

УДК: 544.022.522; 539.261; 577.322.9

**Анализ структуры нанодисков и встроенных в них мембранных белков на основе данных малоуглового рассеяния**

Ю.Л. Рижиков<sup>1</sup>, М.Н. Николаев<sup>1,2,3</sup>, А.В. Рогачёв<sup>1,4</sup>, Д.В. Соловьёв<sup>1,4</sup>, Е.В. Зиновьев<sup>1</sup>,  
А.В. Власов<sup>1</sup>, В.И. Борщевский<sup>1</sup>, В.И. Горделий<sup>1,2,4,5</sup>, А.И. Куклин<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)

<sup>2</sup>Institute of Complex Systems-5: Molecular Biophysics, Research Centre Juelich, Германия

<sup>3</sup>École Polytechnique Fédérale de Lausanne

<sup>4</sup>Объединённый институт ядерных исследований

<sup>5</sup>Institute of Structural Biology, J.P. Ebel, Grenoble, France

Мембранные белки, встроенные в нанодиски, сохраняют свою функциональную активность [1-3]. Как мембраноимитирующая среда нанодиски имеют ряд преимуществ перед липосомами, бицеллами и мицеллами, использование которых осложнено полидисперсностью, кривизной поверхности, нестабильностью и агрегацией из-за межбелкового взаимодействия. На сегодняшний день нанодиски уже нашли некоторые научно-технические приложения, такие как кристаллизация мембранных белков и анализ связывания с лигандами методом плазмонного резонанса [4]. Однако методы их использования в малоугловом рентгеновском и нейтронном рассеянии (МУРР и МУРН) для определения структуры белков в нативном окружении развиты слабо. Только в течение последних нескольких лет стали появляться статьи о фазовых состояниях нанодисков и структуре встроенных в них белков, определяемых методом малоуглового рассеяния [5-7].

В данной работе представлены результаты анализа структуры нанодисков и встроенных в них мембранных белков.

Для пустых нанодисков, а также нанодисков со встроенными в них мономерами и тримерами бактериородопсина, измерены кривые МУРР. Измерения проводились на установке BM29 (ESRF, Гренобль, Франция) [8]. Из данных малоуглового рассеяния методом косвенного Фурье-преобразования [9] вычислены функции распределения по расстояниям.

Проведён расчёт малоугловых кривых и функций распределения по расстояниям для нескольких модельных систем, имитирующих распределение электронной плотности для пустого нанодиска и для нанодиска со встроенным в него мембранным белком. Показано качественное соответствие функций распределения по расстояниям, полученных из теоретического расчёта и из экспериментальных данных малоуглового рентгеновского рассеяния. Доказано, что объекты, рассеивающие рентгеновское излучение, имеют форму

и распределение плотности, близкие к форме рассмотренных модельных тел. Таким образом, установлено, что фосфолипиды и белок MSP [10] образуют нанодиски и бактериородопсин действительно встроился в липидный бислой в составе нанодиска.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 13-04-91320 и 13-02-01460) и программы “5Top100”.

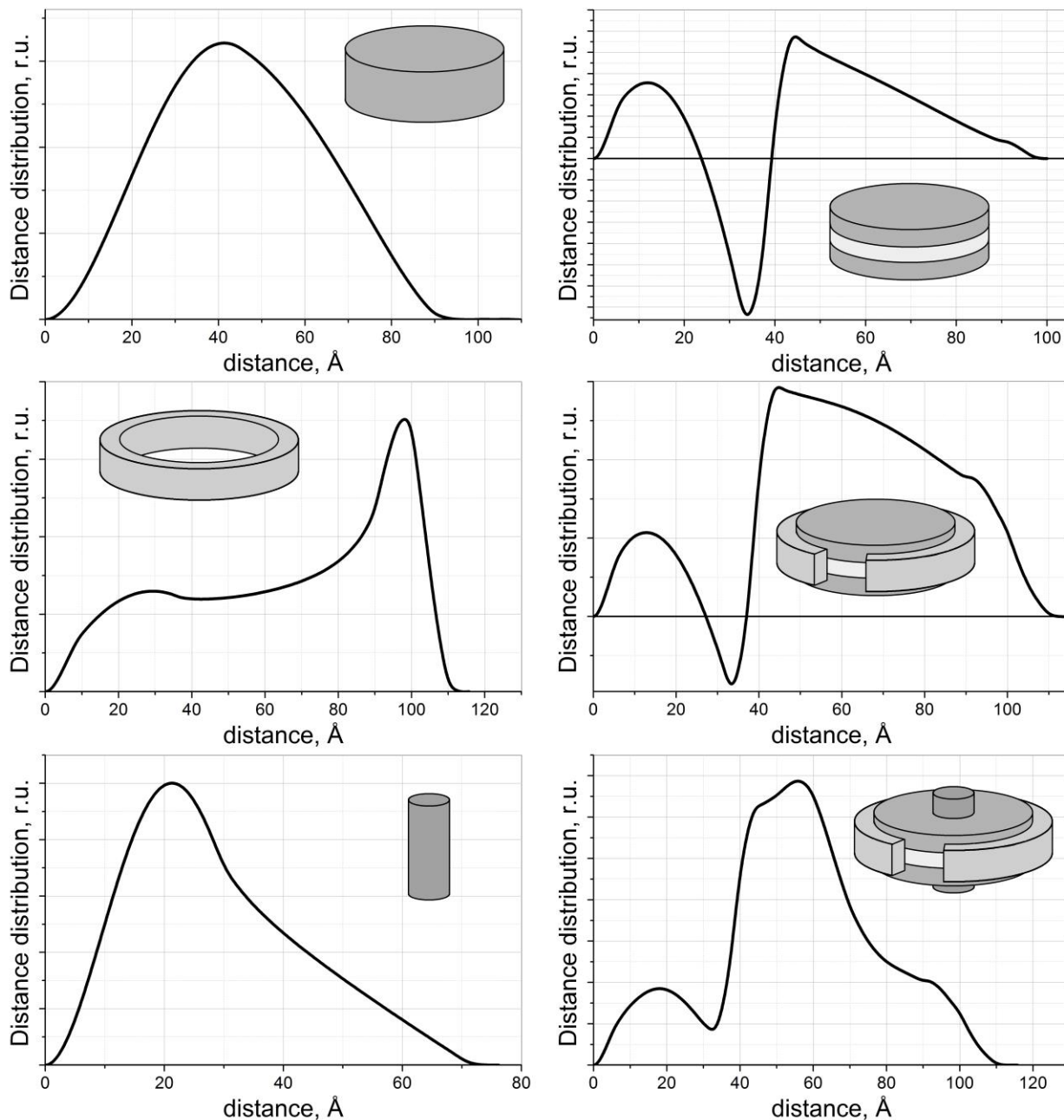


Рис. 1. Расчётные функции распределения по расстояниям для модельных объектов, имитирующих распределение электронной плотности мембранного белка, пустого нанодиска и его компонентов, а также нанодиска со встроенным белком.

#### Литература

1. Timothy H. Bayburt, Stephen G. Sligar., Membrane protein assembly into Nanodiscs, *Frontiers in Membrane Biochemistry*, V. 584, Issue 9, 3 May 2010, Pages 1721–1727.

2. Bayburt T.H., Grinkova Y.V., Sligar S.G. (2006) Arch. Biochem. Biophys. 450, 215–222.
3. Heyn, M.P., Cherry, R.J. and Dencher, N.A. (1981) Biochemistry 20, 840–849.
4. Y.V. Stebunov, O.A. Afteneva, A.V. Arsenin, V.S. Volkov, Highly sensitive and selective sensor chips with graphene-oxide linking layer // ACS Applied Materials & Interfaces 2015, 7 (39), pp 21727–21734
5. Skar-Gislinge, N. et al, 2010. Elliptical Structure of Phospholipid Bilayer Nanodiscs Encapsulated by Scaffold Proteins: Casting the Roles of the Lipids and the Protein. J. Am. Chem. Soc., 132(39), 13713-13722.
6. Søren A R Kynde et al. Small-angle scattering gives direct structural information about a membrane protein inside a lipid environment, Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 2014 Feb 29; 70(Pt 2): 371-83.
7. Yu. Ryzhykau et al. Small-angle scattering studies of phospholipids phase transition in membrane mimicking systems.// FEBS Journal Volume 282, Issue Supplement s1, p. 235.
8. ESRF – European Synchrotron Radiation Facility. URL:  
[http://www.esrf.eu/home/UsersAndScience/Experiments/MX/About\\_our\\_beamlines/bm2\\_9.html](http://www.esrf.eu/home/UsersAndScience/Experiments/MX/About_our_beamlines/bm2_9.html)
9. Свергун Д. И., Фейгин Л. А., Рентгеновское и малоугловое рассеяние, – М.: Наука, 1986. – 279 с.
10. T.K. Ritchie, Y.V. Grinkova, T.H. Bayburt, I.G. Denisov, J.K. Zolnerciks, W.M. Atkins, S.G. Sligar, Reconstitution of membrane proteins in phospholipid bilayer nanodiscs, Methods in Enzymology (2009), pp. 211–231 (Chapter 11)