

© А. А. Нижников<sup>1,2</sup>,  
А. М. Кондрашкина<sup>1</sup>,  
К. С. Антонец<sup>1</sup>,  
А. П. Галкин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Кафедра генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН

✉ Ранее нами был проведен поиск генов, сверхэкспрессия которых вызывает у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* нонсенс-супрессию на фоне модифицированных вариантов *SUP35*. В данном исследовании мы анализировали влияние на этот процесс генов, кодирующих аспарагин-глутамин обогащенные транскрипционные факторы. Нами показано, что сверхэкспрессия генов *ABF1*, *GLN3*, *FKH2*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1* влияет на нонсенс-супрессию у *S. cerevisiae*. Полученные данные свидетельствуют о том, что некоторые транскрипционные факторы могут опосредованно регулировать терминацию трансляции в живой клетке.

✉ Ключевые слова: амилоид; нонсенс-супрессия; прион; дрожжи; терминация трансляции; транскрипционный фактор.

Поступила в редакцию 10.09.2012  
Принята к публикации 26.12.2012

## СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ АСПАРАГИН-ГЛУТАМИН ОБОГАЩЕННЫЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ, ВЫЗЫВАЕТ НОНСЕНС-СУПРЕССИЮ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

### ВВЕДЕНИЕ

Терминация трансляции полипептидной цепи на рибосоме является одним из базовых молекулярных процессов, обеспечивающих экспрессию генетического материала. Его ключевыми и наиболее изученными участниками у дрожжей являются факторы терминации трансляции eRF1 (Sup45p) и eRF3 (Sup35p) (Zhouravleva et al., 1995; Stanfield et al., 1995). Снижение эффективности терминации трансляции приводит к повышению частоты прочтения стоп-кодонов в качестве значащих. Фенотипические изменения в эффективности терминации трансляции могут детектироваться у дрожжей *S. cerevisiae* по росту штаммов, несущих нонсенс-мутации в различных генах. Этот фенотипический эффект получил название нонсенс-супрессии. Так, снижение эффективности терминации трансляции в дрожжевом штамме, несущем аллель *ade1-14<sub>UGA</sub>*, вызывает рост на селективной среде без аденина (Инге-Вечтомов и др., 1988). Следует отметить, что причиной нонсенс-супрессии может быть не только снижение эффективности терминации трансляции, но и ряд других факторов. В их числе изменения в эффективности деградации некоторых мРНК или мутации в структурных и регуляторных участках генов ряда тРНК (Weiss et al., 1987; Ong et al., 1997; Ono et al., 2005). Определенные мутации в генах *SUP35* и *SUP45* влекут за собой снижение эффективности терминации трансляции и нонсенс-супрессию (Инге-Вечтомов, Адрианова, 1970). Таким образом, нонсенс-супрессия является основным фенотипическим маркером, сигнализирующим о нарушениях терминации трансляции. Это обуславливает важность исследования факторов, детерминирующих нонсенс-супрессию. Можно предположить, что изменения в уровне экспрессии генов, регулирующих *SUP35* и *SUP45*, а прежде всего, генов, кодирующих транскрипционные факторы, будут оказывать влияние на эффективность терминации трансляции и, как следствие, на нонсенс-супрессию. Это связано с тем, что снижение уровня продукции факторов терминации трансляции может привести к недостаточной эффективности терминации трансляции. В случае нонсенс-аллели *ade1-14* это будет приводить к прочтению с определенной частотой преждевременного нонсенс-кодона UGA как значащего, синтезу белка Ade1 и росту штамма на селективной среде без аденина. Вместе с тем таких свидетельств до настоящего времени получено не было, хотя выявлен целый ряд транскрипционных факторов для *SUP35* и *SUP45*. Одной из наиболее примечательных особенностей известных транскрипционных факторов гена *SUP45* является то, что все они обогащены остатками аспарагина (N) и глутамина (Q) (Dagkessamanskaya et al., 1997; Workman et al., 2006; Lee et al., 2002). Роль N/Q-обогащенных белков активно изучалась в дрожжах в связи с тем, что такие белки, зачастую могут формировать амилоидные полимеры, то есть высокомолекулярные упорядоченные агрегаты (Alberti et al., 2009; Chiti and Dobson, 2006). Некоторые N/Q-обогащенные белки дрожжей обладают прионными свойствами: они формируют инфекционные амилоидные агрегаты (Crow and Li, 2011). К N/Q-обогащенным прионам относится и белок Sup35p (Wickner, 1994). В последнее время получены новые, крайне любо-

пытные свидетельства в пользу функциональной роли N/Q-трактов. Так, показано, что мутантный поли-Q тракт человеческого белка хантингтина обладает способностью связываться с промоторами и изменять уровень экспрессии целого ряда генов (Benn et al., 2008). Таким образом, повышенное содержание N и Q в первичных последовательностях белков может играть двойную роль, с одной стороны детерминируя их потенциально амилоидные свойства, а с другой — определяя высокую аффинность к нуклеиновым кислотам и соответствующие функции.

Ранее мы проводили поиск новых супрессоров при помощи геномных скринингов в штаммах, несущих различные модифицированные варианты *SUP35*. В результате были выявлены новые многокопийные супрессоры нонсенс-мутаций *NAB2*, *NAB3* и *VTS1* (Нижников и др., 2011; Nizhnikov et al., 2012). Одним из основных выводов из этих исследований стало то, что использование штаммов, несущих модифицированные варианты *SUP35*, позволяет выявлять супрессоры, которые не могут быть идентифицированы в штаммах, несущих *SUP35* дикого типа. То есть за счет изменений в последовательности *SUP35* возникает некий «привоакционный» генетический фон, вскрывающий тех игроков, которые были замаскированы в нормальных условиях.

В данной работе мы исследовали влияние сверхэкспрессии N/Q-обогащенных транскрипционных факторов гена *SUP45*. Мы предположили, что использование штаммов, несущих модифицированные варианты *SUP35* позволит создать фон, на котором можно будет получить фенотипическое проявление сверхэкспрессии данных генов. Проведенный анализ показал, что сверхэкспрессия шести генов: *ABF1*, *GLN3*, *FKH2*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1*, вызывает нонсенс-супрессию на специфическом генетическом фоне. Эти данные имеют существенное значение в контексте исследования взаимосвязи между процессами транскрипции и трансляции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### Методы анализа *in silico*

Выявление групп белков с достоверно повышенной частотой определенных функций в выборке по сравнению с протеомом проводили с использованием программы «GoMiner» (<http://discover.nci.nih.gov/gominer/index.jsp>). Функциональную характеристику белков проводили на основании данных из базы «Gene Ontology» (<http://www.geneontology.org/>). Поиск потенциальных транскрипционных факторов проводили в базе данных «YeastRACT» (<http://www.yeastRACT.com/>).

### Штаммы, среды и условия культивирования микроорганизмов

В работе применяли стандартные методы дрожжевой генетики (Kaiser et al. 1994). Генотипы штаммов дрожжей приведены в таблице 1. Для амплификации плазмидной ДНК использовали штамм *Escherichia coli* DH5α (Hanahan, 1985). При культивировании *E. coli* использовали жидкую и твердую среду LB (Sambrook et al., 1989). Дрожжи культивировали при 30 °C на твердой и жидкой среде YAPD, а также на синтетических средах, содержащих необходимые витамины, микроэлементы и аминокислоты (Захаров и др., 1984; Sherman et al., 1986). Для экспрессии генов под контролем регулируемого промотора *CUP1*, в среды добавляли 150 мкМ CuSO<sub>4</sub>. Нонсенс-супрессию оценивали по росту штамма на селективной среде без аденина на седьмой день инкубации при 30 °C. Для селекции клонов, потерявших плазмиды, несущие ген *URA3*, использовали минимальную селективную среду с добавлением 1 г/л фтороротовой кислоты (ФОК) (Kaiser et al., 1994).

### Плазиды

Все использованные в работе плазиды содержат дрожжевой и бактериальный oriDжины репликации. Многокопийные плазиды P<sub>*CUP1*</sub>-GFP (*URA3*) и pL-*Ab-Sup35MC*, несущие гены *GFP* и *Ab-Sup35MC* соответственно, под контролем промотора *CUP1*, получены

Таблица 1

### Штаммы *S. cerevisiae*, использованные в работе

Штамм	Генотип	Источник
1-1-2-1-1-Д931	<i>MATa sup35Δ::HIS3*</i> <i>ade1-14** his3 leu2 lys2 ura3 trp1-289**</i> [pASB-2]	Nizhnikov et al., 2012
2-4-1-1-Д931	<i>MATa sup35Δ::HIS3 ade1-14 his3 leu2 lys2 ura3 trp1-289</i> [pL- <i>Ab-Sup35MC</i> ]	Safitdinova et al., 2010
1-2-1-1-Д931	<i>MATa sup35Δ::HIS3 ade1-14 his3 leu2 lys2 ura3 trp1-289</i> [pRS315-SUP35MC]	Nizhnikov et al., 2012
1-Д933	<i>MATa sup35Δ::HIS3 ade1-14 his3 leu2 lys2 ura3 trp1-289</i> [pU- <i>Ab-Sup35MC</i> ]	Safitdinova et al., 2010
GT159	<i>MATa ade1-14 his3 leu2 lys2 ura3 trp1-289</i>	Chernoff et al., 1999

\* *sup35Δ::HIS3* — последовательность гена *SUP35* замещена на последовательность гена *HIS3*. \*\* Аллель *ade1-14* содержит нонсенс-мутацию UGA; *trp1-289* — нонсенс-мутацию UAG

Таблица 2

## Праймеры, использованные в работе

Название	Последовательность 5'-3'
CUP1-End	TCCGCTGAACCGTTCCAG
FABF1BAM1	TAGAGGATCCATGGACAAATTAGTCGTGAATTA
FCYC8BAM1	ATTGAGGATCCATGAATCCGGGCGGTGAA
FFKH2BGL2	TAGTAGATCTATGCCAGCAGCAATTAAACGA
FGAL11BAM1	ATATTCCGGATCCATGTCTGCTGCTCCTGTCCA
FGLN3BAM1	TAGAGGATCCATGCAAGACGACCCCGAAA
FINO4BAM1	TCAGTGGATCCATGACGAACGATATTAAGGA
FMCM1BAM1	TAGAGGATCCATGTCAGACATCGAAGAA
FMOT3BAM1	TATAGGATCCATGAATGCGGACCACCTCACCT
FPGD1BGL2	GAACGAAGATCTATGGACTCGATTATACCGGCA
FREB1BAM1	TAGTGGATCCATGCCCTCAGGTCTAACGA
FSFP1BGL2	TCAGTAGATCTATGGATTACAACAATGACT
RABF1SAC1	TAGTGAGCTCTATTGACCTCTTAATTCTGGT
RCYC8SAC1	ATCTAGAGCTCTAGTCGCTGAGTTTCATC
RFKH2SAC1	TAGAGAGCTCTAGTTGATAAACTGATCT
RGAL11NOT1	TAAATAGCGGCCGCTCAAGTAGCACTTGTCCTATTAT
RGLN3SAC1	TAGAGAGCTCAATACGCGGTCTAACAAAT
RINO4SAC1	ATTACGAGCTCTACTGACCACTCTGTCC
RMCM1SAC1	TAGAGAGCTCTAGTATTGGCCTTGTG
RMOT3SAC1	TAGTAGAGCTCTAGGACAGTTCATCAATGTGG
RPGD1NOT1	TAAATAGCGGCCGCTCACAGAAATCCATGTTAGA
RREB1SAC1	TAGAGAGCTCAACGCGTACTATCAAACAT
RSFP1SAC1	TTCTAGAGCTCTAGTGAGTGGAGTGGCC

нами ранее (Рубель и др., 2008; Saifitdinova et al., 2010). Центромерная плазмида pRS315-SUP35MC, несущая ген *SUP35MC* под контролем собственного промотора, а также гены *AmpR* и *LEU2*, любезно предоставлена Ю. О. Черновым (Технологический институт шт. Джорджия, США). Центромерная плазмида pASB-2, содержащая последовательность *SUP35* под контролем собственного промотора, а также гены *AmpR* и *LEU2*, любезно предоставлена А. С. Борхсениусом (Санкт-Петербургский государственный университет, Россия). Плазмида pU-VTS1 содержит последовательность гена *VTS1* под контролем промотора *CUP1* (Нижников и др., 2011). Многокопийные плазмиды серии pU-CUP1 (pU-ABF1, pU-CYC8, pU-FKH2, pU-GAL11, pU-GLN3, pU-INO4, pU-MCM1, pU-MOT3, pU-PGD1, pU-REB1 и pU-SFP1) предназначены для сверхэкспрессии генов *ABF1*, *CYC8*, *FKH2*, *GAL11*, *GLN3*, *INO4*, *MCM1*, *MOT3*, *PGD1*, *REB1*, и *SFP1*. Плазмиды получены путем инсерции ПЦР-фрагментов соответствующих генов (условия ПЦР, матрицы и праймеры описаны в разделе Молекулярно-биологические методы) в плазмиду PCUP1-GFP (URA3). Инсерция фрагмента производилась по сайтам *Bam*H I и *Sac*I (pU-ABF1, pU-CYC8, pU-GLN3, pU-INO4, pU-MCM1, pU-MOT3 и pU-REB1), *Bgl*II и *Sac*I (pU-FKH2 и pU-SFP1), *Bam*H I и *Not*I (pU-GAL11) или *Bgl*II и *Not*I (pU-PGD1). Плазмиды содержат перечисленные гены под контролем индуци-

тельного промотора *CUP1*, а также гены *AmpR* и *URA3*. Наличие вставок требуемых генов подтверждены при помощи секвенирования с использованием праймера CUP1-End.

## Молекулярно-биологические методы

Использованные для конструирования плазмид серии pU-CUP1 последовательности генов *ABF1*, *CYC8*, *FKH2*, *GAL11*, *GLN3*, *INO4*, *MCM1*, *MOT3*, *PGD1*, *REB1* и *SFP1* были получены клонированием при помощи ПЦР с геномной ДНК штамма 1-Д933. Последовательности праймеров для ПЦР приведены в таблице 2.

Метод бицистронной люминесценции для количественной оценки эффективности терминации трансляции выполняли как описано ранее (Nizhnikov et al., 2012). Для этого были использованы плазмиды pDB691 (UGAC) и pDB690 (CGAC), несущие tandemно расположенные гены, кодирующие люциферазы *Renilla* и светлячка, разделенные стоп-кодоном UGA (pDB691) или значащим кодоном CGA (pDB690). Измерения проводили в люминометре и с использованием набора «Dual Reporter Assay» производства компании «Promega» (США). Процент считывания стоп-кодона как значащего вычисляли как частное показаний активности люциферазы *Renilla* и люциферазы светлячка, экспрессируемой с плазмиды pDB691, умноженное на частное показаний активности люциферазы светлячка и люциферазы *Renilla* (pDB690). Значения представлены с планками погрешностей, соответствующими стандар-

тному отклонению. Достоверность отличия от контроля проверяли непараметрическим критерием Манна—Уитни с использованием программного обеспечения «Statistica» версии 6.0 производства «StatSoft» (США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Анализ комплекса N/Q-обогащенных белков дрожжей *in silico*

Для выбора N/Q-обогащенных транскрипционных факторов была сформирована общая выборка N/Q-обогащенных белков дрожжей. Поиск таких белков *in silico* ранее был проведен в работе Харрисон и Герштейн (Harrison and Gerstein, 2003) при помощи композиционного подхода, основанного на поиске белков, наиболее насыщенных N и Q. Авторы получили список из 170 белков, в который, тем не менее, не вошел ряд N/Q-обогащенных белков, что связано с особенностями использованного алгоритма. Так, поскольку минимальная длина тракта для анализа насыщенности N и Q составляла 25 аминокислот, то в список Харрисон и Герштейн не вошли белки, имеющие короткие поли-N или поли-Q тракты, но не насыщенные данными аминокислотами на остальных участках последовательности. Большая часть таких белков была выявлена в списке, полученном при помощи скрытой Марковской модели (Alberti et al., 2009), параметры которой были заданы последовательностями известных N/Q-обогащенных амилоидов: New1p (Osherovich and Weissman, 2001), Rnq1p (Derkatch et al., 2001; Derkatch et al., 1997), Sup35p и Ure2p (Wickner, 1994; Ter-Avanesyan et al., 1994). Для того чтобы учесть максимальное количество N/Q-обогащенных белков мы объединили эти списки в один, состоящий из 238 генов (таблица 3). Данный список наиболее полно отражает состав комплекса N/Q-обогащенных белков дрожжей и может быть удобен для работы по поиску и характеристике амилоидов, так как в него входят все идентифицированные на данный момент N/Q-обогащенные амилоидные белки *S. cerevisiae*.

Функциональный анализ этой выборки, проведенный при помощи программы «GoMiner» показал, что в ней статистически достоверно, в сравнении с протеомом в целом, повышены частоты белков, выполняющих различные функции, однако особенно сильно отличаются частоты белков, связывающих нуклеиновые кислоты (таблица 4). Так, в выборке более чем в три раза повышены частоты транскрипционных факторов, а также белков, связывающих мРНК и полипурины. Далее из полученной выборки мы отобрали ряд генов, кодирующих транскрипционные факторы. В этот список вошли 11 генов. Четыре из них (*ABF1*, *INO4*, *REB1*, *SFP1*) кодируют охарактеризованные транскрипционные факторы *SUP45*, три — потенциальные (*FKH2*, *MCM1*, *MOT3*), четыре оставшихся гена (*CYC8*, *GAL11*, *GLN3*, *PGD1*) являются глобальными регуляторами транскрипции, влияющими на экспрессию генов, кодирующих транскрипционные факторы *SUP45*. Мы проанализировали влияние сверхэкспрессии этих генов на нонсенс-супрессию в дрожжах *S. cerevisiae*.

### Изучение эффектов сверхэкспрессии генов, кодирующих N/Q-обогащенные транскрипционные факторы

Для экспрессии выбранных для анализа генов под контролем промотора *CUP1* нами была получена серия плазмид рU-CUP1, маркированных *URA3*. Этими плазмидами были трансформированы штаммы 1-1-2-1-1-Д931, 1-2-1-1-Д931 и 2-4-1-1-Д931 (табл. 1). Данные штаммы содержат делецию хромосомной копии *SUP35*, и несут плазмидные копии *SUP35*, *SUP35MC* и *A $\beta$ -SUP35MC*. Эти варианты *SUP35* обладают различной супрессорной способностью. Так, сверхэкспрессия гена *VTS1* вызывает сильную нонсенс-супрессию на фоне продукции А $\beta$ -Sup35MC, слабую на фоне *SUP35MC*, и не вызывает нонсенс-супрессии на фоне продукции полноразмерного *SUP35* (Нижников и др., 2011; Nizhnikov et al., 2012). Штаммы 1-1-2-1-1-Д931, 1-2-1-1-Д931 и 2-4-1-1-Д931 были трансформированы плазмидами серии рU-CUP1 и высеваны на селективную среду без лейцина и урацила с добавлением

Таблица 3

### Гены, кодирующие N/Q-обогащенные белки *S. cerevisiae*

Название гена
<i>ABF1</i> * , <i>AKL1</i> , <i>ANP1</i> , <i>ASG1</i> , <i>ASK10</i> , <i>ASM4</i> , <i>ATG13</i> , <i>AZF1</i> , <i>BMH2</i> , <i>CAB3</i> , <i>CAF120</i> , <i>CAF40</i> , <i>CAT8</i> , <i>CBK1</i> , <i>CCR4</i> , <i>CDC27</i> , <i>CDC39</i> , <i>CKS1</i> , <i>CLA4</i> , <i>CLG1</i> , <i>CRZ1</i> , <i>CYC8</i> , <i>DAL81</i> , <i>DAT1</i> , <i>DBP1</i> , <i>DDR48</i> , <i>DED1</i> , <i>DEF1</i> , <i>DHH1</i> , <i>DIF1</i> , <i>EAF1</i> , <i>EBS1</i> , <i>ECM22</i> , <i>EDE1</i> , <i>ENT1</i> , <i>ENT2</i> , <i>EPL1</i> , <i>ESL2</i> , <i>FAB1</i> , <i>FAR7</i> , <i>FIP1</i> , <i>FKH2</i> , <i>FKS1</i> , <i>FLO8</i> , <i>FPS1</i> , <i>GAL11</i> , <i>GAR1</i> , <i>GAT2</i> , <i>GIS1</i> , <i>GLN3</i> , <i>GPR1</i> , <i>GRE1</i> , <i>GRR1</i> , <i>GSC2</i> , <i>GTS1</i> , <i>HAA1</i> , <i>HAP2</i> , <i>HLJ1</i> , <i>HOT1</i> , <i>HRK1</i> , <i>HRP1</i> , <i>HRR25</i> , <i>HSF1</i> , <i>HSP42</i> , <i>IOC2</i> , <i>IXR1</i> , <i>KIC1</i> , <i>KIP1</i> , <i>KOG1</i> , <i>KSP1</i> , <i>LGE1</i> , <i>LSB1</i> , <i>LSM4</i> , <i>MAD1</i> , <i>MCA1</i> , <i>MCM1</i> , <i>MDJ1</i> , <i>MED2</i> , <i>MET4</i> , <i>MIC17</i> , <i>MOT3</i> , <i>MPT5</i> , <i>MRN1</i> , <i>MSN1</i> , <i>MSN2</i> , <i>MSS11</i> , <i>MUM2</i> , <i>NAB2</i> , <i>NAB3</i> , <i>NAB6</i> , <i>NAF1</i> , <i>NAM8</i> , <i>NND1</i> , <i>NEW1</i> , <i>NGR1</i> , <i>NOP1</i> , <i>NRD1</i> , <i>NRP1</i> , <i>NSP1</i> , <i>NUD1</i> , <i>NUP100</i> , <i>NUP116</i> , <i>NUP145</i> , <i>NUP42</i> , <i>NUP49</i> , <i>NUP57</i> , <i>OPI1</i> , <i>PAB1</i> , <i>PAM1</i> , <i>PAN1</i> , <i>PAT1</i> , <i>PBP1</i> , <i>PCF11</i> , <i>PDC2</i> , <i>PDR1</i> , <i>PEX13</i> , <i>PEX5</i> , <i>PGD1</i> , <i>PHO2</i> , <i>PHO81</i> , <i>PIN3</i> , <i>PIN4</i> , <i>POG1</i> , <i>POP2</i> , <i>PSP1</i> , <i>PSP2</i> , <i>PSR1</i> , <i>PUB1</i> , <i>PUF2</i> , <i>PUF3</i> , <i>PUF4</i> , <i>RAT1</i> , <i>RBS1</i> , <i>REB1</i> , <i>RGT1</i> , <i>RIM4</i> , <i>RLM1</i> , <i>RNA15</i> , <i>RNQ1</i> , <i>ROXI</i> , <i>RPI1</i> , <i>RPM2</i> , <i>RSC30</i> , <i>RVS167</i> , <i>SAP155</i> , <i>SAP30</i> , <i>SCD5</i> , <i>SCD6</i> , <i>SCH9</i> , <i>SEC16</i> , <i>SEC24</i> , <i>SEC9</i> , <i>SET1</i> , <i>SFP1</i> , <i>SGF73</i> , <i>SGO1</i> , <i>SGV1</i> , <i>SIN3</i> , <i>SIS1</i> , <i>SIZ1</i> , <i>SKG3</i> , <i>SKG6</i> , <i>SKS1</i> , <i>SKY1</i> , <i>SLA1</i> , <i>SLA2</i> , <i>SLM1</i> , <i>SLT2</i> , <i>SNF11</i> , <i>SNF2</i> , <i>SNF5</i> , <i>SNF6</i> , <i>SOK2</i> , <i>SPT23</i> , <i>SPT5</i> , <i>SRO9</i> , <i>SRP54</i> , <i>SSD1</i> , <i>SSN2</i> , <i>SUP35</i> , <i>SVL3</i> , <i>SWI1</i> , <i>SWI4</i> , <i>TAF12</i> , <i>TBS1</i> , <i>TIF4631</i> , <i>TPK2</i> , <i>TUP1</i> , <i>UBP3</i> , <i>UPC2</i> , <i>URE2</i> , <i>VAC7</i> , <i>VID22</i> , <i>VPS27</i> , <i>VPS60</i> , <i>VTS1</i> , <i>WHI3</i> , <i>WWM1</i> , <i>YAK1</i> , <i>YAP1801</i> , <i>YAP1802</i> , <i>YAR010C</i> , <i>YBL005W-A</i> , <i>YBL005W-B</i> , <i>YBL029W</i> , <i>YBL081W</i> , <i>YBR016W</i> , <i>YBR108W</i> , <i>YBR238C</i> , <i>YCK1</i> , <i>YCK2</i> , <i>YDL012C</i> , <i>YDL238W</i> , <i>YDR170W-A</i> , <i>YDR210W</i> , <i>YEL007W</i> , <i>YGL036W</i> , <i>YGR027W-A</i> , <i>YGR027W-B</i> , <i>YIF1</i> , <i>YIL152W</i> , <i>YJR028W</i> , <i>YJR029W</i> , <i>YLR177W</i> , <i>YLR278C</i> , <i>YML053C</i> , <i>YMR045C</i> , <i>YMR046C</i> , <i>YMR124W</i> , <i>YNL208W</i> , <i>YNL284C-A</i> , <i>YNL284C-B</i> , <i>YPL229W</i> , <i>YPL247C</i> , <i>YPR022C</i> , <i>YPR137C-A</i> , <i>YPR137C-B</i>

\*Для удобства приведены тривиальные названия генов

Таблица 4

**Функции N/Q-обогащенных белков дрожжей,  
частоты которых в выборке отличаются от соответствующих частот по протеому в целом\***

Функция	Количество генов в выборке**	Частота в выборке (%)	Средняя частота по протеому (%)	Уровень значимости
Рибонуклеазная активность	12	3,66	1,47	0,032
Связывание мРНК	15	4,57	0,79	0,05
Транскрипционный активатор	14	4,27	0,74	0,05
Связывание полипуринов	3	0,91	0,11	0,015957
ТФ***, связывающий ДНК	11	3,35	0,90	0,048615
Общий ТФ РНК-полимеразы II	10	3,05	1,12	0,030714
Связывание клятлина	5	1,52	0,21	0,046786
Связывание ДНК	37	11,28	5,66	0,049
Последовательность-специфичное ДНК-связывание	32	9,76	3,75	0,05
Специфический ТФ РНК-полимеразы II	11	3,35	0,89	0,048364
Активность транскрипционного регулятора	43	13,11	4,09	0,05
Связывание поли-А РНК	3	0,91	0,11	0,015957
Экзорибонуклеаза	5	1,52	0,24	0,046
Протеинкиназная активность	16	4,88	2,10	0,046211
Связывание РНК	47	14,33	5,75	0,05
Транскрипционный репрессор	9	2,74	0,58	0,0482
ТФ РНК-полимеразы II	25	7,62	2,29	0,05
Связывание однонитевой РНК	5	1,52	0,24	0,046

\*Статистически достоверно, с  $p \leq 0,05$ . \*\*Выборка из 238 генов, кодирующих потенциально амилоидогенные белки (табл. 3). \*\*\*ТФ — транскрипционный фактор

150 мкМ CuSO<sub>4</sub>, что обеспечивает активацию промотора *CUP1* и сверхэкспрессию исследуемых генов. В дальнейших экспериментах во все среды был добавлен 150 мкМ CuSO<sub>4</sub>. Пятьдесят трансформантов каждой плазмидой были отобраны на селективной среде без лейцина и урацила и через двое суток методом отпечатков перенесены на селективные среды без лейцина, урацила и аденина,

а также без лейцина урацила и триптофана. Далее, через четверо суток инкубации оценивали уровень нонсенс-супрессии. Поскольку многие из тестируемых генов являются глобальными регуляторами транскрипции, мы также провели оценку влияния сверхэкспрессии этих генов на вегетативный рост на средах с глюкозой и галактозой в качестве источника углерода (табл. 5). Результаты ана-

Таблица 5

**Влияние сверхэкспрессии генов, кодирующих N/Q-обогащенные транскрипционные факторы, на вегетативный рост и нонсенс-супрессию**

Ген	Штамм														
	1-1-2-1-1-Д931					1-2-1-1-Д931					2-4-1-1-Д931				
	A	T	Гл	Га	П	A	T	Гл	Га	П	A	T	Гл	Га	П
<i>ABF1</i>	—	—*	+**	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	+	—
<i>CYC8</i>	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—
<i>FKH2</i>	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	+	—
<i>GAL11</i>	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—
<i>GLN3</i>	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	+	—
<i>INO4</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>MCM1</i>	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	+	—
<i>MOT3</i>	—	—	+	+	—	+	—	+	+	—	+	—	+	+	—
<i>PGD1</i>	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
<i>REB1</i>	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	+	—
<i>SFP1</i>	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—

А — нонсенс-супрессия на среде без аденина. Т — нонсенс-супрессия на среде без триптофана. Гл — подавление роста на среде с глюкозой в качестве источника углерода. Га — подавление роста на среде с галактозой в качестве источника углерода.

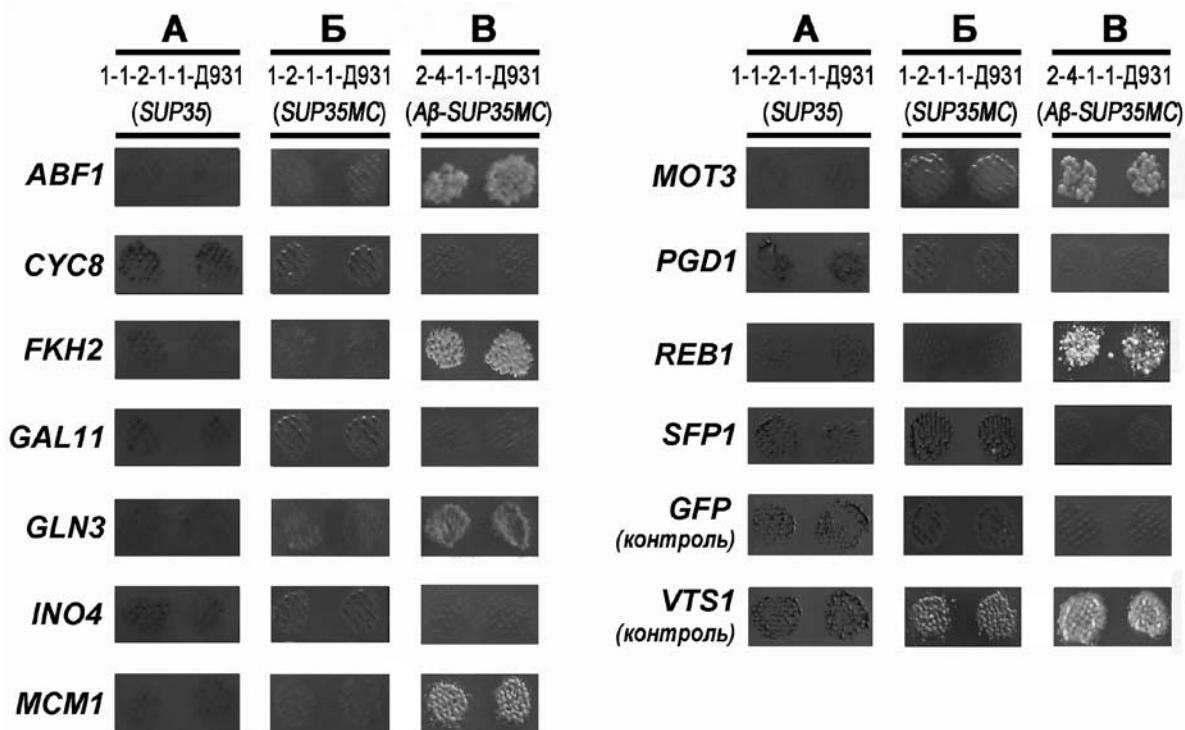
П — сохранение нонсенс-супрессии на среде без аденина после потери плазмиды для сверхэкспрессии соответствующего гена.

\* «—» — эффект не наблюдается. \*\* «+» — эффект наблюдается

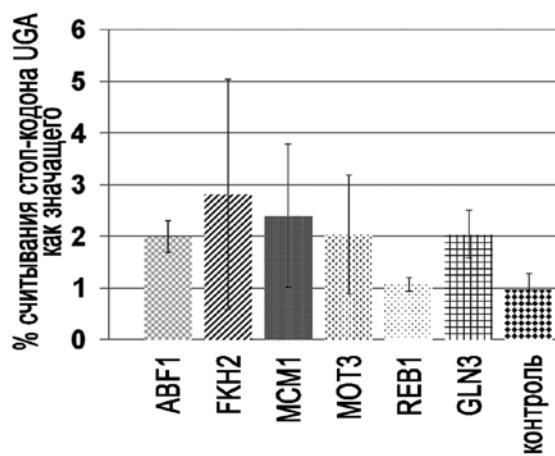
лиза нонсенс-супрессии на среде без аденина представлены на рисунке 1, на среде без триптофана в таблице 5. Полученные данные показывают, что сверхэкспрессия генов *ABF1*, *GLN3*, *FKH2*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1* вызывает различную по эффективности нонсенс-супрессию на среде без аденина на фоне продукции химерного белка  $\text{A}\beta\text{-Sup35MC}$ , сверхэкспрессия гена *MOT3* вызывает также слабую супрессию *ade1-14* на фоне продукции Sup35MCp (рис. 1). Таким образом, среди всех проанализированных генов сверхэкспрессия *MOT3* наиболее сильно влияет на нонсенс-супрессию на данном генетическом фоне. Это может быть связано с тем, что *MOT3*, по данным «YeastTract», потенциально может регулировать экспрессию и *SUP35*, и *SUP45*. Ни один из исследуемых транскрипционных факторов не вызывает супрессию *ade1-14* в штамме, продуцирующем полноразмерный Sup35p, и ни один из них не вызывает супрессию *trp1-289* ни в одном из анализируемых штаммов (табл. 5). Сверхэкспрессия генов *ABF1*, *FKH2*, *GAL11*, *GLN3*, *MCM1*, *MOT3*, *REB1* и *SFP1* вызывает подавление вегетативного роста во всех исследуемых штаммах (табл. 5). Нами также был проведен дополнительный эксперимент по анализу супрессии нонсенс-аллели *ade1-14* после потери плазмид для сверхэкспрессии в штамме,

продуцирующем  $\text{A}\beta\text{-Sup35MC}$ . Необходимость этого эксперимента вызвана тем, что тестируемые N/Q-обогащенные белки могут обладать также прионными свойствами (Cyc8p, Mot3p и Sfp1p являются дрожжевыми прионами), и наблюдаемая нонсенс-супрессия может быть связана с прионизацией соответствующего белка. В этом случае можно ожидать, что нонсенс-супрессия сохранится после потери плазмиды для сверхэкспрессии. Проведенный эксперимент по потере плазмид на среде с ФОК с последующим анализом нонсенс-супрессии на среде без аденина показал, что нонсенс-супрессия не сохраняется после потери всех исследуемых плазмид (табл. 5). Таким образом, наблюдаемая нонсенс-супрессия не является результатом прионизации исследуемых белков.

Для того чтобы определить влияет ли сверхэкспрессия генов *BF1*, *GLN3*, *FKH2*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1* на эффективность терминации трансляции, мы воспользовались методом бицистронной люминесценции, называемым также методом двойного репортера («dual reporter assay»). Дрожжевой штамм был ко-трансформирован многокопийными плазмидами для сверхпродукции соответствующих транскрипционных факторов из геномной библиотеки YSC4613 («Open Biosystems») и одной из плазмид



**Рис. 1.** Влияние сверхэкспрессии генов, кодирующих N/Q-обогащенные транскрипционные факторы, на супрессию аллели *ade1-14<sub>URA4</sub>* в штаммах с различными вариантами Sup35. Анализ нонсенс-супрессии на среде без добавления урацила и аденина со 150 мкМ CuSO<sub>4</sub> на фоне сверхэкспрессии генов *ABF1*, *CYC8*, *FKH2*, *GAL11*, *GLN3*, *INO4*, *MCM1*, *MOT3*, *PGD1*, *REB1* и *SFP1*. А — в штамме 1-1-2-1-1-Д931. Б — в штамме 1-2-1-1-Д931. В — в штамме 2-4-1-1-Д931. Фотографии получены через семь дней инкубации на селективной среде без аденина со 150 мкМ CuSO<sub>4</sub> при 30 °С. В качестве отрицательного контроля штаммы были трансформированы плазмидой P<sub>CUP1</sub>-GFP(URA3), положительно-го — pU-VTS1



**Рис. 2.** Анализ эффективности терминации трансляции на фоне сверхэкспрессии генов *ABF1*, *FKH2*, *GLN3*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1*. На диаграмме приведены частоты считывания (в процентах) стоп-кодона UGA как значащего на фоне сверхэкспрессии соответствующих генов и в контроле. Планки погрешностей соответствуют значению стандартного отклонения

pDB: pDB691 (в опыте) или pDB690 (в контроле). В качестве общего контроля базового уровня эффективности терминации трансляции использовали штамм, трансформированный контрольным вектором pRS315. Полученные результаты (рис. 2) показывают, что эффективность терминации трансляции снижается при сверхэкспрессии *ABF1* и *GLN3* ( $p \leq 0,05$ ). Для других транскрипционных факторов достоверного снижения эффективности терминации трансляции не установлено, хотя штаммы со сверхэкспрессией *FKH2*, *MCM1* и *MOT3* демонстрируют более высокие средние значения частоты прочтения стоп-кодона UGA, чем контрольный штамм.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Исторически исследования N/Q-обогащенных последовательностей и нонсенс-супрессии у дрожжей *S. cerevisiae* тесно связаны. У этого организма идентифицированы уже два N/Q-обогащенных прионных белка: Sup35p и Sfp1p (Wickner, 1994; Rogoza et al. 2010), а также гены, кодирующие N/Q-обогащенные белки Nab2p, Nab3p и Vts1p, участвующие в регуляции нонсенс-супрессии (Нижников и др., 2011; Nizhnikov et al., 2012). Следует отметить, что все эти гены, по всей видимости, регулируют нонсенс-супрессию путем влияния на эффективность терминации трансляции, хотя возможны и другие механизмы, опосредующие данный процесс.

В настоящем исследовании проведен поиск генов, кодирующих N/Q-обогащенные транскрипционные факторы, влияющих на нонсенс-супрессию. Функциональный анализ полученного набора N/Q-обогащенных белков, проведенный при помощи программы

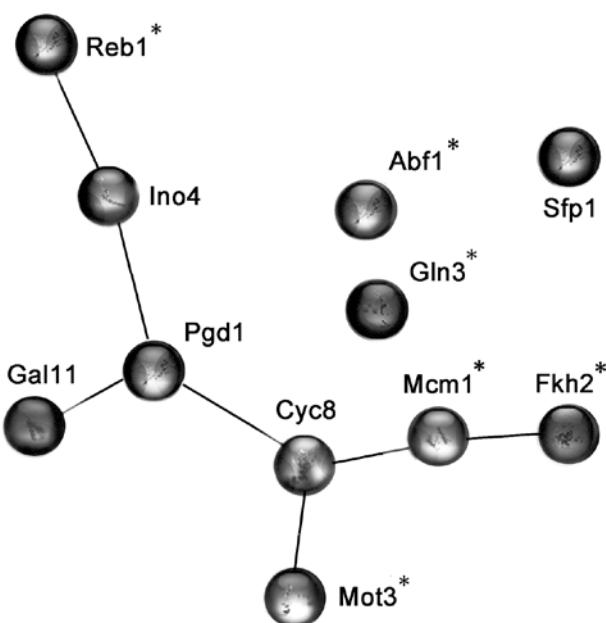
«GoMiner», показал, что его наиболее примечательной особенностью является существенно повышенная частота белков, связывающих нуклеиновые кислоты (табл. 4).

Данные о том, что именно N/Q-обогащенные домены участвуют во взаимодействии с ДНК или РНК, на данный момент, ограничены. Наиболее существенными являются свидетельства в пользу того, что полипро-*Q* тракт человеческого амилоида хантингтина может выступать в качестве кофактора транскрипционной активации (Cong et al., 2012). При этом роль хантингтина в регуляции транскрипции, согласно предложенным гипотезам, сводится к специфическому взаимодействию с белками-транскрипционными факторами, что, собственно, и меняет их функциональные свойства. В этом случае возникает вопрос, почему среди N/Q-обогащенных белков так много белков непосредственно связывающих нуклеиновые кислоты?

На этот вопрос может быть получено два ответа. Первый состоит в том, что полипро-*N* и полипро-*Q* являются функциональными последовательностями, связывающими нуклеиновые кислоты. В пользу этого варианта есть определенные свидетельства. Так, показано, что мутантный хантингтин, содержащий увеличенное количество повторов Q, связывается непосредственно с промоторами и изменяет их конформацию, препятствуя посадке нормальных транскрипционных факторов (Benn et al., 2008).

Второй возможный ответ касается взаимодействия амилоидов друг с другом. Можно предположить, что различные белковые комплексы, в том числе комплексы транскрипционных факторов, могут состоять преимущественно из N/Q-обогащенных белков, взаимодействующих друг с другом через полипро-*N* или *Q* последовательности. В поддержку этой гипотезы есть конкретный пример: ранее мы выявили в качестве омнипотентного супрессора N/Q-обогащенный белок Vts1, формирующий при сверхпродукции агрегаты (Nizhnikov et al., 2012). Этот белок вызывает деградацию специфических мРНК путем связывания с эволюционно-консервативной деаденилазой Ccr4-Pop2-Not (Rendl et al., 2008; Aviv et al., 2003). Белки Pop2 и Ccr4 также являются N/Q-обогащенными.

Другим примером является ядерный поровый комплекс дрожжей, семь белков которого попали в наш список: Nup1, Nup42, Nup49, Nup57, Nup100, Nup116, Nup145. Таким образом, постепенно накапливаются свидетельства о функциональной роли полипро-*N* и *Q* последовательностей, которая может заключаться как в непосредственном связывании ими нуклеиновых кислот, так и во взаимодействии друг с другом в составе макромолекулярных белковых комплексов. Последнее касается и N/Q-обогащенных транскрипционных факторов, которые иссле-



**Рис. 3.** Взаимодействия белков Abf1, Cyc8, Fkh2, Gal11, Gln3, Ino4, Mcm1, Mot3, Pgd1, Reb1 и Sfp1. Сплошными линиями на схеме обозначено наличие взаимодействия между соответствующими белками по данным базы «String». Отсутствие линии — взаимодействие не показано. Знаком \* отмечены белки, сверхэкспрессия генов которых вызывает нонсенс-супрессию

довались в данной работе. Так, по данным базы «String» (рис. 3), восемь из этих 11 белков взаимодействуют между собой. Это взаимодействие интересно не только в контексте обсуждаемых проблем, но и поскольку оно может объяснять причины наблюдаемой нами нонсенс-супрессии.

Действительно, наиболее вероятным объяснением нонсенс-супрессии, возникающей при сверхэкспрессии генов *ABF1*, *GLN3*, *FKH2*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1* является снижение эффективности терминации трансляции за счет изменения уровня экспрессии каких-либо генов (в том числе *SUP45*), вовлеченных в данный процесс. Полученные нами данные показали, что при сверхэкспрессии генов *ABF1* и *GLN3* наблюдается снижение эффективности терминации ( $p \leq 0,05$ ). При сверхэкспрессии *FKH2*, *MCM1* и *MOT3* среднее значение частоты считывания нонсенс-кодона UGA также возрастает, однако значения полученных измерений имеют очень большую дисперсию (рис. 2). Это может объясняться общей нестабильностью исследуемых клонов, так как сверхэкспрессия большинства генов, кодирующих исследуемые транскрипционные факторы, существенно снижает жизнеспособность. Нонсенс-супрессия доминирует над подавлением вегетативного роста только в штамме 2-4-1-1-Д931, продуцирующем химерный гомолог Sup35р — белок  $\text{A}\beta\text{-Sup35MC}$ . Возможное объяснение таких эффектов состоит в том, что  $\text{A}\beta\text{-Sup35MC}$  наименее эффективно из всех использованных вариан-

тов Sup35р выполняет функцию фактора терминации трансляции eRF3. Гибридный ген *A\beta-SUP35MC* является криптическим супрессором по отношению к выявленным нами генам, то есть фактором, модифицирующим генетический фон и позволяющим выявлять новые гены, контролирующие нонсенс-супрессию. По-видимому, генетическая дестабилизация исследуемого признака является эффективным подходом для поиска новых факторов, вовлеченных в его контроль.

В данном исследовании проведен анализ влияния сверхпродукции охарактеризованных и потенциальных транскрипционных факторов *SUP45* на нонсенс-супрессию. Впервые показано, что сверхэкспрессия генов *ABF1*, *GLN3*, *FKH2*, *MCM1*, *MOT3* и *REB1* вызывает нонсенс-супрессию на специфическом генетическом фоне. Эти эффекты частично связаны со снижением эффективности терминации трансляции, возникающим при сверхэкспрессии данных генов.

### Благодарности

Авторы признательны Сергею Георгиевичу Ингеветчомову за критическое чтение рукописи. Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.132.21.1324. Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 12-04-31047.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров И.А., Кожин С.А., Кожина Т.Н., Фёдорова И. В., 1984. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромицетов // Л.: Наука., 143 с.
2. Инге-Вечтомов С.Г., Адрианова В.М., 1970. Рецессивные суперсупрессоры дрожжей // Генетика. Т. 6. С. 103–115.
3. Инге-Вечтомов С. Г., Тиходеев О. Н., Карпова Т. С., 1988. Селективные системы для получения рецессивных рибосомных супрессоров у дрожжей-сахаромицетов // Генетика. Т. 24. С. 1159–1165.
4. Нижников А.А., Магомедова З.М., Сайфитдинова А.Ф. и др., 2011. Выявление генов, кодирующих потенциально амилоидогенные белки, участвующих в регуляции нонсенс-супрессии у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Эколог. генетика. Т. 9. С. 79–86.
5. Рубель А.А., Сайфитдинова А.Ф., Лада А.Г. и др., 2008. Дрожжевой шаперон Hsp104 регулирует экспрессию генов на посттранскрипционном уровне // Мол. биол. Т. 42. № 1. С. 123–130.
6. Alberti S., Halfmann R., King O. et al., 2009. A systematic survey identifies prions and illuminates sequence features of prionogenic proteins // Cell. Vol. 137. P. 146–158.
7. Benn C.L., Sun T., Sadri-Vakili G. et al., 2008. Huntingtin modulates transcription, occupies gene promoters *in vivo*, and binds directly to DNA in a poly-

- glutamine-dependent manner // J. Neurosci. Vol. 28. P. 10720–10733.
8. Chernoff Y.O., Newnam G.P., Kumar J. et al., 2012. Evidence for a “protein mutator” in yeast: role of the Hsp70-related chaperone Ssb in formation, stability and toxicity of the [PSI] prion // Mol. Cell. Biol. Vol. 19. P. 8103–8112.
  9. Chiti F., Dobson C.M., 2006. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease // Ann. Rev. Biochem. Vol. 75. P. 333–366.
  10. Cong S.Y., Pepers B.A., Zhou T.T. et al., 2012. Huntingtin with an expanded polyglutamine repeat affects the Jab1-p27(Kip1) pathway // Neurobiol. Dis. Vol. 46. P. 673–681.
  11. Crow E.T., Li L., 2011. Newly identified prions in budding yeast, and their possible functions // Semin. Cell Dev. Biol. Vol. 22. P. 452–459.
  12. Dagkessamanskaya A., Ter-Avanesyan M., Mager W.H., 1997. Transcriptional regulation of SUP35 and SUP45 in *Saccharomyces cerevisiae* // Yeast. Vol. 13. P. 1265–1274.
  13. Derkatch I.L., Bradley M.E., Hong J.Y., Lieberman S.W., 2001. Prions affect the appearance of other prions: The story of [PIN] // Cell. Vol. 106. P. 171–182.
  14. Derkatch I.L., Bradley M.E., Zhou P. et al., 1997. Genetic and environmental factors affecting the de novo appearance of the [PSI+] prion in *Saccharomyces cerevisiae* // Genetics. Vol. 147. P. 507–519.
  15. Hanahan D., 1985. DNA Cloning: A Practical Approach. // IRL Press, 109 p.
  16. Harrison P.M., Gerstein M., 2003. A method to assess compositional bias in biological sequences and its application to prion-like glutamine/asparagine-rich domains in eukaryotic proteomes // Genome Biology. Vol. 4. E. 40.
  17. Kaiser C., Michaelis S., Mitchell A., 1994. Methods in yeast genetics // NY: Cold Spring Harbor Lab. Press, 364 p.
  18. Lee T.I., Rinaldi N.J., Robert F. et al., 2002. Transcriptional regulatory networks in *Saccharomyces cerevisiae* // Science. Vol. 298. P. 799–804.
  19. Nizhnikov A.A., Magomedova Z.M., Rubel A.A. et al., 2012. [NSI+] determinant has a pleiotropic phenotypic manifestation that is modulated by SUP35, SUP45, and VTS1 genes // Curr. Genetics. Vol. 58. P. 35–47.
  20. Ong W., Ibrahim M., Town M., Johnson J., 1997. Functional differences among the six *Saccharomyces cerevisiae* tRNATrp genes // Yeast. Vol. 13. P. 1357–1362.
  21. Ono B., Yoshida R., Kamiya K., Sugimoto T., 2005. Suppression of termination mutations caused by defects of the NMD machinery in *Saccharomyces cerevisiae* // Genes Genet. Syst. Vol. 80. P. 311–316.
  22. Osherovich L.Z., Weissman J.S., 2001. Multiple Gln/Asn-rich prion domains confer susceptibility to induction of the yeast [PSI+] prion // Cell. Vol. 106. P. 183–194.
  23. Rogoza T., Goginashvili A., Rodionova S. et al., 2010. Non-Mendelian determinant [ISP+] in yeast is a nuclear-residing prion form of the global transcriptional regulator Sfp1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 107. P. 10573–10577.
  24. Saifitdinova A.F., Nizhnikov A.A., Lada A.G. et al., 2010. [NSI+]: a novel non-Mendelian suppressor determinant in *Saccharomyces cerevisiae*. Curr. Genet. Vol. 56. P. 467–478.
  25. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T., 1989. Molecular cloning. A laboratory manual // N. Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press., 1626 p.
  26. Sherman F., Fink G.R., Hancks J.B., 1986. Methods in yeast genetics // N. Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press., 367 p.
  27. Stansfield I., Jones K.M., Kushnirov V.V. et al., 1995. The products of the SUP45 (eRF1) and SUP35 genes interact to mediate translation termination in *Saccharomyces cerevisiae* // EMBO J. Vol. 14. P. 4365–4373.
  28. Ter-Avanesyan M.D., Dagkesamanskaya A.R., Kushnirov V.V., Smirnov V.N., 1994. The SUP35 omnipotent suppressor gene is involved in the maintenance of the non-Mendelian determinant [PSI+] in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Genetics. Vol. 137. P. 671–676.
  29. Weiss W.A., Edelman I., Culbertson M.R., Friedberg E.C., 1987. Physiological levels of normal tRNA (CAGGln) can effect partial suppression of amber mutations in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 84. P. 8031–8034.
  30. Wickner R.B., 1994. [URE3] as an altered Ure2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae* // Science. Vol. 264. P. 566–569.
  31. Workman C.T., Mac H.C., McCuine S., 2006. A systems approach to mapping DNA damage response pathways // Science. Vol. 19. P. 1054–1059.
  32. Zhouravleva G., Frolova L., Le Goff X. et al., 1995. Termination of translation in eukaryotes is governed by two interacting polypeptide chain release factors, eRF1 and eRF3 // EMBO J. Vol. 14. P. 4065–4072.

#### OVEREXPRESSION OF GENES ENCODING ASPARAGINE-GLUTAMINE RICH TRANSCRIPTIONAL FACTORS CAUSES NONSENSE SUPPRESSION IN *SACCHAROMYCES CEREVIAE*

Nizhnikov A.A., Kondrashkina A.M., Antonets K.S., Galkin A.P.

**\* SUMMARY:** Previously, we have carried out a search for genes, whose overexpression causes nonsense suppression on the background of modified *SUP35* variants expression in yeast *Saccharo-*

*S. cerevisiae*. Here we analyzed the influence of genes encoding N/Q-rich transcriptional factors on this process. We demonstrated that *GLN3*, *MCM1*, *MOT3* and *REB1* genes overexpression affects nonsense suppression in *S. cerevisiae*.

❖ KEY WORDS: amyloid; nonsense suppression; prion; yeast; translation termination.

❖ Информация об авторах

**Нижников Антон Александрович** — м. н. с. Лаборатория генетического моделирования заболеваний человека и животных. Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова (Российская академия наук). Аспирант кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9.

E-mail: ant.nizhnikov@gmail.com.

**Кондрашкина Александра Михайловна** — студент кафедры генетики и биотехнологии. СПбГУ. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: alex\_sandra2502@mail.ru.

**Антонец Кирилл Сергеевич** — студент кафедры генетики и биотехнологии. СПбГУ. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: kir\_ant@mail.ru.

**Галкин Алексей Петрович** — к. б. н. Заведующий лабораторией генетического моделирования заболеваний человека и животных, заместитель директора. Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова (Российская академия наук). 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9.

E-mail: apgalkin@mail.ru

**Nizhnikov Anton Aleksandrovich** — Jounior Researcher. St. Petersburg Branch of Vavilov Institute of General Genetics (Russian Academy of Science). Postgraduete student. Deptartament of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: ant.nizhnikov@gmail.com

**Kondrashkina Aleksandra Mikhaylovna** — Student. Deptartament of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: alex\_sandra2502@mail.ru

**Antonets Kirill Sergeyevich** — Student. Deptartament of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: kir\_ant@mail.ru

**Galkin Aleksey Petrovich** — P., Ph.D. Head of Laboratory for Genetic Modeling of the Human and Mammalian Disorders, Vice-Director. St. Petersburg Branch of Vavilov Institute of General Genetics (Russian Academy of Science). 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: apgalkin@mail.ru