

Štúdium esenciálnych proteínov teluričitanovej rezistencie metódou Blue Native PAGE

Barbora Šoltészová

Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie, Mlynská dolina 1, 84215, Bratislava
barbora.solteszova@gmail.com

Teluričitany do bunky prenikajú fosfátovým transportným systémom. Bunky *E. coli* senzitívne na zlúčeniny teluričitanov strácajú transmembránový protónový gradient a zároveň sa znižuje hladina ATP v bunke. V rezistentnej bunke *E. coli* sú zlúčeniny teluričitanov redukované na elementárny telúr, ktorý je ukladaný vo forme čiernych kryštálov pozdĺž cytoplazmatickej membrány, preto majú bunky charakteristické čierne sfarbenie [1].

V našich laboratóriách bol Burianom a kol. objavený *ter* operón na veľkom konjugatívnom plazmide pTE53. Ten bol vyizolovaný z uropatogénneho kmeňa *E. coli* KL53. Esenciálna časť operónu obsahujúca úplnú rezistenciu na teluričitany bola naklonovaná *in vitro* do plazmidu pLK18. Tento plazmid tvoria esenciálne gény *terB*, *terC*, *terD* a *terE* kódujúce proteíny TerB, TerC, TerD a TerE [1, 2]. TerC je transmembránový proteín s veľkosťou 38 kDa. TerB má veľkosť 17 kDa a proteíny TerD a TerE majú veľkosť 20 kDa.

V súčasnosti sú známe gény zabezpečujúce teluričitanovú rezistenciu mikroorganizmov ako aj ich génové produkty – proteíny, zatiaľ však nie je jasný mechanizmus rezistencie. Cieľom tejto práce je zistiť pomocou metódy Blue Native PAGE, či sa medzi esenciálnymi proteínmi tvoria proteínové komplexy. Blue Native PAGE je vhodná na toto štúdium, lebo je schopná separovať proteíny a taktiež proteínové komplexy v gradientovom géli v natívnych podmienkach podľa ich molekulových hmotností bez porušenia ich vzájomných väzieb [3]. Potom je možné podúpiť ďalšie analýzy ako druhá denaturačná dimenzia, western blot, farbenie Coomassie Brilliant Blue, histochemia.

V tejto práci sme sa zamerali na vzájomné interakcie spomínaných proteínov s cieľom určiť možnú štruktúru komplexu proteínov detoxifikujúcich teluričitan draselný v bunke *E. coli*. Metódou Blue Native PAGE a následnou detekciou proteínov western blottingom sme ukázali najprv v natívnej dimenzii, že esenciálne proteíny teluričitanovej rezistencie TerB, TerC, TerD a TerE v bunke interagujú s inými proteínmi a v druhej denaturačnej dimenzii sme dokázali, že minimálne proteíny TerB a TerD tvoria komplex, ktorý sa podieľa na detoxifikácii teluričitanu draselného v bunke *E. coli*.

[1] Burian, *F. Microbiol.*, **1998**, *43*, 589–599.

[2] Kormuťáková, *Biometals.*, **2000**, *13*, 135–139.

[3] Hunte C., Von Jagow G., Schagger H., *Membrane protein purification and crystalization 2/e: A practical guide*. Academic Press, Amsterdam, Holandsko, **2003**, 105.