

Определение олигомеризации мембранных белков методом локализационной микроскопии одиночных молекул

Научный руководитель – Борщевский Валентин Иванович

Бесценная Е.И.¹, Борщевский В.И.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: bestsennaya.ei@phystech.edu*; 2 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: borshchevskiy@gmail.com*

Мембранные белки задействованы во множестве жизненно необходимых процессов. Чтобы понимать механизмы функционирования мембранных белков, важно знать их структуру в естественной среде, в том числе олигомерное состояние. Популярными методами структурной биологии, такие как рентгеноструктурный анализ и криоэлектронная микроскопия, позволяют определять структуру с высоким разрешением, но требуют сложной подготовки образца и выделения белка из его естественного окружения. Альтернативой, позволяющей исследовать мембранные белки непосредственно в клетке, является флуоресцентная микроскопия. В данной работе олигомерное состояние мембранных белков определяется с помощью одного из методов локализационной микроскопии одиночных молекул — PALM (photoactivated localization microscopy, [1]). Целевые белки исследования — трансмембранные семиспиральные ретинальные белки, являющиеся главными инструментами в оптогенетических экспериментах. Для исследования их олигомерного состояния клетки нейробластомы человека трансфецировали плазмидой, содержащей химерные конструкции целевого белка с флуоресцентным белком-репортером. Данные микроскопии использовали для анализа статистики перехода белка-репортера в темновое состояние. Распределение количества миганий в белковых кластерах позволило определить их степень олигомеризации [2]. Работа выполнена при поддержке РФФИ 20-34-70034.

Источники и литература

- 1) Samuel T.Hess, Thanu P.K.Girirajan, Michael D.Mason Ultra-High Resolution Imaging by Fluorescence Photoactivation Localization Microscopy // Biophysical Journal Volume 91, Issue 11, 1 December 2006, Pages 4258-4272
- 2) Carmen Krüger, Franziska Fricke, Christos Karathanasis, Marina S. Dietz, Sebastian Malkusch, Gerhard Hummer, Mike Heilemann Molecular counting of membrane receptor subunits with single-molecule localization microscopy // Proceedings Volume 10071, Single Molecule Spectroscopy and Superresolution Imaging X; 100710K, 2017