

Аминокислотные замены в ВТВ-домене Fruitless не повлияли на его способность взаимодействовать с Ubc9.

Научный руководитель – Соколов Владимир Владимирович

Кондрашев Григорий Ильич

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: kondrashev.grigori@gmail.com

Fruitless – важный белок, регулирующий развитие нейронов mAL-ядра у *Drosophila melanogaster*, определяющего половое поведение [3]. Особенностью структуры Fruitless является наличие ВТВ-домена, присутствие которого обеспечивает его взаимодействие с другими белками хроматина [1]. При анализе ВТВ-белков семейства ТТК (tramtrack) *Drosophila* в нашей лаборатории было установлено, что все они могут взаимодействовать с белком Ubc9, следовательно, способны ковалентно присоединять малый убиквитин-подобный модификатор (small ubiquitin-like modifier/SUMO) к другим белкам [4]. Однако предыдущие опыты не раскрыли никаких особенностей того, как именно происходит образование контактов между Ubc9 и Fruitless.

Для ВТВ-доменного белка млекопитающих BCL6 известна способность взаимодействия со своими мишенями через особое углубление в ВТВ-домене [2]. Белки-партнеры BCL6 обладают неструктурированным пептидом, который, проникая в бороздку его ВТВ-домена, взаимодействует с выстилающими ее гидрофобными остатками, что приводит к принятию пептидом фиксированной структуры и закреплению межмолекулярного контакта. Методами компьютерного моделирования было установлено, что в ВТВ-домене Fruitless также имеется бороздка со сходным строением. Это наводит на мысль о том, что стыковка Fruitless с Ubc9 может осуществляться способом, принципиально похожим на взаимодействие BCL6 со своими партнерами.

Цель данной работы состояла в том, чтобы выяснить, повлияют ли аминокислотные замены в ВТВ-домене Fruitless на его способность контактировать с Ubc9. Для этого провели мутагенез ВТВ-домена Fruitless при помощи PCR с праймерами, содержащими нуклеотидные замены. Мутантные домены, несущие замены F5A, L7A и Y54A тестировали на способность взаимодействовать с Ubc9 в дрожжевой двугибридной системе. Показано, что замены гидрофобных аминокислот в проксимальной части ВТВ-домена Fruitless никак не сказались на его способности образовывать контакты с Ubc9, что говорит об ином способе белок-белкового взаимодействия. Полученные данные могут стать основой для дальнейшего изучения молекулярного механизма присоединения SUMO к ядерным белкам при участии Fruitless.

Источники и литература

- 1) 1) Bonchuk A., Balagurov K., Georgiev P. BTB domains: A structural view of evolution, multimerization, and protein-protein interactions// BioEssays. 2023, №45(2), e2200179.
- 2) 2) Ghetu A.F., Corcoran M.C., Cerchetti L., Bardwell V.J., Melnick A., Privé G.G. Structure of a BCOR Corepressor Peptide in Complex with the BCL6 BTB Domain Dimer// Molecular Cell. 2008, №29(3), p384-391.
- 3) 3) Ito H., Sato K., Koganezawa M., Ote M., Matsumoto K., Hama C., Yamamoto D. Fruitless Recruits Two Antagonistic Chromatin Factors to establish Single-Neuron Sexual Dimorphism// Cell. 2012, №149(6), p1327-1338.

- 4) 4) Zhao X. SUMO-Mediated Regulation of Nuclear Functions and Signaling Processes// Molecular Cell. 2018, №71(3), p409-418.

Иллюстрации



Рис. : 1. Взаимодействие Fruitless BTB и Ubc9 (норма)

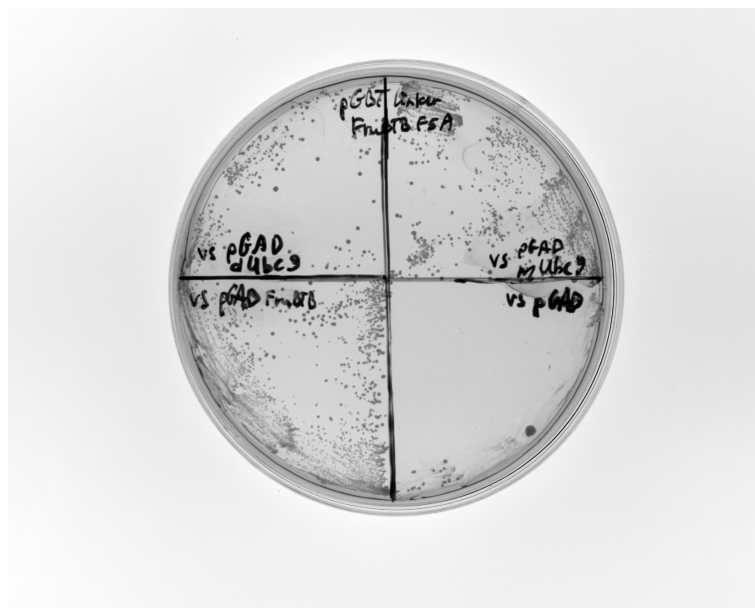


Рис. : 2. Fruitless BTB F5A против Ubc9

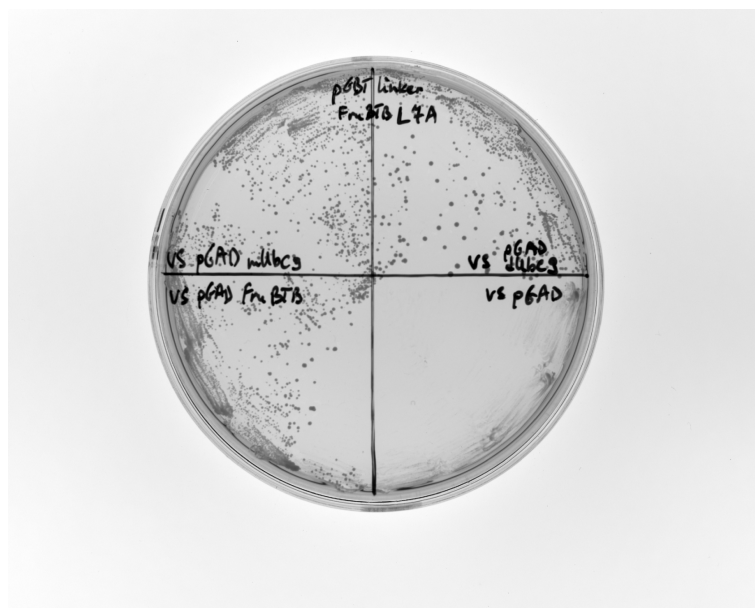


Рис. : 3. Fruitless BTB L7A против Ubc9

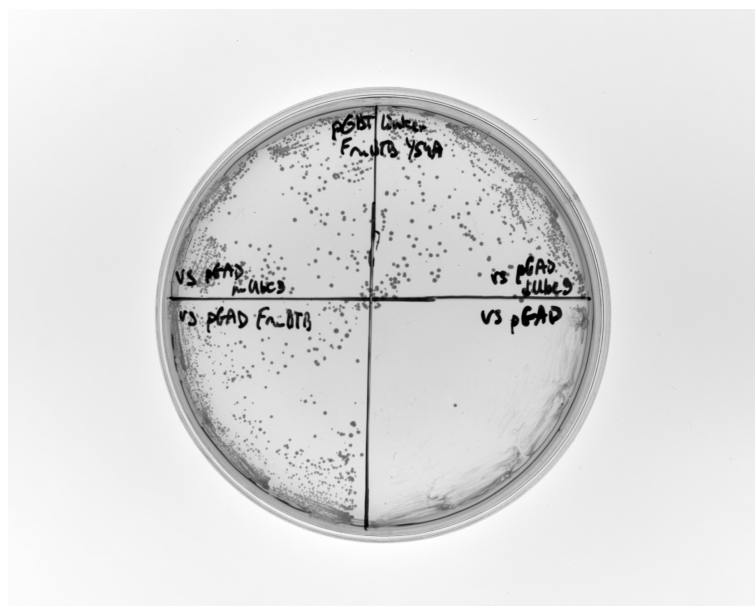


Рис. : 4. Fruitless Y54A против Ubc9

YEAST TWO-HYBRID SYSTEM - MECHANISM OF ACTION

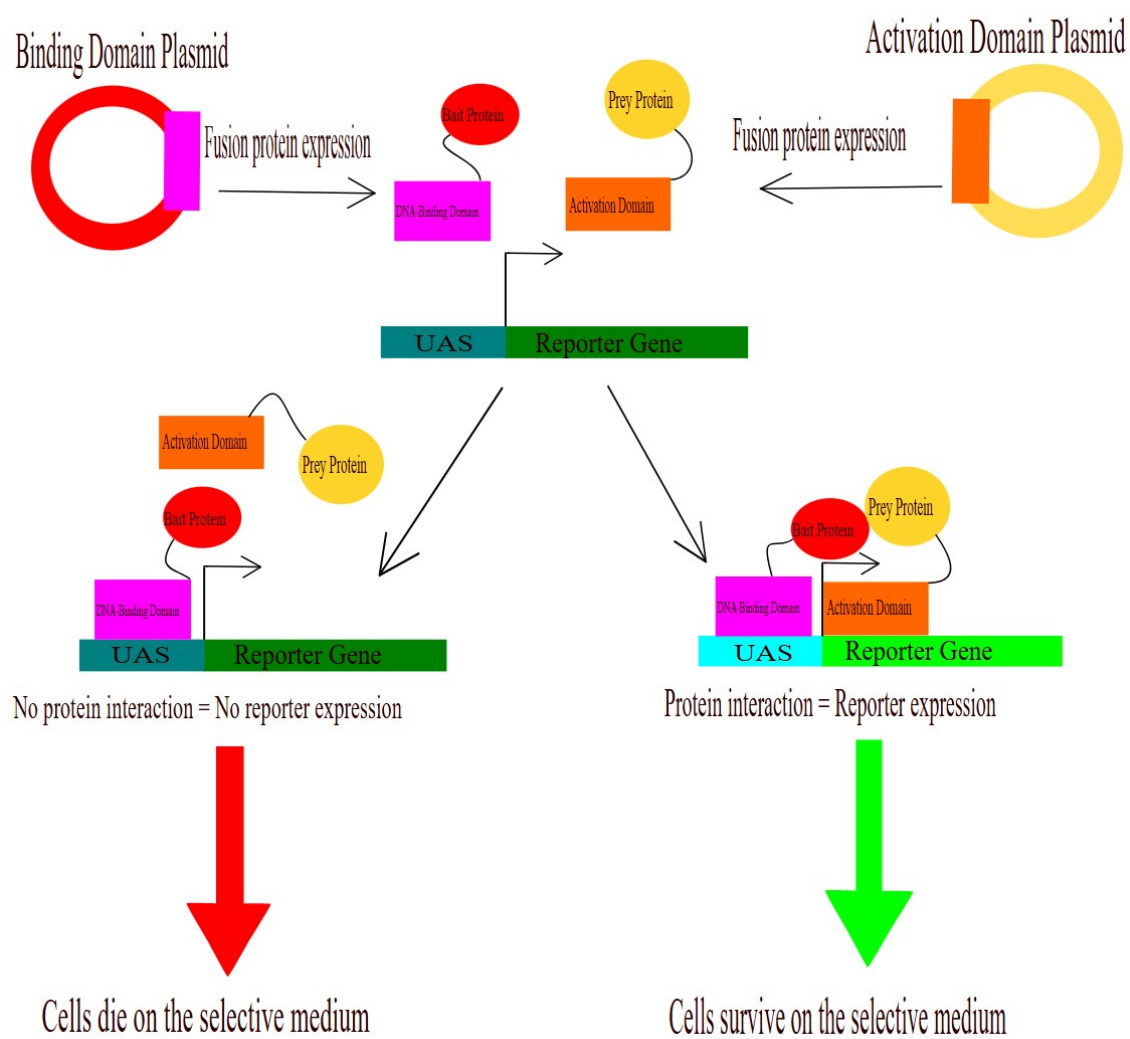


Рис. : 5. Иллюстрация работы дрожжевой дигибридной системы