

НЕОБЫЧНАЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ В ГИСТОНОПОДОБНОМ НУ-БЕЛКЕ ИЗ
МИКОПЛАЗМЫ *SPIROPLASMA MELLIFERUM*.

Ю.К. Агапова^{1,2}, А.М. Франк-Каменецкая^{1,2}, Т.В. Ракитина^{1,3}

¹ НИЦ Курчатовский Институт, Москва

² ГОУ ВПО Московский Физико-Технический Институт(ГУ)

³ ИБХ РАН

НУ-белки – это самые распространенные среди ДНК-связывающих белков в прокариотах. Эти небольшие (около 90 аминокислот на мономер) белки встречаются в формах гомо- и гетеродимеров [1]. Они неспецифично связывают ДНК [2] и функционально являются аналогами гистонов эукариотической клетки.

Существование гомологичных НУ белков, обладающих умеренной [1,3] или высокой [4,5] термостабильностью, схожесть их 3D структуры и малый размер молекул белка делают НУ-белок удобной моделью для исследования структурных причин термостабильности.

Ранее в лаборатории Белковая Фабрика с высоким разрешением 1.3 А была определена пространственная НУSpm - НУ-белка из паразитирующей на пчелах микоплазмы *Spiroplasma melliferum* [6]. Кроме того, методом дифференциальной сканирующей калориметрии была определена термостабильность белка, которая оказалась аномально высокой для белка из мезофильного организма. Все охарактеризованные к настоящему моменту термостабильные НУ-белки были выделены из термофильных организмов [4, 3, 7].

Цель данной работы состояла в выявлении структурных особенностей НУSpm, которые ответственны за высокую термостабильность белка. Для этого, во-первых, был проведен детальный анализ структуры НУSpm, который показал, что несмотря на то, что общий план пространственной укладки молекулы типичен для белков данного класса, структура НУSpm имеет некоторые особенности, которые потенциально могли бы отвечать за необычные термостабильные характеристики белка. Такими факторами могли быть неконсервативные остатки фенилаланина, дополнительная гидрофобная петля на N-концевом участке белка, отсутствие внутренней полости в димере, характерной для ряда НУ-белков, а также введение дополнительных водородных связей между мономерами, отсутствующих у гомологичных белков.

Во-вторых, был осуществлён направленный точечный мутагенез белка, с последующим определением влияния мутаций на температуру плавления молекулы, что позволило подтвердить или опровергнуть вклад каждой из вышеперечисленных структурных особенностей HUS_{pm} в термостабильность белка.

Литература:

- [1] *Ramstein, J. et al* (2003). Evidence of a thermal unfolding dimeric intermediate for the *Escherichia coli* histone-like HU proteins: Thermodynamics and structure, *J Mol Biol* **331**, 101-121.
- [2] *Swinger, K. K. & Rice, P. A.* (2004). *Current opinion in structural biology* **14**, 28-35.
- [3] *Welfle, H. et al* (1992). Salt-dependent and protein-concentration-dependent changes in the solution structure of the DNA-binding histone-like protein, HBSu, from *Bacillus subtilis*, *European journal of biochemistry / FEBS* **204**, 1049-1055.
- [4] *Christodoulou, E., Rypniewski, W. R. & Vorgias, C. E.* (2003). High-resolution X-ray structure of the DNA-binding protein HU from the hyper-thermophilic *Thermotoga maritima* and the determinants of its thermostability, *Extremophiles* **7**, 111-122.
- [5] *Kamashev, D. et al* (2008). *Nucleic acids research* **36**, 1026-1036.
- [6] *Boyko K. et al* (2015).) Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of the histone-like HU protein from *Spiroplasma melliferum* KC3, *Acta Crystallographica Section F* **71**, 24-27.
- [7] *Orfaniotou, F., et al* (2009) The stability of the archaeal HU histone-like DNA-binding protein from *Thermoplasma volcanium*, *Extremophiles*. **13**, 1-10.