

## **Исследование формирования доменов липидной кубической фазы при кристаллизации мембранных белков.**

Д.А. Гринько<sup>1</sup>, А.О.Богородский<sup>1</sup>, В.И.Борщевский<sup>1</sup>

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

*In meso* кристаллизация мембранных белков [1,2] - доказавший свою состоятельность метод, с помощью которого получены кристаллы и решены структуры многих мембранных белков, в частности бактериальных родопсинов, рецепторов, связанных с G белком (GPCR) и других белков.

Для роста кристалла после образования зародыша необходима свободная диффузия белка в кубической фазе. Одним из методов оценки подвижности белка является FRAP [3]. Однако [3] не рассматривает возможное доменное устройство липидной кубической фазы (рис. 1).

Свободная диффузия через границу доменов может быть затруднена, что в свою очередь вызовет затруднения при росте кристалла, снижая его конечный размер.

Используя конфокальную лазерную сканирующую микроскопию (LSM) мы исследуем распределение белка в кубической фазе во времени, используя солюбилизованный бактериородопсин, который сравнительно легко кристаллизуется и обладает нативной флуоресценцией, и влияние различных факторов на размер доменов (такие как концентрации соли внутри/вне фазы, концентрация детергента, температура), а также возможные способы увеличения среднего доменного размера в фазе.

Также были проведены измерения мозаичности фазы на установке малоуглового рентгеновского рассеяния (SAXS). Мозаичность (пространственное распределение кристаллических решеток доменов фазы) также позволяет судить о степени однородности фазы.

Полученные данные позволят глубже понять эволюцию во времени распределения белка при кристаллизации в кубической фазе, что потенциально даст возможность определения лучших параметров для роста кристаллов мембранных белков.

### Литература

1. Landau E.M., Rosenbusch J. P. Lipidic cubic phases: A novel concept for the crystallization of membrane proteins // PNAS – 1996. – V. 93, N 25. – P. 14532–14535.

2. *Caffrey M., Cherezov V.* Crystallizing Membrane Proteins Using Lipidic Mesophases // *Nat Protoc.* – 2009. – V. 4, N 5. – P. 706–731.
3. *Cherezov V. [at al.]* LCP-FRAP Assay for Pre-Screening Membrane Proteins for in Meso Crystallization. // *Cryst. Growth Des.* – 2008. – V. 8, N 12. – P. 4307–4315.

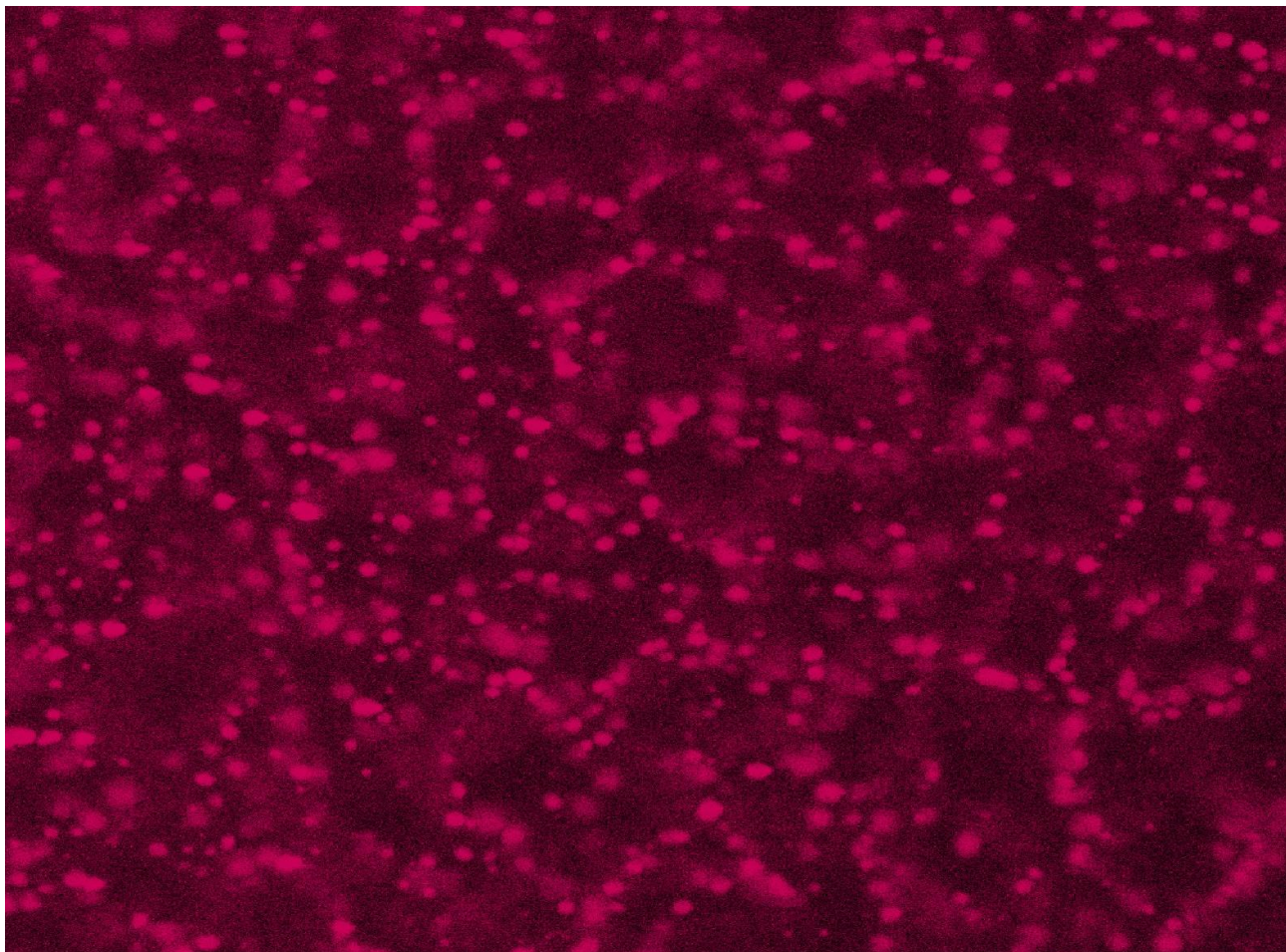


Рис 1. Пример доменной структуры кубической фазы, получающейся при использовании несолюбилизированного бактериородопсина. На снимке видны агрегаты пурпурных мембран (PM), которые предположительно образуют границы доменов кубической фазы.