

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИЙ РИБОСОМНЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НА УРОВНЕ ТРАНСЛЯЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РИБОСОМНОГО ПРОФАЙЛИНГА

Малыгин А.А.^{1,2*}, Гопаненко А.В.^{1,2}, Антропов Д.Н.^{1,2}, Мелентьев В.С.^{1,2}, Бартули Ю.С.¹, Тупикин А.Е.¹, Кабилов М.Р.¹, Карпова Г.Г.^{1,2}

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск

*e-mail: malygin@niboch.nsc.ru

Метод рибосомного профайлинга (Ribo-seq) является мощным инструментом для изучения экспрессии генов на уровне трансляции, позволяющим определять моментальный уровень всех транслируемых мРНК в клетке [1]. Этот метод основан на высокопроизводительном секвенировании библиотек ДНК, получаемых на основе фрагментов мРНК, защищаемых рибосомами от нуклеазного гидролиза, и последующем анализе дифференциальной экспрессии генов на уровне трансляции.

Рибосомные белки eL29 и eL38 не являются обязательными компонентами рибосомы человека, но их отсутствие в 60S субчастице может приводить к изменению эффективности трансляции отдельных мРНК [2]. Мы понизили уровни данных белков в клетках НЕК293 в 2-3 раза с помощью РНК интерференции и показали, что такое снижение практически не сказывается ни на составе клеточного транскриптома, ни на общей трансляционной активности клеток. Вместе с тем с помощью Ribo-seq мы обнаружили, что при снижении уровней рибосомных белков eL29 и eL38 в этих клетках происходит значительное уменьшение эф-

фективности трансляции мРНК больших наборов генов, чьи продукты участвуют в совершенно разных процессах. Так, в наборе, специфичном для белка eL29, выявлены гены, кодирующие белки, связанные с метаболизмом различных видов РНК и регуляцией клеточного роста, а для белка eL38 – с клеточной подвижностью и гомеостазом. Таким образом, нами установлено, что через снижение уровня рибосомных белков eL29 и eL38 клетки способны осуществлять регуляцию трансляции мРНК целых групп генов, чьи продукты оказываются необходимыми на определенных этапах их жизнедеятельности.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации (МК-7535.2016.4) и Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 17-04-00528). Секвенирование проводилось в ЦКП “Геномика” СО РАН.

1. N.Ingolia et al. (2009) Genome-wide analysis in vivo of translation with nucleotide resolution using ribosome profiling, *Science*, **324**: 218-223.
2. N.Kondrashov et al, (2011) Ribosome-mediated specificity in Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning, *Cell*, **145**:383-397.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА FLOWSEQ ДЛЯ АНАЛИЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСЛЯЦИИ БИБЛИОТЕК БАКТЕРИАЛЬНЫХ мРНК

Сергиев П.В.^{1,2*}, Евфратов С.А.¹, И.А. Остерман^{1,2}, Е.С. Комарова^{1,2}, А.М. Погорельская¹, М.П. Рубцова^{1,2}, Е.С. Кострюкова³, М.Р. Кабилов⁴, Е. Бурнаев^{2,5}, М.С. Гельфанд^{1,2,5}, В.М. Говорун³, А.А. Богданов¹, О.А. Донцова^{1,2}

¹ Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва

² Сколковский Институт Науки и Технологии, Московская область

³ ФНКЦ Физико Химической Медицины, Москва

⁴ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

⁵ Институт проблем передачи информации

*e-mail: petya@genebee.msu.ru

Понимание факторов, влияющих на эффективность экспрессии генов, в частности, на эффективность трансляции мРНК, важно как для фундаментальной науки, так и для биотехнологии. С развитием методов протеомики и рибосомного профайлинга стало возможным определять эффективность экспрессии всего разнообразия генов данного организма. Природные мРНК оптимизировались в ходе эволюции с тем, чтобы экспрессия происходила максимально эффективно и экономно, какой бы уровень экспрессии гена не требовался организму. Таким образом, из выборки для сравнительного анализа оказываются исключенными мРНК, трансляция которых малоэффективна. Также, при отборе мРНК в ходе эволюции мог иметь значение «объем» локального максимума эффективности трансляции, т.е. из анализа могут выпасть потенциально эффективные мРНК, последовательность которых попадает в область уникального максимума эффективности. Наконец, количество генов, в особенности генов бактерии, достаточно ограничено.

Для поиска свойств мРНК, влияющих на эффективность трансляции, мы создали несколько библиотек репортерных конструкций, по разнообразию нуклеотидных последовательностей значительно превышающих разнообразие природных мРНК. Использование флюоресцентных белков в качестве репортеров позволило нам с помощью клеточного сортера разделить клетки, трансформированные библиотекой репортерных конструкций по фракциям, различающимся эффективностью трансляции. Последующее секвенирование собранных фракций выявило последовательности мРНК, обеспечивающие различные уровни экспрессии. Анализ полученных данных позволил выявить особенности хорошо транслируемых мРНК.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант 14-14-00072.

1. S.A. Evfratov et al., (2017) Application of sorting and next generation sequencing to study 5'-UTR influence on translation efficiency in *Escherichia coli*, *Nucleic acids research*, **45**: 3487-3502.