

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.04.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

РОЛЬ N- И С-КОНЦЕВЫХ ДОМЕНОВ МАЛОГО БЕЛКА  
ТЕПЛОВОГО ШОКА ИВРА *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII* НА  
СТРУКТУРУ И ФУНКЦИИ БЕЛКА

Работа завершена:

«12» 06 2023 г.  – (Д. А. Живайкина)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

д.б.н., доцент кафедры генетики

«14» 06 2023 г.  – (А. Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

«14» 06 2023 г.  – (А.Р. Каюмов)

Казань – 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	7
1.1 Белки теплового шока .....	7
1.2 Малые белки теплового шока.....	7
1.3 Структура малых белков теплового шока.....	8
1.4 Шаперонная активность мБТШ <i>in vivo</i> .....	10
1.5 Взаимодействие малых белков теплового шока с белками-субстратами .....	12
1.6 Класс <i>Mollicutes</i> .....	15
1.7 Малый белок теплового шока IbpA <i>Acholeplasma laidlawii</i> ....	16
1.8 Характеристика N- и C-концевых доменов белка AИbpA .....	19
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	20
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	21
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	21
2.1 Штаммы и плазмиды .....	21
2.2 Питательные среды и условия культивирования бактерий.....	21
2.3 Выделение плазмидной ДНК.....	21
2.4 Электрофорез ДНК .....	22
2.5 Очистка ДНК из агарозного геля .....	22
2.6 Трансформация клеток <i>E. coli</i> .....	23
2.7 Гиперпродукция белков в клетках <i>E. coli</i> и получение клеточных экстрактов .....	23
2.8 Электрофорез белков в денатурирующих условиях .....	23

2.9 Окрашивание белковых гелей кумасси синим .....	24
2.10 Окрашивание белковых гелей нитратом серебра .....	24
2.11 Высокоэффективная жидкостная хроматография .....	24
2.12 Биоинформатика .....	25
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ .....</b>	<b>26</b>
3.1 Оценка вариабельности регуляторных доменов белков теплового шока I $\nu$ rA у различных представителей царства Бактерии .....	26
3.2 Моделирование возможных изменений в структуре $\alpha$ -кристаллинового домена при аминокислотных заменах .....	28
3.3 Оценка способности к олигомеризации белка A/I $\nu$ rA дикого типа и его модифицированных вариантов .....	31
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>34</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>35</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AA	Акриламид
BIS-AA	Бис-акриламид
GA	Глутаровый альдегид
GS (ГС)	Глутаминсинтетаза
IPTG	Изопропил- $\beta$ -D-1-тиогалактопиранозид
LA	Питательная среда Лурия-Бертани агаризованная
LB	Питательная среда Лурия-Бертани
PBS	Фосфатный буфер
PFA	Параформальдегид
PSA	Персульфат аммония
SDS	Додecilсульфат натрия
sHSP	Малые белки теплового шока
TEMED	Тетраметилетилендиамин
АТФ	Аденозинтрифосфат
кДа	Килодальтон
мБТШ	Малые белки теплового шока
ОП	Оптическая плотность
ПААГ	Полиакриламидный гель
ПЦР	Полимеразная цепная реакция

## ВВЕДЕНИЕ

Малые белки теплового шока (мБТШ) представляют группу молекулярных шаперонов, позволяющих клетке выживать в условиях с неблагоприятной температурой и предотвращать необратимую агрегацию белков [Park *et al.*, 2015]. В большинстве известных науке организмов существует комплекс из нескольких белков-шаперонов, выполняющий свои функции благодаря слаженной работе всех его участников.

Особый интерес для науки на данный момент представляет *Acholeplasma laidlawii* – представитель класса *Mollicutes*. Данный организм, как и все микоплазмы, является паразитической формой жизни, в основном обитая на растениях (фитопатоген). Интерес именно к этому организму вызван тем, что это единственный фитопатоген класса *Mollicutes*, способный существовать долгое время вне организма-хозяина, при этом свободно развиваясь и размножаясь. Помимо этого необычного свойства, *Acholeplasma laidlawii* имеет лишь один малый белок теплового шока, способный предотвращать губительное действие перепадов температур в окружающей среде – IbpA (AIIbpA) [Jiao *et al.*, 2005]. Во время исследования данного белка обнаружилось, что при тепловом стрессе его количество увеличивается до 7% от общего числа белков в клетке [Vishnyakov, 2011]. Вероятно, именно такой резкий подъем уровня экспрессии AIIbpA позволяет этому фитопатогену адаптироваться к высоким температурам и встречаться в качестве патогена множества растений и контаминирующего агента питательных сред.

В функционально активном состоянии малые белки теплового шока постоянно образуют комплексы из 12, 24 или 48 субъединиц и в олигомеризации наибольшую роль играет С-концевой домен, который образует связь с  $\alpha$ -кристаллиновым доменом соседней субъединицы, являясь регуляторной частью белка. Но какие именно мотивы аминокислот, входящие в состав  $\alpha$ -кристаллинового домена белка IbpA из *A. laidlawii*, контролируют процесс олигомеризации на данный момент неизвестно.

**Целью** данной работы являлось определение роли лизина в позиции 57  $\alpha$ -кристаллинового домена в олигомеризации малого белка теплового шока HcrA.

В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Оценить вариабельность регуляторных доменов белков теплового шока HcrA у различных представителей царства Бактерии;
- 2) Смоделировать возможные изменения в структуре  $\alpha$ -кристаллинового домена при аминокислотных заменах;
- 3) Оценить способность к олигомеризации белка HcrA дикого типа и его вариантов с аминокислотными заменами.

## СПРАВКА

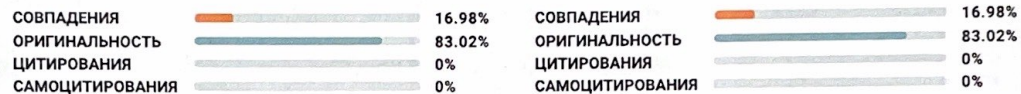
о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Живайкиной Дарья Андреевна  
Самоцитирование  
рассчитано для: Живайкиной Дарья Андреевна  
Название работы: Роль N - и C - концевых доменов малого белка теплового шока IbpA *Acholeplasma laidlawii* на структуру и функции белка  
Тип работы: Магистерская диссертация  
Подразделение:

### РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 01.06.2023

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 01.06.2023 11:35

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-17  
Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс\*; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley; eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Коллекция НБУ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по Интернету (EN); Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Каюмов Айрат Рашитович

ФИО проверяющего

Дата подписи:

  
Подпись проверяющего



Чтобы убедиться в подлинности справки, используйте QR-код, который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.