

Исследование первичных фотореакций родопсина *Exiguobacterium sibiricum***Научный руководитель – Смитиенко Ольга Александровна****Медведева Александра Сергеевна***Студент (бакалавр)*

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

E-mail: medvedeva.sash@mail.ru

Родопсин *Exiguobacterium sibiricum* (ESR) - ретиналь-содержащий белок, относящийся к светозависимым протонным помпам [2], был обнаружен у бактерии *Exiguobacterium sibiricum*. ESR близок по строению к протонным помпам морских эубактерий (гомологичен протеородопсину (pR) на 34%) и архебактерий (бактериородопсину (bR) на 30%) [2]. Первичные реакции фотоцикла ESR, включающие ключевую стадию - сверхбыструю фотоизомеризацию ретиналя в хромофорном центре, еще не изучались. Кроме того, ESR - единственный ретиналь-содержащий белок, обнаруженный у почвенной бактерии. Целью работы было исследование динамики фотореакции рекомбинантного ESR, экспрессированного в клетках *E. coli*, методом «возбуждение-зондирование» фемтосекундной абсорбционной лазерной спектроскопии.

Методом спектрофотометрии было показано, что максимум поглощения светоадаптированного ESR (528 нм) при темновой адаптации достоверно смещается на 1 нм (529 нм), при этом содержание полностью-*транс* ретиналя, по данным ВЭЖХ, увеличивается на 2,5%. То есть, у ESR не наблюдается процесс темновой адаптации, аналогичной bR, т.е. изомеризации в темноте полностью-*транс* ретиналя в 13-*цис* форму в значительной части молекул (более 50%).

Методом время-разрешенной спектроскопии было показано, что первичные реакции фотоцикла ESR протекают в фемто- и раннем пикосекундном временных диапазонах с образованием интермедиатов, аналогичных **I**, **J** и **K** у bR [3], но в целом немного медленнее, чем в bR. Для определения времен наблюдаемых процессов применялся анализ глобальной аппроксимации. Для ESR было выявлено три характерных времени распада возбужденного состояния (интермедиата **I**): 0,35 (30 %), 1 (50 %) и 6,5 пс (20 %). Первые два времени отражают реакционный процесс, идущий с изомеризацией ретиналя с образованием интермедиата **J**, а третье время - нереакционный, ведущий только к исходному состоянию белка. Можно заключить, что динамика первичных реакций ESR соответствует другим микробальным протонным помпам, для которых характерно наличие нескольких времен распада возбужденного состояния, например, два в случае bR [3] и три в случае pR [1]. Эти процессы, вероятно, связаны с гетерогенностью начального состояния.

Источники и литература

- 1) Chang C., Kuramochi H., Singh M, et al. Acid–base equilibrium of the chromophore counterion results in distinct photoisomerization reactivity in the primary event of proteorhodopsin // Phys. Chem. Chem. Phys. 2019. №21. p.25728-25734.
- 2) Petrovskaya L.E., Lukashov E.P., Chupin V.V, et al. Predicted bacteriorhodopsin from *Exiguobacterium sibiricum* is a functional proton pump // FEBS Letters. 2010. №584. p.4193–4196.
- 3) Smitienko, O.A., O.V. Nekrasova, A.V. Kudriavtsev, et al. Femtosecond and picosecond dynamics of recombinant bacteriorhodopsin primary reactions compared to the native protein in trimeric and monomeric forms // Biochemistry. 2017, №82, p.490–500.