

Исследование архитектуры светособирающих комплексов LH2 и LH1-RC из пурпурной серной бактерии *Ectothiorhodospira haloalkaliphila*

Бурцева А.Д.^{1, 2*}, Баймухаметов Т.Н.³, Чжан Х.^{4, 5}, Большаков М.А.⁶,
Ашихмин А.А.⁶, Бойко К.М.^{2**}

¹ Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет),
Долгопрудный, Россия

² Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

⁴ Шэньчжэньский институт передовых технологий, Китайская академия наук,
Шэньчжэнь, Китай

⁵ Школа наук о жизни, Южный университет науки и технологий, Шэньчжэнь, Китай

⁶ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ «Пуцинский научный центр
биологических исследований» РАН, Пуцино, Россия

* a.burtseva@fbras.ru; ** boiko_konstantin@inbi.ras.ru

Ключевые слова: светособирающие комплексы; крио-ЭМ; фотосинтез; пурпурные серные бактерии; 3D структура

Мотивация и цель: Основными структурными компонентами фотосинтетического аппарата бактерий являются светособирающие комплексы (LH) и фотохимически активный реакционный центр (RC). Выделяют две группы светособирающих комплексов согласно их расположению относительно RC: прицентровые комплексы (LH1), которые образуют с RC так называемый коровый комплекс LH1-RC, и периферийные (LH2) комплексы. В отличие от несерных пурпурных бактерий, для серных бактерий существует только одна структура LH2 [1] и четыре LH1-RC [2–5] высокого и умеренного разрешения, что подчеркивает значительный недостаток структурных данных в этой области. Целью настоящей работы является использование метода крио-ЭМ для выявления структурных деталей комплексов LH1-RC и LH2 из пурпурной серной бактерии *E. haloalkaliphila*.

Методы и алгоритмы: 3 мкл образца LH2 нанесли на сетку QuantiFoil R0.6/1 Cu 300 mesh, которая не была обработана в тлеющем разряде перед нанесением образца. Сетка была витрифицирована погружением в жидкий этан с помощью прибора FEI Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific, США). Крио-ЭМ данные собирали на просвечивающем электронном микроскопе Titan Krios 60-300 (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенный детектором прямых электронов Gatan K3 Summit (Gatan, США) в режиме счета с помощью программы SerialEM 4.0 [6] в НИЦ «Курчатовский институт».

3 мкл образца LH1-RC нанесли на сетку QuantiFoil R0.6/1 Cu 300 mesh, которую гидрофилизировали с помощью системы очистки тлеющим разрядом PELCO easiGlow (Ted Pella. Inc) при 15 мА в течение 60 с. Сетка была витрифицирована погружением в жидкий этан с помощью прибора FEI Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific, США). Сетки загрузили в электронный микроскоп Titan Krios с напряжением 300 кВ (Thermo Fisher), оснащенный детектором Gatan K3 Summit

(Gatan, США). Обработка данных проводилась в программе CryoSPARC ver. 4.2.1 [7]. Моделирование и уточнение выполнялись с помощью программы COOT [8]. **Результаты:** Методом крио-ЭМ получены структуры комплексов LH2 и LH1-RC из пурпурной серной бактерии *E. haloalkaliphila* с разрешением 1.7 и 2.5 Å соответственно. Комплекс LH1 имеет кольцевую архитектуру и состоит из 16 идентичных субъединиц с RC, расположенным в центре и состоящим из цитохрома *c*, а также полипептидных цепей, которые связывают различные кофакторы, включая бактериохлорофилл (БХл), феофитин, каротиноиды и ионы железа. LH2 представляет собой кольцообразный октамер, каждая субъединица которого содержит α - и β -полипептиды, нековалентно связывающие три молекулы БХл и одну молекулу каротиноида. Последовательность полипептидов и тип каротиноидов в комплексе были однозначно определены благодаря разрешению, близкому к атомному. Проведен сравнительный анализ полученных структурных данных.

Выводы: Координаты LH2 из *E. haloalkaliphila* были депонированы в RCSB Protein Data Bank под кодом доступа 8Z4V. Крио-ЭМ карты комплекса LH2 депонированы в Electron Microscopy Data Bank под номером доступа EMD-39770. **Финансирование:** Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (№ 23-74-00062).

Structural studies of the LH2 and LH1-RC light-harvesting complexes from the purple sulfur bacterium

Ectothiorhodospira haloalkaliphila

Burtseva A.D.^{1,2*}, Baymukhametov T.N.³, Zhang H.^{4,5}, Bolshakov M.A.⁶,
Ashikhmin A.A.⁶, Boyko K.M.^{2***}

¹ Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow Region, Russia

² Research Center of Biotechnology, RAS, Moscow, Russia

³ National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

⁴ Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen, China

⁵ School of Life Sciences, Southern University of Science and Technology, Shenzhen, China

⁶ Pushchino Scientific Center for Biological Research, RAS, Pushchino, Moscow region, Russia

* a.burtseva@fbras.ru; ** boiko_konstantin@inbi.ras.ru

Key words: light-harvesting complex; cryo-EM; photosynthesis; purple sulfur bacteria; 3D structure

Motivation and Aim: The main structural components of the photosynthetic apparatus of bacteria are light-harvesting complexes (LH) and photochemically active reaction center (RC). There are two types of LH complexes according to their location relative to the RC: the near-center complexes (LH1), which together with the RC form the core LH1-RC complex, and the peripheral complexes (LH2). In contrast to non-sulfur purple bacteria, there are only one LH2 [1] and four LH1-RC [2–5] high-to-moderate resolution structures for sulfur bacteria, highlighting the significant lack of structural data in this area. The aim of the present work was to use cryo-EM technique to reveal structural details of LH1-RC and LH2 complexes from purple sulfur bacteria *E. haloalkaliphila*.

Methods and Algorithms: 3 μ l of LH2 sample was applied to the QuantiFoil R0.6/1 300 mesh Cu grid, which was not glow-discharged prior to sample application. The grid

was plunge-frozen in liquid ethane using a FEI Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific, USA). Cryo-EM data were collected on a Titan Krios 60-300 transmission electron microscope (Thermo Fisher Scientific, USA) equipped with a Gatan K3 Summit direct electron detector (Gatan, USA) in counting mode using SerialEM 4.0 [6] at the National Research Centre “Kurchatov Institute”.

3 μ l of LH1-RC sample was applied to the QuantiFoil R0.6/1 300 mesh Cu grid, which was glow-discharged under 15 mA for 60 s using an easiGlow (Ted Pella, Inc). The grid was plunge-frozen in liquid ethane using a FEI Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific, USA). Sample grids were loaded onto a 300 kV TitanKrios microscope (ThermoFisher) operated at 300 kV and equipped with a Gatan K3 Summit detector (Gatan, USA). Data processing was performed in CryoSPARC ver. 4.2.1 [7]. Modeling and refinement were made using COOT [8].

Results: Structures of LH2 and LH1-RC complexes from the purple sulfur bacterium *E. haloalkaliphila* were determined using cryo-EM technique at 1.7 Å and 2.5 Å resolution, respectively. The LH1 complex has a ring architecture and consists of 16 identical subunits with the RC at the very center, composed of cytochrome c and polypeptide chains that bind various cofactors including BChl, pheophytin, carotenoids, and iron ions. LH2 is a ring-shaped octamer, each subunit containing α - and β -polypeptides that noncovalently bind three BChl molecules and one carotenoid molecule. The sequence of the polypeptides and the type of carotenoids in the complex were unambiguously determined due to near-atomic resolution of this complex. Comparative analysis of the obtained structural data was done.

Conclusions: Atomic coordinates of the LH2 from *E. haloalkaliphila* are deposited in the RCSB Protein Data Bank under accession code 8Z4V. The cryo-EM maps of the LH2 complex were deposited in the Electron Microscopy Data Bank under accession number EMD-39770.

Funding: The study was supported the Russian Science Foundation grant (No. 23-74-00062).

Список литературы/References

1. Gardiner A.T., Naydenova K., Castro-Hartmann P., Nguyen-Phan T.C., Russo C.J., Sader K., Hunter C.N., Cogdell R.J., Qian P. The 2.4 Å cryo-EM structure of a heptameric light-harvesting 2 complex reveals two carotenoid energy transfer pathways. *Sci Adv.* 2021;7:eabe4650. doi 10.1126/sciadv.abe4650
2. Yu L.J., Suga M., Wang-Otomo Z.Y., Shen J.R. Structure of photosynthetic LH1-RC supercomplex at 1.9 Å resolution. *Nature.* 2018;556(7700):209-213. doi 10.1038/s41586-018-0002-9
3. Tani K., Kanno R., Makino Y. et al. Cryo-EM structure of a Ca^{2+} -bound photosynthetic LH1-RC complex containing multiple $\alpha\beta$ -polypeptides. *Nat Commun.* 2020;11(1):4955. doi 10.1038/s41467-020-18748-3
4. Tani K., Kobayashi K., Hosogi N. et al. A Ca^{2+} -binding motif underlies the unusual properties of certain photosynthetic bacterial core light-harvesting complexes. *J Biol Chem.* 2022;298(6):101967. doi 10.1016/j.jbc.2022.101967
5. Tani K., Kanno R., Harada A. et al. High-resolution structure and biochemical properties of the LH1-RC photocomplex from the model purple sulfur bacterium, *Allochrochromatium vinosum*. *Commun Biol.* 2024;7(1):176. doi 10.1038/s42003-024-05863-w
6. Mastronarde D.N. Automated electron microscope tomography using robust prediction of specimen movements. *J Struct Biol.* 2005;152(1):36-51. doi 10.1016/j.jsb.2005.07.007
7. Punjani A., Rubinstein J.L., Fleet D.J., Brubaker M.A. cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination. *Nat Methods.* 2017;14(3):290-296. doi 10.1038/nmeth.4169
8. Emsley P., Cowtan K. Coot: model-building tools for molecular graphics. *Acta Crystallogr, Sect D: Biol Crystallogr.* 2004;60(Pt. 12. Pt. 1):2126-2132. doi 10.1107/S0907444904019158