

Роль малых открытых рамок считывания в 5'-нетранслируемой области мРНК гена *MCRS1*

Научный руководитель – Шепелев Никита Михайлович

Деменева Ульяна Игоревна

Студент (специалист)

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

E-mail: demenevauliana@gmail.com

Малые открытые рамки считывания (sORFs) являются потенциально кодирующими участками ДНК или РНК, содержащими менее 100 кодонов. sORFs в 5'-нетранслируемых областях (5' UTR) эукариотических и некоторых вирусных мРНК представляют наибольший интерес, поскольку они могут модулировать трансляцию основной открытой рамки считывания (CDS), влияя на общий уровень экспрессии генов. Кроме того, многие из них также кодируют биологически активные пептиды [1,2]. Данные рибосомного профилирования указывают на то, что sORFs транслируются в 5' UTR мРНК человеческого гена *MCRS1*.

Анализ последовательности 5' UTR мРНК *MCRS1* выявил три потенциальные sORF. Чтобы оценить эффективность их трансляции мы добавили метку HiBiT на С-конец кодируемых пептидов sORFs в репортерных конструкциях, что позволило обнаруживать присутствие меченных пептидов и оценивать трансляцию sORFs по люциферазной активности при комплементации неактивной люциферазы меткой HiBiT. Среди трех предсказанных sORF лишь одна показала существенный уровень трансляции. Далее для оценки влияния sORFs на трансляцию CDS мы мутировали старт-кодены sORFs, чтобы исключить их трансляцию, в составе двулюциферазной бицистронной репортерной конструкции с IRES. Только инактивация наиболее эффективно транслируемой sORF вызвала значительное повышение уровня трансляции CDS, указывая на репрессивный эффект данной sORF.

Чтобы оценить влияние данной sORF на трансляцию CDS при условиях окислительного стресса и стресса эндоплазматического ретикулаума клетки трансфицировали люциферазными мРНК-репортёрами и подвергали одновременной обработке арсенитом натрия и дитиотреитолом, соответственно. Мы установили, что исследуемая sORF незначительно усиливает трансляцию CDS в условиях проверенных стрессов.

Следующим шагом стало изучение функций микропептида, кодируемого исследуемой sORF в 5' UTR гена *MCRS1*, так как данный микропептид высококонсервативен среди плацентарных млекопитающих и транслируется в клетке при эндогенном уровне экспрессии. Мы создали вектор на основе вектора pSBtet-Neo для индуцибельной экспрессии микропептида и встроили данную конструкцию в геном клеток HAP1 и HEK293. Кроме того, мы синтезировали мРНК, кодирующую данный пептид, для получения антител к исследуемому микропептиду при иммунизации мышей.

Наше исследование показывает, что в 5' UTR мРНК *MCRS1* присутствует одна эффективно транслируемая sORF, которая действует как репрессор трансляции CDS, незначительно повышая ее при стрессе. В целом, это подтверждает, что sORF могут функционировать как регуляторные элементы, модулируя трансляцию CDS. Полученные результаты подчеркивают важность sORFs в регуляции экспрессии генов.

Источники и литература

- 1) Couso, JP., Patraquim, P. Classification and function of small open reading frames. Nat Rev Mol Cell Biol 18, 575–589 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.58>
- 2) Yin, X., Jing, Y., Xu, H. Mining for missed sORF-encoded peptides. Expert Review of Proteomics, 16(3), 257–266 (2019). <https://doi.org/10.1080/14789450.2019.1571919>