

Получение мутантной формы флуоресцентного белка moxSAASoti с улучшенными характеристиками фотоконверсии

Научный руководитель – Марынич Надежда Константиновна

Терехова Валентина Вячеславовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия

E-mail: valentiter@gmail.com

Флуоресцентный белок SAASoti, выделенный из коралла *Stylocoeniella armata* способен к обратимому фотопереключению в зеленой форме и необратимой фотоконверсии зеленого в красный. В биологических исследованиях белки с подобными свойствами (би-фотохромные) используются в суперразрешающей микроскопии, отслеживании деления клеток, миграции органелл и диффузии белков [1].

В нашей лаборатории был получен безцистеиновый белок moxSAASoti, для применения в окислительных условиях клетки. Для этого белка характерна высокая скорость образования красной формы, но низкая фотостабильность [2].

Ранее было показано, что увеличение яркости и стабильности как красной, так и зеленой форм фотоконвертируемого белка mEos4b возможно при внесении трех точечных замен. По аналогии в moxSAASoti были введены замены в положениях T32E и F97M. Белки были экспрессированы в клетках *E.coli*, выделены и очищены хроматографическими методами. Характеристика параметров фотопревращений, показала, что замена T32E не привела к изменению параметров фотопереключения и фотоконверсии. Величина константы скорости реакции фотопереключения флуоресцентного белка с заменой F97M снизилась с 0,083 до 0,053 с⁻¹ по сравнению moxSAASoti. При фотоконверсии скорость образования красной формы снизилась, но также снизилась и скорость фотодеструкции. Однако, замена F97M привела к увеличению яркости красной формы.

Таким образом, moxSAASoti F97M может использоваться для создания FRET-сенсора и его использования в микроскопии.

Источники и литература

- 1) Lapshin, G., Salih, A., Kolosov, P., Golovkina, M., Zavorotnyi, Y., Ivashina, T., Vinokurov, L., Bagratashvili, V., Savitsky, A. Fluorescence color diversity of great barrier reef corals // J. Innov. Opt. Health Sci. 08, 1550028. 2015.
- 2) Marynich, N.K., Khrenova, M.G., Gavshina, A.V. et al. First biphotochromic fluorescent protein moxSAASoti stabilized for oxidizing environment // Sci Rep 12, 7862. 2022.