

УДК 577

С.А.Клотченко (5 курс, каф. БФ), А.В.Васин, (асп., каф. БФ), Л.В.Пучкова, д.б.н., проф.

ПОИСК И АНАЛИЗ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В НЕКОДИРУЮЩИХ УЧАСТКАХ ГЕНА ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА

Церулоплазмин (ЦП, КФ 1.16.3.1.) – основной медьсодержащий белок позвоночных, на долю которого приходится 95% внеклеточной меди. ЦП относится к категории “moonlighting” (работающих по совместительству) белков, выполняющих в разных органах различные функции, меняющиеся в течение онтогенеза. Ген ЦП является уникальным геном и содержит 19 экзонов. В то же время, его белковые продукты представлены различными тканеспецифическими молекулярными формами, механизм образования которых ещё мало изучен. Известны две молекулярные формы ЦП-мРНК, программирующие синтез секреторного ЦП и ЦП, связанного с клеточной мембраной через гликозилфосфатидилинозитоловый якорь (ГФИ-ЦП). Обе ЦП-мРНК образуются из общего первичного транскрипта в результате альтернативного сплайсинга. Современные представления о возможности формирования различных молекулярных форм мРНК на основе информации, содержащейся в единственной последовательности ДНК, позволяют предположить, что ген ЦП может содержать информацию о более чем двух уже известных молекулярных формах мРНК.

С целью оценить потенциальные кодирующие возможности природного гена ЦП был проведен сравнительный компьютерный анализ кодирующих и некодирующих участков гена ЦП разных видов позвоночных. Для достижения этой цели в работе использовались стационарные компьютерные программы Clustal W (version 1.7) и программный пакет PHYLIP 3.6, открытая база данных GenBank, а также компьютерные программы в интернете: ORF Finder, BLAST, MitoProt II 1.0a4 и MOTIF.

Полные последовательности ЦП-мРНК установлены для человека, барана, крысы, мыши и рыбы *Brachydanio rario*. Они были подвергнуты множественному прогрессивному выравниванию. По результатам выравнивания были вычислены матрицы филогенетических дистанций. Наибольшее сходство выявлено в парах крыса-мышь и человек-баран. Наибольшие различия – между последовательностями мРНК ЦП рыбы и млекопитающих.

Структура хромосомных генов ЦП известна только у человека, крысы и мыши, поэтому сравнение интронов велось между этими тремя видами. Интроны 8 и 16, характеризующиеся наибольшей гомологией, были подвергнуты детальному анализу. Оказалось, что интрон 16 трёх исследованных видов содержит потенциальные сайты тканеспецифической регуляции транскрипции *CdxA*, которые функционируют только в эмбриональный период онтогенеза. По два таких *cis*-элемента находятся в одинаковых положениях с практически полным совпадением последовательностей.

В интроне 8 были найдены промоторы, потенциальная функциональность которых была проверена трансляцией. Оказалось, что только один потенциальный промотор гена ЦП человека в единственной рамке считывания программирует синтез полипептидной цепи длиной 582 а.о. (1746 н.), которая полностью соответствует ЦП человека с 502 а.о. и имеет на N-конце 18 а.о., которых нет в ЦП. Анализ этой N-концевой последовательности с помощью программы, предсказывающей сигналы сортировки, показал, что эта последовательность обеспечивает белку цитоплазматическую локализацию.

Только 3'-UTR ЦП-мРНК человека содержит *цис*-элемент, необходимый для подавления экспрессии гена ЦП на уровне трансляции, которое осуществляется белком, индуцируемым гамма-интерфероном. Сходные, но низкоомологичные с *цис*-элементом человека структуры были выявлены у барана, крысы и мыши. У рыбы такая последовательность не выявлена. ЦП-мРНК человека содержит альтернативный сайт полиаденилирования в 5'-направлении от этого *цис*-элемента.

В результате проведённого анализа выявлено, что:

- 1) хромосомный ген ЦП человека кодирует потенциальную цитозольную форму ЦП человека, соответствующую С-концевой половине ЦП;
- 2) экспрессия гена ЦП может тканеспецифично осуществляться на уровне трансляции.