры продукта трансляции теломеразной РНК человека свидетельствует о том, что он относится к классу нативно неструктурированных белков, способных временно или постоянно связываться и образовывать комплексы с другими белками.

Локализация исследуемого белка hTERP в эукариотических клетках также исследовалась с помощью экспрессирующего вектора с вставкой, кодирующей белок hTERP, слитый с синим флуоресцентным белком BFP. Морфология и особенности нахождения искомого белка в эукариотических клетках имеют схожие признаки с JUNQ (JUxta Nuclear Quality control compartment) - околядерным компартментом контроля качества белков, который ассоциирован с внешней стороной ядерной мембраны и содержит убиквитинилированные белки, которые могут быстро переходить в цитоплазму, а также шапероны и протеасомы. Предполагаемая функция JUNQ состоит в рефолдинге и/или деградации белков [2].

Для дальнейшего исследования локализации и функции белка hTERP созданы стабильные клеточные линии HEK293 и VA13, инфицированные различными конструкциями, содержащими нормальную или мутантную форму гена теломеразной РНК человека.

### **Литература**

1. Collins K. The biogenesis and regulation of telomerase holoenzymes. Nature reviews. Molecular Cell Biology. 2006. Vol.7. P. 484-494.
2. Bagola K., Sommer T. Protein Quality Control: On IPODs and Other JUNQ. Current Biology. 2008. Nov.11: 18(21):R1019-21.

### **Слова благодарности**

Выражаю благодарность научным руководителям: Рубцовой Марии Петровне (кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры ХПС Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова) и Васильковой Дарье Павловне (аспирант кафедры ХПС Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова).