Изучение конформационной подвижности хромофора аллофикоцианина путем возбуждения антистоксовой флуоресценции

Научный руководитель – Максимов Евгений Георгиевич

Бодунова Дарья Владимировна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия $E\text{-}mail: qmpzwnox065@qmail.com}$

Конформационная подвижность белковой матрицы влияет на микроокружение хромофорных групп пигмент-белковых комплексов. В свою очередь, конформация хромофора влияет на его спектральные характеристики. Поэтому анализ спектральных хакатеристик пигмент-белковых комплексов позволяет судить о конформационной подвижности локального окружения хромофора и белковой матрицы в целом.

В данной работе с помощью спектрофлуориметрии с пикосекундным временным разрешением была исследована конформационная подвижность фикоцианобилина в составе аллофикоцианина (APC). Основой структурной организации APC является мономер, состоящий из α и β субъединиц.

Используя антистоксовую флуоресценцию мы показали, что при смешении растворов α и β субъединиц самопроизвольно образуются $\alpha\beta$ мономеры и тримеры ($\alpha\beta$)3. Самопроизвольная сборка тримеров сопровождается значительными измениями спектральных характеристик хромофоров: за счет экситонного взаимодействия хромофоров соседних субъединиц происходит батохромный сдвиг спектров поглощения и флуоресценции.

При наработке рекомбинантных препаратов β -субъединицы в Е.coli образуются фракции, различающиеся по степени включения хромофора и его спектральным характеристикам. Мы показали, что фракция белка, имеющая более длинноволновый спектр флуоресценции (690 нм), не участвует в образовании тримера APC, поскольку вклад этой фракции в спектр антистоксовой флуоресценции не изменяется при сборке тримеров. Данная фракция характеризуется аномально коротким временем жизни флуоресценции, что может свидетельствовать о том, что хромофор экспонирован в водное окружение, вероятно из-за неправильного фолдинга белка.

Таким образом, анализ время-разрешенных спектров антистоксовой флуоресценции позволяет выявить гетерогенность локального окружения хромофоров и проследить за её изменениями в процессе сборки APC.