

Исследование природы первичного донора электрона в реакционных центрах пурпурной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* с тремя аминокислотными замещениями Н(L173)L+I(L177)Н+F(M197)Н

Научный руководитель – Васильева Людмила Григорьевна

Третчикова Ольга Александровна

Студент (магистр)

Пушчинский государственный естественно-научный институт, Московская область, Россия

E-mail: olyatretchikova@yandex.ru

В процессе фотосинтеза энергия света трансформируется в энергию химических связей. Начальные стадии этого процесса происходят в фотосинтетических реакционных центрах (РЦ) с квантовым выходом близким к 100%. РЦ пурпурной бактерии *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides* состоит из трех субъединиц (L, M и H) и десяти кофакторов и является пигмент-белковым комплексом, локализованным в клеточной мембране [2]. Пигмент-белковые взаимодействия димера БХл с его белковым окружением определяют многие важные свойства первичного донора электрона, необходимые для обеспечения эффективного разделения заряда в РЦ [3]. РЦ *Rba. sphaeroides* утвердили себя в качестве хорошей модели для подобных исследований, так как они относительно просто устроены и хорошо изучены. Кроме того, для них создана генетическая система для направленного мутагенеза [1].

В данной работе методом ПЦР, стандартными молекулярно-биологическими и микробиологическими методами были внесены аминокислотные замещения His на Leu в позиции L173, Ile на His в позиции L177 и Phe на His в позиции M197 в РЦ *Rba. sphaeroides*. Были подобраны условия для выделения и очистки комплекса из мембран и установлено, что удельный выход при очистке полученных мутантных РЦ составил 2,34 ODV₈₀₀ на литр культуры. При измерении спектров поглощения РЦ выявлено, что тройная мутация приводит к изменениям в спектре поглощения мутантного РЦ, измеренном при 90 К, - полоса Q_YP при комнатной температуре отсутствует, а полоса Q_YV БХл смещена на 7 нм в длинноволновую область в сравнении со спектром РЦ дикого типа. В коротковолновой области полоса поглощения всех БХл сместилась на 3 нм, в области поглощения всех БФео значимых изменений не произошло. Пигментный состав мутантного РЦ отличается от такового в РЦ дикого типа. Показано, что соотношение БХл:БФео в мутантном РЦ составляет 1,34, в РЦ дикого типа оно равно 2. С помощью метода измерения дифференциальных (свет-темнота) спектров поглощения установлено, что мутантные РЦ фотохимически активны.

Спектральные характеристики и пигментный состав РЦ Н(L173)L+I(L177)Н+F(M197)Н позволяют предположить, что по крайней мере в части мутантных РЦ первичный донор электрона представлен гомодимером БХл.

Выражаем глубокую благодарность научному руководителю д.б.н., в.н.с. Васильевой Людмиле Григорьевне. Благодарим к.б.н., с.н.с. Фуфину Татьяну Юрьевну за методическую помощь и научную консультацию.

Источники и литература

- 1) Васильева Л.Г., Болгарина Т.И., Хатыпов Р.А., Шкуропатов А.Я., Мияке Д., Шувалов В.А. Замещение валина-157 на тирозин в L-субъединице реакционного центра *Rhodobacter sphaeroides* // ДАН. 2001. 826-829.

- 2) Camara-Artigas A., Brune D., Allen J.P. Interactions between lipids and bacterial reaction centers determined by protein crystallography // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002a. P. 11055–11060.
- 3) Feher G., Allen J.P., Okamura M.Y., Rees D.C. Structure and function of bacterial photosynthetic reaction centres // Nature. 1989. P. 111–116.