

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Роль метилирования рРНК в функционировании бактериальной клетки

Дзама Маргарита Михайловна

Студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: margo311@mail.ru

Рибосомная РНК в *E. coli* имеет множество модификаций, большинство из которых является метилированиями. Практически за каждое метилирование отвечает свой собственный фермент. Возникает вопрос, какова же функция этих модификаций, ради которых клетка тратит так много энергии на создание отдельных ферментов. Нами ранее была открыта последняя неизвестная рРНК-метилтрансфераза, что предоставило возможность провести полный анализ штаммов, в которых гены рРНК-метилтрансфераз инактивированы.

Задачей данной работы является проведение сравнительного анализа нокаутных штаммов, в каждом из которых удален один из 24 генов, кодирующих метилтрансферазы, ответственные за метилирование 24 нуклеозидов в рРНК *E. coli*. Главной целью является установление влияния метилирования нуклеозидов рРНК на работу рибосомы и жизнедеятельность клетки в целом. Анализ проводится преимущественно с использованием широкомасштабных методов (одновременная детекция флуоресценции, двумерные электрофореграммы, сравнение кривых роста, shotgun протеомика и др.), которые позволят обобщить и систематизировать полученные данные. Именно сравнительный анализ позволит выявить особенности влияния той или иной модификации на процесс синтеза белка на рибосоме. Были получены рибосомные профили нокаутных штаммов и штамма дикого типа. Серьезное отличие в сборке рибосомы наблюдалось в случае штамма $\Delta rlmE$ – появляется дополнительный пик в области 50S субъединицы, что может сигнализировать о наличии новой стабильной изоформы рибосомы при отсутствии модификации Um в нуклеозиде 2552 в 23S рРНК. Также был проведен анализ штамма дикого типа и нокаутных штаммов в условиях суперэкспрессии флуоресцентных белков. Для этого все клетки штаммов были трансформированы плазмидой, содержащей гены двух флуоресцентных белков – RFP и CER, причем первый белок находится под конститутивным промотором, а второй – под индуцируемым. Измерены скорость роста клеток и относительный уровень флуоресценции. Скорость роста штамма $\Delta rlmE$ также была значительно ниже скорости роста остальных штаммов. В ближайшее время планируется провести двумерный гель-электрофорез для выбранных штаммов. Помимо этого, на данный момент проводится эксперимент по суперэкспрессии другого флуоресцентного белка – так называемого «таймера», который при окислении через определенные промежутки времени изменяет спектр испускания из синей области в красную. Таким образом, мы имеем две независимых модели для оценки влияния суперэкспрессии флуоресцентного белка на работу рибосомы, лишенной каждого метилирования в рРНК. Также планируется проанализировать скорость сборки рибосомы в отсутствие каждой модификации путем генно-инженерного слияния «таймера» с одним из рибосомных белков.

Сравнительный анализ всех штаммов, в каждом из которых недостает той или иной модификации рРНК, даст полное представление о влиянии метилирования на функцию рибосомы, вопрос о котором на сегодняшний день является открытым.