

Исследование свойств водорастворимых хлорофилл-связывающих белков растений

Научный руководитель – Крицкий Михаил Сергеевич

Обухов Юрий Николаевич

Аспирант

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»

РАН», Москва, Россия

E-mail: Y.u.r.a-0@mail.ru

Водорастворимые хлорофилл-связывающие белки (WSCP, water soluble chlorophyll-binding protein) растений представляют собой гомотетрамеры, формируемые мономерами с массой около 20 кДа. В состав тетрамера входит 4 молекулы хлорофилла (Хл) *a* или Хл *a* + Хл *b* [1], что существенно проще строения известных фотосинтетических ансамблей с множеством молекул хлорофилла, каротиноидов и других кофакторов. В клетках растений белки WSCP, предположительно, участвуют в реакциях на стрессовые воздействия разной природы, а также выполняют фотопротекторную функцию [1]. Относительная простота структуры белков в сочетании с димерной организацией хлорофилла, аналогичной организации хлорофилла в реакционных центрах (РЦ) фотосинтеза, делают белки WSCP заманчивым объектом для конструирования моделей РЦ, в том числе, в контексте изучения ранних процессов эволюции.

С целью выбора основного объекта исследования мы провели поиск гомологов WSCP с последующим сравнением их аминокислотной последовательности методом множественного выравнивания. В качестве основного объекта исследования выбран белок BoWSCP как более схожий по последовательности с остальными белками семейства, а белок LvWSCP выбран в качестве дополнительного объекта. Нами получены штаммы-продуценты *E. coli* BL21(DE3), экспрессирующие белки BoWSCP и LvWSCP, и для получения препаратов апобелков BoWSCP и LvWSCP оптимизированы условия их экспрессии и очистки на колонке с Ni-агарозой. Разработана методика одностадийного получения хлорофилл-связывающих пигмент-белковых комплексов (ПБК) WSCP *in vitro*, основанная на извлечении Хл из тилакоидных мембран растений апобелками WSCP, присутствующими в лизате клеток штамма-продуцента, с последующей очисткой препарата ПБК на колонке с Ni-агарозой. Для эффективной предварительной очистки ПБК WSCP от посторонних растительных и бактериальных белков предложена термообработка препаратов. Методами абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии, а также спектроскопии кругового дихроизма, показана нативность полученных вышеописанными способами препаратов ПБК BoWSCP и LvWSCP. Продемонстрирована возможность функционирования ПБК BoWSCP и LvWSCP в качестве сенсibilizаторов фотохимических реакций. При этом установлено, что димер Хл в составе WSCP способен вступать как в прямое взаимодействие с донорами электрона, так и участвовать в процессах, опосредованных участием активных форм кислорода, генерируемых Хл в составе белка.

Работа выполнена под руководством д.б.н., проф. М. С. Крицкого, к.б.н. Ю.В. Малеевой, и к.б.н. К. В. Неверова.

Источники и литература

- 1 Horigome D., Satoh H., Itoh N., Mitsunaga K., Oonishi I., Nakagawa A., and Uchida A. Structural Mechanism and Photoprotective Function of Water-soluble Chlorophyll binding Protein // The Journal of Biological Chemistry Vol. 282, No. 9, pp. 6525–6531, 2007