

УДК 577.217.5

Н. Воробйова, асп., О. Корнелюк, чл.-кор. НАН України, д-р біол. наук, проф.  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,  
Д. Ложко, мол. наук. співроб.  
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

## СТАБІЛЬНІСТЬ РЕКОМБІНАНТНОГО БІЛКА AIMP1/p43 ЛЮДИНИ В НАНОКОМПЗИТНОМУ КОМПЛЕКСІ З БЕТА-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Досліджено стабільність рекомбінантного білка AIMP1/p43 – компонента аміноацил-тРНК-синтетазного комплексу вищих еукаріот у наноконкомпозитному комплексі з  $\beta$ -циклодекстрином. Показано, що у складі наноконкомпозитного комплексу температурна стабільність AIMP1/p43 суттєво підвищується. Локальний конформаційний перехід, пов'язаний з експонуванням залишку Trp271 на поверхні AIMP1/p43, спостерігається при 43°C, а у складі наноконкомпозитного комплексу – при 52°C. Стабілізація білка AIMP1/p43 у складі наноконкомпозитного комплексу відкриває можливості для подальших структурно-функціональних досліджень та його використання як нового біотехнологічного продукту в біомедицині.

**Ключові слова:** AIMP1/p43,  $\beta$ -циклодекстрин, стабілізація, флуоресцентна спектроскопія.

**Вступ.** Одним з провідних напрямів сучасної біотехнології є створення нових біомедичних препаратів на основі рекомбінантних білків [1]. Використання бактеріальних систем для експресії еукаріотних генів є простим, швидким, недорогим і надійним методом, який дозволяє отримати рекомбінантні білки у препаративних кількостях в нативному стані, що є необхідною умовою для їх впровадження в біотехнологічне виробництво. Однак, бактеріальні системи експресії мають ряд істотних недоліків, як наприклад, відсутність посттрансляційних модифікацій рекомбінантних білків та можлива висока агрегаційна здатність і формування тілець включення (inclusion bodies) внаслідок високого рівня експресії та неправильного фолдингу білків [11].

Дослідження механізму агрегації білків і механізмів, що їй запобігають, поряд з фундаментальним значенням має істотну практичну цінність для розробки підходів до терапії так званих конформаційних нейродегенеративних хвороб, зумовлених агрегацією білків. У клітинних агрегаціях білків може бути обумовлена різними процесами, насамперед, тепловим та окиснювальним стресами, причому шаперонова система запобігає агрегації. *In vitro* нативні білки можуть бути розгорнуті в результаті теплової денатурації, а також під дією денатуруючих агентів, таких як гуанідингідрохлорид або сечовина [3; 4]. Розгорнуті білки можуть взаємодіяти між собою, в основному, за участю експонованих гідрофобних поверхонь з утворенням амілоїдних або аморфних агрегатів [3; 4]. У зв'язку з цим дослідження механізмів агрегації білків та її пригнічення різними агентами природного і штучного походження є одним з головних напрямів сучасної молекулярної біотехнології.

Для зниження агрегаційної здатності білків, зокрема, використовують низькомолекулярні сполуки, такі як циклодекстрини (ЦД) та їхні похідні [12; 13]. Здатність ЦД пригнічувати агрегацію білків пояснюється їх властивістю зв'язуватися з залишками ароматичних амінокислот в ненативних (частково розгорнутих) формах білків.

Білок AIMP1/p43 (Aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 1, proEMAP II) є обов'язковим компонентом мультиаміноацил-тРНКсинтетазного комплексу вищих еукаріотів [19]. Враховуючи, що білок AIMP1/p43 містить послідовність цитокіна EMAP II і ряд не досліджених до кінця властивостей, зокрема локалізацію білка AIMP1/p43 в клітинному ядрі [9; 15] та наявність у нього цитокинових активностей [16; 8], можна віднести даний білок до молекулярних об'єктів, які є перспективними продуктами сучасної біотехнології для наступного впровадження як нових терапевтичних білків. Слід зазначити, що на відміну від EMAP II, цей поліпептид є досить нестабіль-

ним, оскільки належить до природно неструктурованих білків [20; 5].

На сьогоднішній день просторова структура повнорозмірного білка AIMP1/p43 (312 а.з.) не встановлена, кристаліграфічна структура визначена тільки для N-кінцевого модуля (7-70 а.з.), який представляє собою  $\alpha$ -спіральну ділянку [7] та для C-кінцевого модуля (147-312 а.з.) – цитокіна EMAP II [17]. Центральна ділянка (71-146 а.з.), яка з'єднує N-кінцевий та C-кінцевий модулі, є неструктурованою частиною білка з невідомою просторовою структурою. Для проведення структурних досліджень білка AIMP1/p43 методами рентгеноструктурної кристаліграфії та мультимірної ЯМР-спектроскопії необхідні препаративні кількості білка у стабільному розчинному стані.

В даній роботі для стабілізації структури білка AIMP1/p43 у розчині та запобіганню його агрегації використано  $\beta$ -циклодекстрин ( $\beta$ -ЦД). Молекула  $\beta$ -ЦД представляє собою гептамер залишків  $\alpha$ -D-глюкози (рис.1) і успішно застосовується в сучасній фармакології в якості допоміжного агента, здатного знизити агрегацію білків, збільшити їх розчинність та підвищити стійкість до дії протеолітичних ферментів [6].

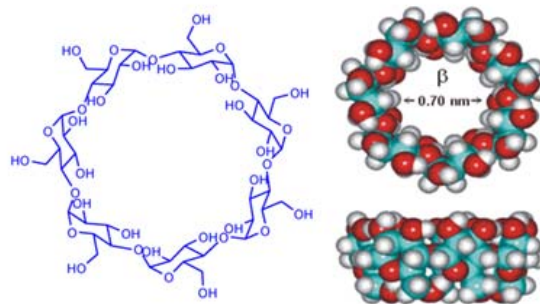


Рис.1. Хімічна будова молекули  $\beta$ -циклодекстрину

### Матеріали і методи

#### Експресія, виділення та очистка рекомбінантного білка AIMP1/p43 з клітин *E.coli*.

У роботі використано штам-продуцент рекомбінантних білків, отриманий на основі реципієнта *E.coli* BL21(DE3)pLysE. Клітини були трансформовані за загальноприйнятою методикою плазмідною конструкцією pET28b-p43, що містила ген, який кодує синтез цільового білка AIMP1/p43 під контролем промотора фага T7. Селективним маркером плазміди pET28b є ген *kan*, який забезпечує стійкість трансформованих клітин до антибіотика канаміцину.

Фізико-хімічні властивості білка AIMP1/p43 проаналізовано за допомогою сервера ProtParam (<http://expasy.org/tools/protparam.html>): молекулярна вага 35175.5 Да; ізоелектрична точка  $pI = 8.62$ ; коефіцієнт екстинції AIMP1/p43 при довжині хвилі 280 нм –  $9970 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (0,29 мг/мл).

Штам-продуцент *E. coli* BL21(DE3)pLysE вирощували на середовищі Luria-Bertani (LB) з додаванням антибіотика канаміцина до кінцевої концентрації 30 мг/мл. Культуру *E. coli* інкубували при температурі 37°C та інтенсивному струшуванні (250 об/хв.) до досягнення нею оптичної густини 0,5–0,7 опт.од. Оптичну густину ( $OD_{600}$ ) визначали спектрофотометрично (спектрофотометр BioMate-5, Велика Британія) при довжині хвилі 600 нм.

Для індукції синтезу рекомбінантного білка до культурального середовища додавали індуктор ІПТГ (ізопропіл- $\beta$ -тіогалактопіранозид, Sigma, США) до кінцевої концентрації 1,0 мМ та інкубували культуру при 28°C протягом 4 годин після індукції експресії.

Рекомбінантний білок отримували із супернатанту лізованих клітин *E. coli* методом метал-хелатуючої хроматографії на колонці з Ni-NTA-агарозою (Qiagen, Germany). Аналіз бактеріальних білків проводили за допомогою SDS-гель-електрофорезу за методом Леммлі в денатуруючих умовах у 12% розділювальному гелі [10], використовуючи суміш маркерних білків виробництва Thermo Scientific (Литва). Гелі фарбували Coomassie blue R-250.

Концентрацію очищеного рекомбінантного білка AIMP1/p43 визначали спектрофотометрично, використовуючи коефіцієнти екстинції  $9970 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (0,29 мг/мл) при довжині хвилі 280 нм.

#### Методика флуоресцентних вимірювань.

Для дослідження взаємодії рекомбінантного білка AIMP1/p43 з  $\beta$ -ЦД проводили титрування AIMP1/p43 у буфері, який містив 50 мМ Na-фосфат, pH 7,5, 150 мМ NaCl. Спектри флуоресценції реєстрували на спектрофлуориметрі Hitachi M850 (Японія), обладнаному термостатованим кюветотримачем. Вимірювання проводили у кварцовій кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Спектральна ширина щілин монохроматора при збудженні флуоресценції та її реєстрації становила 5–10 нм. Збудження флуоресценції проводили при 280 нм, реєстрацію флуоресценції – в діапазоні 300–400 нм під кутом 90° до напрямку пучка збуджуючого світла.

#### Молекулярний докінг

Моделювання структури молекулярного комплексу AIMP1/p43 з  $\beta$ -циклодекстрином було проведено з використанням програмного забезпечення AutoDock Vina [18]. Для візуалізації та аналізу отриманих структур було використано програмне забезпечення UCSF Chimera [14] і MGLTools.

#### Результати та їх обговорення

##### Експресія, виділення та очистка рекомбінантного білка AIMP1/p43 з клітин *E. coli*.

Білок AIMP1/p43 було експресовано в клітинах *E. coli* BL21(DE3)pLysE, як описано вище. Після проведення бактеріальної експресії здійснювали афінну очистку рекомбінантного білка AIMP1/p43 металхелатуючою хроматографією на Ni-NTA-агарозі. В результаті очистки отримано препарат білка AIMP1/p43 високого ступеня чистоти (близько 95%, рис.2).

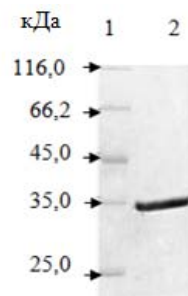


Рис. 2. Електрофоретичний контроль чистоти отриманого препарату AIMP1/p43.

1 – білкові маркери;  
2 – препарат AIMP1/p43 після хроматографічної очистки

##### Дослідження взаємодії рекомбінантного білка AIMP1/p43 з $\beta$ -циклодекстрином методом флуоресцентної спектроскопії.

Спектр власної триптофанової флуоресценції AIMP1/p43, обумовленої залишком Trp271, який локалізований в С-кінцевому EMAP II домені, має максимум при 333 нм (рис. 4). Слід зазначити, що максимум флуоресценції AIMP1/p43 є дещо зміщеним в короткохвильову область у порівнянні зі спектром флуоресценції вільного EMAP II – 335 нм [2]. При вивченні взаємодії AIMP1/p43 з  $\beta$ -циклодекстрином виявлено зменшення власної флуоресценції білка AIMP1/p43 при підвищенні концентрації  $\beta$ -циклодекстрину (рис.3). На основі отриманих даних розрахована константа дисоціації ( $K_d$ ) комплексу AIMP1/p43 з  $\beta$ -циклодекстрином, яка становить  $37.9 \pm 3.2 \mu\text{M}$ . Стехіометрія зв'язування  $\beta$ -циклодекстрина з AIMP1/p43 становить згідно даним на рис.3 близько 1:1, що підтверджує формування специфічного комплексу.

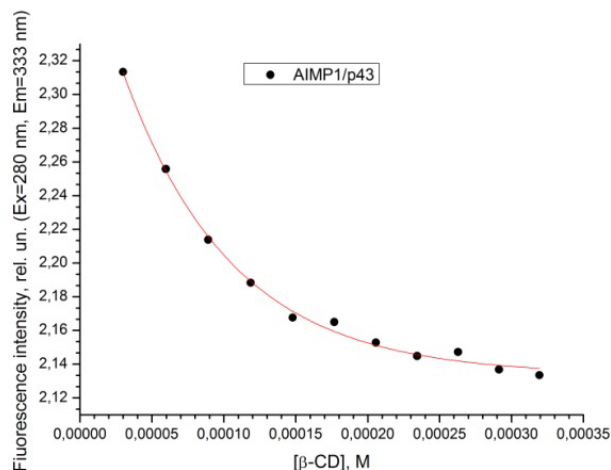
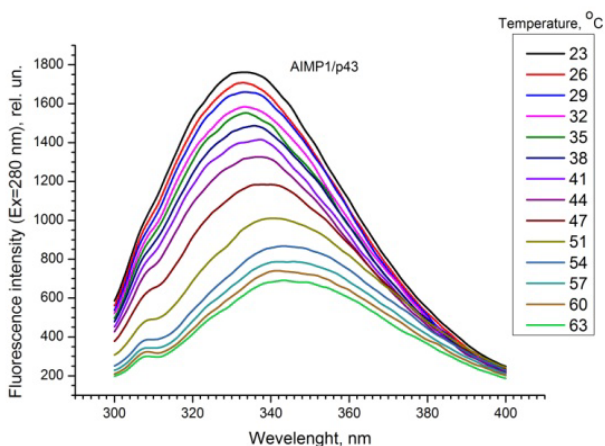


Рис. 3. Залежність інтенсивності флуоресценції AIMP1/p43 від концентрації  $\beta$ -циклодекстрина в розчині.

Буфер 50 мМ Na-фосфат, 150 мМ NaCl, pH 7,5.  
Температура 25°C;  $\lambda_{\text{ex}}$  280 нм,  $\lambda_{\text{em}}$  333 нм

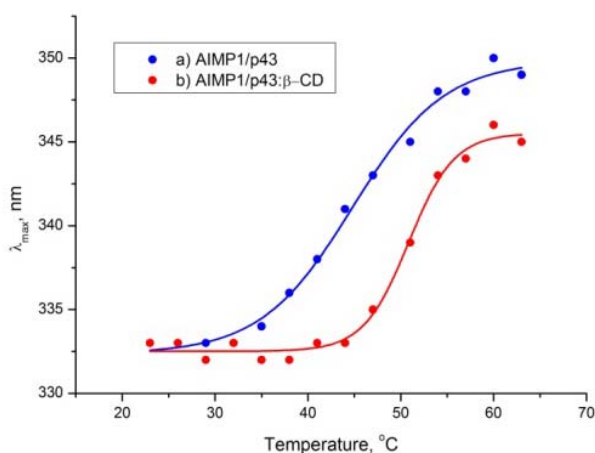
При реєстрації спектрів флуоресценції AIMP1/p43 (рис. 4) в залежності від температури в діапазоні 23–63°C виявлено зсув максимуму флуоресценції від 333 до 350 нм (рис.4, 5а), що відповідає максимуму флуоресценції триптофану в денатурованих білках. Це обумовлено тим, що при підвищенні температури в молекулі AIMP1/p43 спостерігається локальний конформаційний перехід, пов'язаний з експонуванням залишку Trp271 на поверхні білка. Температура локального конформаційного переходу в AIMP1/p43 становить

$43 \pm 1^\circ\text{C}$  (визначена як температура в точці напівпереходу між двома станами).



**Рис. 4.** Температурна залежність інтенсивності флуоресценції AIMP1/p43 в діапазоні  $\lambda_{EM}=300-400$  нм. Буфер 50 мМ Na-фосфат, 150 мМ NaCl, pH 7,5,  $\lambda_{EX}$  280 нм

При дослідженні впливу  $\beta$ -ЦД на стабільність білкової глобули встановлено, що при підвищенні температури максимум емісії флуоресценції AIMP1/p43 зсувається лише до 345 нм, тоді як локальний конформаційний перехід в оточенні Trp271 спостерігається при  $52 \pm 1^\circ\text{C}$  (рис. 5б), що свідчить про стабілізацію структури AIMP1/p43 в наноконкомпозитному комплексі.



**Рис.5.** Температурна залежність максимуму емісії флуоресценції AIMP1/p43 у вільному стані(а) та в складі наноконкомпозитного комплексу з  $\beta$ -ЦД(б). Буфер 50 мМ Na-фосфат, 150 мМ NaCl, pH 7,5

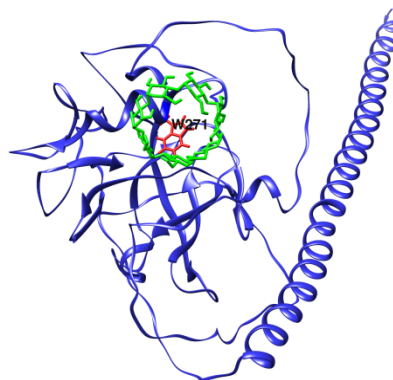
#### Молекулярний докінг.

Для молекулярного докінгу використано комп'ютерну модель просторової структури повнорозмірного AIMP1/p43 (неопубліковані дані).

Для встановлення сайту зв'язування  $\beta$ -циклодекстрину з білком AIMP1/p43 нами проведено комп'ютерне моделювання комплексу. AIMP1/p43 містить тільки 1 амінокислотний залишок Trp271, який є природним флуоресцентним зондом, чутливим до конформаційних змін в структурі молекули. Відомо, що циклодекстрини переважно зв'язуються з ароматичними амінокислотними залишками на поверхні білків, тому Trp271 є чутливим зондом для детекції утворення комплексу білка з циклодекстрином. Проведений аналіз доступності за-

лишку Trp271 молекулам розчинника в структурі AIMP1/p43 вказує на його 32,5% експонованість, що свідчить про можливість детекції взаємодії  $\beta$ -циклодекстрина в локальному оточенні флуорофора.

В результаті комп'ютерного моделювання молекулярного докінгу  $\beta$ -циклодекстрина з AIMP1/p43 (рис.6) встановлено, що зв'язування  $\beta$ -ЦД з білком відбувається в гідрофобній ділянці, де локалізований Trp271.



**Рис.6.** Комп'ютерне моделювання комплексу  $\beta$ -циклодекстрина з AIMP1/p43. Зеленим кольором позначений  $\beta$ -циклодекстрин, червоним – залишок Trp271

Аналіз структури комплексу  $\beta$ -циклодекстрина з AIMP1/p43 за допомогою програми AutoDock Vina показав, що афінність зв'язування  $\beta$ -циклодекстрина ( $\Delta G_{free}$ ) з білком становить близько -5.1 ккал/моль.

#### Висновки.

Встановлено, що  $\beta$ -циклодекстрин специфічно зв'язується з рекомбінантним білком AIMP1/p43 у розчині, причому найбільш вірогідним сайтом зв'язування є оточення частково експонованого залишку Trp271, локалізованого у заглибині на поверхні AIMP1/p43 поруч з функціонально важливим лізин-багатим кластером. Білок AIMP1/p43 у складі отриманого наноконкомпозитного комплексу в розчині є суттєво більш стабільним, ніж у вільному стані. Це відкриває можливості подальших структурно-функціональних досліджень AIMP1/p43 та його використання як нового біотехнологічного продукту в біомедицині.

#### Подяки.

Автори висловлюють подяку м.н.с. Козлову О.В. за надання препарату  $\beta$ -циклодекстрина.

#### Список використаних джерел

1. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. / Б. Глик, Дж. Пастернак. М.; Из-во Мир, 2002. – 589 с.
2. Кордиш М. О. Локальний конформаційний перехід флуорофора Trp125 в цитокіні ЕМАР II, індукований фізіологічною температурою / М.О. Кордиш, О.Л. Дубровський, О.І. Корнелюк // Фізика живого. – 2005. – Т. 13, №1. – С. 79-85.
3. Маркосян К. А. Фолдинг, неправильний фолдинг і агрегація білків. Образование телец включения и агресом / К. А. Маркосян, Б. И. Курганов // Биохимия. – 2004. – №69. – С. 1196–1212.
4. Панасенко О. О. Структура і свойства малых белков теплового шока / О. О. Панасенко, О. В. Ким, Н. Б. Гусев // Успехи биол. химии. – 2003. – №43. – С. 59–98.
5. Dyson H. J. Intrinsically unstructured proteins and their functions / H. J. Dyson, P. E. Wright // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. –2005. – Vol. 6, N 3. – P. 197–208.
6. Fink A. L. Protein aggregation: folding aggregates, inclusion bodies and amyloid / A. L. Fink // Folding Dis. – 1998. – № 3. – P. R9–R23.
7. Fu Y. Structure of the ArgRS-GlnRS-AIMP1 complex and its implications for mammalian translation / Y. Fu, Y. Kim, K.S. Jin, H.S. Kim [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2014. – Vol. 111, N 42. – P. 15084-15089.
8. Ivakhno S. S. Cytokine-like activities of some aminoacyl-tRNA synthetases and auxiliary p43 cofactor of aminoacylation reaction and their role in oncogenesis / S. S. Ivakhno, A. I. Kornelyuk // Exp. Oncol. – 2004. – Vol. 26, N 4. – P. 250–255.

9. Ivanova Iu. L. Comparative study of localization of tryptophanyl-tRNA-synthetase and components of high molecular weight aminoacyl-tRNA-synthetase complex in animal cells / Iu. L. Ivanova, N. E. Cherni, V. I. Popenko, [et al.] // Mol. Biol. – 1993. – Vol. 27, N 3. – P. 666–684.
10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227, N 5259. – P. 680–685.
11. Murphy R. M. Protein Misfolding and Aggregation / R. M. Murphy, B. S. Kendrick // Biotechnol. Prog. – 2007. – N 23. – P. 548–52.
12. Nomura Y. Thermoresponsive controlled association of protein with a dynamic nanogel of hydrophobized polysaccharide and cyclodextrin: heat shock protein-like activity of artificial molecular chaperon / Y. Nomura, Y. Sasaki, M. Takagi, T. Narita [et al.] // Biomacromolecules. – 2005. – N 6. – P. 447–452.
13. Otzen D. E. Structural basis for cyclodextrins' suppression of human growth hormone aggregation / D. E. Otzen, B. R. Knudsen, F. Aachmann, K. L. Larsen [et al.] // Protein Sci. – 2002. – N 11. – P. 1779–1787.
14. Pettersen E. F. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis / E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G.S. Couch // J Comput Chem. – 2004. – Vol. 25, N 13. – P. 1605-1612.
15. Popenko V. I. Compartmentalization of certain components of the protein synthesis apparatus in mammalian cells / V. I. Popenko, J. L. Ivanova, N. E. Cherny, V. V. Filonenko [et al.] // Eur. J. Cell. Biol. – 1994. – Vol. 65, N 1. – P. 60–69.
16. Quevillon S. The p43 component of the mammalian multi-synthetase complex is likely to be the precursor of the endothelial monocyte-activating polypeptide II cytokine / S. Quevillon, F. Agou, J.-C. Robinson, M. Mirande // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272, N 51. – P. 32573–32579.
17. Renault L. Structure of the EMAPII domain of human aminoacyl-tRNA synthetase complex reveals evolutionary dimer mimicry / L. Renault, P. Kerjan, S. Pasqualato, J. [et al.] // EMBO J. – 2001. – Vol. 20, N 3. – P. 570–578.
18. Trott O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. / O. Trott, A. J. Olson. // Journal of Computational Chemistry. – 2010. – N 31. – P. 455-461.
19. Wolfe C. L. Isolation and characterization of human nuclear and cytosolic multisynthetase complexes and the intracellular distribution of p43/EMAPII / C. L. Wolfe, J. A. Warrington, S. Davis, S. Green, M. T. Norcum // Protein Sci. – 2003. – Vol. 12, N 10. – P. 2282–2290.
20. Wright P. E. Intrinsically unstructured proteins: Reassessing the protein structure-function paradigm / P. E. Wright, H. J. Dyson // J. Mol. Biol. – 1999. – Vol. 293, N 2. – P. 321–331.
4. Panasenko OO, Kim OV, Gusev NB. [The structure and properties of small heat shock proteins]. The success of biol. chemistry. 2003;(43):59–98. Russian
5. Dyson HJ, Wright PE. Intrinsically unstructured proteins and their functions. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2005;6(3):197–208.
6. Fink AL. Protein aggregation: folding aggregates, inclusion bodies and amyloid. Folding Dis. 1998;(3):R9-R23.
7. Fu Y, Kim Y, Jin KS, Kim HS, [et al.] Structure of the ArgRS-GlnRS-AIMP1 complex and its implications for mammalian translation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(42):15084-9
8. Ivakhno SS, Kornelyuk AI. Cytokine-like activities of some aminoacyl-tRNA synthetases and auxiliary p43 cofactor of aminoacylation reaction and their role in oncogenesis. Exp. Oncol. 2004;26(4):250-5.
9. Ivanova IuL, Cherni NE, Popenko VI, Filonenko VV, Vartanian OG. Comparative study of localization of tryptophanyl-tRNA-synthetase and components of high molecular weight aminoacyl-tRNA-synthetase complex in animal cells. Mol. Biol. 1993;27(3):666-84.
10. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970;227(5259):680-5.
11. Murphy RM, Kendrick BS. Protein Misfolding and Aggregation. Biotechnol. Prog. 2007(23):548- 52.
12. Nomura Y, Sasaki Y, Takagi M, Narita T, [et al.] Thermoresponsive controlled association of protein with a dynamic nanogel of hydrophobized polysaccharide and cyclodextrin: heat shock protein-like activity of artificial molecular chaperon. Biomacromolecules. 2005;(6):447-52.
13. Otzen DE, Knudsen BR, Aachmann F, Larsen KL, [et al.] Structural basis for cyclodextrins' suppression of human growth hormone aggregation. Protein Sci. 2002;(11):1779-87.
14. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. J Comput Chem. 2004;25(13):1605-12.
15. Popenko V I, Ivanova JL, Cherny NE, Filonenko V V, [et al.] Compartmentalization of certain components of the protein synthesis apparatus in mammalian cells. Eur. J. Cell. Biol. 1994;65(1): 60-9.
16. Quevillon S, Agou F, Robinson J-C, Mirande M. The p43 component of the mammalian multi-synthetase complex is likely to be the precursor of the endothelial monocyte-activating polypeptide II cytokine. J. Biol. Chem. 1997;272(51):32573-9.
17. Renault L, Kerjan P, Pasqualato S, [et al.] Structure of the EMAPII domain of human aminoacyl-tRNA synthetase complex reveals evolutionary dimer mimicry. J. 2001;20(3):570-8.
18. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. Journal of Computational Chemistry. 2010(31):455-61.
19. Wolfe CL, Warrington JA, Davis S, Green S, Norcum MT. Isolation and characterization of human nuclear and cytosolic multisynthetase complexes and the intracellular distribution of p43/EMAPII. Protein Sci. 2003;12(10):2282-90.
20. Wright PE, Dyson HJ. Intrinsically unstructured proteins: Reassessing the protein structure-function paradigm. J. Mol. Biol. 1999;293(2):321-31.

#### References

1. Glik B. [Molecular Biotechnology. Principles and application]. M. World; 2002. 589 p. Russian
2. Kordysh MO, Dubrovskyy OL, Kornelyuk AI. [Local conformational transition of Trp125 fluorophore in cytokine EMAP II, induced by physiological temperature]. Physics of life. 2005; 13(1):79-85. Ukrainian
3. Makrosyan KA, Kurganov BI. [The folding, misfolding and aggregation of proteins. The formation of inclusion bodies and aggregates]. Biochemistry. 2004;(69):1196–212. Russian

N. Vorobyeva, asp., A. Kornelyuk, chl.-kor. NAN Ukrainy, d-r biol. nauk, prof. Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна, Д. Ложко млад. науч. сотр. Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ

### СТАБІЛЬНІСТЬ РЕКОМБІНАНТНОГО БЕЛКА AIMP1/P43 ЧЕЛОВЕКА В НАНОКОМПЗИТНОМ КОМПЛЕКСЕ С БЕТА-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

*Исследована стабільність рекомбінантного белка AIMP1/p43 – компонента аміноацил-tPHK-синтетазного комплексу вищих еукариот в нанокOMPIТНОМ комплексі с β-циклодекстрином. Показано, що в складі нанокOMPIТНОГО комплексу температурна стабільність AIMP1/p43 суттєво підвищується. Локальний конформаційний перехід, пов'язаний з експонуванням остатка Trp271 на поверхні AIMP1/p43, спостерігається при 43°C, а в складі нанокOMPIТНОГО комплексу – при 52°C. Стабілізація белка AIMP1/p43 в складі нанокOMPIТНОГО комплексу відкриває можливість для подальших структурно-функціональних досліджень і його використання як нового біотехнологічного продукту в біомедицині.*

*Ключевые слова: AIMP1/p43, β-циклодекстрин, стабілізація, флуоресцентна спектроскопія.*

N. Vorobyova, PhD stud., A. Kornelyuk, professor, Dr. Sci., Corresponding Member of NASU Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine, D. Lozhko, research assistant Institute of Molecular Biology and Genetics of NASU, Kyiv

### STABILITY OF HUMAN RECOMBINANT AIMP1/P43 PROTEIN IN NANOCOMPOSITE COMPLEX WITH BETA-CYCLODEXTRIN

*Stability of the recombinant AIMP1/p43 protein – component of aminoacyl-tRNA synthetase complex of higher eukaryotic – in nanocomposite complex with β-cyclodextrin was investigated. A significant increase in thermal stability AIMP1/p43 in the composition of nanocomposite complex was shown. The local conformational transition associated with the exposure of Trp271 residue on the AIMP1/p43 surface was observed at 43°C, but in the nanocomposite complex it was observed at 52°C. Stabilization of AIMP1/p43 protein in nanocomposite complex provides opportunities for further structural and functional studies and its use as a new biotechnology product in biomedicine.*

*Key words: AIMP1/p43, β-cyclodextrin, stabilization, fluorescence spectroscopy.*

Надійшла до редколегії 30.03.16