

Выявление биологической функции пептида PSEP1, транслируемого с длинной некодирующей РНК

Научный руководитель – Фесенко Игорь Александрович

Седлов Илья Андреевич

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

E-mail: sedlov8@yandex.ru

Короткие открытые рамки считывания (кОПС, <300 нуклеотидов) обнаружены в геномах прокариот и эукариот, однако часто пропускаются автоматическими алгоритмами при аннотации. Тем не менее, показано, что кОПС могут кодировать функциональные пептиды/микробелки, важные для регуляции различных физиологических процессов [1]. Однако функции большинства пептидов, кодируемых кОПС, изучены мало, особенно у растений. Ранее в лаборатории была обнаружена кОПС, расположенная на транскрипте, аннотированном как длинная некодирующая РНК у модельного растения *Physcomitrella patens* [2]. Её транскрипция и трансляция были подтверждены. Пептид размером 41 а.о. был назван PSEP1. Мы показали, что эндогенный пептид PSEP1 участвует в регуляции скорости роста растений мха: при сверхэкспрессии этого пептида у растений наблюдается значительное ускорение, а при его нокауте - замедление роста [2].

Известно, что пептиды/микробелки, кодируемые кОПС, могут взаимодействовать с белками, влияя на их активность и стабильность [1]. Следовательно, для описания функции микробелка необходимо определить его белковых партнёров. С этой целью нами была проведена аффинная хроматография с применением рекомбинантного PSEP1 со стрептавидиновым тэгом. Для стабилизации возможных слабых белок-белковых взаимодействий при нефизиологических условиях хроматографирования мы применили бифункциональный кросс-сшивающий агент DSP. Для подтверждения результатов аффинной хроматографии мы использовали более приближенный к физиологическим условиям метод выявления белковых партнёров - коиммунопреципитацию. Мы получили мутантные линии *Ph. patens*, экспрессирующие PSEP1, слитый с FLAG-пептидом (8 а.о.). Для изоляции белковых партнёров применили сорбент с иммобилизованными антителами против FLAG-пептида. В обоих методах белки-партнёры анализировали масс-спектрометрически.

Список выявленных кандидатов белковых партнёров пептида PSEP1 включает кальмодулин, белок Rab6A, ассоциированный с патогенезом белок PR-10 и несимбиотический гемоглобин класса 1. Стабильно определяющимся кандидатом по результатам двух вышеописанных экспериментальных методик является белок Rab6A, малая ГТФ-аза, регулирующая везикулярный транспорт.

Для изучения влияния PSEP1 на везикулярный транспорт мы сравнили сверхэкспрессирующую и нокаутную по этому пептиду линии с диким типом при окрашивании красителем FM1-43, флуоресцирующим в мембранах. Было показано, что интенсивность везикулярного транспорта у нокаутной линии значимо ниже, а у сверхэкспрессирующей линии - значимо выше, чем у дикого типа.

Результаты позволяют предположить, что микробелок PSEP1 регулирует процессы роста растений, воздействуя на интенсивность везикулярного транспорта.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 17-14-01189.

Источники и литература

- 1) Hsu, P. Y., Benfey, P. N. (2018). Small but Mighty: Functional Peptides Encoded by Small ORFs in Plants. *Proteomics*, 18(10), e1700038.
- 2) Fesenko, I. et al. (2019). Distinct types of short open reading frames are translated in plant cells. *Genome research*, 29(9), 1464–1477.