

РОЛЬ БЕЛКА L16 И ЕГО МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНТАКТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО-АКТИВНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РИБОСОМЫ *IN VIVO*

Исаев А.Б., Коробейникова А.В., Гарбер М.Б., Гонгадзе Г.М.

ФГБУН Институт белка РАН, Пущино, Россия

tcft18@gmail.com

Белок L16, неотъемлемый компонент рибосом всех организмов, образует обширные контакты с функционально важными спиралями 23S (28S) рРНК (H89 – район пептидилтрансферазного центра и H38 – A-site finger). В бактериальной рибосоме белок L16 взаимодействует еще с белком L25, который является особенностью бактерий. В этом контакте участвует только несколько С-концевых остатков белка L16. Однако нами показано, что в клетках Δ L25-штамма *Escherichia coli* присутствует фракция неактивных 50S субчастиц, лишенных белка L16. Мы предположили, что контакт L16 с L25 важен для удержания L16 в рибосоме. В то же время, в некоторых бактериях рода *Bacillus* белок семейства L25 отсутствует или синтезируется только при стрессе. Возможно, что в рибосомах этих бактерий дополнительные контакты L16 с 23S рРНК компенсируют отсутствие контакта с белком L25. Целью настоящей работы было выяснить роль межмолекулярных контактов L16 в сборке рибосомы *in vivo*. Для решения одной из задач создан ряд штаммов *E. coli*, в которых интактный белок L16 заменен на мутантную форму с изменениями в С-концевом участке: K127A, K133L, K127A/K133L или K127L/K133L. Указанные мутации в белке L16 (за исключением K127A) приводят к изменениям в росте клеток и свойствах их рибосом. Так, при замене в белке K133L замедляется рост клеток на 25%, а K127L/K133L – на 35%. Анализ рибосом из этих штаммов показывает наличие дефектной фракции 50S субчастиц, в которой количество белка L16 редуцировано. Таким образом, мы подтвердили гипотезу о том, что контакт с белком L25 важен для удержания L16 в рибосоме *E. coli*. Для решения следующей задачи сначала мы создали штамм *E. coli*, в котором белок L16 заменен на его гомолог из *Bacillus subtilis*. Показано, что данный штамм практически не отличается по скорости роста и активности аппарата трансляции от контрольного штамма. Следующим шагом было проверить, способен ли белок L16 *B. subtilis* компенсировать отсутствие рибосомного белка L25 в клетках *E. coli*. Был создан соответствующий штамм и оказалось, что замена белка L16 на его гомолог из *B. subtilis* не приводит к заметному ускорению роста клеток Δ L25-штамма. Хотя полученные данные указывают на взаимозаменяемость белков семейства L16, но, по-видимому, белку из *B. subtilis* не удастся полностью реализовать свои контакты с РНК в рибосоме *E. coli*. Работа поддержана грантами РФФИ (13-04-00587-а; 14-04-31534 мол_а) и Программой МКБ РАН.

ОЧИСТКА БЕЛКА GLNK ИЗ КЛЕТОК РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* BL21 PASK-LBRGLNK

Исхакова З.И., Тарасов Н.В., Каюмов А.Р.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

zalinunya@mail.ru

В настоящее время азотный метаболизм молочнокислых бактерий *Lactobacillus* практически не исследован, несмотря на их широкое применение в производстве молочнокислых продуктов, квашении и силосовании. Таким образом, анализ молекулярных механизмов регуляции азотного метаболизма в клетках лактобацилл является актуальной задачей. В единичных работах имеются данные о некоторых аспектах особенностей азотного метаболизма лактобацилл. Предварительный анализ геномов *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus buchneri* выявил наличие гена белка GlnK, гомолог которого в клетках бактерий представляет собой небольшой регуляторный белок, принадлежащий к семейству РП белков, участвующих в регуляции азотного метаболизма. В клетках *B. subtilis* белок GlnK, по-видимому, регулирует активность мембранного белка AmtB и фактора транскрипции TnrA играющего ведущую роль в контроле активности генов азотного метаболизма у *B. subtilis*.

Целью работы явилось клонирование и очистка белка GlnK молочнокислых бактерий *Lactobacillus brevis*. Для этого синтезировали ген *glnK* из *L. brevis*. и клонировали в