

ЯМР-анализ структуры фактора RbfA *S.aureus*

Научный руководитель – Юсупов Марат Миратович

Бикмуллин Айдар Галимжанович

Аспирант

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Казань, Россия

E-mail: aydar.bikmullin@gmail.com

Ribosome-binding factor A (RbfA) - бактериальный белковый фактор холодового шока, необходимый для роста клеток при температурах 10-15⁰С. RbfA имеет сродство к малой 30S субъединице рибосомы и участвует в её сборке. При понижении температуры экспрессия RbfA возрастает, увеличивается количество 30S субъединиц, связанных с фактором. Трансляционный блок, связанный с уменьшением количества активных рибосом при низких температурах, преодолевается за счет облегченной сборки 30S субъединиц при помощи RbfA. Он необходим для процессинга 5'-конца 16S рРНК. Фактор связывается с 30S субъединицей в области А- и Р-сайтов тРНК, а С-конец белка протягивается к спирали 44h 16S рРНК, участвующей в декодировании мРНК и связывании тРНК [2].

Белки семейства RbfA имеются у большинства эу- и архебактерий. [3]. Объектом наших исследований стал RbfA патогенной бактерии *Staphylococcus aureus*. Прогрессирующая резистентность *S.aureus* к всё большему числу антибиотиков является серьезной проблемой в современной медицине. RbfA *S.aureus* состоит из 116 аминокислотных остатков (Mw≈14,5kDa). Новые данные о структуре этого фактора станут основой для разработки новой стратегии эффективной борьбы с патогеном. Целью нашей работы стал структурный анализ RbfA *S.aureus* методами ядерно-магнитного резонанса (ЯМР).

RbfA для ЯМР-исследований экспрессировался в бактериальной системе *E.coli* BL21 на минимальной среде M9, где в качестве источника углерода использовалась глюкоза с атомами ¹³C, а в качестве источника азота - хлорид аммония с атомами ¹⁵N. Очистка белка проводилась методами аффинной (NiNTA) хроматографии и гель-фильтрации. Далее проводился анализ структуры молекулы RbfA в растворе методами ЯМР.

Трехмерные ЯМР-спектры были получены при температуре 35⁰С на спектрометре Bruker Avance 700NMR, оснащенный криодатчиком. На основе данных химических сдвигов ядер ¹H, ¹³C и ¹⁵N были рассчитаны значения двугранных углов и определены элементы молекулы белка со вторичной структурой. Было обнаружено, что RbfA состоит из трех α -спиралей и трех β -нитей в топологическом порядке α - β - β - α - α - β . Спираль α 1 включает аминокислотные остатки с порядковыми номерами 4-25, α 2 - 57-69, α 3 - 71-81, β 1-конформация включает в себя нити β 1 - 34-40, β 2 - 46-52 и β 3 - 89-92.

Полученные данные о структуре белка соотносятся с литературными данными о гомологах [1] и могут быть использованы для дальнейшего анализа структуры RbfA в комплексе с 30S субъединицей рибосомы с помощью метода криоэлектронной микроскопии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00375.

Источники и литература

- 1) Huang Y.J. Solution NMR structure of ribosome-binding factor A (RbfA), a cold-shock adaptation protein from *Escherichia coli* // *J. Mol. Biol.* 2003 Mar 21;327(2):521-36.
- 2) Partha P. Structural aspects of RbfA action during small ribosomal subunit assembly // *Mol. Cell.* 2007 Nov 9; 28(3): 434–445.
- 3) Rubin S.M. Structure of a putative ribosome binding protein from *Mycoplasma pneumoniae* and comparison to a distant homolog // *J. Struct. Funct. Genomics.* 2003;4(4):235-43