

Выделение эукариотического фактора инициации трансляции 2

К.К. Малышевская^{1,2}, Е.А. Столбоушкина², М.Б. Гарбер²

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²Институт белка РАН, Пушкино

Одним из объектов исследований в лаборатории структурных исследований аппарата трансляции является фактор инициации трансляции 2 эукариотического типа. Эукариотический и архейный факторы инициации трансляции 2 (e/aIF2) гомологичны и состоят из трех субъединиц (α , β , γ). e/aIF2 выполняет ключевую роль в клетке: запускает синтез белка на рибосоме. В комплексе с ГТФ e/aIF2 связывает инициаторную метионил-тРНК (Met-тРНКi) и в составе тройственного комплекса e/aIF2•ГТФ•Met-тРНКi позиционирует её в Р-участке малой рибосомной субчастицы.

В 2008 году в нашей лаборатории впервые была получена структура полноразмерного архейного фактора инициации трансляции 2. Структура архейного тройственного комплекса aIF2•ГТФ•Met-тРНКi была также определена в нашей лаборатории (Stolboushkina *et al.*, 2013) и в группе Эммы Шмит (Schmitt *et al.*, 2012) во Франции. Пространственная структура эукариотического фактора инициации трансляции 2 не получена (известна структура только α -субъединицы и домена γ -субъединицы), поэтому для моделирования эукариотического фактора пока используется структура архейного.

Несмотря на гомологию, субъединицы эукариотического eIF2 по размеру длиннее, чем их архейные гомологи. Более того, было показано, что архейный второй фактор не способен полностью заменять функции эукариотического фактора в системе инициации трансляции эукариот. aIF2 способен поместить инициаторную тРНК в Р-участок 40S субчастицы, но блокирует наступление следующей стадии - препятствует ассоциации рибосомных субчастиц (Dmitriev *et al.*, 2012). Таким образом, получение пространственной структуры именно eIF2 является актуальной задачей.

В настоящее время исследования в лаборатории направлены на получение препаратов и определение структур рекомбинантного eIF2 и его тройственного комплекса eIF2•ГТФ•Met-тРНКi. Созданы штаммы-суперпродуценты для всех субъединиц eIF2 из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и разработаны схемы их выделения. γ -Субъединицу eIF2 долгое время не удавалось получить в растворимой форме, так как при наработке белка в системе Штудлера практически весь eIF2 γ обнаруживался в тельцах включения. Поэтому для получения препарата γ -субъединицы eIF2 использовали метод денатурации белка в буфере с высоким содержанием мочевины с последующей ренатурацией с помощью ступенчатого диализа. Важно отметить, что выделение белка из телец включения хоть и является довольно трудоёмкой задачей, но обеспечивает получение относительно чистого препарата белка.

Литература

- Stolboushkina, E., Nikonov, S., Zelinskaya, N., Arkhipova, V., Nikulin, A., Garber, M., Nikonov, O. Crystal Structure of the Archaeal Translation Initiation Factor 2 in Complex with a GTP Analogue and Met-tRNA^f(Met) // *J. Mol. Biol.* 2013. V. 425. P. 989–998.
- Schmitt, E., Panvert, M., Lazennec-Schurdevin, C., Coureux, P.-D., Perez, J., Thompson, A. & Mechulam, Y. Structure of the ternary initiation complex aIF2–GDPNP–methionylated initiator tRNA // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012. V. 19. P. 450–454.
- Dmitriev, S. E., Stolboushkina, E. A., Terenin, I. M., Andreev, D. E., Garber, M. B. & Shatsky, I. N. Archaeal translation initiation factor aIF2 activity in heterologous eukaryotic system // *J. Mol. Biol.* 2012. V. 413. P. 106–114.