

## Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

### Изучение структур РНК-полимеразы и элонгационных комплексов РНК-полимераза – нуклеосома (+24 и +39) методами электронной микроскопии.

*Волох Олеся Игоревна*

*Аспирант*

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

*E-mail: olesyavolokh@gmail.com*

Образование хроматиновых структур ядра является необходимым механизмом для компактизации и регуляции генетического материала клетки. Хроматиновая субъединица – нуклеосома – включает гистоновый октамер (коровые пары гистоновых белков, называемых H1A/H1B, H2A/H2B и H3/H4), а так же фрагмент ДНК, длиной приблизительно 147 п.н., закрученной вокруг коровых гистонов. Ход процесса транскрипции через нуклеосому в эукариотических клетках обычно сопровождается сохранением («выживанием») нуклеосомы, и формированием различных элонгационных комплексов (ЭК). Полимераза, связывающаяся с промотором, начинает транскрипцию по направлению ДНК (“downstream”). Начиная с момента достижения полимеразой области нуклеосомы, начинают формироваться элонгационные комплексы (ЭК+1 (+1...+39,+41) и т.д.), когда полимераза находится, соответственно в положении 1 пары оснований ДНК гистона (39,41 и т.д.)

Механизм прохождения транскрипции ДНК через нуклеосому, сопровождаемый структурными изменениями и формированием структурно-различных комплексов интермедиатов, таких как нулевая петля (O-петля), для остальных структур интермедиатов остается до конца не ясным.

В данной работе проводилось изучение элонгационных комплексов полимеразы II и нуклеосомы в положениях +24/+39 методами электронной микроскопии и томографии.

Первоначально были отработаны протоколы подготовки образцов РНК полимеразы с нуклеосомами для ПЭМ, полученные образцы исследовались с использованием методики негативного контрастирования и крио-микроскопии. Апробированы методики и разработан подход для проведения STF-коррекции микрофотографий интермедиатов, позволяющий учитывать в реконструкции дефокус, с которым сняты отдельные

микрофотографии. Данная методика позволяет уменьшить «шум» в реконструкции, а так же увеличить разрешение. Разработаны процедуры сбора ЭМ изображений частиц, полосовой фильтрации, центрирования,

трансляционного и ротационного выравнивания, классификации изображений, обратных проекций, циклического выравнивания относительно имеющейся модели и разрешения трехмерных конструкций. При получении предварительной трехмерной реконструкции были последовательно использованы программные пакеты IMAGIC-5 и Frealign.

В результате проведенной работы были получены предварительные трехмерные реконструкции элонгационных комплексов +24 и +39. Было показано, что в комплексе +39, нуклеосома и полимеразы расположены более обособленно, чем в комплексе +24.

*Конференция «Ломоносов 2013»*

Данная информация была учтена при повторной обработке микроскопических изображений с целью улучшения разрешения последующих реконструкций.