

Роль убиквитин-лигазы семейства TRIM в деградации рибосом путем рибофагии

Научный руководитель – Голубева Юлия Анатольевна

Михайлов Алексей Сергеевич

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: alekseymihailov2004@gmail.com

Рибофагия представляет собой специфический вид аутофагии, обеспечивающий деградацию рибосом. Этот процесс необходим для удаления дефектных рибосом, функция которых может быть нарушена в следствие действия ингибиторов трансляции или других стрессовых воздействиях. На данный момент известно небольшое количество рецепторов рибофагии, участвующих в этом процессе, ключевым из которых является белок NUFIP1, который связывается с рибосомами в условиях голодания и направляет их на деградацию через взаимодействие с белком LC3B, входящим в состав мембраны аутофагосом [1]. Изучение фундаментального механизма и обнаружение генов, ответственных за рибофагию, по-прежнему остается актуальной задачей.

Ранее в нашей лаборатории был проведен полногеномный CRISPR-Cas скрининг с использованием лентивирусной библиотеки Brunello на репортерной клеточной линии, экспрессирующей RPL29-mCherry-GFP, для поиска генов, участвующих в рибофагии. Среди высоко значимых в скрининге генов была убиквитинлигаза семейства TRIM, ставшая объектом нашего исследования. С целью изучения функции этого белка были получены нокаутные клеточные линии с помощью системы генного редактирования CRISPR/Cas9. Затем, для изучения взаимодействия с рибосомой использовалось выделение рибосом путем центрифугирования клеточного лизата в градиенте сахарозы с последующим анализом фракций методом вестерн-блоттинга.

Мы показали, что исследуемая убиквитин-лигаза семейства TRIM специфически связывается с рибосомой при индукции рибофагии с использованием циклогексимида (CHX). Это свидетельствует о её потенциальной роли в деградации рибосом в условиях стрессового воздействия.

Из научных данных известно, что белки семейства TRIM участвуют в противовирусной защите клетки, регулируя иммунный ответ и деградацию вирусных компонентов[2]. В связи с этим нам было интересно проверить, может ли вирусная инфекция влиять на связывание изучаемой убиквитин-лигазы с рибосомой. Для этого в качестве модели вирусного заражения мы использовали обработку клеток poly(I:C) – синтетическим аналогом двуцепочечной РНК, который имитирует присутствие вирусного генома и активирует врождённый иммунный ответ.

Наши эксперименты показали, что после обработки клеток poly(I:C) наблюдается усиление связывания изучаемой убиквитин-лигазы с рибосомой. Этот эффект аналогичен тому, что при обработке CHX, что указывает на возможное вовлечение данного белка в клеточные механизмы ответа как на стресс, так и на вирусную инфекцию.

Мы показали, что в условиях стресса, таких как обработка циклогексимидом или вирусная инфекция, происходит убиквитинилирование рибосомы, которое опосредуется активностью убиквитин-лигазы семейства TRIM. Учитывая, что убиквитин-лигазы данного семейства участвуют в противовирусном ответе клетки, мы предполагаем, что активация рибофагии может быть частью механизма защиты клетки от вирусной инфекции.

Источники и литература

- 1) 1. Gregory A. Wyant et al. NUFIP1 is a ribosome receptor for starvation-induced ribophagy// Science. 2018. Vol. 360:751-758.
- 2) 2. Van Gent, M., Sparrer, K.M.J., & Gack, M.U. TRIM proteins and their roles in antiviral host defenses. Annual Review of Virology. 2018. Vol 5:385-405.