

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. співр.  
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

## СТАБІЛЬНІСТЬ РЕКОМБІНАНТНОГО БІЛКА AIMP1/p43 ЛЮДИНИ В КОМПЛЕКСІ З тРНК

Досліджено взаємодію рекомбінантного білка AIMP1/p43 – компонента аміноацил-тРНК-синтетазного комплексу вищих еукаріот у комплексі з тРНК. Показано, що у складі комплексу температура стабільності AIMP1/p43 суттєво підвищується. Локальний конформаційний перехід залишку Trp271 AIMP1/p43, пов'язаний з внутрішньомолекулярною стабільністю білка, спостерігається при 43°C, а у складі комплексу з тРНК – при 49°C. На основі даних спектрофлуориметричного титрування визначено величину константи дисоціації та степінь метрию комплексу AIMP1/p43 з тРНК. Отримано модель комплексу AIMP1/p43 з тРНК методом молекулярного докінгу.

**Ключові слова:** AIMP1/p43, тРНК, стабілізація, флуоресцентна спектроскопія.

### Вступ.

Створення нових біомедичних препаратів на основі рекомбінантних білків – один з провідних напрямів сучасної біотехнології [1]. Експресія білків в *E. coli* 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 [6]. 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 [5; 11].

Білок AIMP1/p43 (Aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 1, proEMAP II) є обов'язковим компонентом мультиаміноацил-тРНКсинтетазного комплексу вищих еукаріотів [17]. По-перше AIMP1/p43 виступає як кофактор аміноацилювання за рахунок своєї тРНК-зв'язуючої активності, по-друге AIMP1/p43 містить послідовність цитокіна EMAP II і ряд не досліджених до кінця властивостей, зокрема локалізацію білка AIMP1/p43 в клітинному ядрі [9; 12] та наявність у нього цитокінових активностей [8; 13], з огляду на що, можна віднести даний білок до молекулярних об'єктів, які є перспективними продуктами сучасної біотехнології.

У вільному стані AIMP1/p43 проявляє значну нестабільність у розчині, оскільки належить до природно неструктурованих білків [4; 18]. Отже, пошук та вивчення впливу стабілізуючих агентів на структуру білка AIMP1/p43 є важливим етапом роботи для створення лікарських препаратів на основі цього білка.

На сьогоднішній день просторова структура повнорозмірного білка AIMP1/p43 (312 а.з.) не встановлена експериментально, кристалографічна структура визначена тільки для N-кінцевого фрагмента білка (7-70 а.з.), який представляє собою  $\alpha$ -спірально ділянку [7] та для C-кінцевого модуля (147-312 а.з.), який є цитокіном EMAP II [14]. 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 кристалографії та мультимірної ЯМР-спектроскопії необхідні препаративні кількості білка у стабільному розчинному стані.

Відомо що AIMP1/p43 має тРНК зв'язуючі властивості [16], проте структурні аспекти взаємодії ізольованого AIMP1/p43 з тРНК залишаються ще недостатньо дослідженими, а роль тРНК у стабілізації структури білка невідома. Метою даної роботи було вивчення взаємодії AIMP1/p43 з тРНК методами флуоресцентної спектро-

скопії, характеристика параметрів зв'язування AIMP1/p43 з тРНК та аналіз РНК-зв'язувальної поверхні білка.

### 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 плазмиди pET28b є ген *kan*, який забезпечує стійкість трансформованих клітин до антибіотики 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 екстинкції 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 антибіотики канаміцину 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 Лемлі 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 екстинкції  $9970 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (0,29 мг/мл) при довжині хвилі 280 нм.

#### Методика флуоресцентних вимірювань.

Для дослідження взаємодії рекомбінантного білка AIMP1/p43 з сумарною тРНК проводили титрування AIMP1/p43 у буфері, який містив 50 мМ Na-фосфат, pH 7.5, 150 мМ NaCl. Спектри флуоресценції реєструва-

ли 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 296 нм, реєстрацію флуоресценції – в діапазоні 300–400 нм під кутом 90° до напрямку пучка збуджуючого світла.

**Молекулярний докінг**

Молекулярний комплекс AIMP1/p43 з tРНК було отримано за допомогою програмного пакету HEX [15]. Візуалізацію та аналіз отриманих результатів проводили з використанням програмного забезпечення UCSF Chimera [3]. Для проведення молекулярного докінгу використовували модель просторові структури AIMP1/p43 та кристалічну структуру дріжджової tРНК<sup>Phe</sup> (PDB ID: 1EHZ).

**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. 1).

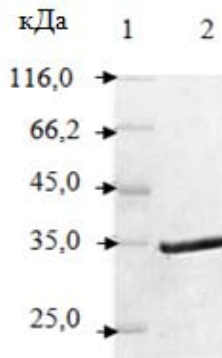


Рис. 1. Електрофоретичний контроль чистоти отриманого препарату AIMP1/p43

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

**Дослідження взаємодії рекомбінантного білка AIMP1/p43 з tРНК методом флуоресцентної спектроскопії.**

Спектр власної триптофанової флуоресценції AIMP1/p43, обумовленої залишком Trp271, який локалізований в С-кінцевому ЕМАР II-домені, має максимум при 333 нм. Слід зазначити, що максимум флуоресценції AIMP1/p43 є дещо зміщеним в короткохвильову область у порівнянні зі спектром флуоресценції вільного ЕМАР II, який має максимум при 335 нм [2]. При вивченні взаємодії AIMP1/p43 з tРНК виявлено гасіння власної триптофанової флуоресценції білка AIMP1/p43 при підвищенні концентрації tРНК (рис.2). На основі отриманих даних розрахована константа дисоціації ( $K_d$ ) комплексу AIMP1/p43 з tРНК, яка становить  $1,82 \pm 0,15$  мкМ. Стехіометрія зв'язування tРНК з AIMP1/p43 становить згідно даним близько 1:1, що підтверджує формування специфічного комплексу.

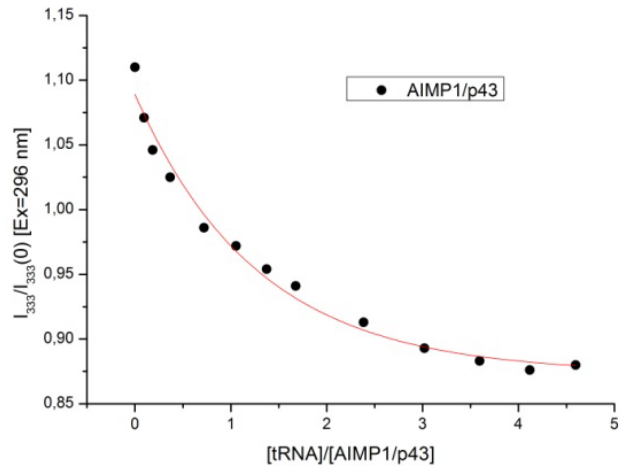


Рис. 2. Залежність інтенсивності флуоресценції AIMP1/p43 від концентрації tРНК в розчині. Буфер 50мМ Na-фосфат, 150мМ NaCl, рН 7.5, температура 25°С;  $\lambda_{EX}$  296 нм,  $\lambda_{EM}$  333 нм

При реєстрації спектрів флуоресценції AIMP1/p43 (рис. 4) в залежності від температури в діапазоні 23–63°С виявлено зсув максимуму флуоресценції від 333 до 350 нм (рис.3, 4а), 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  $43 \pm 1$ °С (визначена як температура в точці напівпереходу між двома станами).

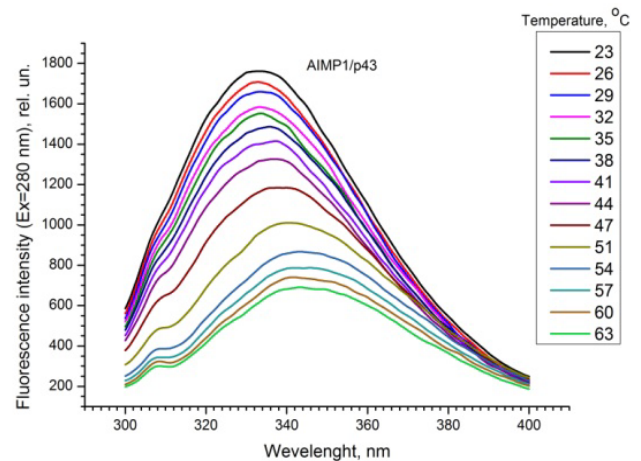


Рис. 3. Температурна залежність інтенсивності флуоресценції AIMP1/p43 в діапазоні 300–400 нм. Буфер 50мМ Na-фосфат, 150мМ NaCl, рН 7.5.  $\lambda_{EX}$  280 нм

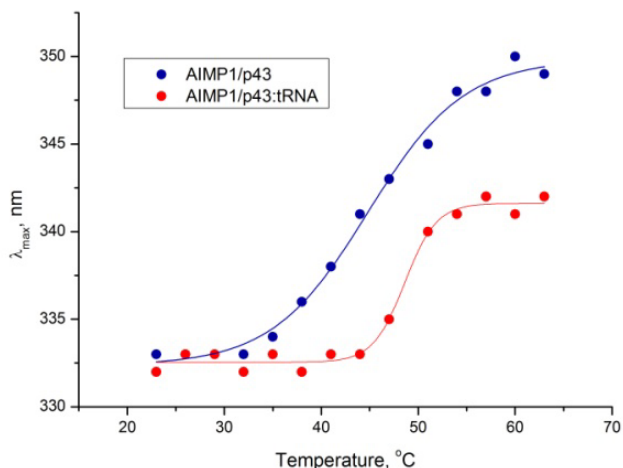


Рис.4. Температурна залежність максимуму емісії флуоресценції AIMP1/p43 у вільному стані(а) та в складі комплексу з тРНК(б). Буфер 50мМ Na-фосфат, 150мМ NaCl, pH 7.5

При дослідженні впливу тРНК на стабільність білкової глобули встановлено, що при підвищенні температури максимум емісії флуоресценції AIMP1/p43 зсувається лише до 342 нм, тоді як локальний конформаційний перехід в оточенні Trp271 спостерігається при  $49 \pm 1^\circ\text{C}$  (рис. 4б), що свідчить про стабілізацію структури AIMP1/p43 в отриманому комплексі з тРНК.

#### Молекулярний докінг.

Для вивчення взаємодії AIMP1/p43 з РНК, нами була використана тРНК<sup>Phe</sup> як модельна РНК, оскільки відомо, що AIMP1/p43 та його С-кінцевий модуль EMAP II мають широку специфічність відносно зв'язування різних тРНК. З метою виявлення потенційного тРНК зв'язуючого сайту на молекулярній поверхні AIMP1/p43 було проведено гнучкий докінг в програмі HEX. Відомо що білок AIMP1/p43 існує у вигляді гомодимеру, причому кожна субодиниця складається з N- (MET1-GLU70) та С- (SER147-LYS312) кінцевих модулів, які з'єднані довгою гнучкою неструктурованою ділянкою (ILE71-ASP146).

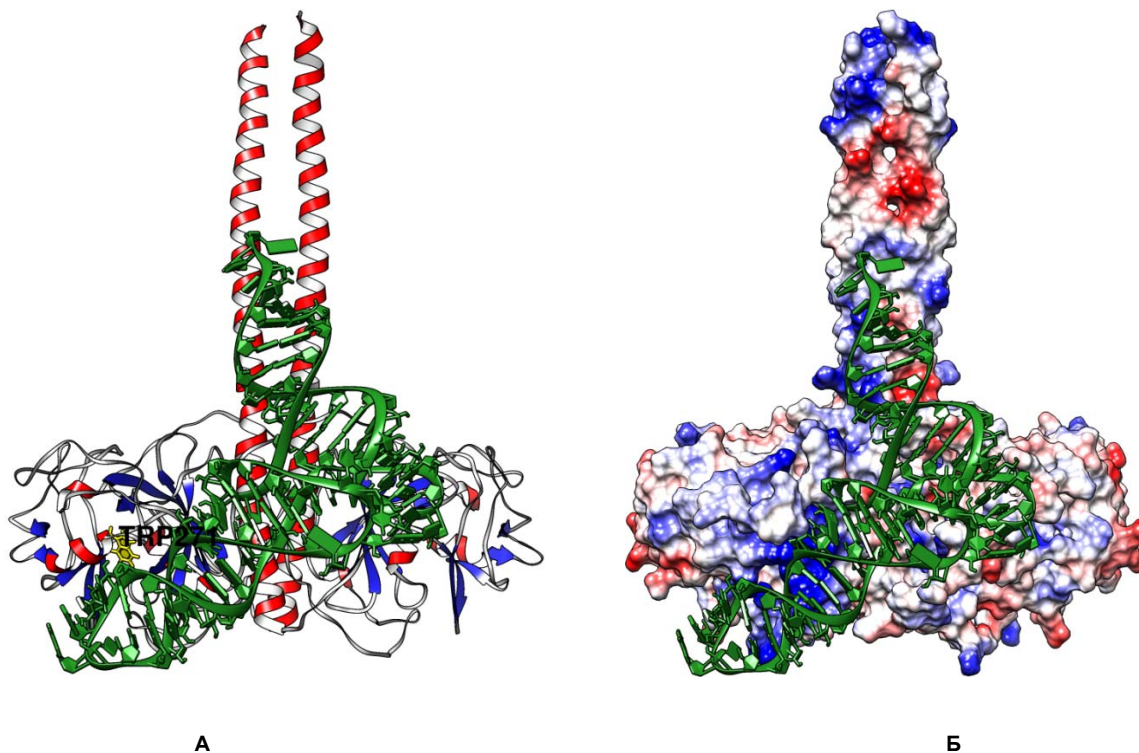


Рис.5. Молекулярний комплекс AIMP1/p43 з тРНК<sup>Phe</sup> (а), зеленим кольором позначена тРНК, жовтим – залишок Trp271(б) – молекулярна поверхня AIMP1/p43, забарвлена відповідно до електростатичного потенціалу

В результаті комп'ютерного моделювання докінгу AIMP1/p43 з тРНК<sup>Phe</sup> встановлено, що зв'язування тРНК відбувається з двома субодиницями білка: в N-модулі першої субодиниці з LEU31, LYS35 і в С-модулі з LYS124-GLY143 та ASN265-GLN273, а також в другій субодиниці з ділянкою PHE80-VAL105, яка належить до неструктурованого міжмодульного лінкера (рис. 5).

Слід зазначити, що ділянки LYS124-GLY143 та ASN265-GLN273 містять в послідовності значну кількість залишків лізіна, що формують позитивно заряджений кластер, де локалізований ароматичний залишок Trp271. Очевидно, що такий позитивно заряджений кластер може приймати участь в електростатичних взаємодіях з негативно зарядженими молекулами тРНК. Формування комплексу між тРНК та AIMP1/p43 призводить до стабілізації білкової глобули за рахунок того, що нуклеїнова

кислота одночасно взаємодіє з N- та С-кінцевими модулями AIMP1/p43, а також, очевидно, стабілізує неструктуровані ділянки міжмодульного лінкера.

#### Висновки.

Встановлено, що тРНК специфічно зв'язується з двома субодиницями рекомбінантного білка AIMP1/p43 у розчині. Найбільш вірогідним сайтом зв'язування є ділянки LYS124-GLY143 та ASN265-GLN273, що містять значну кількість залишків лізіна і формують позитивно заряджені кластери. Ароматичний залишок Trp271, частково експонований у заглибині на поверхні AIMP1/p43 поряд з функціонально важливим лізин-багатим кластером, також приймає участь у взаємодії з тРНК. Білок AIMP1/p43 у складі отриманого комплексу з тРНК в розчині є суттєво більш стабільним, ніж у вільному стані. Це відкриває можливості подальших структурно-

функціональних досліджень AIMP1/p43 та вивчення його взаємодії з тРНК, а також створення нових наноконструктивних комплексів для застосування в біомедицині.

#### 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. Chen V. B. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis / V.B. Chen, E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G.S. Couch // J Comput Chem. – 2004. – Vol. 25, N 13. – P. 1605-1612.
4. 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.
5. Fink A. L. Protein aggregation: folding aggregates, inclusion bodies and amyloid / A. L. Fink // Folding Dis. – 1998. – N 3. – P. R9–R23.
6. Francis D. M. Strategies to optimize protein expression in E.coli / D. M. Francis, R. Page // Curr Protoc Protein Sci. – 2010. – N5. – P. 1–29.
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. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Ritchie D.W. Evaluation of Protein Docking Predictions Using Hex 3.1 in CAPRI Rounds 1 and 2 / D.W. Ritchie // PROTEINS: Struct. Funct. Genet. – 2003. – N 52. – P. 98-106.
16. Shalak V. The EMAPII cytokine is released from the mammalian multisynthetase complex after cleavage of its p43/proEMAPII component / V. Shalak, M. Kaminska, R. Mitnacht-Kraus [et al.] // J Biol Chem. – 2001. – Vol. 276, N 26. – P. 23769–23776.
17. 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.

18. 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.

#### Reference

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. Chen VB, Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. J Comput Chem. 2004;25(13):1605-1612.
4. Dyson HJ, Wright PE. Intrinsically unstructured proteins and their functions. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2005;6(3): 197–208.
5. Fink AL. Protein aggregation: folding aggregates, inclusion bodies and amyloid. Folding Dis. 1998;(3): R9-R23.
6. Francis DM, Page R. Strategies to optimize protein expression in E.coli. Curr Protoc Protein Sci. 2010;5: 1–29.
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. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Ritchie DW. Evaluation of Protein Docking Predictions Using Hex 3.1 in CAPRI Rounds 1 and 2. PROTEINS: Struct. Funct. Genet. 2003;52: 98-106.
16. Shalak V, Kaminska M, Mitnacht-Kraus R [et al.] The EMAPII cytokine is released from the mammalian multisynthetase complex after cleavage of its p43/proEMAPII component. J Biol Chem. 2001; 276(26):23769–23776.
17. 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.
18. Wright PE, Dyson HJ. Intrinsically unstructured proteins: Reassessing the protein structure-function paradigm. J. Mol. Biol. 1999;293(2): 321-31.

Надійшла до редколегії 27.10.16

Н. Воробьева, асп., А. Корнелюк, чл.-кор. НАН України, д-р биол. наук, проф. Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна, Д. Ложко, млад. науч. сотр  
Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

#### СТАБИЛЬНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА AIMP1/P43 ЧЕЛОВЕКА В КОМПЛЕКСЕ С ТРНК

Исследовано взаимодействие рекомбинантного белка AIMP1/p43 – компонента аминоксил-тРНК-синтетазного комплекса высших эукариот в комплексе с тРНК. Показано, что в составе комплекса температурная стабильность AIMP1/p43 существенно повышается. Локальный конформационный переход остатка Trp271 AIMP1/p43, связанный с внутримолекулярной стабильностью белка, наблюдается при 43°C, а в составе комплекса с тРНК – при 49°C. На основе данных спектрофлуориметрического титрования установлены величина константы диссоциации и стехиометрия комплекса AIMP1/p43 с тРНК. Получена модель комплекса AIMP1/p43 с тРНК методом молекулярного докинга.

Ключевые слова: AIMP1/p43, тРНК, стабилизация, флуоресцентная спектроскопия.

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, Ukraine

#### STABILITY OF HUMAN RECOMBINANT AIMP1/P43 PROTEIN IN THE COMPLEX WITH tRNA

The interaction of AIMP1/p43 recombinant protein, which is a component of aminoacyl-tRNA synthetase complex in higher eukaryotes, in the complex with tRNA was studied. It was shown that temperature stability of AIMP1/p43 is significantly increased in the complex. Local conformational transition of residue Trp271 of AIMP1/p43, which is associated with intramolecular protein stability, is observed at 43°C, but in a complex with tRNA it is observed at 49°C. Based on the data of spectrofluorimetric titration the value of the dissociation constant and the stoichiometry of the complex of AIMP1/p43 with tRNA were determined. The model of the complex of AIMP1/p43 with tRNA was obtained by the molecular docking method.

Key words: AIMP1/p43, tRNA, stabilization, fluorescence spectroscopy.