

**Использование сополимеров SMA для солюбилизации мембранной фракции клеток COS-1, содержащей канал Kv10.2**

**Научный руководитель – Соколова Ольга Сергеевна**

**Качер Юлия Германовна**

*Студент (бакалавр)*

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

*E-mail: juliakacher007@gmail.com*

Использование сополимеров SMA для солюбилизации мембранной фракции клеток COS-1, содержащей канал Kv10.2

Качер Ю. Г., Глухов Г.С.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический ф-т, каф. Биоинженерии, Россия, Москва, 119992, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Тел.: +7(916)0859418,

E-mail: kacher.julia.2015@post.bio.msu.ru

Изучение структуры мембранных белков - одна из актуальных биоинженерных задач. Информация о структуре белка позволяет изучать его биохимические свойства, прогнозировать характер его взаимодействия с различными лигандами, в том числе и с потенциальными лекарственными препаратами. Получение структуры интегральных белков в нативном окружении - сложный процесс, требующий оптимизации, поэтому методики выделения и очистки таких белков, в частности ионных каналов, постоянно совершенствуются. Одним из новейших методов выделения белков в нативном липидном окружении является использование сополимера стирола и малеиновой кислоты (SMA) [1].

Бездетергентная изоляция мембранных белков возможна благодаря тому, что чередующиеся гидрофобные (стирольные) и гидрофильные (малеиновые кислоты) фрагменты SMA делают его амфипатическим, и, следовательно, способным встраиваться в биологические мембраны. Частицы, содержащие небольшие участки мембраны и трансмембранный белок, ограниченные полимером, называются нанодисками (SMALP). Такие SMALP являются водорастворимыми и могут быть очищены стандартными методами аффинной хроматографии. Важно отметить, что этот метод очистки мембранного белка без детергентов с сохранением естественной липидной среды позволяет не нарушить нормальное функционирование белка [2].

Нами было проведено выделение потенциал-зависимых калиевых каналов из мембранной фракции с использованием SMA [3]. Каналы были экспрессированы в эукариотических клетках линии COS 1 (фибробласты почки африканской зеленой мартышки), подобрана методика солюбилизации каналов с использованием SMA, а также последующего выделения с использованием аффинной хроматографии.

Для подтверждения образования наночастиц SMALP с интегрированным в них белком канала были использованы различные методики. Для определения гидродинамического диаметра полученных частиц, а также оценки эффективности сборки, полученные образцы SMALP были проанализированы с использованием динамического светорассеяния (DLS). Встраивание канала в SMA было подтверждено белковым иммуноблоттингом. По результатам анализа данных, полученных с помощью электронной микроскопии, можно сказать, что солюбилизация каналов в SMA проходит успешно [4].

Работа выполнена частично при поддержке гранта РФФИ для молодых ученых (18-74-00087). Электронная микроскопия выполнялась на базе ЦКП Биологического факультета МГУ “Электронная микроскопия в науках о жизни” с использованием УНУ “3D- ЭМС”.

#### Источники и литература

- 1) The styrene–maleic acid copolymer: a versatile tool in membrane research// Jonas M. Dörr, Stefan Scheidelaar, Martijn C. Koorengevel, Juan J. Dominguez, Marre Schäfer, Cornelis A. van Walree, J. Antoinette Killian// Eur Biophys J. 2016; 45: 3–21. doi: 10.1007/s00249-015-1093-y
- 2) Detergent-free solubilization of human potassium channels expressed in eukaryotic cells// Karlova M.G., Glukhov G.S., Kacher J.G., Shaitan K.V., Sokolova O.S.// Journal of Bioenergetics and Biomembranes (New York, USA), том 50, № 6 DOI
- 3) Detergent-free solubilization of human Kv channels expressed in mammalian cells// M.G.Karlova, N.Voskoboynikova, G.S.Gluhov, D.Abramochkin, O.A.Malak, A.Mulkidzhanyan, G.Loussouarnd, H-J.Steinhoff, K.V.Shaitan, O.S.Sokolova // <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2019.01.013>
- 4) The use of SMALPs as a novel membrane protein scaffold for structure study by negative stain electron microscopy// Vincent Postis et al // <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.10.018>