

УДК 538.9, 539.26

на правах рукописи

ДАДИНОВА ЛЮБОВЬ АЛЕКСАНДРОВНА

**МАЛОУГЛОВОЕ РЕНТГЕНОВСКОЕ РАССЕЙАНИЕ В  
ИССЛЕДОВАНИИ ТРЕХМЕРНЫХ СТРУКТУР  
БИОНАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ДНК И РЯДА  
БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В КАТАБОЛИЗМЕ *ESCHERICHIA  
COLI* В СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ РОСТА**

Специальность 01.04.07 – физика конденсированного состояния

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва 2016 г.

Работа выполнена в Институте кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН.

**Научный руководитель:**

**Штыкова Элеонора Владимировна**, доктор химических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоорганических структур ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН.

**Официальные оппоненты:**

**Александр Никифорович Озерин**, чл.-корр. РАН, доктор химических наук, директор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ РАН).

**Ян Витаутасович Зубавичус**, доктор физико-математических наук, начальник отдела синхротронных экспериментальных станций, Курчатовский комплекс синхротронно-нейтронных исследований, Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт».

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина Российской академии наук (ИФХЭ РАН).

Защита состоится «\_\_\_\_\_» 2016 г. в \_\_\_\_\_ ч \_\_\_\_\_ мин. на заседании диссертационного совета Д 002.114.01 при ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН по адресу 119333, г. Москва, Ленинский пр. 59, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИК РАН, а также на сайте ИК РАН <http://crys.ras.ru/index.php/dissertatsionnyj-sovet/zashchity-dissertatsij>

Автореферат разослан

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
кандидат физико-математических наук

К.В. Фролов

## Общая характеристика работы

### Актуальность

Сочетание молекулярной биологии и нанотехнологии привело к возможности использования многообразия биологических молекул (таких как липиды, белки и нуклеотиды) в качестве строительных блоков. Биомакромолекулы обладают способностью к образованию сложных пространственных структур. Этот процесс можно регулировать на молекулярном и надмолекулярном уровнях, благодаря чему открываются перспективы создания широкого ряда наноструктур с заданными свойствами. Одним из актуальных и перспективных с практической точки зрения направлений развития нанотехнологий, в котором используются биологические молекулы, является создание нанобиоустройств (молекулярных машин) и биосовместимых наноматериалов, которые находят широкое применение в медицине и биотехнологии. В качестве молекулярной машины можно рассматривать живую клетку, со всем многообразием ее биологических компонентов, в том числе белков. Наряду с множеством других функций, белки могут функционировать в качестве ферментов, которые являются движущей силой для различных биохимических реакций в организме. Так, регуляция метаболических процессов в клетке осуществляется за счет белок-белковых взаимодействий, и нарушение этих взаимодействий может иметь драматические последствия, вплоть до развития специфических заболеваний. Исследование интерактома всего организма, т.е. полной карты всех взаимодействий, невозможно без знания структуры и функций отдельных его компонентов на наноразмерном уровне. Последнее, во-первых, является критическим для понимания принципов организации живой материи и, во-вторых, необходимо для направленной модификации индивидуальных биологических объектов с целью управления процессами, происходящими в клетке.

В связи с этим первая часть нашей работы посвящена исследованиям пяти белков (фруктозо-1,6-бисфосфат альдолаза, неорганическая пирофосфатаза, 5-кето-4-дезоксипуронат изомераза, глутамат декарбоксилаза, дигидролипоилдегидрогеназа), участвующих в катаболизме стационарной фазы роста клеток *Escherichia coli*. Несмотря на широкое использование *E. coli* в качестве модельной системы, ее интерактом до конца не определен. Исследование особенностей функционирования клетки в стационарной фазе интересно с практической и фундаментальной точек зрения. В этот период может происходить снижение метаболической активности в сочетании с повышением устойчивости к стрессовым эффектам, вызванным недостатком питательных веществ, при этом клетки становятся существенно более устойчивыми к воздействию антибактериальных препаратов. Многие клеточные

процессы, претерпевают изменения в ходе стационарной фазы, чтобы обеспечить защитные механизмы против неблагоприятных условий окружающей среды. Определение структурных и функциональных особенностей отдельных белков, участвующих в обмене веществ, а также выяснение механизмов регуляции метаболических процессов является, таким образом, важной фундаментальной задачей, позволяющей понять природу различных взаимодействий в клетках и их ответа на стресс.

Вторая часть работы, также связанная с изучением структуры и функции биологических макромолекул, посвящена исследованию холестерических жидкокристаллических дисперсий (ХЖКД) ДНК и их комплексов с наночастицами золота. Технология наноконструирования на основе нуклеиновых кислот дает возможность использовать молекулы ДНК в качестве строительных блоков для создания биосовместимых наноматериалов, которые могут найти применение в качестве носителей для направленной доставки лекарственных препаратов.

Основным экспериментальным методом, использованным в данной работе, являлось малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР), которое занимает особое место среди структурных методов, так как с его помощью возможно изучение структуры вещества в условиях максимально приближенных к физиологическим, что особенно важно для медицинских и биологических исследований. МУРР - метод неразрушающей структурной диагностики, который благодаря современным подходам к интерпретации экспериментальных данных хорошо сочетается с другими взаимодополняющими биофизическими и биоинформатическими методами. Примером такого метода может служить молекулярный докинг, который был использован в данной работе для предсказания структуры ассоциатов одного из исследуемых белков - дигидролипоилдегидрогеназы.

Таким образом, актуальность темы исследования определяется как выбором метода, так и актуальностью и практической значимостью исследуемых объектов, которые имеют потенциальное биомедицинское применение.

### **Цели и задачи работы**

#### **Цели:**

Определение с помощью метода малоуглового рентгеновского рассеяния и других взаимодополняющих структурных методов свойств и поведения в растворе ряда белков, участвующих в катаболизме стационарной фазы роста клеток *Escherichia coli*, а также структуры комплексов холестерических жидкокристаллических дисперсий ДНК с инкорпорированными наночастицами золота разного размера.

Для достижения поставленных целей решались следующие **задачи**:

1. Восстановление формы низкого разрешения и моделирование четвертичной структуры фруктозо-1,6-бисфосфат альдолазы (FbaV) класса I в растворе.
2. Определение четвертичной структуры неорганической пирофосфатазы (PPase) в растворе и сравнение ее с кристаллографической моделью.
3. Исследование особенностей строения и поведения белков 5-кето-4-дезоксисурилат изомеразы (KduI), глутамат декарбоксилазы (GadA), дегидролипиддегидрогеназы (LpD) в растворе.
4. Определение макромолекулярных характеристик ферментов FbaV, PPase, KduI, GadA и LpD.
5. Изучение структурных характеристик холестерических жидкокристаллических дисперсий (ХЖКД) ДНК и их комплексов с инкорпорированными наночастицами золота разного размера.
6. Структурное моделирование ХЖКД ДНК при разных условиях их образования.
7. Выявление эффектов, вызываемых инкорпорацией наночастиц золота разного размера, на структуру ХЖКД ДНК.

**Научная новизна:**

1. Получены модели атомного разрешения третичной и четвертичной структуры белка бактериальной FbaV класса I.
2. Выявлены изменения в четвертичной структуре PPase в растворе по сравнению со структурой фермента в кристалле.
3. Показано, что в растворе белок KduI представляет собой набор олигомерных форм. Была предложена гипотеза, что причина такого поведения связана с купиновой природой белка и его аллостеричностью.
4. Анализ данных поведения GadA в растворе показал, что при pH 7.5 этот белок, представляющий собой гексамер при pH 4.6, частично диссоциирует на димеры. При этом форма, компактность и количество димеров зависит от концентрации соли в буфере.
5. Показано, что белок LpD в растворе частично олигомеризуется и представляет собой равновесную смесь димеров и тетрамеров. Обнаруженная гибкость тетрамеров обусловлена стехиометрическими и функциональными свойствами мультиферментных комплексов, в которых участвует LpD.
6. Для гетерогенных растворов белков KduI, GadA и LpD были определены объемные доли каждой компоненты в смеси.

7. Данные малоуглового рассеяния и полученные модели белков депонированы в биологическую базу данных малоуглового рассеяния (SASBDB: <http://www.sasbdb.org/>) с соответствующими кодами: [SASDBZ2](#) (FbaB), [SASDBY2](#) (PPase), [SASDB23](#) (KduI), [SASDB33](#) и [SASDBS4](#) (GadA).

8. С помощью МУРР и моделирования показано изменение структуры ХЖКД ДНК, сформированных в водно-солевом растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ), при изменении концентрации ПЭГ.

9. Выявлена количественная зависимость взаимодействия ХЖКД ДНК с наночастицами золота от размера наночастиц.

10. Проанализированы структурные изменения, вызванные инкорпорацией наночастиц золота в структуру ХЖКД ДНК.

### **Научно-практическая значимость:**

При адаптации клетки к стрессу происходит замедление метаболических процессов и значительно увеличивается устойчивость бактерий к воздействию антибактериальных препаратов. Изучение приводящих к резистентности клеточных механизмов и ферментов, вовлеченных в них, является одной из важнейших проблем современной медицины. Результаты, полученные при исследовании структурных особенностей в растворе ферментов FbaB, PPase, KduI, GadA и LpD носят фундаментальный характер, так как относятся к строению живой материи, а также имеют практический интерес, поскольку позволяют понять функции данных ферментов в условиях стресса и могут служить платформой для направленного воздействия на процессы метаболизма в клетках.

Варьируя параметры образования ХЖКД ДНК, например, концентрацию ПЭГ, можно получать разные структуры с отличающимися свойствами и возможностями применения. Действие наночастиц золота на ХЖКД ДНК приводит к формированию нанобиоматериала, в котором между молекулами ДНК образованы упорядоченные кластеры из наночастиц Au. Такой нанобиоматериал может стать основой для создания противоракового препарата. Поскольку физико-химические свойства частиц ХЖКД ДНК отражают особенности пространственной организации этих молекул в составе хромосом, взаимодействие наночастиц золота с молекулами ДНК может иметь важные биологические последствия.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты моделирования третичной и четвертичной структуры белка бактериальной FbaB класса I в растворе.

2. Конформационные различия структуры PPase в растворе и в кристалле.

3. Существование различных биологически значимых олигомерных форм KduI, GadA и LpD в растворе.

4. Результаты моделирования изменения структуры холестерических жидкокристаллических дисперсий ДНК (ХЖКД ДНК) при варьировании концентрации полиэтиленгликоля в растворе.

5. Зависимость структуры комплекса ХЖКД ДНК с наночастицами золота от размера инкорпорированных наночастиц.

#### **Личный вклад диссертанта:**

Личный вклад диссертанта заключается в проведении экспериментов по малоугловому рассеянию, первичной обработке и интерпретации полученных в ходе эксперимента данных, построении моделей исследованных объектов, как с помощью методов МУРР, так и с помощью молекулярного докинга. Автор принимал активное участие в обобщении полученных результатов и формировании научных выводов, а также в подготовке научных публикаций в журналах и докладов на национальных и международных конференциях, школах и симпозиумах.

#### **Апробация результатов работы:**

Материалы, представленные в диссертационной работе, дважды докладывались на молодежном конкурсе ИК РАН в 2014 и 2015 годах и дважды были удостоены второй премии, а также на национальных и международных конференциях, школах и симпозиумах: RACIRI Summer school 2013: Advanced Materials Design at X-ray and Neutron Facilities: Soft Matter and Nano Composites, 17 - 25 August 2013, Petergof, Russia, 2013 (Удостоена премии за участие в конкурсе «Original Idea «What is...?»»); 11<sup>th</sup> International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013 (BSR2013), 8-11 September 2013, Hamburg, Germany, 2013; Международная молодежная научная школа "Современная нейтронография", Объединенный институт ядерных исследований, 28 октября – 1 ноября 2013, г. Дубна, Россия, 2013; 11-я Курчатовская молодежная научная школа, 12 – 15 ноября 2013 года, НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия, 2013; XFEL workshop, 28 - 30 January, Hamburg, Germany, 2014; 12<sup>th</sup> International School and Symposium on Synchrotron Radiation in Natural Science (ISSRNS 2014), 15 - 20 June 2014, Warsaw, Poland, 2014; EMBO Practical Course on Solution Scattering from Biological Macromolecules, 27 October - 3 November 2014, Hamburg, Germany, 2014 (Победитель конкурса «Data analysis competition (SAXS Quest 2014)»); 49 Школа ПИЯФ по физике конденсированного состояния, 16-21 марта 2015, г. Санкт-Петербург, г. Зеленогорск, Россия, 2015 (Победитель конкурса стендовых докладов в секции «Биофизика и наука о жизни»); VII Российский симпозиум «Белки и Пептиды», 12-17 июля 2015, г. Новосибирск, Россия, 2015; 16<sup>th</sup> International

conference on small-angle scattering (SAS-2015), 12-18 September 2015, Berlin, Germany, 2015.

### **Публикации по теме диссертации:**

В диссертацию включены результаты исследований, опубликованные в 16 печатных работах, 6 из которых статьи в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК.

### **Структура и объем диссертации:**

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, состоящего из 180 ссылок. Работы автора в тексте диссертации обозначены буквой А. Общий объем диссертации составляет 139 страниц, включая 42 рисунка и 7 таблиц.

### **Основное содержание работы**

Во **введении** приводится общая характеристика работы, обоснована актуальность исследований, сформулированы цели и задачи работы, показаны научная новизна и научно-практическая значимость, представлены положения, выносимые на защиту, а также приведены сведения об апробации работы.

**Глава 1** посвящена аналитическому обзору метода малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР), включая краткое описание истории его развития, теоретическим аспектам применения МУРР для монодисперсных, многокомпонентных и частично упорядоченных систем, а также постановке эксперимента и современным подходам к интерпретации данных

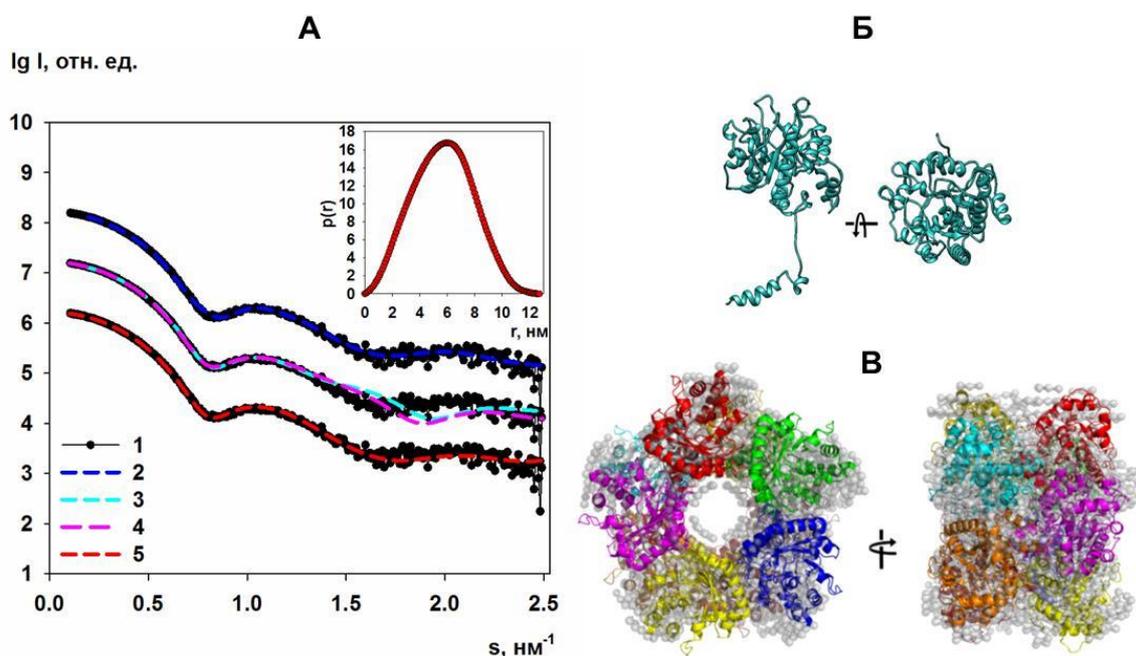
В **Главе 2** дан краткий литературный обзор, посвященный общим сведениям о структуре и функциях белков, в частности ферментов, которые участвуют в регуляции катаболизма *Escherichia coli* в стационарной фазе роста (фруктозо-1,6-бисфосфат альдолаза, неорганическая пирофосфатаза, 5-кето-4-дозоксиуронат изомеразы, глутамат декарбоксилаза, дигидролипоилдегидрогеназа).

**Глава 3** посвящена описанию деталей эксперимента по МУРР, дополнительным методам исследования, а также результатам исследования пяти ферментов участвующих в катаболизме *E. coli* в стационарной фазе роста [A1, A2].

**Фруктозо-1,6- бисфосфат альдолаза (Fba)** является ключевым ферментом, участвующим в регуляции гликолиза и глюконеогенеза, а также в регуляции метаболизма фруктозы [1]. Несколько бактерий, включая *E. coli*, могут продуцировать альдолазы двух классов [2], которые различаются по своим каталитическим и структурным свойствам. Было показано, что в *E. coli* Fba класса II (кодируется геном *fbaA*) представляет собой главный класс ферментов гликолитической активности, в то время как Fba I класса является (кодируется геном *fbaB*) не основным ферментом, экспрессированным в бактериях,

выращенных на несахарных источниках углерода [3]. Роль Fba класса I (обозначена как FbaV) плохо понятна и ее структура до сих пор неизвестна, но данные свидетельствуют о том, что этот фермент важен для адаптации бактерий к стрессу, включая обезвоживание, сахарный голод, и осмотическую регуляцию [2].

По кривой малоуглового рассеяния (рис.1А, кривая 1) были определены макромолекулярные характеристики FbaV (молекулярная масса (ММ),  $R_g$ ), а также, используя косвенное фурье-преобразование, была получена функция парных расстояний  $p(r)$  (рис. 1А, вставка), из которой был определен максимальный размер частицы  $D_{max}=12.7\pm 0.6$  нм и восстановлена форма низкого разрешения с помощью *ab initio* метода (программа DAMMIN). Кривая рассеяния, рассчитанная от полученной модели, хорошо совпадает с экспериментальными данными ( $\chi^2=1.2$ ; рис.1А, кривая 2).



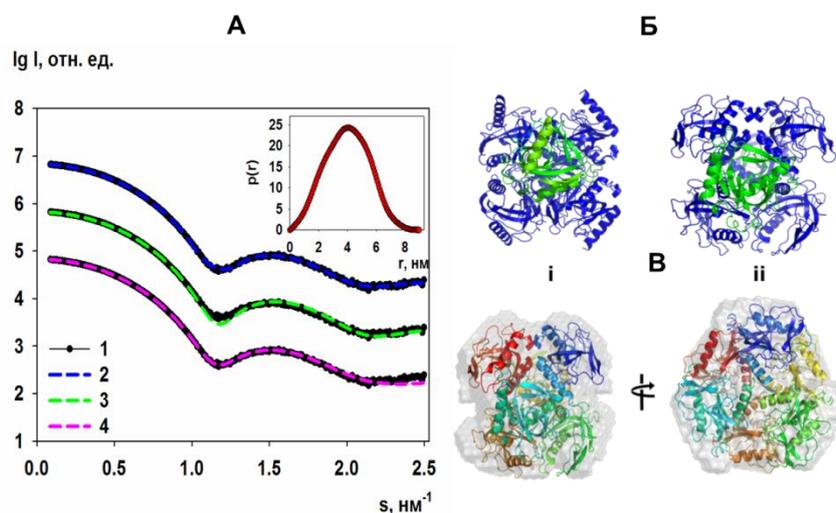
**Рис. 1.** Экспериментальные данные МУПП и результаты моделирования структуры FbaV. (А) Кривые малоуглового рассеяния от раствора FbaV. (1) Экспериментальная кривая рассеяния от раствора FbaV. (2) Кривая, рассчитанная от *ab initio* модели, полученной с помощью программы DAMMIN и изображенной на рис. 1В. (3) и (4) Кривые, рассчитанные от моделей октамера и декамера, соответственно, полученных с помощью метода молекулярной тектоники и программы SASREF. (5) Кривая рассеяния от модели FbaV, полученной с помощью программы CORAL. (Б) Предсказанная структура субъединицы FbaV класс I из *E. coli* в двух ориентациях. (В) Восстановление формы FbaV методами *ab initio* и молекулярной тектоники. Модель декамера FbaV, полученная с помощью DAMMIN (светло-серые шарики, симметрия P52), наложена на модель, полученную с помощью метода молекулярной тектоники (каждая субъединица показана отдельным цветом). Модели показаны в двух ориентациях.

Для определения четвертичной структуры белка методом молекулярной тектоники (методом моделирования твердыми телами) (SASREF) и гибридным методом (CORAL) была использована предсказанная нами модель субъединицы FbaV (рис. 1Б).

Поскольку FbaV из семейства эукариот является тетрамером [1], а FbaV из семейства архей представляет собой декамер [4], можно предположить, что FbaV из *E. coli* является либо тетрамером, либо декамером. Молекулярная масса FbaV, определенная по данным МУРР ( $340 \pm 20$  кДа) указывает на то, что количество субъединиц белка должно быть не менее восьми, поэтому мы попытались построить модели белка, состоящего из 8 и 10 субъединиц. Модель октамера была получена с помощью программы SASREF, используя субъединицу FbaV и симметрию P42. Кривая рассеяния от этой модели показала плохое совпадение с экспериментальными данными ( $\chi^2=4.8$ ; рис. 1А, кривая 3). Увеличивая количество субъединиц до 10 и используя симметрию P52, подгонка к экспериментальной кривой улучшается ( $\chi^2=3.7$ , рис. 1А, кривая 4), подтверждая предположение о том, что четвертичная структура белка представляет собой декамер. Для дальнейшего уточнения модели декамера мы использовали программу CORAL. С ее помощью N-домен предсказанной третичной структуры FbaV (рис. 1Б) был представлен в виде гибкой цепи, что позволило получить модель, рассеяние от которой, существенно улучшает подгонку к экспериментальной кривой ( $\chi^2=1.8$ , рис. 1А, кривая 5), доказывая, что новый тип FbaV является декамером (рис. 1В).

**Неорганическая пирофосфатаза (PPase)** катализирует обратимый гидролиз пирофосфата ( $PP_i$ ) и является ключевым фактором, определяющим внутриклеточный уровень  $PP_i$ . PPase также участвует в биосинтезе белков и нуклеиновых кислот [5], что делает ее возможным компонентом различных мультибелковых комплексов. Несмотря на то, что этот белок уже охарактеризован структурно и кинетически [5] до сих пор нет информации о структуре PPase в растворе, а также четкого понимания того, как фермент может быть вовлечен в регуляторную сеть.

Макромолекулярные характеристики PPase, определенные по кривой МУРР (рис. 2А, кривая 1), совпадают с соответствующими параметрами, рассчитанными от кристаллической структуры белка. Это свидетельствует о том, что PPase образует компактный гексамер, как в кристалле, так и в растворе.



**Рис. 2.** Экспериментальные данные МУРР и результаты моделирования структуры PPase. (А) Кривые малоуглового рассеяния от раствора PPase. (1) Экспериментальная кривая рассеяния от раствора PPase. (2) Кривая, рассчитанная от *ab initio* модели, полученной с помощью программы DAMMIN и изображенной на рис. 2В. (3) Кривая, рассчитанная с помощью программы CRY SOL от кристаллической структуры PPase (PDB: 2AUU). (4) Кривая, рассчитанная от модели гексамера, полученной с помощью метода молекулярной тектоники и программы SASREF. (Б) Сравнение ориентации субъединиц PPase в кристаллической структуре (i) и структуре, полученной методом молекулярной тектоники (ii). Одна субъединица выделена зеленым цветом, чтобы подчеркнуть очевидную переорганизацию субъединиц, которая происходит в растворе. (В) Восстановление формы PPase методами *ab initio* и молекулярной тектоники. Модель гексамера PPase, полученная с помощью DAMMIN наложена на модель, полученную с помощью метода молекулярной тектоники и программой SASREF (каждая субъединица показана отдельным цветом).

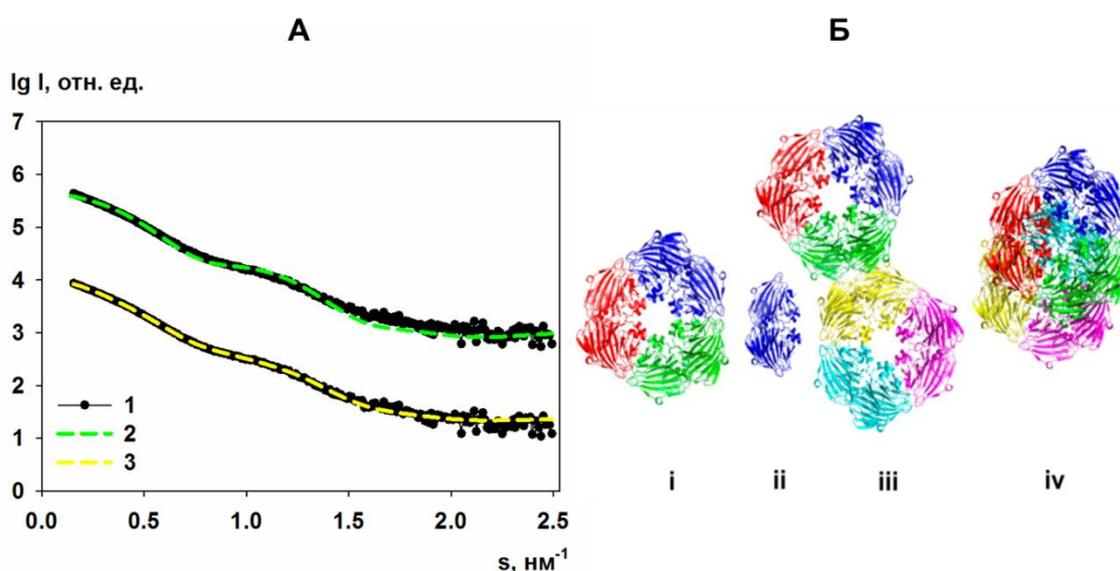
Однако данные МУРР свидетельствуют о несоответствии кристаллографической структуры и структуры PPase в растворе (рис. 2А, кривая 3,  $\chi^2 = 5.2$ ). С помощью метода молекулярной тектоники и программы SASREF, используя одну кристаллографическую субъединицу и применяя симметрию P32, была получена модель, рассеяние от которой уменьшает разницу с экспериментальной кривой до  $\chi^2 = 1.4$  (рис. 2А, кривая 4). Главное различие между конформациями белка в кристалле и в растворе проявляется, таким образом, в разном взаимном расположении субъединиц PPase (рис. 2Б). Полученную модель сравнили с восстановленной с помощью программы DAMMIN формой низкого разрешения (рис. 2В).

Найденное различие структуры PPase в растворе и в кристалле является важным результатом, который может прояснить возможную роль PPase в интерактоме и в комплексе с другими белками [6].

**5-кето-4-дезоксисурилат изомераза (KduI)** является сахарной изомеразой, которая в почвенных бактериях *Erwinia chrisantemii* участвует в разложении пектина. *E. coli* не может преобразовать пектин и использовать его продукты в качестве источника питания, поскольку в ее геноме не хватает половины генов,

выполняющих эту функцию [7]. Тем не менее, в *E. coli* присутствует ген, кодирующий KduI, так что этот белок в *E. coli* должен иметь некоторые другие функции. Кристаллическая структура KduI известна [8] и является исключительно гексамером, в то время как в растворе его структура не была изучена.

Сравнение кривой рассеяния, рассчитанной от кристаллической модели KduI, с экспериментальной кривой показало различие между кристаллографической моделью и структурой KduI в растворе ( $\chi^2 = 10.4$ ; рис. 3А, кривая 2), что свидетельствует о гетерогенности раствора KduI. Расхождение в малых углах ( $s < 0.3 \text{ нм}^{-1}$ ), указывает на присутствие в образце олигомеров большой молекулярной массы, в то время как систематическое отклонение в больших углах ( $s > 0.7 \text{ нм}^{-1}$ ) свидетельствует о том, что в растворе находятся также компоненты размера, который существенно меньше гексамера.



**Рис. 3.** Экспериментальные данные МУРР и результаты моделирования структуры KduI. (А) Кривые малоуглового рассеяния от раствора KduI. (А) (1) Экспериментальная кривая рассеяния от раствора KduI при максимальной концентрации. (2) Кривая, рассчитанная от кристаллической структуры KduI (PDB 1XRU). (3) Кривая, рассчитанная с помощью OLIGOMER от смеси двух типов додекамеров, гексамера и димера KduI, представленных на рис. 3Б. (Б) Олигомерное состояние KduI в растворе. KduI состоит из гексамеров,  $v_i = 0.31$  (i); димеров,  $v_i = 0.28$  (ii); а также расширенных  $v_i = 0.24$  (iii) и сложенных додекамеров  $v_i = 0.17$  (iv).

Гомо-гексамер KduI из *E. coli* (PDB: 1XRU) [8] в кристалле состоит из шести субъединиц с массой 31 кДа каждая. С помощью эксклюзионной хроматографии и аналитического ультрацентрифугирования нами было показано, что доминирующая фракция имеет молекулярную массу  $188 \pm 15$  кДа и вероятно соответствует гомо-гексамеру KduI. Однако в дополнении к гексамеру в растворе также присутствует некоторое количество олигомеров с высокой и низкой молекулярными массами  $75 \pm 20$  и  $290 \pm 20$  кДа, соответственно.

Масса этих дополнительных компонентов близко соответствует ММ димера и додекамера. С помощью программы MASSHA и моделей атомного разрешения KduI нами были созданы различные модели ассоциатов и диссоциатов (т.е. кристаллографические гексамеры, димеры и додекамеры и тд.).

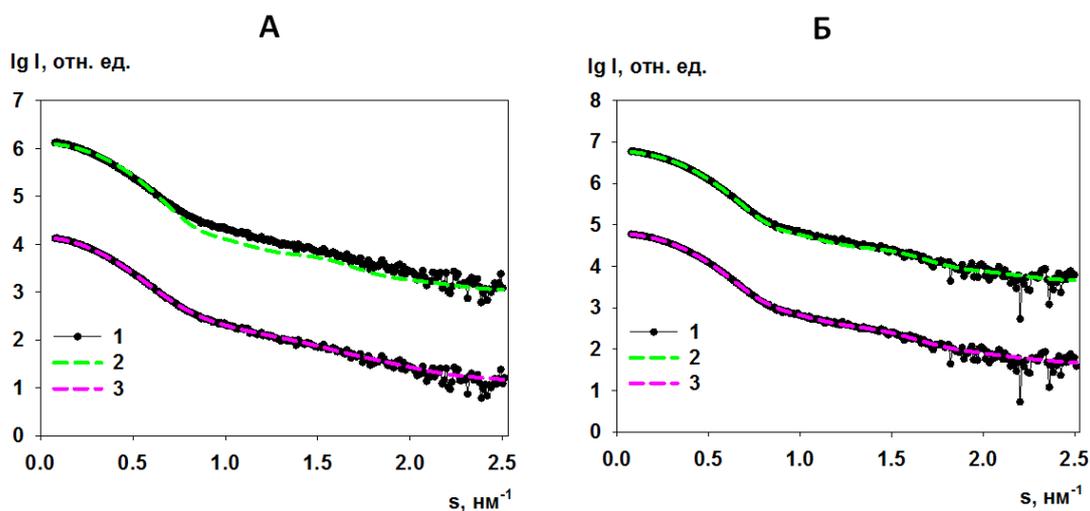
Используя программу OLIGOMER, была найдена кривая от равновесной смеси гексамеров (объемная фракция  $v_i = 0.31$ ), сложенных додекамеров ( $v_i = 0.17$ ), расширенных додекамеров ( $v_i = 0.24$ ) и кристаллографических димеров ( $v_i = 0.28$ ), которая наилучшим образом совпадает с экспериментальными данными ( $\chi^2 = 1.77$ ; рис. 3А, кривая 3).

Способность KduI образовывать смесь из различных олигомерных форм может быть важным свойством белка, которое способствует регуляции ферментативной активности. Стоит отметить, что KduI является купиновым белком, а купиновые белки, как известно, образуют олигомеры высшего порядка [9]. При этом различные олигомерные формы могут иметь различную каталитическую активность, как было установлено для ряда аллостерических ферментов [10].

**Глутамат декарбоксилаза (GadA)** представляет собой фермент, катализирующий реакцию декарбоксилирования глутамата в  $\gamma$ -аминобутират и выполняющий у бактерий защитные функции в ответ на кислотный стресс. Фермент локализован исключительно в цитоплазме при нейтральном значении рН, но потом оказывается около мембраны, когда рН падает. GadA широко распространен среди эукариот и прокариот, но его функция изменяется в различных организмах [11].

Согласно предыдущим исследованиям, олигомерное состояние GadA зависит от рН. Кристаллическая структура GadA, полученная при рН 4.6 (PDB: 1XEY) также представляет собой гексамер [11]. С помощью аналитического ультрацентрифугирования и эксклюзионной хроматографии нами было показано, что при увеличении рН с 4.6 до 7.5 происходит частичная диссоциация белка на димеры с молекулярной массой (ММ)  $120 \pm 20$  кДа.

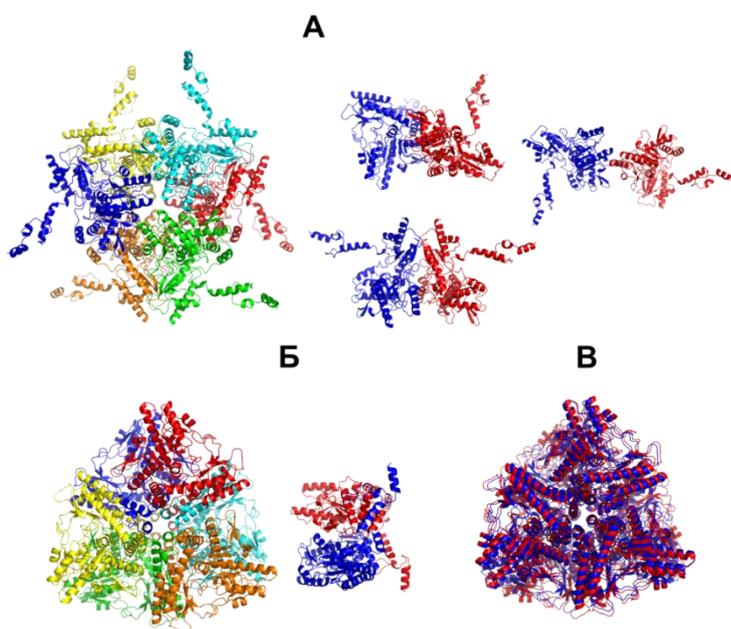
Методом МУРР было получено два набора данных от растворов GadA при рН 7.5 в стандартном буфере и буфере с низкой концентрацией соли. Кривая рассеяния, рассчитанная от кристаллической структуры гексамера, не соответствует экспериментальной кривой МУРР (GadA,  $\chi^2 = 38$ ; рис. 4А, кривая 2). Однако, кривая, полученная от образца с низкой концентрацией соли гораздо лучше совпадает с кривой рассеяния от гексамера (GadA-низкая конц. соли  $\chi^2 = 5.6$ ; рис. 4Б, кривая 2).



**Рис. 4.** Кривые малоуглового рассеяния от раствора GadA. (А) и (Б) (1) Экспериментальная кривая рассеяния от раствора GadA (А) и GadA-низкая конц. соли (Б). (2) Кривая, рассчитанная от кристаллической структуры GadA (PDB 1XEY), кривая (3) отображает рассеяние от смеси гексамеров и димеров, полученных с помощью SASREFMX, которое наилучшим образом совпадает с экспериментальными данными. Соответствующие модели гексамеров и димеров показаны на рис. 5 А, Б.

Дальнейшее исследование структур компонентов GadA смеси было проведено с помощью метода молекулярной тектоники и программы SASREFMX; для моделирования гексамера использовалась симметрия P32. Были созданы смеси из гексамеров и димеров, рассеяние от которых заметно улучшает совпадение с экспериментальными данными, особенно в случае GadA в стандартном буфере ( $\chi^2 = 1.4$ , рис. 4А, кривая 3), указывая на то, что существенные изменения в переориентации субъединиц могут происходить в белке при высокой концентрации рН и в присутствии 10 мМ NaCl (рис. 5А). Однако в условиях низкого содержания соли улучшение подгонки к экспериментальным данным менее существенно (GadA низкая конц соли  $\chi^2 = 1.8$ ; рис. 4Б, кривая 3), предполагая, что расположение субъединиц GadA в растворе соответствует их расположению в гексамерах и димерах, наблюдаемых в кристаллической структуре (рис. 5Б и В). Помимо различий в расположении субъединиц в гексамере и димере, образец GadA с низким содержанием соли также имеет более высокую долю гексамеров в растворе. Анализ с помощью программы OLIGOMER указывает на то, что объемная фракция гексамеров увеличивается от  $v_i \approx 0.6$  до 0.8 и фракция димеров уменьшается от  $v_i \approx 0.4$  до 0.2 со снижением концентрации соли. Сравнивая результаты, полученные с помощью МУРР, эксклюзионной хроматографии и аналитического ультрацентрифугирования, можно сделать вывод, что при рН 7.5 GadA существует в виде смеси гексамеров и димеров, а на ориентацию субъединиц

GadA в ансамблях гексамеров-димеров влияет изменения в окружающей среде образца.



**Рис. 5.** Олигомерное состояние GadA в растворе. GadA представляет собой в растворе смесь гексамеров и димеров, которые структурно чувствительны к условиям среды, в которой находится образец. **А.** Модели гексамера и набора димеров GadA, образующихся в присутствии в растворе 10 mM NaCl, получены с помощью SASREFMX. **Б.** Модели гексамера и димера в условиях низкой ионной силы, полученные с помощью SASREFMX. **В.** Пространственное наложение кристаллической структуры (красный цвет) с гексамером GadA из смеси гексамеров и димеров в условиях низкой

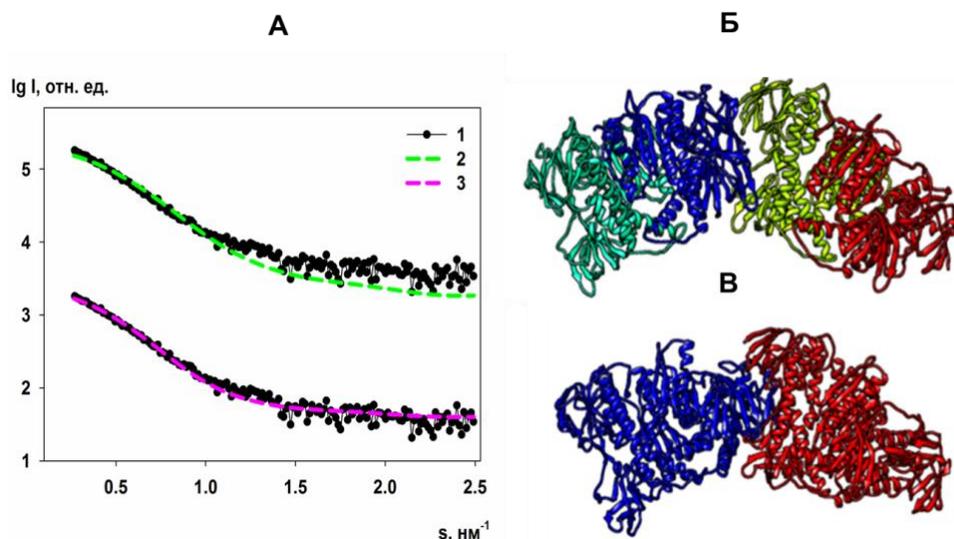
ионной силы раствора. Соответствующие смеси кривые представлены на рис. 4А, Б.

Известно, что GadA взаимодействует с другими белками при нейтральном рН [6], а наблюдаемая диссоциация фермента в сочетании с присущей способностью гексамера претерпевать структурные перестройки, может иметь важное значение для выявления новых интерфейсов взаимодействия с другими белками для модулирования активности фермента в клетках.

**Дигидролипоилдегидрогеназа (LpD)** – фермент, входящий в состав трех различных мультиферментных комплексов, катализирующих сходные реакции декарбоксилирования  $\alpha$ -кетокислот. Подобные комплексы состоят из трех ферментов E1, E2 и E3, где LpD является элементом E3. Пируватдегидрогеназный комплекс, например, *E. coli* содержит по 24 субъединицы компонент E1 и E2, в то время как кратность E3 до сих пор точно не определена. По разным источникам их может быть 12 или 24, т.е. E3 может состоять из шести димеров или шести тетрамеров. Также LpD может функционировать и вне рамок мультиферментных комплексов, например в организмах, которые не имеют дегидрогеназы  $\alpha$ -кетокислоты. Строение LpD из *E. coli* в кристалле было определено с разрешением 2.5 Å [12] и показано, что в кристаллической форме этот белок существует в виде димера (PDB ID: 4JDR). Однако структура этого белка в растворе до настоящего времени оставалась неизвестной.

На рис. 6А показано, что кривая рассеяния, полученная от димера LpD, дает плохое совпадение с экспериментальными данными ( $\chi^2 = 5.1$ ) (рис. 6А,

кривая 2), из чего можно сделать предположение о неоднородности раствора LpD.



**Рис. 6.** Экспериментальные данные МУРР и результаты моделирования структуры LpD. (А) Экспериментальные и модельные кривые малоуглового рассеяния: (1) экспериментальные данные; (2) рассеяние, рассчитанное с помощью программы CRY SOL от кристаллической структуры димера LpD; (3) рассеяние от смеси, полученное с помощью программы OLIGOMER для олигомерных форм LpD-димера и тетрамера, смоделированного программами MASSHA (Б) и HADDOCK (В).

Определенная по данным МУРР молекулярная масса в среднем равна приблизительно  $125 \pm 10$  кДа, тогда как масса мономера, рассчитанная по аминокислотной последовательности  $M_{aa}$ , составляет 50.3 кДа, что говорит о присутствии в растворе более крупных, чем димер, образований.

К такому же выводу приводит анализ данных аналитического ультрацентрифугирования, которое явно указывает на наличие в растворе двух фракций с молекулярными массами  $210 \pm 20$  и  $90 \pm 10$  кДа, что соответствует тетрамеру и димеру LpD.

Конформация присутствующих в растворе тетрамеров определялась двумя способами: с помощью программы MASSHA и молекулярного докинга (HADDOCK). В качестве наилучшего решения нами с помощью программы HADDOCK была определена структура, представленная на рис. 6В.

С помощью программы OLIGOMER были определены объемные доли димеров  $v_i = 0.45$  и тетрамеров  $v_i = 0.55$ . Рассеяние от этой смеси хорошо согласуется с экспериментальной кривой  $\chi^2 = 1.4$  (рис. 6А, кривая 3).

Построенные модели тетрамера представляют собой несколько вытянутую структуру, в которой последовательно соединены между собой димеры LpD. Важно отметить, что данная конструкция в растворе может быть достаточно гибкой, т.е. может изменяться угол между двумя димерами. Такое поведение, вероятно, связано с функциональными особенностями белка.

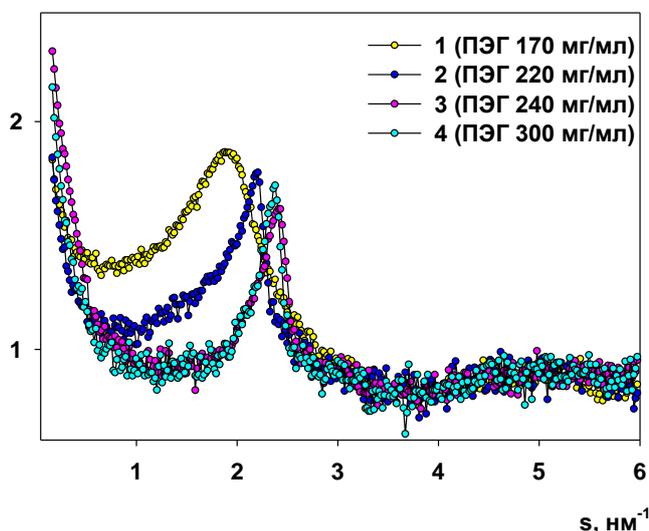
В **Главе 4** дан аналитический обзор литературы по способам получения жидкокристаллических дисперсий (ХЖКД) ДНК, пространственной организации молекул двухцепочечной ДНК в частицах дисперсий и способах формирования наноконструкций на основе ХЖКД ДНК в условиях водно-солевого раствора полиэтиленгликоля (ПЭГ, молекулярная масса 4 кДа) с гостевыми включениями.

**Глава 5** посвящена результатам исследований пространственной структуры ХЖКД ДНК, сформированной при различной концентрации ПЭГ, а также сравнению эффективности взаимодействия наночастиц золота с ХЖКД ДНК в зависимости от размера наночастиц [А3-А6].

Для исследования пространственной структуры и способа упаковки молекул дц- ДНК в частицах ХЖКД в зависимости от концентрации ПЭГ в растворе нами методом МУРР была получена серия кривых от образцов ХЖКД ДНК с различным содержанием ПЭГ (рис. 7).

Характерной особенностью кривых малоуглового рассеяния от образцов ХЖКД являются брэгговские пики, которые отражают наличие упорядоченных областей в структуре. Можно заметить, что при увеличении концентрации ПЭГ пики становятся более узкими, а их положение смещается с 1.9 до 2.4  $\text{нм}^{-1}$ , что свидетельствует о повышении степени упорядоченности структуры. Другие структурные характеристики образцов, определяемые по пикам с помощью программы РЕАК, отображены в Таблице 1.

Ig I, отн. ед.



*Рис. 7. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния от ХЖКД ДНК с различным содержанием ПЭГ: 1- ПЭГ 170 мг/мл; 2- ПЭГ 220 мг/мл; 3- ПЭГ 240 мг/мл; 4- ПЭГ 300 мг/мл.*

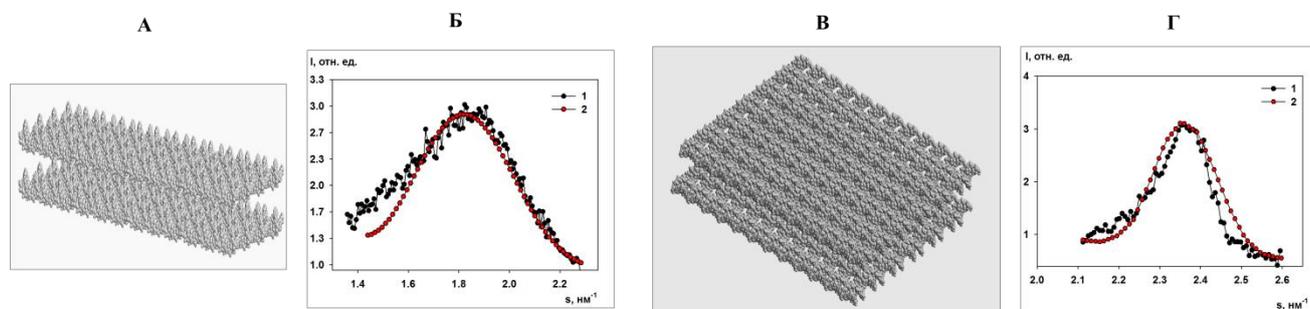
Одним из наиболее адекватных и наглядных способов подтверждения наблюдаемых структурных изменений является компьютерное моделирование. На основе реальной структуры ДНК В-формы, взятой из банка данных RCSB Protein Data Bank (PDB: 1BNA), нами с помощью программы MASSHA были построены две модели отражающие структуры ХЖКД ДНК, сформированные при крайних концентрациях ПЭГ в растворе – 170 и 300 мг/мл (рис. 8А, В).

**Таблица 1.** Структурные характеристики образцов с различным содержанием ПЭГ

Название образца	$s_{max}$ , нм <sup>-1</sup> (±0.1)	$\bar{d}$ , нм (±0.1)	$L$ , нм (±3.0)	$\Delta/\bar{d}$ , (±0.01)
ПЭГ_170	1.9	3.3	21	0.12
ПЭГ_220	2.2	2.8	37	0.07
ПЭГ_240	2.4	2.6	71	0.07
ПЭГ_300	2.4	2.6	74	0.07

Модели представляют собой слои из параллельно уложенных молекул ДНК, причем расстояния между соседними молекулами соответствовали межплоскостным расстояниям, определяемым по пикам на кривых рассеяния, т.е. 3.3 и 2.6 нм, соответственно. От моделей были рассчитаны кривые рассеяния (рис. 8Б и Г, кривая 2), положение максимума которых соответствует пикам Брэгга на кривой рассеяния от реальной структуры с концентрацией ПЭГ 170 и 300 мг/мл, соответственно (рис. 8Б и Г, кривая 1). Поскольку положение пиков совпадает, совпадает и величина межплоскостного расстояния, что, в свою очередь, говорит о том, что наша модель хорошо отражает упаковку молекул ДНК в ХЖКД ДНК.

Для лучшей визуализации мы показываем только область пика в линейной шкале. Отличия кривых рассеяния вне области максимума пиков обусловлены рассеянием от идеальной структуры, т.е. модели.

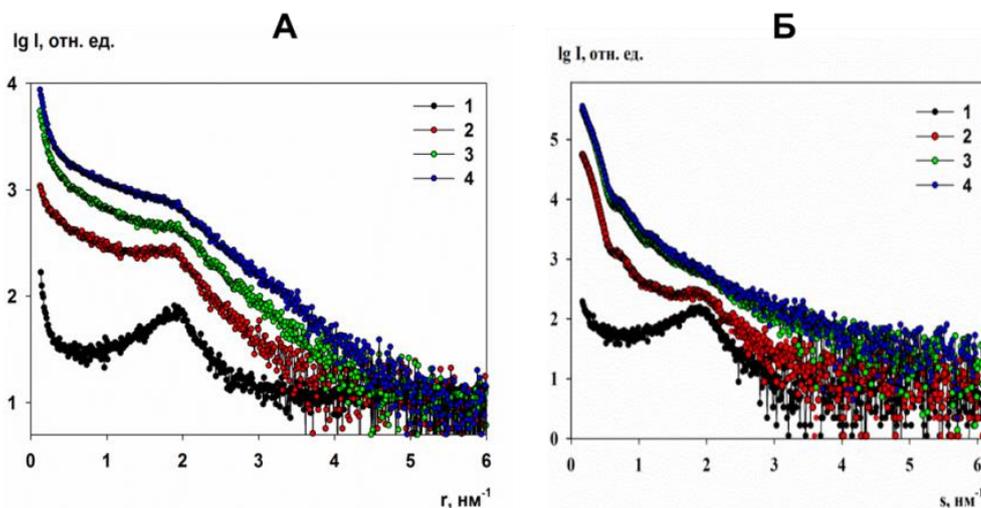


**Рис. 8.** (А) и (В) Модель упаковки молекул ДНК, отражающая реальную структуру ХЖКД, сформированных при концентрации ПЭГ 170 мг/мл (А) и 300 мг/мл (В). (Б) и (Г) Сравнение областей брэгговских пиков на кривых рассеяния полученной экспериментально от структуры ХЖКД ДНК с концентрацией ПЭГ 170 мг/мл (Б) и 300 мг/мл (Г) (кривая 1) и рассчитанной от модели (кривая 2).

Проведенное нами моделирование по данным малоуглового рассеяния подтвердило вывод об изменении структуры при изменении ПЭГ и количественно описало происходящие процессы.

С целью сравнения эффективности взаимодействия наночастиц разного размера с ХЖКД ДНК методом МУРР была измерена серия образцов ХЖКД

ДНК с инкорпорированными наночастицами золота размером 2 и 15 нм при 3-х концентрациях, а также для контроля образец чистой ХЖКД ДНК (рис. 10А, Б).



**Рис. 10.** Экспериментальные кривые малоуглового рентгеновского рассеяния от образцов ХЖКД ДНК (кривая 1, контроль) и ХЖКД ДНК с инкорпорированными наночастицами золота размером 2 нм (А) и 15 нм (Б) (кривые 2-4).

(А) (1)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 0$ ; (2)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 0.57 \times 10^{-8} \text{ M}$ ; (3)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 1.72 \times 10^{-8} \text{ M}$ ; (4)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 3.59 \times 10^{-8} \text{ M}$ . (Б) (1)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 0$ , (2)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 0.0125 \times 10^{-8} \text{ M}$ , (3)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 0.0614 \times 10^{-8} \text{ M}$ , (4)  $-C_{\text{Нано-Au}} = 0.127 \times 10^{-8} \text{ M}$ .

В Таблице 2 показаны все структурные параметры образцов, определенные по брэгговским пикам на кривых малоуглового рассеяния (рис.10 А, Б).

**Таблица 2.** Структурные характеристики образцов ХЖКД ДНК с инкорпорированными наночастицами золота с размером 2 нм и 15 нм.

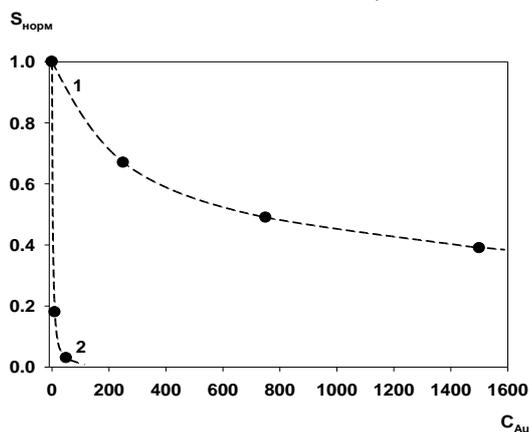
Наименование кривых рассеяния	$s_{\text{max}}$ нм <sup>-1</sup> (±0.1)	$\bar{d}$ нм (±0.1)	$L$ нм (±3.0)	$\Delta/\bar{d}$ (±0.01)	Площадь под пиком, отн.ед.	Нормированная площадь под пиком, отн.ед.
<b>2 нм</b>						
ДНК	1.9	3.3	20.0	0.14	0.0070	1.0
ДНК-Au1	1.9	3.3	23.0	0.12	0.0047	0.67
ДНК-Au2	1.9	3.2	23.0	0.12	0.0034	0.49
ДНК-Au3	1.9	3.3	21.0	0.13	0.0027	0.39
<b>15 нм</b>						
ДНК	1.9	3.3	17	0.14	0.0074	1.0
ДНК-Au1	1.9	3.3	-	0.10	0.0013	0.18
ДНК-Au2	1.9	-	-	-	0.0002	0.03

Обращает на себя внимание тот факт, что структурные характеристики всех образцов с инкорпорированными наночастицами золота размером 2 нм совпадают в пределах ошибки измерения. Исключением является площадь под характеристическими брэгговскими пиками. Это означает, что инкорпорация наночастиц золота размером 2 нм не изменяет структуру квазикристаллических

областей ХЖКД ДНК, поскольку положение пиков не смещается, а наночастицы металла встраиваются в архитектуру ХЖКД, при этом последовательное уменьшение площади под пиками говорит об уменьшении общего количества структурированных областей в образцах по мере роста концентрации наночастиц металла. Это происходит из-за того, что агрегация металлических наночастиц растет с увеличением их концентрации.

Инкорпорация наночастиц размером 15 нм приводит к исчезновению брэгговского пика уже при концентрации наночастиц в образце  $C_{\text{Нано-Au}} = 0.13 \times 10^{-8}$  М (рис. 10Б), что говорит о разрушении упорядоченной структуры ХЖКД ДНК.

На основе структурных характеристик образцов с инкорпорированными наночастицами золота размером 2 и 15 нм (Таблица 2) нами была проанализирована зависимость изменения нормированной площади под брэгговскими пиками ( $S_{\text{норм}}$ - площадь, соотнесенная с таковой под пиком для исходной ХЖКД ДНК) от концентрации наночастиц золота  $C_{\text{Au}}$  (рис. 11).



*Рис. 11. Графики зависимости  $S_{\text{норм}}$  от концентрации наночастиц золота  $C_{\text{Au}}$  в ХЖКД ДНК для наночастиц с размерами 2 нм (кривая 1) и 15 нм (кривая 2).*

Оказалось, что падение значения  $S_{\text{норм}}$  в зависимости от концентрации наночастиц золота в образцах хорошо аппроксимируется экспоненциальным уравнением:  $y = y_0 + ae^{(-bx)}$ , где коэффициент  $b = 0.003$  для наночастиц размером 2 нм и  $0.187$  для наночастиц размером 15 нм определяет величину спада. Полученная закономерность хорошо коррелирует с наблюдаемым изменением амплитуды отрицательной полосы кругового дихроизма для этих образцов. Поскольку концентрации наночастиц размером 2 нм примерно в 10 раз больше, соответствующих концентраций частиц размером 15 нм, а падение аномальной полосы оптической активности имеет примерно тот же характер, то из этого можно сделать вывод, что разрушение структуры ХЖКД ДНК происходит примерно в 10 раз быстрее в случае обработки их наночастицами размером 15 нм.

В **Заключении** диссертационной работы кратко обобщены результаты проведенных исследований.

## СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ В АВТОРЕФЕРАТЕ ЛИТЕРАТУРЫ

1. E. Lorentzen, E. Pohl, P. Zwart, A. Stark, R.B. Russell, T. Knura, R. Hensel, B. Siebers. Crystal structure of an archaeal class I aldolase and the evolution of (betaalpha)<sub>8</sub> barrel proteins. // *J Biol Chem.*, 2013, 278, 47253–47260.
2. A.E. Allen, A. Moustafa, A. Montsant, A. Eckert, P.G. Kroth, C. Bowler. Evolution and functional diversification of fructose biphosphate aldolase genes in photosynthetic marine diatoms. // *Mol. Biol. Evol.*, 2012, 29, 367-79.
3. F. Gotz, S. Fischer, K.H. Schleifer. Purification and characterisation of an unusually heat-stable and acid/base-stable Class I fructose-1,6-bisphosphate aldolase from *Staphylococcus aureus*. // *Eur J Biochem.*, 1980, 108, 295-301.
4. K.H. Choi, J. Shi, C.E. Hopkins, D.R. Tolan, K.N. Allen. Snapshots of catalysis: the structure of fructose-1,6-(bis)phosphate aldolase covalently bound to the substrate dihydroxyacetone phosphate. // *Biochemistry.*, 2001, 40, 13868-13875.
5. J.K. Heinonen. Biological role of inorganic pyrophosphate. // Boston: Kluwer Academic Publishers, 2001.
6. E. Rodina, N. Vorobieva, S. Kurilova, J. Mikulovich, J. Vainonen, et al. Identification of new protein complexes of *Escherichia coli* inorganic pyrophosphatase using pull-down assay. // *Biochimie*, 2011, 93, 1576-1583.
7. G. Condemine, J. Robert-Baudouy. Analysis of an *Erwinia chrysanthemi* gene cluster involved in pectin degradation. // *Mol Microbiol.*, 1991, 5, 2191–2202.
8. R.L. Crowther, M.M. Georgiadis. The crystal structure of 5-keto-4-deoxyuronate isomerase from *Escherichia coli*. // *Proteins.*, 2005, 61, 680-684.
9. R. Uberto, E.W. Moomaw. Protein similarity networks reveal relationships among sequence, structure, and function within the Cupin Superfamily. // *PLoS ONE.*, 2013, 8:e74477. doi:10.1371/journal.pone.0074477.
10. T.W. Traut. Dissociation of enzyme oligomers: a mechanism for allosteric regulation. // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 1994, 29, 125-163.
11. G. Capitani, D. De Biase, C. Aurizi, H. Gut, F. Bossa, M.G. Grütter. Crystal structure and functional analysis of *Escherichia coli* glutamate decarboxylase. // *Embo J.*, 2003, 22, 4027–4037.
12. K. Chandrasekhar, J. Wang, P. Arjunan, M. Sax et al. Insight to the Interaction of the Dihydrolipoamide Acetyltransferase (E2) Core with the Peripheral Components in the *Escherichia coli* Pyruvate Dehydrogenase Complex via Multifaceted Structural Approaches// *J. Biolog. Chem.*, 2013, 288, 15402.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. С помощью метода малоуглового рассеяния и компьютерного моделирования определена третичная и четвертичная структуры фруктозо-1,6-бисфосфат альдозазы (FbaB) класса I из *E.coli*.

2. Методом малоуглового рассеяния была получена модель гексамера неорганической пирофосфатазы (PPase) и выявлены конформационные отличия этого белка в растворе и в кристалле.

3. Анализ данных МУРР совместно с аналитическим ультрацентрифугированием и эксклюзионной хроматографией белка 5-кето-4-дезоксигуанат изомеразы (KduI) показал, что фермент олигомеризуется в растворе, образуя равновесную смесь гексамеров, димеров и двух типов додекамеров.

4. Методами МУРР, аналитического ультрацентрифугирования и эксклюзионной хроматографии показано, что гексамер глутамат декарбоксилазы (GadA) в растворе при pH 7.5 частично диссоциирует на димеры с образованием гетерогенной смеси, где форма гексамеров и димеров, а также их доля в растворе зависит от ионной силы.

5. Методами МУРР, молекулярного докинга и аналитического ультрацентрифугирования продемонстрировано, что дигидролипоилдегидрогеназа (LpD) в растворе образует равновесную смесь димеров и тетрамеров.

6. С помощью МУРР и компьютерного моделирования показано, что изменение структуры холестерических жидкокристаллических дисперсий ДНК зависит от концентрации полиэтиленгликоля с изменением межплоскостного расстояния в частицах дисперсий от 3.3 до 2.6 нм.

7. Было показано, что, благодаря поверхностным зарядовым эффектам, золотые наночастицы размером 15 нм в 10 раз более активно взаимодействуют с макромолекулами ДНК по сравнению с наночастицами золота размером 2 нм, что позволяет последним встраиваться между слоями ДНК, образуя упорядоченные кластеры.

8. На основе анализа структурных перестроек в ХЖКД ДНК была выдвинута гипотеза, что аналогичные изменения структуры могут произойти также во взаимном расположении макромолекул ДНК в хромосомах, вызывая генотоксический эффект.

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи:

A1. **L.A. Dadinova**, E.V. Shtykova, P.V. Konarev, E.V. Rodina, N.E. Snalina, N.N. Vorobyeva, S.A. Kurilova, T.I. Nazarova, C.M. Jeffries and D.I. Svergun. X-ray solution scattering study of four *Escherichia coli* enzymes involved in stationary-phase metabolism. // PLoS ONE, 2016, 11(5): e0156105. doi:10.1371/journal.pone.0156105.

A2. **Л.А. Дадинова**, Е.В. Родина, Н.Н. Воробьева, С.А. Курилова, Т.И. Назарова, Э.В. Штыкова. Структурные исследования дигидролипоилдегидрогеназы из *E. coli* в растворе: малоугловое рентгеновское рассеяние и молекулярный докинг. // Кристаллография, 2016, 61(3), 406-412.

A3. Ю. М. Евдокимов, С. Г. Скуридин, В. И. Сальянов, **Л. А. Дадинова**, О. Н. Компанец, Е. И. Кац. О пространственной организации двухцепочечных молекул ДНК в холестерической жидкокристаллической фазе. // Жидк. крист. и их практич. использ., 2016, 16 (1), 71–82.

A4. Ю.М. Евдокимов, С.Г. Скуридин, В.И. Сальянов, В.В. Волков, **Л.А. Дадинова**, О.Н. Компанец, Е.И. Кац. О пространственной организации двухцепочечных молекул ДНК в холестерической жидкокристаллической фазе и частицах дисперсии этой фазы. // Биофизика, 2015, 60(5), 861–876.

A5. Yu. M. Yevdokimov, S.G. Skuridin, V.I. Salyanov, E.V. Shtykova, **L.A. Dadinova**, V.V. Volkov, N.G. Khlebtsov, P.V. Komarov. Negatively charged gold nanoparticles “control” double-stranded DNAs spatial packing. // Journal of Materials Science & Nanotechnology, 2015, 1(6), 1-12.

A6. Ю.М. Евдокимов, С.Г. Скуридин, В.И. Сальянов, В.И. Попенко, Э.В. Штыкова, **Л.А. Дадинова**, В.В. Волков, Н.Г. Хлебцов, Б.Н. Хлебцов, Е.И. Кац. Новый нанобиоматериал – частицы жидкокристаллических дисперсий ДНК со встроенными кластерами из наночастиц золота. // Российские нанотехнологии, 2014, 9, 82-89.

### Тезисы докладов

1. **L.A.Dadinova**, E.V.Rodina, N. N. Vorobyeva, V.V.Volkov, E.V.Shtykova. SAXS-derived 3D models of novel bacterial fructose-1,6-bisphosphate aldolase. // 11<sup>th</sup> International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013 (BSR2013), Hamburg, Germany, Sept. 8-11 2013, Book of abstracts, p. 111.

2. E. Shtykova, **L. Dadinova**, V. Volkov, S. Skuridin, Yu. Evdokimov. Linear clusters of gold nanoparticles in quasinematic layers of DNA liquid-crystalline dispersion particles at different temperatures: morphology and structural transition. 11<sup>th</sup> International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013 (BSR2013), Hamburg, Germany, Sept. 8-11, 2013, Book of abstracts, p. 155.

3. **L.A. Dadinova**, E.V. Rodina, N.N. Vorobyeva, E.V. Shtykova. SAXS

derived 3D-model of the novel bacterial fructose-1,6-bisphosphate aldolase. // RACIRI Summer school 2013: Advanced Materials Design at X-ray and Neutron Facilities: Soft Matter and Nano Composites, Petergof, Russia, August 17 – 25, 2013, Book of abstracts, p. 28-29.

4. **Л. А. Дадинова**, Е.В.Родина, Н.Н. Воробьева, Э.В. Штыкова. Определение трехмерных структур белков-партнеров PPase и их комплексов как важный шаг к пониманию регуляции. // Международная молодежная научная школа "Современная нейтронография", Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия, 28 октября – 1 ноября 2013, Сборник тезисов, с. 29.

5. **Л. А. Дадинова**, Е.В. Родина, Н.Н. Воробьева, Э.В. Штыкова. Малоугловое рентгеновское рассеяние в исследовании пирофосфатазы в комплексе с белками, участвующими в регуляции метаболизма. // 11-я Курчатовская молодежная научная школа, НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия, 12 – 15 ноября, 2013, Сборник тезисов, с. 106.

6. **L.A. Dadinova**, E.V. Rodina, N.N. Vorobieva, E.V. Shtykova. Complex formation of pyrophosphatase with protein-partners investigated by small-angle X-ray scattering in solution. // 12<sup>th</sup> International School and Symposium on Synchrotron Radiation in Natural Science (ISSRNS 2014), Warsaw, Poland, June 15 – 20, 2014, Abstracts / Synchrotron Radiation in Natural Science, 13 (1-2), p. 55.

7. **Л. А. Дадинова**, Е.В.Родина, Н.Н. Воробьева, С.А. Курилова, Т.И. Назарова, Э.В. Штыкова. Синхротронное рассеяние в исследовании структуры белков-партнеров неорганической пирофосфатазы. // 49 Школа ПИЯФ по физике конденсированного состояния, Санкт- Петербург, г. Зеленогорск, Россия, 16-21 марта, 2015, Сборник тезисов, с. 132.

8. **Л.А. Дадинова**, Ю.М. Евдокимов, С.Г. Скуридин, В.И. Сальянов, В.В. Волков, Э.В. Штыкова. Малоугловое рентгеновское рассеяние в исследовании влияния инкорпорированных наночастиц золота на структуру холестерических жидкокристаллических дисперсий ДНК. // VII Российский симпозиум «Белки и Пептиды», Новосибирск, Россия, 12-17 июля 2015, Материалы симпозиума, с. 284.

9. **L. Dadinova**, Yu. Yevdokimov, S. Skuridin, V. Salyanov, V. Volkov, E. Shtykova. Influence of embedded gold nanoparticles on structure of dna cholesteric liquid-crystalline dispersion revealed by SAXS. // 16<sup>th</sup> International conference on small-angle scattering (SAS-2015), Berlin, Germany, Sept. 12-18, 2015, Book of abstracts, p.108.

10. **L. Dadinova**, E. Rodina, N. Vorobyeva, S. Kurilova, T. Nazarova, P. Konarev, E. Shtykova. // Structure of inorganic pyrophosphatase and of its proteinpartners in solution studied by SAXS. 16<sup>th</sup> International conference on small-angle scattering (SAS-2015), Berlin, Germany, Sept. 12-18, 2015, Book of abstracts, p. 156.