

## Радиопротекторный белок тихоходок Dsup (damage suppressor) устойчив к воздействию высоких доз ионизирующего излучения

М.П. Зарубин,<sup>1,\*</sup> А.Ф. Низамиева,<sup>1,2</sup> С.И. Алексеев,<sup>1</sup>  
С.В. Митрофанов,<sup>1</sup> Ю.Е. Горшкова,<sup>1,2,†</sup> Е.В. Кравченко<sup>1,‡</sup>

<sup>1</sup>Объединенный институт ядерных исследований  
Россия, 141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, д. 6  
<sup>2</sup>Казанский федеральный университет, Институт физики  
Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 16А

(Поступила в редакцию 08.09.2023; после доработки 03.11.2023; подписана в печать 07.11.2023)

Уникальный белок Dsup тихоходки *Ramazzottius varieornatus* увеличивает устойчивость к воздействию радиации и окислительного стресса у различных видов организмов и в культуре клеток человека. Согласно данным моделирования, Dsup образует комплекс с ДНК с межмолекулярным расстоянием  $\sim 4$  Å, в результате чего ДНК меньше повреждается активными формами кислорода, образующимися в ходе воздействия радиации. Однако остается неясной стабильность самого белка Dsup в ходе воздействия на него ионизирующего излучения, что важно для оценки его радиопротекторного потенциала и понимания молекулярных механизмов действия этого белка в условиях высоких доз радиации. В данной работе впервые проведено исследование радиационной деградации белка Dsup после облучения  $\gamma$ -квантами с помощью методов малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) и электрофореза белков в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (SDS-PAGE). Показано, что, в отличие от контрольного белка бычьего сывороточного альбумина, пространственно-структурные характеристики белка Dsup почти не изменяются даже при воздействии высоких доз радиации (5 и 10 кГр), что позволяет говорить о его высокой радиационной стабильности.

PACS: 87.15.bk. УДК: 539.26.

Ключевые слова: белок Dsup, радиопротектор, МУРР, радиационная деградация, агрегация.

DOI: [10.55959/MSU0579-9392.79.2410702](https://doi.org/10.55959/MSU0579-9392.79.2410702)

### ВВЕДЕНИЕ

Ионизирующее излучение оказывает выраженное вредное воздействие на живые системы в основном из-за окислительного повреждения макромолекул, находящихся в клетках. Например, активные формы кислорода, генерирующиеся в ходе воздействия ионизирующей радиации, повреждают и модифицируют ДНК и вызывают структурные и конформационные изменения в белках [1, 2]. Среди структурных изменений, которые индуцирует в белках, наиболее часто встречаются окисление, фрагментация, агрегация и образование поперечных связей [3]. Во многом эти изменения зависят от аминокислотной последовательности и вторичной структуры белка, а также от концентрации белка в растворе, типа и дозы ионизирующего излучения [4]. В некоторых случаях это может позволить использовать белки в качестве дозиметрических материалов для измерения высоких доз радиации [5].

Неупорядоченные белки (intrinsically disordered proteins) представляют собой обширную группу

белков, для которых характерно высокое (>50%) содержание регионов с отсутствием фиксированной пространственной структуры, что обуславливает высокодинамическую пространственную структуру таких белков [6]. Особый интерес представляют неупорядоченные белки тихоходок, с наличием которых связывают экстремальную устойчивость этих животных к радиации (до 10 кГр), высушиванию, высоким температурам, условиям открытого космоса, действию органических растворителей и др. [7–12]. Среди неупорядоченных белков тихоходок в 2016 г. был открыт белок Dsup (damage suppressor), присутствие которого повышает радиорезистентность и устойчивость к окислительному стрессу у различных организмов и в культуре клеток человека [13–15]. Предполагается, что локализуемый в ядре белок Dsup связывается с ДНК, формируя вокруг неё защитный слой, что снижает степень повреждения ДНК свободными радикалами в ходе воздействия ионизирующего излучения [14, 16, 17]. Положительно заряженный белок Dsup связывается с любыми последовательностями нуклеиновых кислот за счет электростатических взаимодействий [13, 14] и, согласно результатам моделирования, образует плотный комплекс Dsup–ДНК [17]. Однако остается неясным, как ионизирующее излучение влияет на структуру и пространственные характеристики белка Dsup,

\* E-mail: [mzarubin@jinr.ru](mailto:mzarubin@jinr.ru)

† E-mail: [Yulia.Gorshkova@jinr.ru](mailto:Yulia.Gorshkova@jinr.ru)

‡ E-mail: [elenakravchenko@jinr.ru](mailto:elenakravchenko@jinr.ru)

которые являются важными для правильного и эффективного формирования комплекса Dsup–ДНК и понимания механизма действия этого белка в ходе радиационного и окислительного стресса. Это может быть важным для оценки возможности применения белка Dsup в качестве ДНК-протектора для модельных организмов и клеточных культур в медицине и биотехнологии и разработки эффективного стабилизатора ДНК-содержащих препаратов на основе этого белка. Поэтому целью нашего исследования являлось изучение влияния радиационно-индуцированных изменений в белке Dsup на его пространственные характеристики с помощью методов малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) и электрофореза белков в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (SDS–PAGE).

## 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 1.1. Используемые белки

Рекомбинантный белок Dsup получали в клетках *E. coli* BL21 (DE3) с использованием плазмиды pCold-I-Dsup (дар Takekazu Kunieda (Addgene plasmid #90021)) [14]. Очистку белка проводили с помощью Ni-NTA Fast Start Kit (QIAGEN) согласно инструкциям производителя. Полученный раствор белка Dsup концентрировали до 5 мг/мл и заменяли элюирующий буфер на стандартный фосфатный буферный солевой раствор PBS, pH-7.4 (Gibco) с помощью центрифужных концентраторов Amicon (Merck). Концентрацию белка определяли с помощью Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific) и Qubit Protein Broad Range (BR) Assay Kit (Thermo Fisher Scientific). Бычий сывороточный альбумин (БСА) (Sigma-Aldrich) использовался в виде раствора в стандартном фосфатном буферном солевом растворе (PBS) в концентрации 5 мг/мл.

### 1.2. Облучение растворов белков

Растворы белков с концентрацией 5 мг/мл облучали  $\gamma$ -квантами на установке микротрон МТ-25 Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ в дозах 1, 5, 10 кГр с интенсивностью 1 Гр $\cdot$ с $^{-1}$ . Дозиметрический контроль проводился с помощью ионизационной камеры SNC600c (Sun Nuclear Corporation).

### 1.3. Электрофорез белков в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях

Электрофорез белков в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях проводили по методу Лэммли [18] в электрофорезной камере Mini-PROTEAN Tetra (Bio-Rad) с использованием гелей 12% Mini-PROTEAN $^{\text{®}}$  TGX $^{\text{TM}}$  Precast Protein Gels (Bio-Rad) и электрофорезного буфера, содержащего Tris base 25 mM, глицин 192 mM, SDS 0.1% w/v.

В качестве маркера молекулярного веса использовался Precision Plus Protein $^{\text{TM}}$  Dual Color Standards (Bio-Rad).

### 1.4. Эксперименты по малоугловому рентгеновскому рассеянию и их анализ

Эксперименты по малоугловому рентгеновскому рассеянию (МУРР) проводились на Xeuss 3.0 SAXS/WAXS (Xenocs) в Лаборатории нейтронной физики ОИЯИ. Измерения осуществлены на установке в точечной геометрии с использованием микрофокусного источника GeniX 3D рентгеновского излучения с длиной волны  $\lambda = 1.5419 \text{ \AA}$  в моде 30 Вт/30 мкм. Установка оснащена детектором Eiger2 R1 M (Dectris) с площадью 77.1 мм  $\times$  79.7 мм. Измерения образцов проводились в боросиликатных капиллярах с внутренним диаметром 1.5 мм (Hilgenberg), находившихся в вакууме при комнатной температуре. Время набора данных составляло 60 мин для каждого расстояния образец–детектор (SD). Выбор трех расстояний SD 400, 1800 и 4500 мм в эксперименте позволил получить зависимость интенсивности рассеяния рентгеновского излучения  $I(q)$  в диапазоне переданных импульсов  $q = (4\pi/\lambda) \sin(\theta)$ , где  $2\theta$  — угол рассеяния, от  $5 \times 10^{-3}$  до  $0.65 \text{ \AA}^{-1}$ . Стандарты AgBeh (silver behenate) и GC (glassy carbon) использовали для калибровки расстояния SD и абсолютной интенсивности соответственно. Первичная обработка данных проводилась в программе Xenocs XSACT версия 2.4. (<https://www.xenocs.com/saxs-products/xsact-software/>).

Обработка экспериментальных данных проводилась с помощью программного пакета ATSA 3.0 [19]. Значения радиусов инерции  $R_g$  определяли с использованием закона Гинье в малых углах, а также из функции парного распределения расстояний  $P(r)$ , получаемой из преобразования Фурье [20, 21] по формуле:

$$P(r) = \frac{r^2}{2\pi^2} \int_0^\infty q^2 I(q) \frac{\sin(qr)}{qr} dq.$$

Также зависимость  $P(r)$  от  $r$  позволяет установить максимальный размер молекулы ( $D_{\text{max}}$ ), оценить общую форму объекта. Для оценки склонности белков к агрегации после облучения  $\gamma$ -излучением проводился анализ при малых  $q$  с помощью графика Гинье, построенного в координатах  $\ln I(q)$  от  $q^2$ , данная методика является стандартным способом контроля качества макромолекул в экспериментах малоуглового рентгеновского рассеяния [22]. Расчет молекулярной массы проводился по результатам экстраполяции по методу, основанному на оценке объема Порода ( $V_p$ ) с использованием дополнительной коррекции SAXSMoW, а также из объема корреляции ( $V_c$ ) [23–25].

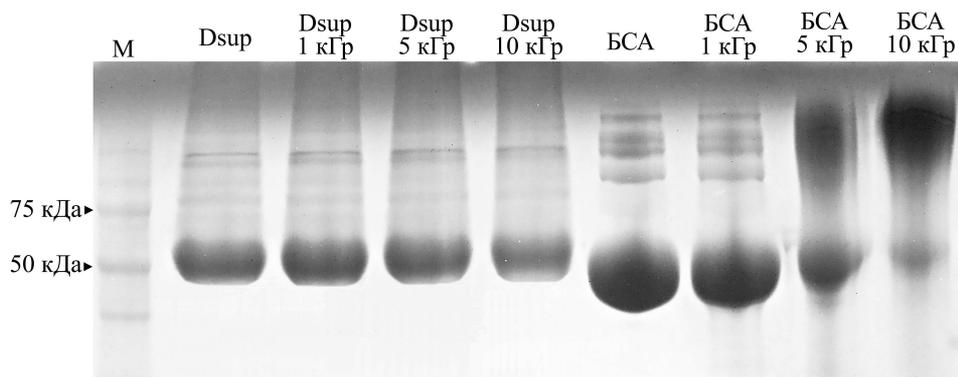


Рис. 1. SDS-PAGE профили для необлученных и облученных белков Dsup и БСА в дозах 1, 5, 10 кГр. М — маркер молекулярного веса

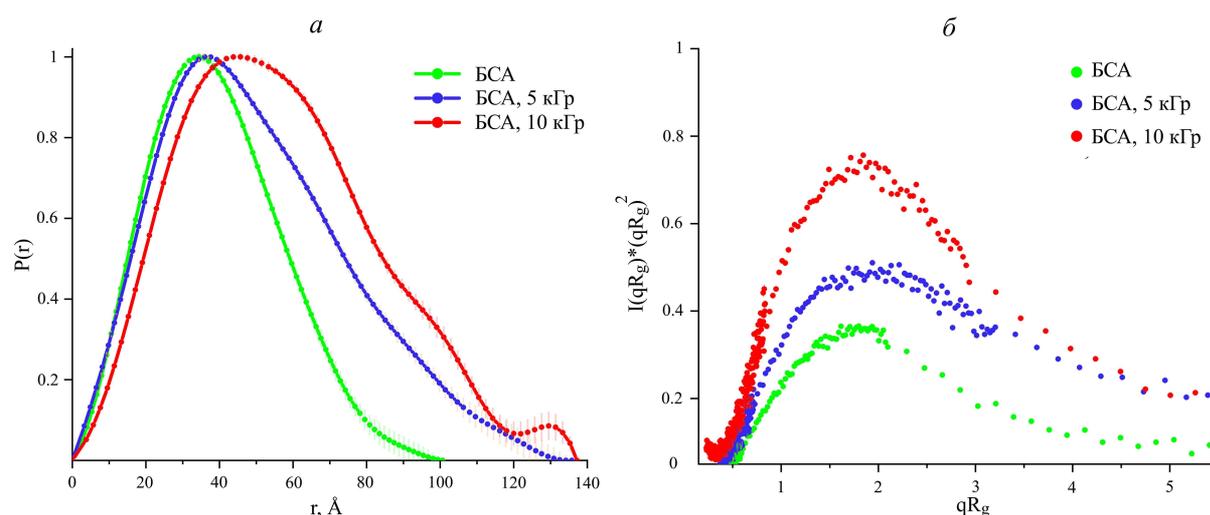


Рис. 2. Парные функции распределения по расстояниям (а) и безразмерный график Кратки (б) для бычьего сывороточного альбумина, облученного различными дозами  $\gamma$ -излучения и в отсутствие облучения

## 2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе воздействия ионизирующей радиации на клетки живых организмов образуются активные формы кислорода и свободные радикалы, которые модифицируют структуру белков, что приводит к изменению их физико-химических свойств и, как следствие, нарушению их функционирования [26]. Неупорядоченный радиопротекторный белок тихоходок Dsup локализуется в клеточном ядре и образует плотный комплекс с ДНК с предполагаемым по результатам моделирования межмолекулярным расстоянием  $\sim 4$  Å [14, 17]. В связи с этим изменения в пространственных характеристиках белка Dsup, возникающие под действием ионизирующего излучения, могут оказать значительное влияние на формирование Dsup-ДНК комплекса и уменьшить радиопротекторный эффект белка Dsup. В данной работе проведена оценка некоторых пространственных характеристик неупорядоченного белка Dsup в результате воздействия различных доз  $\gamma$ -квантов и сравнение их с воздействием радиации на про-

странственную структуру глобулярного белка бычьего сывороточного альбумина (БСА).

Электрофорез белков в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях является распространенным методом для оценки повреждения белков в ходе облучения высокими дозами  $\gamma$ -квантов [27, 28]. Гамма-облучение вызывает разрывы и сшивки полипептидных цепей за счет окислительного повреждения аминокислот, и повреждение белка можно визуализировать после электрофореза в полиакриламидном геле за счет появления новых мелких или крупных белковых фрагментов и размывания белковых полос в геле. SDS-PAGE профили для необлученного и облученного в разных дозах БСА (рис. 1) демонстрируют формирование агрегатов белка начиная от дозы 5 кГр, а для дозы 10 кГр значительная часть белка находится в виде высокомолекулярных агрегатов, возникших в ходе межмолекулярных сшивок. Эти данные хорошо согласуются с данными других исследователей [27–29] и могут служить контролем облучения в наших экспериментах. SDS-PAGE профили для необлученного

Таблица. Молекулярные характеристики БСА, рассчитанные по данным МУРР.  $R_g$  — радиус инерции,  $I(0)$  — интенсивность при  $q = 0$ ,  $D_{\max}$  — максимальный поперечный размер,  $V_p$  — породовский объем, ММ — молекулярная масса

Образец	$R_g, \text{ \AA}$	$I(0)$	$D_{\max}, \text{ \AA}$	$V_p, \text{ \AA}^3$	ММ, кДа		ММ (UniProt), кДа
					$Q_p$	$V_c$	
БСА	29.6±0.7	0.32±0.01	100.7	92450	66.95	65.7	69.3
БСА, 5 кГр	36.0±1.0	0.45±0.01	135.8	121520	75.30	74.00	
БСА, 10 кГр	42±1.6	0.69±0.02	137.2	251000	182.15	170.85	
БСА, мономер [22, 42]	28		92.0	92000			
БСА, димер [22]	41		138.0	200000			138.6

и облученного белка Dsup в дозе 1–5 кГр различий не имеют, некоторое размывание белковых полос в геле наблюдается после облучения в дозе 10 кГр (рис. 1), однако ни в одном из экспериментов не наблюдается выраженной агрегации или фрагментации белка Dsup, что говорит о его высокой радиационной устойчивости по сравнению с БСА. Возможно, это связано с низким содержанием тирозина (1 из 445 аминокислотных остатков), метионина (3 из 445 аминокислотных остатков) и цистеина (отсутствует) в Dsup, поскольку эти три аминокислоты активно участвуют в образовании сшивок между белками за счет образования в ходе облучения биптирозинных и бисульфидных мостиков [30–32].

Оценка пространственных характеристик облученных и необлученных белков БСА и Dsup в растворе, включающих в себя структуры, возникшие в том числе в результате нековалентных взаимодействий, была проведена методом МУРР, в котором исследовались растворы белка Dsup (5 мг/мл) и БСА (5 мг/мл) в фосфатном буферном солевом растворе до и после облучения  $\gamma$ -квантами в дозах 5 и 10 кГр. МУРР является эффективным методом при исследованиях стабильности и влияния денатурирующих факторов на белки [33–36]. Важно отметить, что исследование растворов БСА является одним из стандартных способов оценки качества рентгеновского пучка и степени деградации образцов на высокопоточных установках малоуглового рентгеновского рассеяния [22]. В данной работе проводился анализ МУРР образцов после облучения  $\gamma$ -квантами в дозе 5 кГр, близкой к ЛД<sub>50</sub> (полулетальная доза) тихоходок [7, 37, 38], и дозе 10 кГр, являющейся максимально разрешенной при стерилизации пищевых продуктов и летальной для большей части известных организмов [7, 39–41].

В ходе облучения в дозах до 10 кГр мономерные формы белков могут образовывать агрегаты (димеры, олигомеры), что сопровождается разрушением внутренней структуры [33, 34, 43]. Парные функции распределения по расстояниям  $P(r)$ , полученные в результате анализа данных МУРР для БСА, демонстрируют существенное увеличение максимального поперечного размера молекулы в зависимости от дозы облучения (101 Å — 0 Гр, 136 Å — 5 кГр, 137 Å — 10 кГр, что превышает размеры для димерной формы БСА (129 Å) [42] (рис. 2, а, таблица). Для максимума функции парного распре-

ления размеров  $P(r)$  при увеличении дозы облучения наблюдается сдвиг к большим размерам от 30 Å в случае мономера БСА к 50 Å в олигомерном БСА (рис. 2, а). Также изменение профиля функции  $P(r)$  отражает увеличение размеров рассеивающих молекул в растворе при образовании агрегата и повышении гетерогенности системы (рис. 2, а), а оценка радиуса инерции ( $R_g$ ) молекулы БСА показывает рост  $R_g$  в зависимости от дозы облучения с 29 до 42 Å (таблица). Оценки молекулярной массы БСА по данным МУРР (таблица) показывают, что без облучения белок находится в растворе в состоянии мономера с расчетной молекулярной массой около 67 кДа, что хорошо согласуется с данными других исследователей [42], тогда как после облучения в дозе 10 кГр белок имеет молекулярную массу 182 кДа, что можно интерпретировать как возникновение межмолекулярных агрегатов. График Кратки для БСА имеет увеличивающийся в зависимости от дозы облучения максимум функции в колоколообразном регионе, что также отражает процесс формирования более крупных агрегатов. (рис. 2, б). Таким образом, на примере БСА нами показано, что, анализируя данные МУРР, можно зарегистрировать переход белков из нативного в агрегированное состояние в растворе при облучении в диапазоне доз 0–10 кГр.

Для оценки структурных радиационно-индуцированных нарушений в БСА и белке Dsup в растворе после облучения в дозах 5 и 10 кГр нами было использовано фитирование данных, представленных на рис. 3, а, б, в малых углах по методу Гинье (рис. 3, в, г). На графиках Гиньедля БСА процесс образования агрегатов при облучении  $\gamma$ -квантами в дозах 5 и 10 кГр отражается увеличением наклона линейного фита (рис. 3, в), что подтверждается увеличением расчетного радиуса инерции молекулы, максимального поперечного размера и молекулярной массы БСА, соответствующим возникновению крупных олигомеров в растворе (таблица). Для белка Dsup угол наклона графика Гинье (рис. 3, г) меняется незначительно, как и сама функция рассеяния  $I(q)$ , что свидетельствует об отсутствии изменений в пространственной структуре этого белка как за счет ковалентных, так и нековалентных взаимодействий при облучении в растворе  $\gamma$ -квантами в дозах 5 и 10 кГр.

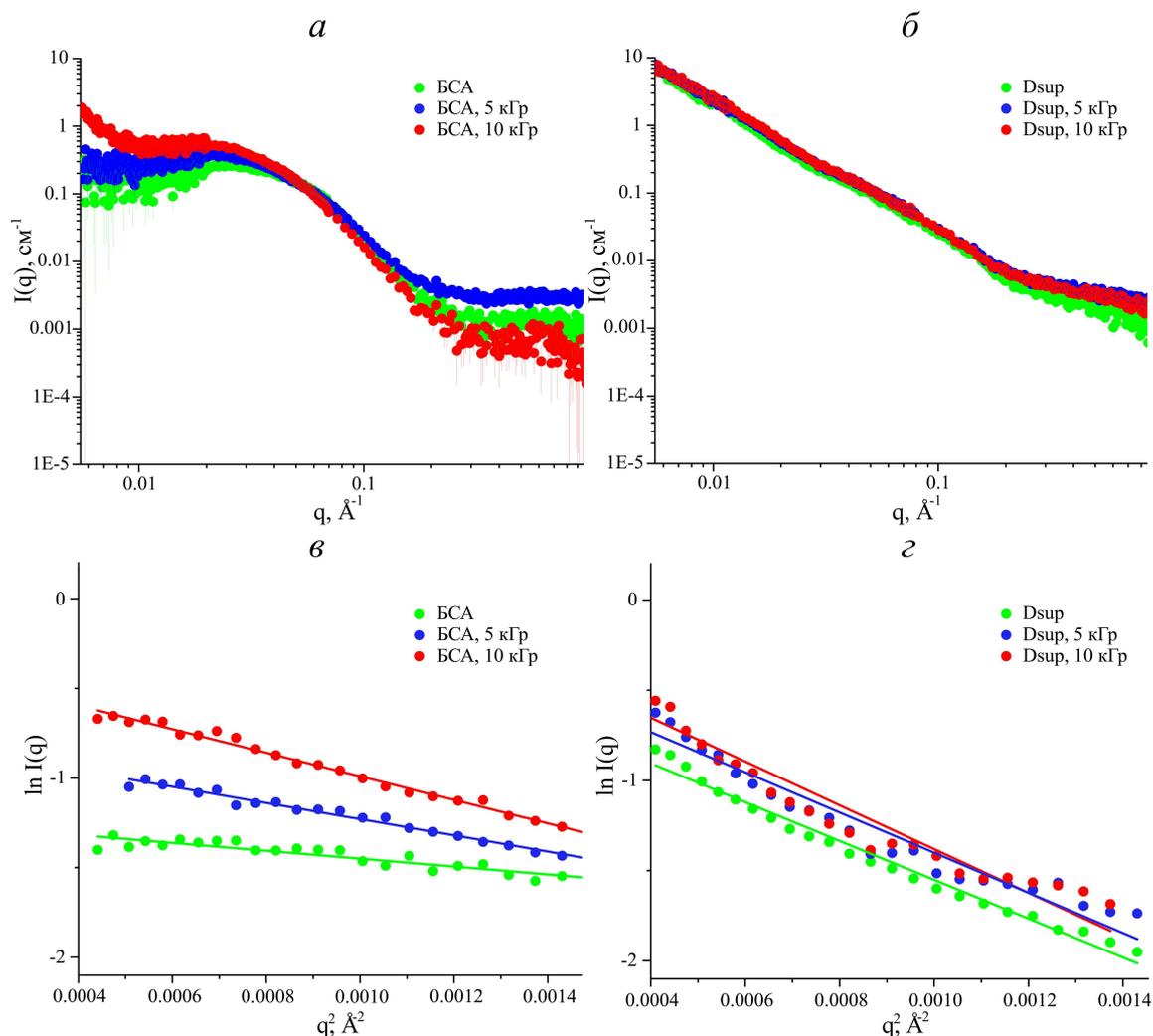


Рис. 3. Кривые МУРР для белков бычьего сывороточного альбумина (а) и белка тихоходок Dsup (б) в отсутствие и после облучения  $\gamma$ -излучением в дозах 5 и 10 кГр. График Гинье для растворов бычьего сывороточного альбумина (в) и белка тихоходок Dsup (г) в отсутствие и после облучения  $\gamma$ -излучением в дозах 5 и 10 кГр

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные с помощью SDS-PAGE и МУРР данные демонстрируют отсутствие радиационно-индуцируемой агрегации и изменений пространственной структуры белка Dsup при облучении  $\gamma$ -квантами в дозах 5 и 10 кГр и высокую радиационную устойчивость неупорядоченного белка Dsup по сравнению с глобулярным белком БСА. Эти результаты позволяют предположить, что бе-

лок Dsup в ходе воздействия высоких доз ионизирующего излучения сохраняет свою способность образовывать плотный агрегат с ДНК и выполняет свою радиопротекторную функцию. Дальнейшие исследования свойств белка Dsup и механизма его действия в различных физико-химических условиях могут оказать значительный вклад в разработку новых радиопротекторов и стабилизаторов для ДНК и РНК.

- [1] Davies M.J. // *Biochim. Biophys. Acta.* **1703**, N 2. 93. (2005).
- [2] Huang R.X., Zhou P.K. // *Signal Transduction and Targeted Therapy.* **5**, N 1. (2020).
- [3] Garrison W.M. // *Chem. Rev.* **87**, N 2. 381. (1987).
- [4] Kempner E.S. // *Q. Rev. Biophys.* **26**, N 1. 27. (1993).
- [5] Mishra D.R., Soni A., Rawat N.S., Bokam G. // *Radiat. Environ. Biophys.* **55**. 255. (2016).
- [6] Uversky V.N. // *Frontiers in Physics.* **7**. 10. (2019).
- [7] Horikawa D.D. et al. // *Astrobiology.* **8**, N 3. 549. (2008).
- [8] Boothby T.C. et al. // *Mol. Cell.* **65**, N 6. 975. (2017).
- [9] Jönsson K. I. // *Cancers (Basel).* **11**, N 9. 1333. (2019).
- [10] Jönsson K.I. et al. // *Current Biology.* **18**, N 17. (2008).
- [11] Neves R.C. et al. // *Sci. Rep.* **10**, N 1. 1. (2020).

- [12] Møbjerg N., Neves R.C. // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*. **254**. (2021).
- [13] Zarubin M. et al. // *iScience*. **26**, N 7. (2023).
- [14] Hashimoto T. et al. // *Nat. Commun.* **7**, N 1. 12808. (2016).
- [15] Kirke J., Jin X.L., Zhang X.H. // *Mol. Biotechnol.* **62**. 563. (2020).
- [16] Chavez C. et al. // *Elife*. **8**. (2019).
- [17] Ménguez-Toral M., Cuevas-Zuñiréa B., Garrido-Arandia M., Pacios L.F. // *Sci. Rep.* **10**, N 1. (2020).
- [18] Laemmli U.K. // *Nature*. **227**, N 5259. 680. (1970).
- [19] Manalastas-Cantos K. et al. // *J. Appl. Crystallogr.* **54**. 343. (2021).
- [20] Guinier A., Fournet G., Walker C.B., Vineyard G.H. // *Physics Today*. **9**. 38. (1956).
- [21] Tidow H. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A.* **104**, N 30. 12324. (2007).
- [22] Jeffries C.M. et al. // *Nat. Protoc.* **11**, N 11. 2122. (2016).
- [23] Kratky O., Porod G., Kahovec L. // *Phys. Chemie*. **55**, N 1. 53. (1951).
- [24] Piiadov V. et al. // *Protein Sci.* **28**, N 2. 454. (2019).
- [25] Rambo R.P., Tainer J.A. // *Nature*. **496**, N 7446. 477. (2013).
- [26] Schaden L.M. et al. // *Pharm. Res.* **35**. 1. (2018).
- [27] Mishra K. et al. // *Int. J. Radiat. Res.* **12**, N 2. 113. (2014).
- [28] Akhavan A. et al. // *Chem. Eng. J.* **159**(1-3). 230. (2010).
- [29] Varca G.H.C., Queiroz R.G., Lugzo A.B. // *Radiat. Phys. Chem.* **124**. 111. (2016).
- [30] Radomska K., Wolszczak M. // *Int. J. Mol. Sci.* **23**, N 15. 8090. (2022).
- [31] Sowicki S. et al. // *Radiat. Phys. Chem.* **188**. 109644. (2021).
- [32] Houée-Levin C., Bobrowski K. // *Journal of Proteomics*. **92**. 51. (2013).
- [33] Molodenskiy D. et al. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, N 26. 17143. (2017).
- [34] Oliveira C.L.P. et al. // *Biopolymers*. **85**, N 3. 284. (2007).
- [35] Scanavachi G. et al. // *J. Colloid Interface Sci.* **572**. 9. (2020).
- [36] Zheng W. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* **138**, N 36. 11702. (2016).
- [37] Jönsson K.I., Harms-Ringdahl M., Torudd J. // *Int. J. Radiat. Biol.* **81**, N 9. 649. (2005).
- [38] Horikawa D.D. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* **82**, N 12. 843. (2006).
- [39] Kuan Y.H., Bhat R., Patras A., Karim A.A. // *Trends Food Sci. Technol.* textbf30, N 2. 105. (2013).
- [40] Bruckbauer S.T., Cox M.M. // *Trends in Genetics*. **37**, N 9. 830. (2021).
- [41] Bliznyuk U. et al. // *Molecules*. **28**, N 15. 5773. (2023).
- [42] Bucciarelli S. et al. // *J. Appl. Crystallogr.* **51**, N 6. 1623. (2018).
- [43] Terryn H., Maquille A., Houée-Levin C., Tilquin B. // *Int. J. Pharm.* **343**, N 1–2. 4. (2007).

## Radioprotective protein of tardigrade Dsup (damage suppressor) is resistant to high doses of ionizing radiation

M.P. Zarubin<sup>1,a</sup>, A.F. Nizamieva<sup>1,2</sup>, S.I. Alexeev<sup>1</sup>, S.V. Mitrofanov<sup>1</sup>, Y.E. Gorshkova<sup>1,2,b</sup>, E.V. Kravchenko<sup>1,c</sup>

<sup>1</sup>Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, Moscow Region 141980, Russia

<sup>2</sup>Institute of Physics, Kazan Federal University. Kazan 420008, Russia

E-mail: <sup>a</sup>mzarubin@jinr.ru, <sup>b</sup>Yulia.Gorshkova@jinr.ru, <sup>c</sup>elenakravchenko@jinr.ru

The unique Dsup protein of the tardigrade *Ramazzottiusvarieornatus* increases resistance to radiation and oxidative stress in various species of organisms and in human cell culture. According to modeling data, Dsup forms a complex with DNA with an intermolecular distance of  $\sim 4\text{\AA}$ , as a result of which DNA is less damaged by reactive oxygen species formed during exposure to radiation. However, the stability of the Dsup protein itself under the influence of ionizing radiation remains unclear, which is important for assessing its radioprotective potential and understanding the molecular mechanisms of the action of this protein under conditions of high doses of radiation. In this work, the radiation degradation of the Dsup protein after  $\gamma$ -ray irradiation by small-angle X-ray scattering (SAXS) and protein electrophoresis in polyacrylamide gel under denaturing conditions (SDS-PAGE) was studied for the first time. It has been shown that, in contrast to the control bovine serum albumin, the spatial and structural characteristics of the Dsup protein remain almost unchanged even when exposed to high doses of radiation (5 and 10 kGy), which suggests its high radiation stability.

PACS: 87.15.bk.

**Keywords:** Dsup protein, radioprotector, SAXS, radiation degradation, aggregation.

Received 08 September 2023.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2024. **79**, No. 1. Pp. 91–96.

### Сведения об авторах

1. Зарубин Михаил Павлович — мл. науч. сотрудник; e-mail: mzarubin@jinr.ru.
2. Низамиева Альбина Фаритовна — лаборант; e-mail: alb9061@yandex.ru.
3. Алексеев Сергей Игоревич — ст. инженер; e-mail: sialexeev@jinr.ru.
4. Митрофанов Семен Вячеславович — нач. группы e-mail: mitrofanov@jinr.ru.
5. Горшкова Юлия Евгеньевна — ст. науч. сотрудник; e-mail: Yulia.Gorshkova@jinr.ru.
6. Кравченко Елена Владимировна — нач. сектора; e-mail: elenakravchenko@jinr.ru.