

Исследование взаимодействия нуклеобиндина 1 с РНК

Научный руководитель – Тищенко Светлана Викторовна

Костарева О.С.¹, Курина И.О.²

1 - Институт белка РАН, Пущино, Россия; 2 - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Нуклеобиндин 1 (NUCB1) - мультидоменный консервативный белок, содержащий кальций-связывающий домен. NUCB1 обнаруживается во многих компартментах эукариотической клетки: в аппарате Гольджи, ядре, эндоплазматическом ретикулуме и цитоплазме. Впервые белок был найден в качестве фактора роста и дифференцировки лимфоцитов В-типа при системной красной волчанке. Известно, что при иммунизации мышей рекомбинантным белком NUCB1 резко увеличивается титр аутоантител к ДНК. Показано, что NUCB1 взаимодействует с фрагментированной тотальной ДНК, выделенной из клеток KML₁-7 (клеточная линия лимфоцитов мышей, страдающих аутоиммунными заболеваниями). В составе аминокислотной последовательности белка имеется такой мотив, как лейциновая застёжка-молния, а также кластер положительно заряженных аминокислотных остатков в N-концевой части. Такие участки часто встречаются в белках-димерах, взаимодействующих с нуклеиновыми кислотами. Показано, что NUCB1, лишенный любого из этих участков, теряет ДНК-связывающие свойства, и не вызывает увеличение титра аутоантител к ДНК (1). Детально взаимодействие NUCB1 с нуклеиновыми кислотами не изучено.

Мы получили генетическую конструкцию на основе вектора pET28a, несущую ген NUCB1, выделили препарат белка, очистив его двумя последовательными хроматографиями: на Ni-NTA Agarose и Superdex 200. Мы впервые показали, что NUCB1 способен взаимодействовать с некоторыми фрагментами РНК. Образование комплексов NUCB1 с РНК было показано методом поверхностного резонанса плазмонов на приборе ProteOn XPR36. Использовались небольшие (25-45 н.о.) биотинилированные фрагменты РНК, четыре из которых имели предположительно шпильчатую конформацию, в двух фрагментах преобладали петлевые структуры и два фрагмента РНК были преимущественно одноцепочечными (полиуридиновый и полиадениновый).

Показано, что NUCB1 формирует стабильные комплексы (равновесные константы диссоциации от 8 нМ до 4 мкМ) с несколькими фрагментами РНК независимо от их вторичной структуры.

В дальнейшем будет проведено детальное исследование участка связывания NUCB1 на РНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума МКБ РАН.

Источники и литература

- 1) 1. Miura K., Titani K., Kurosawa Y., Kanai Y. Molecular cloning of nucleobindin, a novel DNA-binding protein that contains both a signal peptide and a leucine zipper structure// Biochemical and biophysical research communications. 1992, № 187(1). p. 375-380.