

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

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. Измерены спектры поглощения при комнатной и низкой (90 К) температурах. Полученные спектры отличаются от спектров поглощения РЦ дикого типа. Основные изменения связаны со спектральными свойствами БХл. В частности, в спектре мутантного РЦ при 90К отсутствует Q_Y-полоса поглощения специальной пары P и отмечается длинноволновый сдвиг Q_Y-полосы поглощения мономерного БХл на 11 нм с увеличением ее амплитуды. В Q_Y области поглощения мономерных БХл у мутантного РЦ заметна полоса при 802 нм, соответствующая поглощению мономерного БХл В_A. В то же время максимум полосы БХл в Q_X области спектра поглощения мутантных пигмент-белковых комплексов совпадает с таковым у дикого типа, указывая на то, что количество молекул БХл в обоих РЦ одинаково (четыре молекулы). Результаты спектрального анализа позволяют предположить, что в мутантном РЦ Q_Y-полоса поглощения P не отсутствует, а претерпевает очень значительный коротковолновый сдвиг, практически перекрываясь с Q_Y-полосой мономерных БХл. Такой феномен неизвестен в литературе и представляет интерес для дальнейшего исследования. 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.

Благодаря интересным спектральным характеристикам, РЦ H(L173)L+I(L177)H+F(M197)H представляет собой перспективный объект для исследования роли пигмент-белковых взаимодействий в обеспечении высокой эффективности первичных процессов фотосинтеза.

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.С. 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.