

Новый родопсин, найденный в *Hymenobacter sp.*
Н. А. Любайкина¹, П.А. Попов¹, И.С. Охрименко¹, В.И. Горделий^{2,3}

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²Institute of Structural Biology J.P. Ebel

³Institute of Structural Biochemistry (ICS-6)

Оптогенетика – методика исследования работы нервных клеток, основанная на внедрении в клеточную мембрану специальных каналов – опсинов, реагирующих на возбуждение светом. Как уже показано для ряда опсинов, включая канальный родопсин 2 [1], их экспрессия в нейронах кодируется генетически, позволяя включать и выключать клеточную активность светом. Функции опсинов можно определить экспериментально, затем, проведя экспрессию в живом организме, можно изучать поведенческие реакции и механизмы воздействия на них. Оптогенетика произвела революцию в нейробиологии, средства оптогенетики находят применение в других областях науки о живом и медицине.

Задача точного теоретического предсказания функций родопсина на данный момент не решена. Однако можно сделать некоторые содержательные выводы о возможных функциях белка, исходя из известных структур аналогов и его аминокислотной последовательности. Согласно биоинформатическим исследованиям [2], проведенным на основании открытых баз данных белков и геномов, существует несколько тысяч неизученных родопсинов.

Один из генов, кодирующий родопсин, найден в геноме *Hymenobacter sp.* (рис. 1) – граммотрицательной, радиорезистентной, устойчивой к низким температурам бактерии, найденной в Арктическом лишайнике [3]. Ионизирующее излучение способно напрямую повреждать ДНК, так же оно косвенно повреждает белки из-за появления активных форм кислорода в клетке. *Hymenobacter sp.* имеет специфичную систему восстановления ДНК после воздействия излучения. Устойчивость к экстремальным условиям этой бактерии дает основания полагать, что ее родопсин будет иметь необычные свойства.

Сравнение аминокислотной последовательности изучаемого белка с бактериородопсином (BR) (рис. 3), галородопсином и другими ионными каналами показало, что они имеют одинаковые аминокислоты, отвечающие за транспорт ионов, стоящие на 82, 89, 212, 216 позициях по номенклатуре BR. Изучаемый белок на 85 позиции (по BR) вместо отрицательно заряженной аспарагиновой кислоты имеет более крупную молекулярную группу отрицательно заряженной глутаминовой кислоты (рис. 2). На 96 позиции (по BR) вместо аспарагиновой кислоты нейтрально заряженный глутамин. По этим причинам, мы полагаем, что свойства исследуемого белка будут отличаться от бактериородопсина.

Мы планируем проверить это экспериментально, изучая белок в живой клетке с помощью биофизических методов: флуоресцентной микроскопии или метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp), изучения фото-цикла методом флеш-фотолиза и другими [4]. Исследование этого родопсина поможет лучше понять механизмы радиорезистентности, и представляет интерес с точки зрения применения этого белка, в том числе в оптогенетике.

Features	Chromosome	Plasmid 1	Plasmid 2
Genome size (bp)	5,244,843	199,990	6421
Contig numbers	1	1	1
G + C content (%)	50.93	60.84	62.03
Protein coding genes	4405	195	9
rRNA genes	9	-	-
tRNA genes	45	-	-

Figure 1 Genome features of *Hymenobacter sp.* PAMC26554

Аминокислота	Сокращение/ символ	M _r *	Значения pK _a		
			pK ₁ (-COOH)	pK ₂ (-NH ₂)	pK _R (R-группы)
Отрицательно заряженные R-группы					
Аспарагиновая кислота	Asp	D 133	1,88	9,60	3,65
Глутаминовая кислота	Glu	E 147	2,19	9,67	4,25
Полярные незаряженные R-группы					
Глутамин	Gln	Q 146	2,17	9,13	

Figure 2 Свойства аминокислот

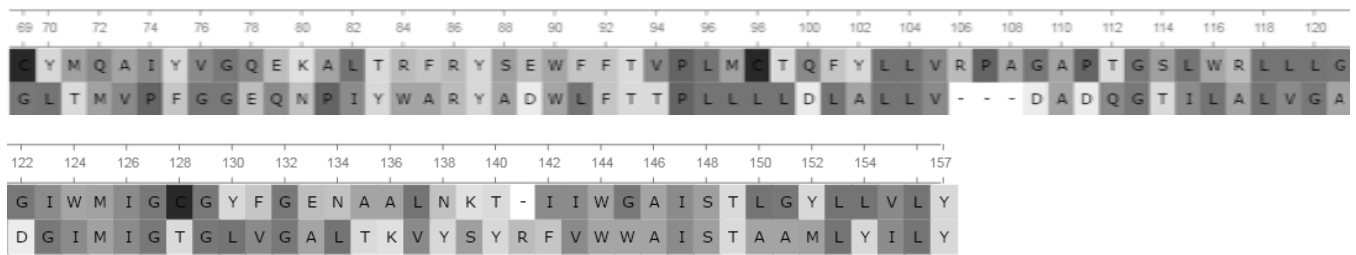


Figure 3 Сравнение аминокислотной последовательности изучаемого белка с бактериородопсином (69 - 157 позиции)

Литература

- [1] *Christian Bamann, Georg Nagel and Ernst Bamberg, Microbial rhodopsins in the spotlight, Current Opinion in Neurobiology 2010, 20:610–616*
- [2] *А.Е. Ушаков, П.А. Попов, А.М. Казеннов, С.В. Грудинин, Предсказание функции родопсинов, Тезисы 58-й Конференции МФТИ, 2015*
- [2] *Tae-Jin Oha, So-Ra Hana, Do-Hwan Ahnb, Hyun Park, Augustine Yonghwi Kimd, Complete genome sequence of Hymenobacter sp. strain PAMC26554, an ionizing radiation-resistant bacterium isolated from an Antarctic lichen, Journal of Biotechnology, 227 (2016) 19-20*
- [4] *Christian Bamann , Taryn Kirsch, Georg Nagel and Ernst Bamberg, Spectral Characteristics of the Photocycle of Channelrhodopsin-2 and Its Implication for Channel Function, J. Mol. Biol. (2008) 375, 686–694*