

Изучение эффекта димеризации апоферритина методом малоуглового рассеянияЮ.Л. Рижиков¹, Д.В. Забельский¹, А.В. Власов¹, Е.В. Зиновьев¹, Д.В. Соловьёв^{1,2,3}, А.И. Куклин^{1,2}¹Московский физико-технический институт (государственный университет)²Объединённый институт ядерных исследований³Институт проблем безопасности атомных электростанций Национальной академии наук Украины

Данная работа посвящена исследованию влияния димеризации апоферритина на результаты измерений методом малоуглового рассеяния (МУР), и, соответственно, изучению возможности применения МУР для получения информации о таких параметрах, как расстояние между молекулами в димере, доля димеров в растворе по отношению к мономерам и т.д.

Получено уравнение связи кривых рассеяния (приходящихся на одну частицу) для мономеров и димеров сферически-симметричных объектов. Показано, что связь имеет следующий вид:

$$i_{dimer}(q) = f(q) \cdot i_{monomer}(q) \quad (1)$$

$$f(q) = 2 \cdot \left(1 + \frac{\sin(q \cdot d)}{q \cdot d} \right) \quad (2)$$

где d – расстояние между мономерами в димере.

Радиусы инерции димера и мономера связаны соотношением:

$$Rg_{dimer}^2 = (d/2)^2 + Rg_{monomer}^2 \quad (3)$$

В соответствии с выражением (1), зависимость интенсивности от модуля вектора рассеяния в случае, когда часть молекул образуют димеры, принимает вид:

$$I(q) = n \cdot \left(1 + \alpha \cdot \left(\frac{f(q)}{2} - 1 \right) \right) \cdot i_{monomer}(q) \quad (4)$$

где α – доля молекул, образовавших димеры, n – концентрация молекул.

Зависимость от α таких инвариантов рассеяния, как интенсивность в нулевой угол и радиус инерции, описывается следующими выражениями:

$$I(0) = n \cdot (1 + \alpha) \cdot i_{monomer}(q) \quad (5)$$

$$Rg = \sqrt{Rg_{monomer}^2 + \frac{2 \cdot \alpha}{1 + \alpha} \cdot \left(\frac{d}{2} \right)^2} \quad (6)$$

Использование формул (5) и (6) для анализа инвариантов рассеяния, а также формулы (4) для фитирования экспериментальных данных, является достаточным условием для получения информации о доле димеризовавшихся молекул и расстоянии между такими молекулами в димере.

Концентрация n молекул может быть измерена методом абсорбционной спектрофотометрии, так как поглощение света молекулами обычно не зависит от того, существуют они в виде мономеров или димеров. Если же таковая зависимость имеет место, она может быть изучена путём анализа экспериментальных данных малоуглового рассеяния с помощью указанных выше формул (4) – (6).

Предложенная методика была применена для анализа данных малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР), полученных для растворов апоферритина. Этот белок состоит из 24 субъединиц, объединённых в 12 димеров, которые образуют грани ромбододекаэдра. Апоферритин имеет форму, близкую к сферической оболочке с внешним и внутренним диаметром порядка 125 и 80 Å соответственно [1]. Эксперименты проводились на МУРР установке BM29, ESRF (Гренобль, Франция) [2]. Одновременно с МУРР измерениями проводилась гель-хроматография. Были получены кривые рассеяния для чистых мономеров и чистых димеров апоферритина, что позволило проверить применимость формулы (2), а также сделать некоторые предположения относительно изменений коэффициента экстинкции при димеризации. Пики на хроматограмме, соответствующие мономерам и димерам, имеют область пересечения. Для кривых рассеяния от фракций из этой области проведён анализ на основе формул (4) – (6).

Использовавшиеся в работе методы и полученные теоретические результаты могут быть обобщены на все макромолекулы, близкие по строению к сферически-симметричным частицам, то есть обладающие как можно меньшими отличиями размеров вдоль каждого из направлений.

Работа выполнена при поддержке программы «5ТОП100».

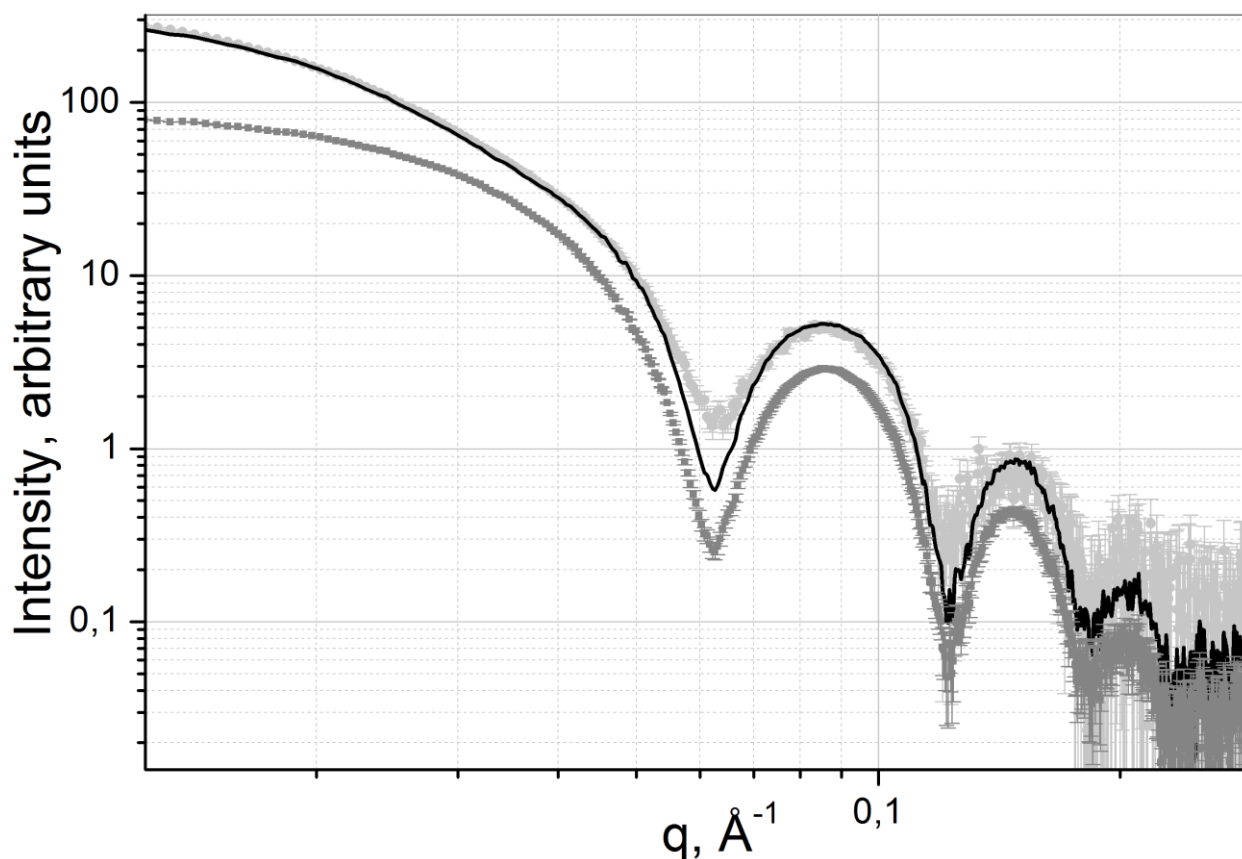


Рисунок 1. Экспериментальные МУПП кривые для мономеров и димеров апоферритина (окрашены темно-серым и светло-серым цветом соответственно) и теоретическая кривая (чёрная) для димеров, построенная на основе экспериментальных данных для мономеров и формулы (4). Расстояние между молекулами в димере полагалось равным 125 Å.

Литература

1. Murugova T.N., Vlasov A.V., Ivankov O.I., Rogachev A.V., Ryzhykau Yu.L., D.V. Soloviov, A. Zhigunov, E.V. Zinovev, Yu.S. Kovalev, A. Round, V.I. Gordeliy, A.I. Kuklin. Low resolution structural studies of apoferritin via SANS and SAXS: the effect of concentration // Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, Sept – Oct 2015, V. 17, No. 9-10, p. 1397-1402
2. Pernot P., Round A., Barrett R., Antolinos A.M., Gobbo A., Gordon E., Huet J., Kieffer J., Lentini M., Mattenet M., Morawe C., Mueller-Dieckmann C., Ohlsson S., Schmid W., Surr J., Theveneau P., Zerrad L., McSweeney S. Upgraded ESRF BM29 beamline for SAXS on macromolecules in solution. J Synchrotron Radiat. 2013 Jul 1; 20(Pt 4): 660–664.
3. Vlasov A.V., Murugova T.N., Grudin S.V., Oleksandr Ivankov O.I., Soloviov D.V., Rogachev A.V., Round A., Ryzhykau Yu.L., Mishin A.S., Balandin T., Borschevskiy V.I., Gordeliy V.I., Kuklin A.I. Protein structure and structural ordering versus concentration dependence // FEBS Journal, 2014, Volume 281, Issue Supplement s1, p. 593.
4. Zabelskii D.V., Ryzhykau Yu.L., Soloviov D.V., Vlasov A.V., Zinovev E.V., Pernot P., Rogachev A.V., Gordeliy V.I., Kuklin A.I. Analysis of spherical shell model for SAXS-coupled to SEC of apoferritin and ferritin // BIOMEMBRANES 2016: Mechanisms of Aging and Age-Related Diseases. International Conference. Dolgoprudny: MIPT, 2016. ISBN 978-5-903423-11-8. Book of Abstracts. – p. 172.