



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

II ВСЕРОССИЙСКОЙ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

**«СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
МИКРООРГАНИЗМОВ»**



brc.arriam.ru

**Санкт-Петербург
26-27 июня 2023 г.**

Использование генетических коллекций для изучения структуры амилоидных агрегатов *in vivo*

Бондарев С.А.^{1,2}

¹ Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Амилоиды — это белковые агрегаты с кросс-β структурой. Определение структуры амилоидных агрегатов на сегодняшний день является крайне трудоёмкой задачей. Современные биофизические методы могут решать эту задачу *in vitro*, но очевидно, что эти результаты сложно экстраполировать на живые объекты. В своей работе мы предложили подход, позволяющий приблизиться к решению этой проблемы и основанный на использовании коллекций дрожжевых штаммов и плазмид кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ. Другим важным компонентом этого метода стала программа BetaSerpentine, которая способна моделировать разнообразные варианты укладки белка в составе амилоидных агрегатов. Сочетание этих данных с результатами мутационного анализа позволяет выделить конкретные структуры, позволяющие объяснить эффекты замен *in vivo*. Например, если некая мутация приводит к элиминации амилоидных агрегатов, то можно предположить, что соответствующий белок не способен копировать их структуру. Таким образом, из множества вариантов укладки, смоделированных для исходного белка, можно исключить те, которые может формировать белок с анализируемой заменой. Мы проверили предложенный подход на примере белка Sup35, агрегаты которого являются молекулярной основой для дрожжевого приона [PSI⁺]. На кафедре генетики и биотехнологии существует богатая коллекция штаммов, позволивших решить эту задачу. В дополнение к ней была создана серия плазмид с аллелями SUP35 для проведения мутационного анализа и определения замен, дестабилизирующих определённые варианты [PSI⁺].

С другой стороны, мы предложили метод для количественной оценки размеров амилоидных агрегатов *in vivo*. Методика полуденатурирующего электрофореза в агарозном геле позволяет качественно сравнивать размеры белковых комплексов. Мы предложили модификацию этого подхода, позволяющую проводить количественный анализ. Новшество основано на использовании стандартных маркеров молекулярного веса ДНК в сочетании с подбором математической модели, описывающей взаимосвязь размера и подвижности молекул в агарозном геле. Для удобства широкого круга пользователей мы создали приложение AGECalibratoR, позволяющее легко проводить этот анализ. Для проверки сходимости результатов мы использовали штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с различными вариантами приона [PSI⁺], которые отличаются по размеру агрегатов Sup35. В серии повторностей нам удалось продемонстрировать статистически достоверную разницу в размерах агрегатов Sup35 между исследуемыми штаммами дрожжей.