

Взаимосвязь процессинга и трансляции теломеразной РНК человека

Карпова Алла Дмитриевна

Студент (специалист)

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

E-mail: alla-2009g@mail.ru

Поддержание в некоторых клетках постоянной длины теломер - ДНК-белковых структур на концах хромосом эукариот - происходит с помощью теломеразы. Этот фермент состоит из обратной транскриптазы, вспомогательных белков и РНК, которая служит матрицей для синтеза теломерной ДНК [1].

Известно, что теломеразная РНК человека (hTR) синтезируется РНК-полимеразой II, поначалу в «незрелой» форме содержит полиаденированный хвост на 3'-конце и "кэп" на 5'-конце, что придает ей явное сходство с матричными РНК [2,3]. Ранее при анализе гена hTR было обнаружено, что в теломеразной РНК присутствует открытая рамка считывания (ОРС). ОРС начинается с А176 и заканчивается за пределами «зрелой» формы, которая и входит в состав активного теломеразного комплекса.

В рамках данной работы была поставлена цель получить доказательства трансляции теломеразной РНК человека. Для решения задачи были исследованы фракции полисомного профиля клеток человека на наличие в них hTR. Если «зрелая» или «незрелая» hTR присутствует во фракции с полисомами (комплексах нескольких рибосом с одной мРНК), то это может означать, что она транслируется.

Исследования проводили на клеточной линии человека HEK293. Были получены полисомные профили клеток HEK293, для анализа которых были выбраны три праймера - два из них комплементарны последовательности «зрелой» теломеразной РНК, а третий комплементарен последовательности «незрелой» hTR. Все фракции были подвергнуты ОТ-ПЦР с использованием этих праймеров. Результаты проанализировали с помощью электрофореза в агарозном геле. Согласно экспериментальным данным «зрелая» теломеразная РНК присутствует в полисомных фракциях, во фракциях с одиночными рибосомами и в пике, соответствующем фракциям с более лёгкими, чем субчастицы рибосомы, рибонуклеопротеидами. На следующем этапе мы проверяли наличие в полисомных профилях «незрелой» формы hTR и обнаружили похожий по длине продукт во фракциях, соответствующих полисомам, что свидетельствует в пользу транслируемости теломеразной РНК человека. Для дальнейшего анализа ассоциации с полисомами зрелых и незрелых форм теломеразной РНК человека были созданы конструкции, содержащие мутации в гене теломеразной РНК человека: мутации в старт-кодоне (замена G на A или U), преждевременный стоп-кодон, а также мутацию за пределами ОРС для отличия от нативной формы hTR. На следующем этапе планируется трансфицировать клетки HEK293 и VA13, из которых последние по литературным данным не содержат hTR.

Таким образом, полученные на данный момент экспериментальные данные подтверждают гипотезу трансляции теломеразной РНК человека. К тому же по результатам экспериментов с помощью антител к продукту трансляции hTR удалось обнаружить гипотетический белок в цитоплазме клеток HEK293. Биологическая роль процесса трансляции hTR остается неясной. Можно предположить, что синтезируется белок с определенной функцией, либо трансляция необходима для формирования правильной пространственной структуры теломеразной РНК человека.

Источники и литература

- 1) Greider C. W. Telomeres, telomerase and senescence //Bioessays. – 1990. – Т. 12. – №. 8. – С. 363-369.
- 2) Feng J. et al. The RNA component of human telomerase //Science. – 1995. – Т. 269. – №. 5228. – С. 1236-1241.
- 3) Collins K. The biogenesis and regulation of telomerase holoenzymes //Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2006. – Т. 7. – №. 7. – С. 484-494.

Слова благодарности

Выражаю благодарность своим научным руководителям: Рубцовой Марии Петровне (кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры ХПС Химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова) и Нарайкиной Юлии Валерьевне (аспирант первого года обучения Факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М. В. Ломоносова)