

Biofizyczne podstawy oddziaływań między białkami odpowiedzialnymi za wyciszenie ekspresji genów przez mikro-RNA

Maja K. Cieplak-Rotowska^{1,2}, Krzysztof Tarnowski³, Marc R. Fabian⁴, Nahum Sonenberg⁴, Michal Dadlez³, Anna Niedźwiecka¹

¹ Środowiskowe Laboratorium Fizyki Biologicznej, Instytut Fizyki PAN, 02-668 Warszawa

² Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki Doświadczalnej, Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski, 02-089 Warszawa

³ Laboratorium Spektrometrii Mas, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, 02-106 Warszawa

⁴ McGill University, Montréal, Québec, Canada

W procesie wyciszenia ekspresji genów przez miRNA, cząsteczki te wiążą się z białkiem Argonaute i naprowadzają je na cząsteczkę mRNA, która ma ulec wyciszeniu. Z białkiem Argonaute oddziałuje białko GW182, które z kolei wiąże się z kompleksem deadenylaz CCR4-NOT. Kompleks ten deadenyluje mRNA oraz może także blokować jego translację, co łącznie prowadzi do wyciszenia ekspresji danego genu. Z kolei w wyciszeniu mRNA zawierających sekwencje bogate w adeninę i urydynę, rolę miRNA wraz z Argonaute i GW182 pełni tristetraprolina - białko które odgrywa kluczową rolę w procesach odpowiedzi na stany zapalne. Oddziaływania pomiędzy składnikami tego skomplikowanego układu białek o wielkich masach cząsteczkowych są jeszcze stosunkowo słabo poznane. Wcześniejsze badania biologiczne pozwoliły na identyfikację miejsc wiążących CCR4-NOT w sekwencji domeny wyciszającej białka GW182. Jedno z nich ma kluczowy wpływ na deadenylację, a drugie - kluczowy wpływ na oddziaływanie z kompleksem CCR4-NOT za pośrednictwem jego centralnej podjednostki CNOT1 [1].

Dzięki badaniom biofizycznym zidentyfikowaliśmy miejsca oddziaływania GW182 na białku CNOT1(800-999), które, nieoczekiwanie, okazało się pokrywać z miejscem oddziaływania CNOT1(800-999) z tristetraproliną. Białka te konkurują o miejsce oddziaływania, wykorzystując ten sam motyw sekwencji, RLPXφ, w bardzo podobny, jednak nie identyczny sposób. Sekwencja ta prawdopodobnie działa jako tzw. krótki motyw liniowy (z ang. short linear motif, SLiM). Badania biofizyczne sugerują zatem, że te dwa szlaki kontroli nad ekspresją genów krzyżują się. Zbadano także dynamikę strukturalną białka CNOT1(800-999) oraz domeny wyciszającej białka GW182. Wykazano eksperymentalnie, że białko GW182 ma nieustrukturyzowany charakter, oprócz domeny wiążącej RNA (RRM), której struktura jest również bardzo dynamiczna. Natomiast białko CNOT1(800-999) charakteryzuje się strukturą ściśle upakowaną.

Przeprowadzone badania doprowadziły do odkrycia miejsc oddziaływania pomiędzy natywnie nieustrukturyzowaną domeną wyciszającą GW182, a helikalnym fragmentem białka CNOT1(800-999), przyczyniając się do zrozumienia molekularnych mechanizmów rozpoznawania w kompleksach białkowych odpowiedzialnych za regulację ekspresji genów w ważnych procesach komórkowych.

[1] M.R. Fabian, M.K. Cieplak, F. Frank, M. Morita, J. Green, T. Srikumar, B. Nagar, Yamamoto, B. Raught, T.F. Duchaine, N. Sonenberg, *Nat Struct Mol Biol.* **18**, 1211 (2011).