

Zakład Chemii Teoretycznej i Strukturalnej
Pracownia Krystalochemii

Krystalizacja i badania wstępne w celu uzyskania struktury kompleksu LHCII z liści szpinaku z pomiarów dyfrakcji elektronowej (3D-ED)

Michał Dominik Kamiński

Kierownik: **prof. dr hab. Paulina Maria Dominiak**

Współkierownik: **prof. dr hab. Maciej Garstka, Zakład Regulacji Metabolizmu, Wydział Biologii UW**

Procesy fazy jasnej fotosyntezy stały się w ostatnich latach inspiracją do tworzenia fotoaktywnych układów biohybrydowych. Jeden z możliwych układów wykorzystuje kompleksy antenowe LHCII i zawarte w nim barwniki fotosyntetyczne do absorpcji kwantów światła oraz chinony jako mediatory do przenoszenia elektronów na elektrodę [1]. Aby zrozumieć molekularny proces przenoszenia elektronów na mediatory, należy poznać mechanizm i miejsce dokowania chinonów w kompleksach białkowych, w czym mogą pomóc analizy strukturalne białka.

Rozwijana ostatnio krystalografia elektronowa (3D-ED) umożliwia pomiary nanokryształów w rozdzielczości atomowej, co pozwala m.in. na uzyskanie modeli strukturalnych białek słabo krystalizujących, w lepszej rozdzielczości niż w popularnie stosowanej mikroskopii elektronowej (EM) wykorzystującej metodę „single particle” do rekonstrukcji [2]. Aby uzyskać informacje strukturalne o miejscu i mechanizmie dokowania chinonów w LHCII należy najpierw wykrystalizować białko natywne oraz rozwiązać jego strukturę po pomiarach dyfrakcyjnych.

Niniejsza praca skupia się na ustaleniu struktury krystalicznej i atomowej kompleksu białkowo-barwnikowego LHCII z wykorzystaniem narzędzi 3D-ED. W tym celu wyizolowano kompleksy fotosyntetyczne z liści szpinaku (*Spinacia oleracea* L.), które następnie oczyszczono na gradientach sacharozowych, zagęszczono i wykrystalizowano. Czystość preparatu potwierdzono poprzez analizę elektroforetyczną SDS-Page, a także wykonano analizę Western Blot w celu ustalenia składu podjednostkowego kompleksu. Wpływ stosowanych detergentów na strukturę LHCII zbadano metodami fluorescencyjnymi.

Literatura:

[1] Łazicka M., Palińska-Saadi A., Piotrowska P., Paterczyk B., Mazur R., Maj-żurawska M., Garstka M., 2022, The coupled photocycle of phenyl-p-benzoquinone and Light-Harvesting Complex II (LHCII) within the biohybrid system, *Sci. Rep.*, 12(1):12771

[2] Gemmi M., Mugnaioli E., Gorelik T. E., Kolb U., Palatinus L., Boullay P., Hovmöller S., Abrahams J. P., 3D Electron diffraction: the nanocrystallography revolution, *ASC Cent. Sci.*, 8, 1315-1329