

Воздействие полиэтиленгликоля на фотолюминесценцию целентерамид-содержащего флуоресцентного белка

Научный руководитель – Кудряшёва Надежда Степановна

Синякова Т.С.¹, Райков А.В.², Барышников В.В.³

1 - Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия, *E-mail: sinyakova.tatyana00@mail.ru*;

2 - Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия, *E-mail: inertnost@gmail.com*; 3 -

Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия, *E-mail: renji_san@mail.ru*

Целентерамид-содержащие флуоресцентные белки (ЦЛМ-СФБ) - продукты биолюминесцентных реакций кишечнорастворимых. В отличие от зеленых флуоресцентных белков, ЦЛМ-СФБ не получили широкого распространения в биомедицинских исследованиях, и их потенциал в качестве цветных биомаркеров в настоящее время недооценен. Недавно предложено использование этих белков для мониторинга химической и радиационной токсичности в биологических жидкостях [1]. Это предложение основано на том, что ЦЛМ-СФБ способны менять цвет их фотолюминесценции под действием различных деструктивных факторов - температуры, радиации, химических агентов. Так как биолюминесцентные реакции кишечнорастворимых уже используются для мониторинга ряда внутриклеточных процессов (например, в качестве биолюминесцентных меток для иммуноферментного анализа [2]), применение продуктов этих реакций (ЦЛМ-СФБ) в качестве фотолюминесцентных биомаркеров придает многофункциональность белковым препаратам, выделенным из кишечнорастворимых. Возможность регистрации фотолюминесценции в качестве физиологической функции делает биотестовую систему максимально удобной при практическом использовании.

Существует возможность изменения спектральных характеристик флуоресцентных белков при варьировании жёсткости их окружения путем добавления полимеров. Выявление связей между характеристиками полимера (природой и концентрацией) с цветом и интенсивностью фотолюминесценции ЦЛМ-СФБ позволит оценивать эффективность внутриклеточных процессов в растворах различной вязкости и полярности/гидрофобности. Целью данной работы было изучение влияния полиэтиленгликоля (ПЭГ) на интенсивность и спектральный состав фотолюминесценции ЦЛМ-СФБ. В качестве ЦЛМ-СФБ выбран продукт биолюминесцентной реакции морского кишечнорастворимого *Obelia longissima*. Спектры его флуоресценции регистрировали с помощью спектрофлуориметра Varian Cary Eclipse. Использовали ПЭГ трёх молекулярных масс - 1000 а.е.м, 8000 а.е.м. и 35000 а.е.м.; концентрацию ПЭГ варьировали в интервале 0-15 г/л. Не зарегистрировано изменения формы спектра ЦЛМ-СФБ, что указывает на отсутствие влияния ПЭГ на эффективность фотохимического переноса протона в белковом комплексе ЦЛМ-СФБ. При этом наблюдали значительное изменение интенсивности флуоресценции ЦЛМ-СФБ: малые концентрации ПЭГ активировали фотолюминесценцию, а большие (>3,2 г/л) ингибировали ее. На интервалах тушения рассчитаны константы Штерна-Фольмера; подавление люминесценции объяснено в терминах динамического и статического тушения. Активация люминесценции ЦЛМ-СФБ связана со стабилизацией белка в условиях повышения вязкости среды и уменьшением вклада релаксационных процессов в процессах дезактивации возбужденных состояний эмиттера.

Источники и литература

- 1) 1. R.R. Alieva, N.S. Kudryasheva. Variability of Fluorescence Spectra of Coelenteramide-Containing Proteins as a Basis for Toxicity Monitoring//Talanta, vol.170, pp. 425-431, 2017.
- 2) 2. Frank, L.A. Ca²⁺-regulated photoproteins: effective immunoassay reporters. Sensors 2010, 10, 11287–1130.