

**Изучение мутантных форм оранжевого каротиноидного белка методом молекулярной динамики**

**Научный руководитель – Ярошевич Игорь Александрович**

***Мамчур Александра Александровна***

*Аспирант*

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

*E-mail: al.mam4ur@yandex.ru*

Оранжевый каротиноидный белок (ОКБ) – это компонент фотосинтетического аппарата цианобактерий, вовлечённый в процесс нефотохимического тушения на интенсивном свете для предотвращения окислительного стресса. Это единственный из известных фотоактивных белков, в котором в качестве фоточувствительных хромофоров используются каротиноиды, активируемые светом видимой области спектра. Этот факт, а также то, что белок является водорастворимым, делает ОКБ интересным объектом синтетической биологии. На данный момент особенно актуальной становится задача направленного изменения спектральных характеристик ОКБ путём внесения в него определённых мутаций.

В рамках данного исследования был проведён расчёт молекулярной динамики (МД) следующих форм ОКБ: темновой вариант белка дикого типа в апо- и холо-формах, мутантный ОКБ с заменой E244D в холо-форме, мутантный ОКБ с заменой Y201 на йодтирозин в апо- и холо-форме. Для МД использовался программный пакет GROMACS версии 2020.1 и силовое поле OPLS-AA. Шаг интеграции составил 1 фс, для избежания краевых эффектов были заданы периодические граничные условия. Симуляция проводилась при температуре 300К и давлении 1 атм, которые поддерживались с помощью алгоритмов V-rescale и Parrinello-Rahman соответственно. Для кулоновских и ван-дер-ваальсовых взаимодействий был задан радиус отсечки 12 Å. Электростатические эффекты контролировались алгоритмом PME. Растворитель учтён в явном виде (модель TIP4P), ионы натрия были добавлены для нейтрализации системы. Перед МД проводилась процедура минимизации энергии системы. Для обеих форм белка дикого типа были рассчитаны траектории длительностью 1 мкс, для каждой мутантной формы – 500 нс, что суммарно даёт 3,5 нс динамики ОКБ. Анализ данных проводился с помощью языка программирования Python версии 3.9.12.

Для каждой мутантной формы построены карты аминокислотных контактов и рассмотрены основные изменения в структуре белка, связанные с перераспределением водородных связей при внесении замен, в особенности йодтирозина в положении 201. Рассчитан электростатический потенциал, создаваемый белковым окружением на каждом атоме пи-сопряжённой цепи кантаксантина. Были обнаружены статистически значимые различия между профилем падения электростатического потенциала вдоль пи-сопряжённой цепи каротиноида в белке дикого типа и аналогичным профилем, построенным для мутантных форм. Полученные результаты станут основой для дальнейших исследований, предполагающих применение квантово-химического подхода для оценки влияния изменений в структуре белка, вызванных внесением мутаций, на спектральные свойства каротиноидов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00012.