

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-157

ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПЛЕКСА TRIM27-USP7-PML В СОСТАВЕ ЯДЕРНЫХ PML-ТЕЛЕЦ^{*}**PROPERTIES OF THE TRIM27-USP7-PML COMPLEX WITHIN NUCLEAR PML-BODIES**С. А. Силонов¹, Е. Ю. Смирнов¹, Е. А. Шмидт^{1,2}, А. В. Фони́н¹, И. М. Кузнецова¹, К. К. Туроверов¹¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург²Санкт-Петербургский государственный университетS. A. Silonov¹, E. Y. Smirnov¹, E. A. Shmidt^{1,2}, A. V. Fonin¹, I. M. Kuznetsova¹, K. K. Turoverov¹¹Institute of Cytology RAS, Saint Petersburg²Saint Petersburg State University

✉ silonovsa25@yandex.ru

Аннотация

В работе изучена локализация и функциональная роль комплекса белков TRIM27, USP7 и PML. Используя методы конфокальной микроскопии и биоинформатического анализа, показано существование стабильного комплекса TRIM27-USP7-PML и продемонстрировано, что около 25 % белков-партнеров TRIM27 взаимодействуют с PML и USP7, причем основная функция этой группы связана с негативной регуляцией транскрипции ДНК.

Abstract

This study investigates the localization and functional role of the TRIM27, USP7, and PML protein complex. Utilizing confocal microscopy techniques and bioinformatic analysis, we demonstrate the existence of a stable TRIM27-USP7-PML complex. Furthermore, we show that approximately 25 % of TRIM27 protein partners interact with PML and USP7, with the primary function of this group being associated with negative regulation of DNA transcription.

В последние годы накапливается все больше данных о существенной роли белка TRIM27 в возникновении и развитии ряда злокачественных заболеваний, включая лейкозы, рак груди, колоректальный рак, рак почек, пищевода и легких. Более того, TRIM27 был связан с такими заболеваниями как волчаночный нефрит и болезнь Паркинсона [1]. TRIM27, известный также как белок 27, содержащий трехчастный (трехсторонний) мотив (TRIM), представляет собой многофункциональную убиквитин E3-лигазу, участвующую в различных клеточных процессах, таких как: пролиферация, апоптоз и регуляция иммунных реакций [2]. Деубиквитирующим ферментом белка TRIM27 является убиквитин-специфическая протеаза 7 (USP7), при этом TRIM27 стабилизируется путем связывания с USP7, а образующийся белковый комплекс TRIM27-USP7 может играть существенную роль в стабильности генома через широкую сеть взаимодействий с другими белками, включая PML, p53, Mdm2 и TPP1 [3]. Стоит отметить, что TRIM27 может взаимодействовать с белком промиелоцитарного лейкоза PML, образуя гетеродимеры, однако детали этого взаимодействия остаются малоизученными. Изоформы белка PML локализуются преимущественно в PML-тельцах, многофункциональных полирегуляторных динамических ядерных немембранных органеллах.

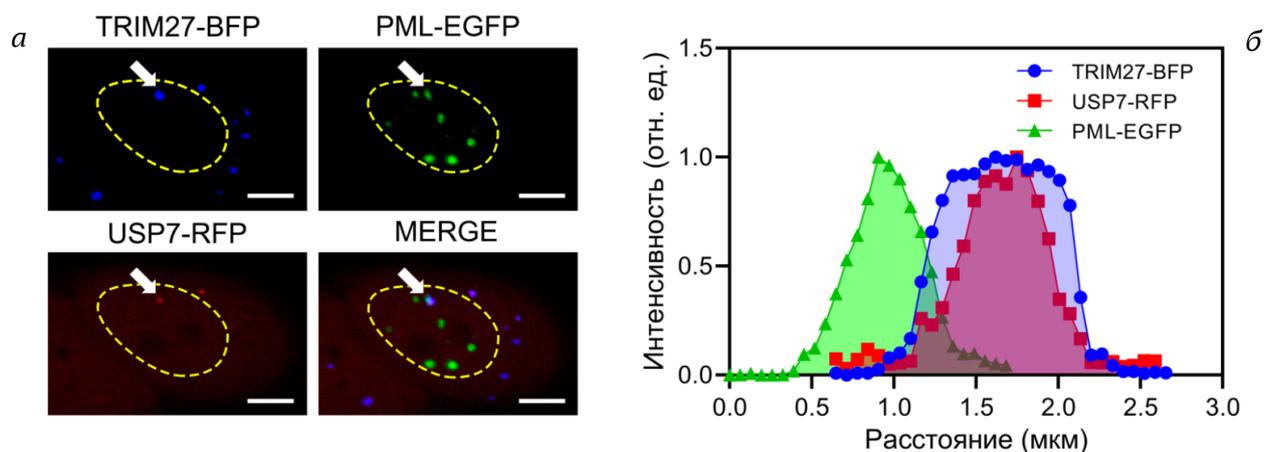
Целью исследования было изучение колокализации и динамических характеристик TRIM27, USP7 и изоформ PML в составе PML-телец с использованием конфокальной микроскопии, а также сравнение интерактомо́в этих белков биоинформатическими методами.

Биоинформатический анализ включал в себя анализ базы данных BIOGRID для выявления белок-белковых взаимодействий TRIM27, USP7, PML и функциональный анализ генов с использованием подхода Gene Ontology (GO). Для изучения колокализации были применены экспериментальные методы, включающие создание нокаутных по собственному гену PML клеточных линий U2OS и A549, получение линий со стабильной экспрессией TRIM27 и USP7 (TRIM27-BFP, TRIM27-GFP, USP7-RFP), а также применение методов конфокальной микроскопии (FRET, FRAP) для изучения взаимодействий и динамических характеристик белков.

Согласно анализу интерактома, около 25 % белков TRIM27 взаимодействуют с PML и USP7. При этом основная роль этой группы белков определена как отрицательная регуляция транскрипции ДНК (GO:0045892). Эти данные подчеркивают важность изучаемого комплекса в регуляции транскрипции и его потенциальную роль в онкогенезе.

^{*} Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 22-15-00429) и стипендии Президента Российской Федерации № СП-5364.2022.4.

Экспериментальные данные продемонстрировали, что нокаут PML приводит к изменениям в количестве и локализации белка TRIM27, но не влияет на его динамические характеристики. Стоит отметить, что при образовании комплекса TRIM27-USP7-PML в линии A549 нокаутной по PML (см. рисунок) наблюдается полная иммобилизация TRIM27 и USP7, что указывает на стабильность этого комплекса и его потенциальную функциональную значимость. Среди изученных изоформ PML выявлена специфическая роль ряда изоформ в стабилизации комплекса с TRIM27 и USP7.



Локализация комплекса TRIM27-BFP, PML-EGFP и USP7-RFP в нокаутной по PML клеточной линии A549 (а) и анализ совместной локализации (б). Стрелкой показан комплекс белков TRIM27, PML и USP7. Желтая пунктирная линия соответствует ядру. Масштабная линейка — 5 мкм

Полученные результаты подтверждают существование комплекса TRIM27-USP7-PML и его важность в регуляции транскрипции. Биоинформатический анализ согласуется с экспериментальными данными, указывая на широкую сеть взаимодействий TRIM27 с PML и USP7. Выявленная роль этой группы белков в негативной регуляции транскрипции может объяснять их участие в различных заболеваниях.

Литература

1. Yu C. et al. Emerging roles of TRIM27 in cancer and other human diseases // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022. Vol. 10. P. 1004429.
2. Garcia-Garcia J. et al. TRIM27 is an autophagy substrate facilitating mitochondria clustering and mitophagy via phosphorylated TBK1 // *The FEBS journal*. 2023. Vol. 290, №. 4. P. 1096-1116.
3. Jung J.U., Cobb M.H. WNK1 controls endosomal trafficking through TRIM27-dependent regulation of actin assembly // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2023. Vol. 120, № 25: e2300310120.