

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка Российской академии наук

Программа подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре
06.06.01 Биологические науки
Направленность (профиль) – Молекулярная биология

Селиханов Георгий Константинович

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КРИСТАЛЛИЗАЦИИ РЕАКЦИОННОГО
ЦЕНТРА РНОДОВАСТЕР SPHAEROIDES ДЛЯ ПОТОЧНОЙ
КРИСТАЛЛОГРАФИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНХРОТРОННОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ И ЛАЗЕРА НА СВОБОДНЫХ ЭЛЕКТРОНАХ**

Аннотация научно-квалификационной работы

Научный руководитель:
к.ф.-м.н. А.Г. Габдулхаков



Выпускник: Г.К. Селиханов



Пуццино
2020

Для проведения структурных исследований методами поточной кристаллографии необходима эффективная методика белковой кристаллизации, которая позволяет получить большое количество небольших качественных кристаллов. Целью нашей работы была разработка такой методики для фотосинтетического реакционного центра бактерий *Rhodobacter sphaeroides*.

В ходе проделанной работы нами были опробованы и оптимизированы различные методики кристаллизации реакционного центра, включающие кристаллизацию *in vitro* и *in meso* различными техниками. Из них самой эффективной оказалась кристаллизация в липидной губчатой фазе, которая позволила получить качественные кристаллы реакционных центров дикого типа, а также мутантов I(L177)Y и F(M197)H. Максимальное разрешение для кристаллов дикого типа в криоусловиях составило 1,8 Å, что является наилучшим разрешением для мезофазной кристаллизации для этого объекта на сегодняшний день. Также были получены кристаллические структуры при комнатной температуре, наилучшее разрешение для которых составило 2,1 Å.

В процессе работы была обнаружена проблема замещения нативных кофакторов РЦ, сфероидена и вторичного хинона, на ненативные лиганды. Мы идентифицировали ненативные лиганды. С помощью со-кристаллизации с естественным кофактором, нам удалось конкурентно вытеснить ненативный лиганд из сайта связывания каротиноида сфероидена.

Мы разработали методику кристаллизации реакционных центров в пластиковых наконечниках в липидной губчатой фазе в сравнительно больших объемах. Данная методика позволила провести тщательный поиск условий кристаллизации, в результате которого было получено множество качественных кристаллов РЦ, которые в последствие были использованы для экспериментов поточной кристаллографии на синхротроне и с использованием лазера на свободных электронах. Данную методику принципиально возможно применять для других интегральных мембранных белков.