

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-272

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ ХОЛОДОВОГО ШОКА
ИЗ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* С МАЛЫМИ РЕГУЛЯТОРНЫМИ РНК*****STUDY OF THE INTERACTION OF COLD SHOCK PROTEINS
FROM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* WITH SRNAS**

Н. А. Смольянова, Н. В. Леконцева, А. Д. Никулин

Институт белка РАН, Пущино

N. A. Smolianova, N. V. Lekontceva, A. D. Nikulin

Institute of Protein Research RAS, Pushchino

✉ smolyanova_natulya@mail.ru

Аннотация

Туберкулез представляет собой распространенную инфекцию, поражающую как людей, так и животных. Заболевание вызывается различными штаммами *Mycobacterium tuberculosis*, которая ежегодно становится причиной гибели около двух миллионов человек по всему миру. Проникая в организм хозяина, микобактерии подавляют аутофагию и межклеточную сигнализацию, они также устойчивы к токсичным веществам, что обеспечивает их выживание внутри макрофагов. *M. tuberculosis* демонстрирует высокую степень генетического разнообразия, что способствует их устойчивости к лекарственным средствам. Появление мультирезистентных штаммов (МРТБ) является серьезной проблемой для здравоохранения, усложняя диагностику и лечение заболевания. Лекарственные препараты, используемые для борьбы с туберкулезом, часто требуют длительной терапевтической схемы лечения, что увеличивает риск побочных эффектов.

Понимание механизмов, благодаря которым микобактерии уклоняются от иммунного ответа, открывает новые горизонты для разработки вакцин и более эффективных терапевтических подходов. Так, одной из стратегий выживания данного патогена является наличие множества малых регуляторных РНК (мРНК), которые образуют сложные регуляторные сети с мРНК, что помогает бактерии быстро и эффективно адаптировать свой метаболизм на различных стадиях инфекции. Обычно процесс регуляции трансляции, в котором участвуют малые регуляторные РНК, активно поддерживается РНК-шаперонами — белками, способствующими расплетанию вторичной структуры РНК и взаимодействию разных молекул РНК, таких как мРНК и мРНК. Поскольку известные и наиболее изученные РНК-шапероны Hfq и ProQ не были найдены в микобактериях, то существует предположение, что эту роль могут выполнять другие РНК-связывающие белки, например представители семейства белков CspA/CspB.

Abstract

Tuberculosis is a common infection affecting both humans and animals. The disease is caused by various strains of *Mycobacterium tuberculosis*, which causes about two million deaths worldwide each year. Once infiltrated into the host, mycobacteria inhibit autophagy and intercellular signaling, they are also resistant to toxic substances, which ensures their survival within macrophages. *M. tuberculosis* exhibits a high degree of genetic diversity, which contributes to their resistance to drugs. The emergence of multidrug-resistant strains (MDRTB) is a serious public health problem, complicating the diagnosis and treatment of the disease. Drugs used to control TB often require a long therapeutic regimen, increasing the risk of side effects.

Understanding the mechanisms by which mycobacteria evade the immune response opens new horizons for the development of vaccines and more effective therapeutic approaches. For example, one of the survival strategies of this pathogen is the presence of multiple small regulatory RNAs (mRNAs) that form complex regulatory networks with mRNAs, helping the bacterium to rapidly and efficiently adapt its metabolism at different stages of infection. Normally, the process of translation regulation involving small regulatory RNAs is actively supported by RNA chaperones, proteins that promote the unraveling of the RNA secondary structure and the interaction of different RNA molecules such as mRNA and mRNA. Since the known and most studied RNA chaperones Hfq and ProQ were not found in mycobacteria, there is an assumption that this role may be performed by other RNA-binding proteins, such as members of the CspA/CspB protein family.

CspA и CspB из *M. tuberculosis* относятся к высококонсервативному семейству белков холодного шока и структурно представляют собой β-бочонок из пяти антипараллельных β-тяжей. Известно, что белки этого семейства продуцируются в бактериях в ответ на холодный стресс и могут влиять на образование вторичных структур РНК при низких температурах. Mtb CspA и Mtb CspB не были подробно исследованы и схожесть их функций с гомологами из других бактерий остается под вопросом.

* Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 24-24-00071).

© А. Д. Никулин, Н. В. Леконцева, Н. А. Смольянова, 2024

В результате наших исследований были созданы генетические конструкции, которые кодируют белки CspA и CspB из *M. tuberculosis*, а также гены нескольких малых регуляторных РНК микобактерии. Мы разработали методику получения данных белков и добились получения первых кристаллов препарата MtbCspA. Для исследований мы выбрали три мРНК, представляющие наибольший интерес с точки зрения приспособляемости и развития патогенности — мРНК **MCR11 (MTS 997)**; **DRRS (MTS 1338)**; **ncRv3648c**. Малые регуляторные РНК были синтезированы *in vitro*. Взаимодействие белков с малыми регуляторными РНК было изучено с помощью электрофоретического анализа связывания (EMSA) и аналитической эксклюзионной хроматографии.