

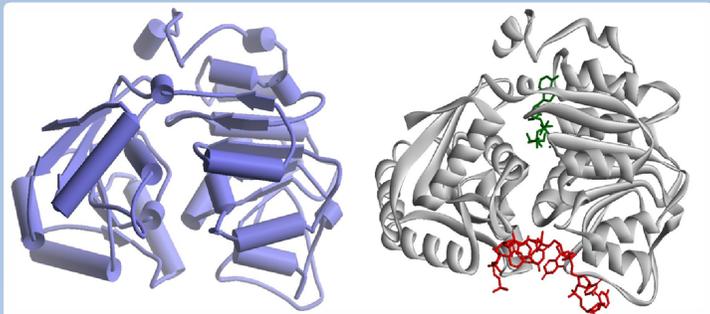


# Влияние мутантов Dbp5, не связывающих РНК на терминацию трансляции in vitro

Лаборатория биосинтеза белка.

Беляева Софья, Емельяненко Вера, Миннегалиева Айгуль

Руководители: Михайлова Татьяна, Алкалаева Елена



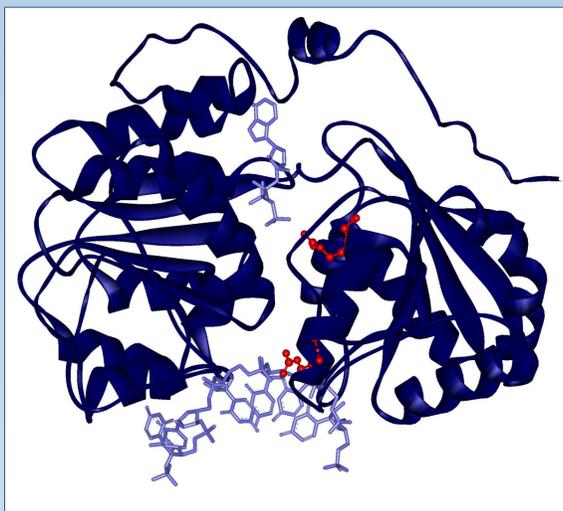
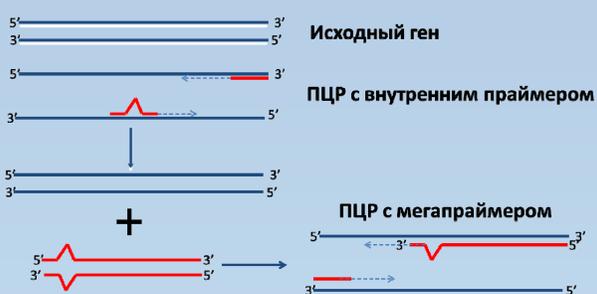
## Введение:

Dbp5-АТФ-зависимая DEAD-бокс РНК-хеликаза, участвующая в транспорте мРНК через ядерную пору. Также было выявлено, что Dbp5 в дрожжевых клетках принимает участие в терминации трансляции (Gross T., 2007). Однако механизм его действия в клетках высших эукариот не был описан.

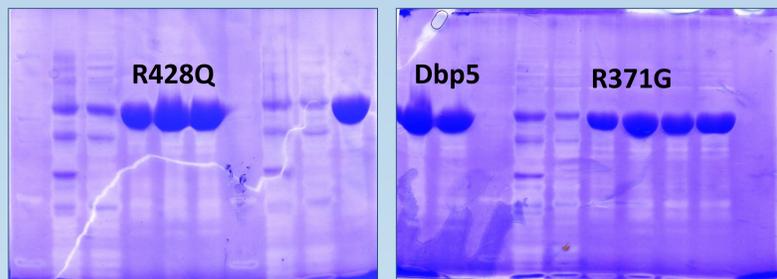
## Цель работы:

Определить роль связывания РНК фактором Dbp5 в регуляции терминации трансляции человека.

### 1. Получение точечных мутантов Dbp5

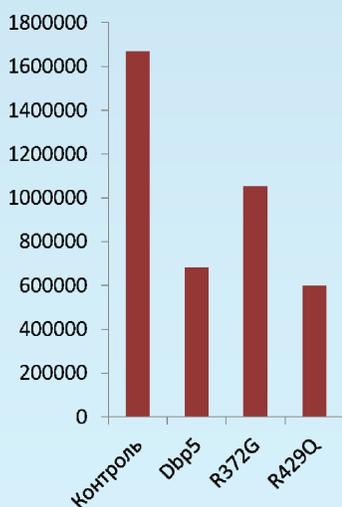


### 2. Экспрессия полученных мутантных форм Dbp5 в штамме BL21-pUBS E. coli.



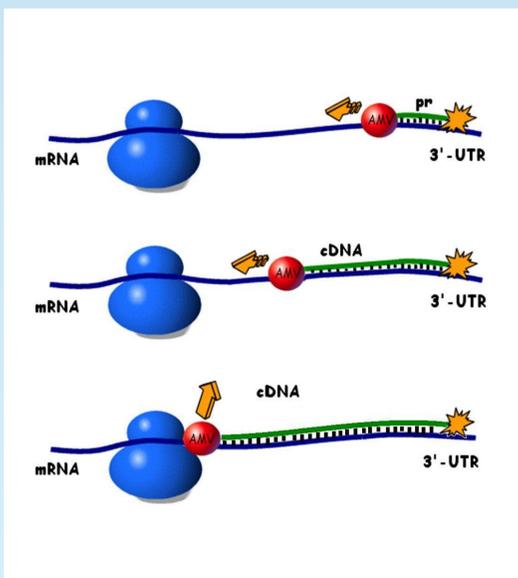
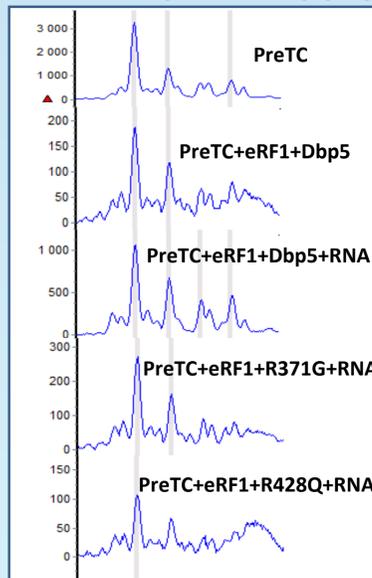
Dbp5 и его мутантные формы экспрессировали в E. coli и очистили с помощью смолы Ni-NTA. После чего провели ПААГ электрофорез и диализовали фракции, содержащие белок.

## Люциферазный тест



Люциферазный тест основан на способности люциферазы светлячка окислять люциферин с помощью энергии АТФ. Уровень люминесценции измеряли с помощью люминометра. Если в реакционной смеси есть Dbp5, то он может связать АТФ и уровень люминесценции в пробе уменьшится. Мутантные формы белка Dbp5 не потеряли способность связывать АТФ.

## Тое-print анализ терминации трансляции В реконструированной системе



Связывание eRF1 с претерминационным комплексом вызывает изменение конформации рибосомы и сдвиг пика Toe-print на два нуклеотида. Dbp5 вместе с РНК стимулируют этот сдвиг. Мутантные белки не обладают способностью стимулировать конформационные изменения рибосомы.

## Выводы:

1. Получены мутантные белки Dbp5, не связывающие РНК.
2. Мутантные формы Dbp5 способны связывать АТФ.
3. Для стимуляции терминации трансляции человеческому Dbp5 необходимо связывание с РНК.