

Структура шаперонина бактериофага AR9 *Bacillus Subtilis* по данным криоэлектронной микроскопии

Научный руководитель – Соколова Ольга Сергеевна

Маслова Екатерина Сергеевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: ekatherine.ms@gmail.com

Шаперонины - это семейство молекулярных шаперонов Hsp60 (белков теплового шока 60), представляющих собой высоко консервативные макромолекулярные комплексы с характерной бочкообразной структурой. Их функцией является изоляция от внутриклеточной среды и обеспечение правильного фолдинга белков с использованием энергии гидролиза АТФ. Классически выделяют два семейства: шаперонины группы I и шаперонины группы II [1]. Ранее было предсказано наличие GroEL-подобных белков у бактериофагов, заражающих бактерий, и получена трехмерная реконструкция первого вирусного шаперонина [2]. Было показано, что вирусный шаперонин имеет сходство с бактериальным GroEL, однако имеет ряд существенных отличий. Данные, полученные в ходе предыдущего исследования, позволили предположить, что вирусные шаперонины возможно выделить в отдельную группу, но они все еще остаются недостаточно исследованными [3].

Целью настоящей работы является получение структуры рекомбинантного шаперонина бактериального фага AR9 *Bacillus Subtilis* при помощи криоэлектронной микроскопии.

На начальном этапе исследования шаперонина был выделен и очищен белок gp228, получены электронные микрографии с использованием криоэлектронного микроскопа ThemisZ (Thermo Fisher Scientific). При помощи программы Relion 3.0b [5], осуществляющей обработку изображений методом анализа отдельных частиц, было отобрано ~3800 отдельных изображений частиц шаперонина в различных положениях и получена начальная трехмерная структура с C7 симметрией и разрешением в 13,7Å (рис. 1.a). Далее с другого образца этого же белка было получено 3182 стека микрографий на криоэлектронном микроскопе Titan Krios (Thermo Fisher Scientific). Обработка данных производилась при помощи программы CryoSparc [4]. Была получена структура со средним разрешением в 3,7Å (рис. 1.b) из ~331000 отобранных частиц. Симметрия полученной структуры - C1, так как апикальные домены оказались достаточно подвижными.

Автор благодарит проф. Филиппе Море (университет Нанта, Франция) за возможность использования микроскопа ThemisZ, проф. Курочкину Лидию Петровну (НИИ Физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Москва, Россия) за предоставление образца шаперонина и Пичкур Евгения Борисовича (НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия) за сбор и обработку данных и получение структуры с разрешением 3,7Å.

Источники и литература

- 1) Horwich A. L. et al. Two families of chaperonin: physiology and mechanism // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. – 2007. – Т. 23. – С. 115-145.
- 2) Molugu S. K. et al. Ring separation highlights the protein-folding mechanism used by the phage EL-encoded chaperonin // Structure. – 2016. – Т. 24. – №. 4. – С. 537-546.

- 3) Stanishneva-Konovalova T. B. et al. Cryo-EM reveals an asymmetry in a novel single-ring viral chaperonin //Journal of Structural Biology. – 2019. – С. 107439.
- 4) Punjani A. et al. cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination //Nature methods. – 2017. – Т. 14. – №. 3. – С. 290.
- 5) Zivanov J. et al. New tools for automated high-resolution cryo-EM structure determination in RELION-3 //Elife. – 2018. – Т. 7. – С. e42166.

Иллюстрации

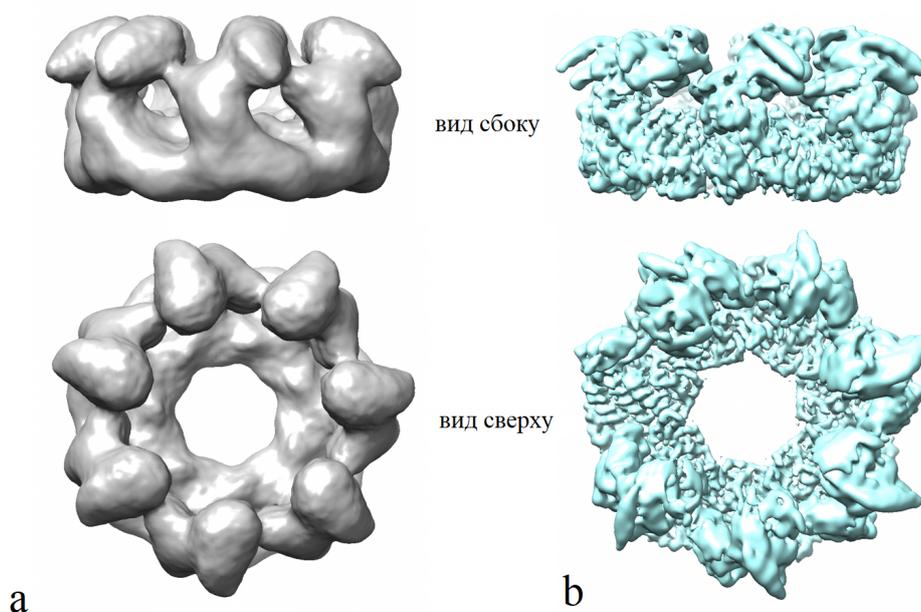


Рис. 1. а. Трехмерная реконструкция структуры шаперонина бактериофага AR9 *Bacillus Subtilis* по данным криоэлектронной микроскопии, полученным на микроскопе Themis Z (~3800 отдельных частиц). Разрешение 13,7Å. C7-симметрия. б. Трехмерная реконструкция структуры шаперонина бактериофага AR9 *Bacillus Subtilis* по данным криоэлектронной микроскопии, полученным на микроскопе Titan Crios (~331000 отдельных частиц). Разрешение 3,7Å. C1-симметрия.