

Исследования структурных особенностей РНК-полимеразы *E. Coli* методом электронной микроскопии.

Научный руководитель – Соколова Ольга Сергеевна

Осина Елизавета Васильевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: osina.elizaveta00@mail.ru

Транскрипция - процесс полимеризации РНК на матрице ДНК, который во всех типах клеток катализируют ДНК-зависимые РНК-полимеразы (РНКП). Транскрипция хроматина *in vivo* происходит с преодолением РНКП нуклеосом, являющихся барьером для её прохождения [2, 4]. При продвижении РНКП по матричной ДНК образуется *элонгационный комплекс (ЭК) - центральный интермедиат транскрипции*. В данной работе планируется изучение ЭК, который включает в себя РНКП, синтезируемую РНК, ДНК-матрицу и позиционированную на ней нуклеосому. Так как нарушения при транскрипции хроматина могут служить причиной ряда заболеваний, в том числе нейродегенеративных и онкологических [5], изучение механизмов транскрипции хроматина путём моделирования структуры ЭК может иметь как фундаментальное, так и практическое значение. ДНК-зависимая РНКП *E. coli* является одним из наиболее изученных ферментов. При присоединении к её кор-ферменту σ -субъединицы образуется холофермент. Так как основные принципы структурной организации и функционирования РНКП *E. coli* изучены, её холофермент является классическим модельным объектом для детальных структурных исследований [1, 3]. По этой причине холофермент РНКП *E. coli* был выбран в данной работе для отработки условий пробоподготовки. Установленную методику планируется использовать для последующего изучения структуры элонгационных комплексов методом криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ).

Для изучения молекулярной структуры холофермента РНКП *E. coli* в данной работе применяются высокоточные методы электронной микроскопии, а также методы компьютерной обработки полученных изображений. Качество полученной структуры напрямую зависит от чистоты и гомогенности белкового препарата. Также важно соответствие структуры РНКП нативной, для этой цели составлен специальный буфер, поддерживающий РНКП в функциональном состоянии. Предложенная в работе методика с применением метода негативного контраста в просвечивающей электронной микроскопии, а также крио-ЭМ, была применена для препарата РНКП *E. coli*. В результате получили 2D классы и построили 3D модель, которая свидетельствует о сохранении нативной конформации фермента, что позволяет применить данную методику в крио-ЭМ высокого разрешения для визуализации ЭК.

Источники и литература

- 1) Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick: Lewin's GENES X // Jones & Bartlett Publishers, 2009, ISBN 1449649831, 9781449649838.
- 2) Kulaeva O.I., Gaykalova D.A., Pestov N.A., Golovastov V.V., Vassylyev D.G., Artsimovitch I., Studitsky V.M.: Mechanism chromatin remodeling and recovery during passage of RNA polymerase II // Nat. Struct. Mol. Biol. 2009 Vol. 16 N 12 P. 1272–1278.

- 3) Murakami, K. S., and Darst, S. A. (2003) Bacterial RNA polymerases: The whole story // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 13, 31–39 CrossRef Medline.
- 4) Sheila S Teves, Christopher M Weber, Steven Henikoff: Transcribing through the nucleosome // PMID: 25455758.
- 5) Tong Ihn Lee, Richard A Young: Transcriptional regulation and its misregulation in disease // *Cell.* 2013 Mar 14;152(6):1237-51.