

Neutrons reveal the superstructure of signaling systems in nature

Two-component systems (TCS) are responsible for the communication of microorganisms with the environment; they are present in almost all domains of life and are the most abundant signaling systems in nature. TCS receptors are generally transmembrane proteins. Despite the wide interest of the scientific community in the study of TCS, currently high-resolution structures of only fragments of these proteins are described in the literature. Difficulties in studying the structure of full-size TCS receptors are related to the large size and high dynamics of the water-soluble part of transmembrane TCS receptors.

Using small-angle neutron scattering, the structure of the TCS sensor — a full-length photoreceptor complex of sensory rhodopsin with its cognate transducer from the extremophilic archaeon *Natronomonas pharaonis*, was studied on the YuMO spectrometer [1]. Light-activated sensory rhodopsin II (NpSRII) induces structural and/or dynamic changes in the transducer (NpHtrII), which are converted by two HAMP domains and conveyed along the 200-Å-long cytoplasmic kinase module to the tip region of the cytoplasmic part of NpHtrII. The transducer-activated histidine kinase CheA (bound to the adapter protein CheW) undergoes autophosphorylation and further transfers the phosphate group to the response regulators CheY or CheB. CheY affects the rotational bias of the flagellar motor, while the methyltransferase CheB, along with the methyltransferase CheR, controls the adaptation mechanism.

The general scheme of the molecular mechanism of signal transduction involves successive dynamic changes in cytoplasmic domains. Both chemoreceptors and sensory rhodopsin transducers demonstrate different dynamics in adjoining modules, which correlates with the signal transfer along the cytoplasmic rod. Homodimers of chemoreceptors (or rhodopsin-transducer complexes) in the cell membrane form trimers that constitute the functional units. The trimers of dimers form the structural and functional unit in the formation of two-dimensional signaling arrays — compact membrane supercomplexes responsible for amplifying the incoming stimulus.

A molecular model of a hexamer (trimer of dimers) constructed using the combination of small-angle scattering data and molecular modeling, was proposed. It was shown that the dimers of NpSRII/NpHtrII in the hexamer associate solely through contacts between their cytoplasmic regions, whereas the transmembrane regions of the dimers remain unconnected, i.e. this is a “tripod”-shaped model, which differs from the “O”- and “Y”-shaped models proposed earlier in the literature.

The trimers of dimers form the functional units. The trimers of dimers form the structural and functional unit in the formation of two-dimensional signaling arrays — compact membrane supercomplexes responsible for amplifying the incoming stimulus.

It was shown that the dimers of NpSRII/NpHtrII in the hexamer associate solely through contacts between their cytoplasmic regions, whereas the transmembrane regions of the dimers remain unconnected, i.e. this is a “tripod”-shaped model, which differs from the “O”- and “Y”-shaped models proposed earlier in the literature.

Fig. 1

(A) Signal transduction pathway in case of the TCS negative phototaxis of *N. pharaonis* and (B) domain architecture of the chemoreceptor dimer from *E. coli* (left) and of the complex of rhodopsin II with its cognate transducer NpHtrII from *N. pharaonis* (right).

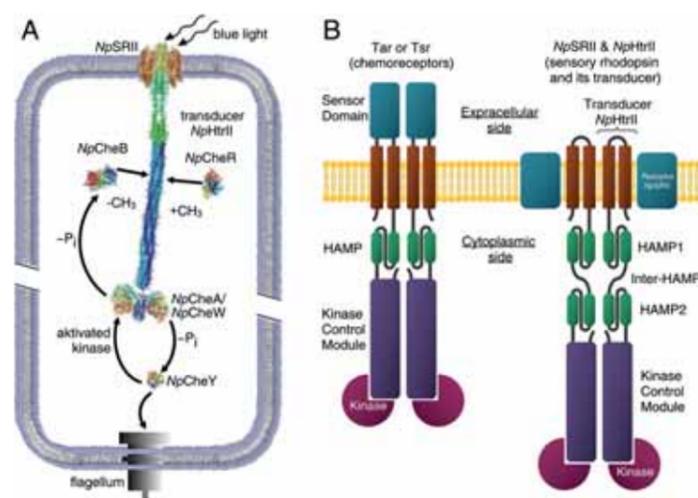


Рис. 1

Схема сигнального каскада (A) в случае ДКС отрицательного фототаксиса *N. pharaonis* и схема доменной архитектуры (B) димера хеморецепторов из *E. coli* (слева) и димера фотосенсорного комплекса родопсина II с его родственником трансдюсером NpHtrII из *N. pharaonis* (справа).

Нейтроны раскрывают суперструктуру сигнальных систем

Двухкомпонентные системы (ДКС) отвечают за коммуникацию микроорганизмов с окружающей средой; они присутствуют почти во всех доменах и являются наиболее распространенными сигнальными системами в живой природе. Рецепторы ДКС, как правило, являются трансмембранными белками. Несмотря на широкий интерес научного сообщества к изучению ДКС, в настоящее время были описаны в литературе структуры с высоким разрешением только фрагментов этих белков. Трудности изучения структуры полноразмерных рецепторов ДКС связаны с большим размером и высокой динамичностью

водорастворимой части трансмембранных рецепторов ДКС.

С помощью малоуглового нейтронного рассеяния на спектрометрии ЮМО изучалась структура сенсора ДКС — полноразмерного фоторецепторного комплекса сенсорного родопсина с его родственником трансдюсером из экстремофильной археи *Natronomonas pharaonis* [1]. Активированный при воздействии света сенсорный родопсин II (NpSRII) индуцирует структурные и/или динамические изменения в трансдюсере (NpHtrII), которые преобразуются двумя HAMP-доменами и передаются вдоль цитоплазматиче-

ского киназного модуля длиной 200 Å до крайней области цитоплазматической части NpHtrII. Активированная трансдюсером гистидинкиназа CheA (связанная с адаптерным белком CheW) подвергается автофосфорилированию и дополнительно переносит фосфатную группу в регуляторы ответа CheY или CheB. CheY влияет на смещение вращения жгутика, в то время как метилэстераза CheB наряду с метилтрансферазой CheR контролирует механизм адаптации.

Общая схема молекулярного механизма передачи сигнала предполагает последовательные динамические изменения в цитоплазматических доменах. Как хеморецепторы, так и трансдюсеры сенсорных родопсинов демонстрируют различную динамику в соседних модулях, что коррелирует с передачей сигнала вдоль цитоплазматического «стержня». Гомодимеры хеморецепто-

ров (или комплексов родопсин-трансдюсер) в клеточной мембране образуют тримеры, составляющие функциональные единицы. Тримеры димеров образуют структурно-функциональную единицу при образовании сигнальных двумерных массивов — компактных мембранных супер-комплексов, отвечающих за усиление входящего сигнала.

Представлена молекулярная модель гексамера (тримера димеров) построенная с помощью комбинации методов малоуглового рассеяния и молекулярного моделирования. Таким образом показано, что контакт между димерами NpSRII/NpHtrII в гексамере опосредован только цитоплазматическими частями, трансмембранные части димеров при этом не контактируют друг с другом, то есть имеет место “tripod”-образная модель, отличная от предложенных ранее в литературе “O”- и “Y”-образных моделей.

Fig. 2

Images of transmembrane domains of the NpSRII/NpHtrII complex: (A) fragment of hexagonal packing of “O”-shaped trimers of dimers; (B) “tripod”-shaped model of the trimer of dimers.

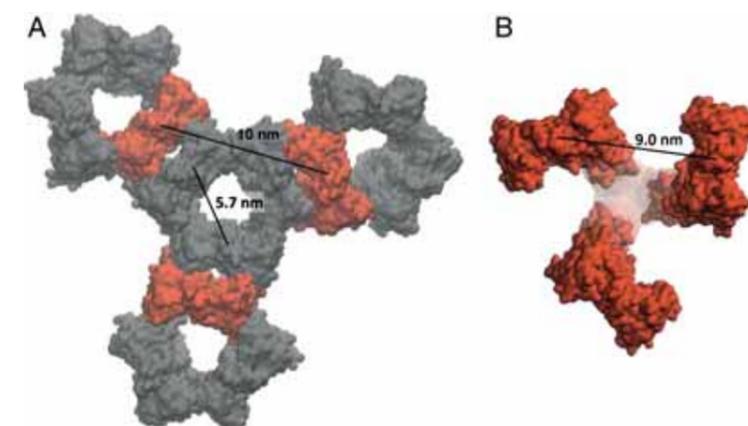


Рис. 2

Изображения трансмембранных доменов комплекса NpSRII/NpHtrII: (A) фрагмент гексагональной упаковки “O”-образных тримеров димеров; (B) изображение “tripod”-образного тримера димеров.