

ЖАҢЫЛЫКТАР-ВЕСТИ-NEWS

ISSN 1694-7762

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
МЕЖДУНАРОДНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

НАУЧНЫЙ и ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЖУРНАЛ

НАУКА И ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ИЛИМИЙ ЖАНА МААЛЫМАТ ЖУРНАЛЫ

№ 3/2018 (8)

**СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ГИБЕРНАЦИИ РИБОСОМ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS С ЦЕЛЬЮ ПОИСКА НОВЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ
АНТИБИОТИКОВ**

**STRUCTURAL STUDIES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS RIBOSOME
HIBERNATION FOR DETERMINATION OF NEW ANTIBIOTICS TARGETS**

Усачев К.С.¹, Хусайнов И.Ш.^{1,2}, Фатхуллин Б.Ф.^{1,3}, Валидов Ш.З.¹, Клочков В.В.^{1,2}
Аганов А.В.¹, Юсупов М.М.^{1,2}
Usachev K.S.¹, Khusainov I.Sh.^{1,2}, Fatkhullin B.F.^{1,3}, Validov Sh.Z.¹, Klochkov V.V.^{1,2}
Aganov A.V.¹, Yusupov M.M.^{1,2}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация

² Институт генетики, молекулярной и клеточной биологии, Страсбургский университет, Илькирш, Франция

³ Институт Белка РАН, Пущино, Российская Федерация

¹ Kazan Federal University, Kazan, Russia

² Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Strasbourg, Illkirch, France

³ Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Puschino, Russian Federation

k.usachev@kpfu.ru, khusaino@igbmc.fr, BuFFathullin@kpfu.ru, SZValidov@kpfu.ru,
vklochko@kpfu.ru, Albert.Aganov@kpfu.ru, marat.yusupov@igbmc.fr

Одним из наиболее эффективных механизмов защиты бактериальных клеток в ответ на стресс является перевод аппарата синтеза белка в инактивированное состояние, которое называется гибернацией рибосом. У бактерии золотистого стафилококка *S.aureus* этот процесс происходит в присутствии стресс индуцированного белка SaHPF (*S.aureus* hibernation promoting factor), который способен связываться с 70S рибосомами и ассоциировать их в трансляционно неактивный димер 100S рибосом. В этом состоянии рибосомы способны переживать неблагоприятные условия и их активные сайты не доступны для связывания антибиотиков, но в тоже время они способны в достаточно короткий срок (1-2 минуты) перейти обратно в активную фазу и начать процесс трансляции. В отличие от остальных бактерий у *S.aureus* белок SaHPF экспрессируется и в логарифмической фазе роста, что обеспечивает наличие части рибосом в фазе гибернации. Методом спектроскопии ЯМР высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа нами была решена структура белка SaHPF. Результаты эксперимента по криоэлектронной микроскопии показали, что у *S. aureus* образование 100S димеров рибосом происходит путем связывания двухдоменного белка SaHPF таким образом, что N-концевой домен связывается с 30S субъединицей в P и A сайтах также как это было показано для гомологов EcHPF, EcYfiA и YfiA бактерии *E.Coli*, и останавливает синтез белка препятствуя связыванию мРНК и тРНК. Также положение N-концевого домена белка SaHPF перекрывается с местами связывания ряда антибиотиков таких как гигромицин В, тетрациклин, эдеин, пактамицин, касугомицин. С-концевой домен белка SaHPF связанный с N-концевой частью подвижным линкером из 35 аминокислотных остатков располагается на периферии рибосомы и образует белковый контакт со второй такой же молекулой белка из второй рибосомы димера. Дальнейшее установление механизмов нарушения процесса димеризации рибосом *S.aureus* позволит существенно продвинуться в разработке противостафилококковых препаратов.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 16-14-10014

Ключевые слова: золотистый стафилококк, устойчивость, антибиотик, рибосома, структурная биология, ЯМР, рентгеноструктурный анализ, криоэлектронная микроскопия

One of the most beneficial mechanism to save energy for bacterium during the stress is deactivation of its own translation machinery, namely hibernation of ribosomes. In S. aureus this process is prompted by binding of stress protein SaHPF (S.aureus hibernation promoting factor) to 70S ribosomes, which triggers their association into inactive 100S ribosome dimers. In such stand-by mode ribosomes are preserved from degradation and from binding of several antibiotics, at the same time, they can rapidly (within 1-2 min) be transformed back into active ribosomes upon energy recovery. Unlike other bacteria, in S.aureus SaHPF is

constitutively expressed in the cell, and part of ribosomes are converted into hibernating 100S even in rich media. By NMR spectroscopy and X-ray crystallography we solved SaHPF structure. Our recent structural cryo-electron microscopy studies have shown that in human pathogen *S. aureus*, 100S ribosome formation occurs in the presence of long two-domain protein SaHPF and its N-terminal domain (NTD) binds to the 30S subunit at the P-site and A-site similarly to its homologs from *E. coli*, EcHPF, EcYfiA and a YfiA and may inhibit protein synthesis by preventing mRNA and tRNAs from accessing the 70S ribosome. Additionally, it occludes the binding of several antibiotics such as hygromycin B, tetracycline, edeine, pactamycin, kasugamycin. C-terminal domain (CTD), connected by a linker of 35 amino acids, protrudes out of each ribosome through the E-site and forms a main contact in 100S dimer through homodimerization with SaHPF CTD from the second ribosome. Finding the way to prevent dimerization may significantly decrease survival ability of *S. aureus*.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant 16-14-10014).

Key words: *Staphylococcus aureus*, resistance, antibiotics, ribosome, structural biology, NMR, X-ray crystallography, cryo electron microscopy

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) один из наиболее опасных патогенов для человека, вызывающий множество внебольничных и внутрибольничных инфекций. Произошедшие за последнее десятилетие изменения в устойчивости золотистого стафилококка обуславливают необходимость новых противомикробных агентов. Одной из наиболее важных целей для антибиотиков является бактериальная рибосома – рибонуклеобелковая частица синтезирующая белок в клетке. Более 40% клинически используемых антибиотиков нацелены против активности рибосомы. Согласно генетическому коду, записанному в матричной РНК (мРНК), рибосома последовательно синтезирует полипептидную цепь белка. В течение трансляционного цикла (инициация, элонгация, терминация) рибосома взаимодействует с несколькими белковыми факторами. Таким образом, рибосома является не только молекулярным, но и ферментативным мотором клетки.

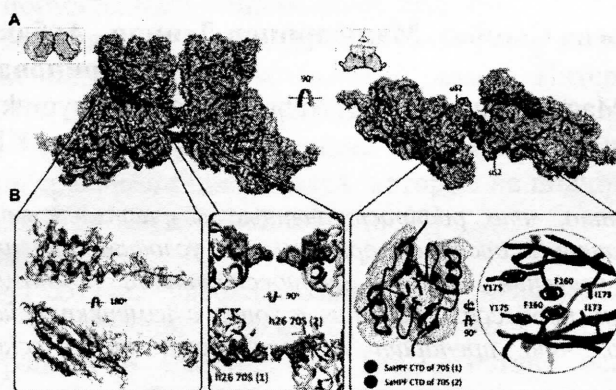


Рисунок 1. Структура комплекса 100S рибосомы *Staphylococcus aureus* определенная методом криоэлектронной микроскопии с разрешением 3.7 Å (А) с белком SaHPF (Б), структура которого была решена методом спектроскопии ЯМР высокого разрешения [1]

Одним из наиболее эффективных механизмов защиты бактериальных клеток в ответ на стресс является перевод аппарата синтеза белка в инактивированное состояние, которое называется гибернацией рибосом. У бактерии золотистого стафилококка *S. aureus* этот процесс происходит в присутствии стресс индуцированного белка SaHPF (*S. aureus* hibernation promoting factor), который способен связываться с 70S рибосомами и ассоциировать их в трансляционно неактивный димер 100S рибосом (Рисунок 1А) [1]. В этом состоянии рибосомы способны переживать неблагоприятные условия и их активные сайты не доступны для связывания антибиотиков, но в тоже время они способны в достаточно короткий срок (1-2 минуты) перейти обратно в активную фазу и начать процесс трансляции. В отличие от остальных бактерий у *S. aureus* белок SaHPF экспрессируется и в логарифмической фазе роста, что обеспечивает наличие части рибосом в фазе гибернации. Методом спектроскопии ЯМР высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа нами

была решена структура белка SaHPF [1]. Результаты эксперимента по криоэлектронной микроскопии показали, что у *S.aureus* образование 100S димеров рибосом происходит путем связывания двухдоменного белка SaHPF таким образом, что N-концевой домен связывается с 30S субъединицей в P и A сайтах также как это было показано для гомологов EcHPF, EcYfiA и YfiA бактерии *E.Coli*, и останавливает синтез белка препятствуя связыванию мРНК и тРНК (Рисунок 1Б) [2]. Также по положению N-концевого домена белка SaHPF перекрывается с местами связывания ряда антибиотиков таких как гигромицин В, тетрациклин, эдеин, пактамицин, касугомицин. С-концевой домен белка SaHPF связанный с N-концевой частью подвижным линкером из 35 аминокислотных остатков располагается на периферии рибосомы и образует белковый контакт со второй такой же молекулой белка из второй рибосомы димера. Дальнейшее установление механизмов нарушения процесса димеризации рибосом *S.aureus* позволит существенно продвинуться в разработке противостафилококковых препаратов в рамках стратегии(технологии) использования антибиотиков.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ 16-14-10014.

Список литературы:

1. Khusainov I., Vicens Q., et al., The EMBO journal. 36 (2017).
2. Usachev K., Ayupov R., et al., Biomolecular NMR Assignment. 12 (2018)

УДК 615.322

РАЗРАБОТКА ФИТОПРЕПАРАТА ДЛЯ АДАПТАЦИИ ФУНКЦИЙ STUDY OF PREPARATION FOR THE ADAPTATION OF THE ORGANISM

Эртазоева Сымбат, Маншарипов Данияр, Аубакиров А., Кужымухан А.,
Маншарипова А.Т. КРМУ, Алматы, РК

Ertazoeva Simbat, Mansharipov Daniyar, Aubakirov A., Kuzhymukhan A., Mansharipova A.T.
KRMU, Almaty, Kazakhstan.

Аннотация. Известно, что распространенные возрастзависимые заболевания связаны с нарушением антиоксидантной системы организма в условиях изменяющейся среды. В работе показаны результаты изучения свойств антиоксидантной композиции, предназначенной для адаптации организма при процессах старения в зонах с изменяющейся средой. В доклинических исследованиях выявлено, что препарат не оказывает токсического действия в условиях изменяющейся среды.

Ключевые слова. Антиоксидант, доклинические исследования, среда.

Annotation. It is known that common age-related diseases are associated with a violation of the body's antioxidant system in a changing environment. The work shows the results of studying the properties of the antioxidant composition, intended for adaptation of the organism during aging processes in zones with a changing environment. In preclinical studies revealed that the drug does not have toxic effects in a changing environment.

Keywords. Antioxidant, preclinical studies, environment.

Известно, что распространенные возрастзависимые заболевания связаны с нарушением баланса показателей про- и антиоксидантной системы организма в условиях изменяющейся среды [1, 2]. Для нормализации этих процессов предлагаются различные антиоксидантные препараты [3]. Благодаря широкому спектру фармакологической активности, комплексному воздействию на организм растительные лекарственные средства с антиоксидантным действием широко применяются в геронтологической практике [4]. Поэтому была разработана фитокомпозиция «Ювелакс», которая проявляет антиоксидантные свойства и может быть средством для улучшения активного долголетия.