

Роль хромофорного домена апопротеина АрсЕ в нефотохимическом тушении флуоресценции фикобилисом у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803**Научный руководитель – Еланская Ирина Владимировна****Кононова Ирина Александровна**

Студент (магистр)

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

E-mail: iren93kon@ya.ru

В условиях избыточного освещения в клетках цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (далее, *Synechocystis*) запускается механизм нефотохимического тушения флуоресценции фикобилисом (ФБС), в котором участвует оранжевый каротиноид-содержащий белок ОСР. Белок ОСР связывается с фикобилисомами и рассеивает избыточную энергию в виде тепла, что приводит к снижению флуоресценции ФБС. ФБС - белковые комплексы, которые присоединяются к фотосистемам I и II (ФСII) и передают им поглощенную световую энергию. ФБС состоит из фикоцианиновых цилиндров и аллофикоцианинового ядра, которое прикрепляется к тилакоидной мембране с помощью линкерных доменов белка АрсЕ. АрсЕ является главным терминальным эмиттером, от которого поглощенная другими фикобилипротеинами энергия передается непосредственно к хлорофиллу (ХФ). Помимо линкерных доменов в состав АрсЕ входит хромофорный домен. С целью изучения роли хромофорного домена в составе ФБС в данной работе был создан мутант *Synechocystis* с делецией последовательности гена *arsE*, кодирующей хромофорный домен, и изучены его фотохимические свойства.

Для получения мутанта ген *arsE* и прилегающие к нему последовательности ДНК из хромосомы дикого типа (ДТ) цианобактерии были клонированы в составе векторной плазмиды pBluescript. Из последовательности гена *arsE* был удален фрагмент *AccII/EcoRV*, кодирующий хромофорный домен, что привело к утрате аминокислотных остатков 13-246 в белке АрсЕ без сдвига рамки считывания. Для обеспечения селективного отбора после трансформации цианобактерий мутантный ген был фланкирован генами устойчивости к канамицину (Km^R) и хлорамфениколу (Cm^R). Колонии Km^R/Cm^R трансформантов *Synechocystis* sp. PCC 6803 были сегрегированы на селективных средах, и наличие делеции было подтверждено с помощью ПЦР и секвенирования.

По данным SDS-электрофореза ФБС, выделенные из клеток мутанта, в отличие от ФБС ДТ *Synechocystis*, содержали белок АрсЕ, меньший по массе на 26 кДа, что соответствовало размеру делеции. В спектрах флуоресценции клеток мутанта при 293 К с возбуждением флуоресценции при 580 нм, в отличие от ДТ, отсутствовала полоса 680 нм, соответствующая флуоресценции хлорофилла, но сохранялась полоса 660 нм (флуоресценция ФБС). Полученные данные свидетельствуют о том, что у мутанта нарушена миграция энергии от ФБС к ФСII.

Тушение флуоресценции ФБС в клетках ДТ и мутанта индуцировали 5 мин. освещением ярким ($800 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) светом 500 нм. При 293 К на спектре у ДТ видно снижение флуоресценции ФБС и ХФ почти в 2 раза. У мутанта в тех же условиях флуоресценция ФБС не снижается. Таким образом, хромофорный домен АрсЕ необходим для ОСР-зависимого нефотохимического тушения флуоресценции ФБС.

Автор выражает благодарность научному руководителю И.В. Еланской, а также Е.П. Лукашеву, М.Ф. Янюшину и И.Н. Стадничуку за вклад в биофизическую часть работы.