

**Бактериородопсин, найденный в *Deinococcus Thermus*, с отличиями на 96 и 186 позициях аминокислотной последовательности**В. Е. Гросс<sup>1</sup>, П. А. Попов<sup>1</sup>, И. С. Охрименко<sup>1</sup>, В. И. Горделий<sup>2,3</sup><sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)<sup>2</sup>Institute of Structural Biology J.P. Ebel<sup>3</sup>Institute of Structural Biochemistry (ICS-6)

Слово «оптогенетика» раньше означало принцип использования света для описания и контроля нейронной активности в неповрежденном живом мозге. Ядром оптогенетики являются мембранные белки родопсины. Со временем оптогенетикой заинтересовались ученые и инженеры из других областей. Сейчас это понятие включает в себя биотехнологии, совмещающие генную инженерию и оптику, что позволяет управлять функциями организма с помощью света. Для более широкого применения оптогенетики [1] необходимо расширить инструментарий контроля процессов клетки, его специфичность и пространственно-временную точность. Одними из наиболее перспективных способов это сделать являются сенсорная инженерия этих белков, а также поиск природных родопсинов с определенными свойствами. Биоинформатическое исследование [2], проведенное по открытым базам данных различных белков и геномов микроорганизмов, показало, что существует около 7000 еще неизученных бактериородопсинов.

Ген, кодирующий один из них, принадлежит геному *Deinococcus Thermus* [3]. Этот микроорганизм, найденный в песках и горячих источниках Туниса, высоко устойчив к ионизирующему облучению и к перепадам температуры и влажности. Этот организм может выдерживать облучение вплоть до 150 кГр, что в более чем в 100 раз превышает устойчивость *Escherichia coli* (рис 1). Кроме того, микроорганизм устойчив к ультрафиолетовому излучению и условиям засухи (рис 2). В его геноме было найдено 65 уникальных белков, отсутствующих во всех других видах организмов, функции которых еще не изучены. Кроме того, было найдено 206 белков, встречающихся только в организмах вида *Deinococci*. Этот факт дает основания ожидать новые интересные свойства у исследуемого белка.

Исследуемый белок отличается от известного родопсина микроорганизма в нескольких аминокислотах (нумерация идет по номенклатуре бактериородопсина BR): на 96 позиции по BR вместо остатка аспарагиновой кислоты (D) стоит остаток аланина (A), на 186 позиции по BR стоит пролин (P) вместо аспарагиновой кислоты (D) (рис 3). Эти отличия не могут не повлечь большие различия в свойствах белков. Наличие пролина уменьшает подвижность молекулы, так как этот аминокислотный остаток имеет сравнительно жесткую структуру в полипептидной цепи и малый объем в сравнении с остатком аспарагиновой кислоты. В положении 96 похожие по характеру изменения: короткая гидрофобная боковая цепь остатка аланина вместо длинной боковой цепи заряженного остатка аспарагиновой кислоты.

Таким образом, два больших отрицательно заряженных аминокислотных остатка (аспарагиновая кислота) заменяются на маленькие неотрицательные остатки (аланин и пролин). Для аланина рК по СООН группе выше, чем у аспарагиновой кислоты (A – 2,3; D – 2,0; P – 2,0), что может привести к лучшей диссоциации протона (рис 4). Всё это, скорее всего, приведёт к изменению селективности и проводимости. По данным молекулярного моделирования [2], ожидается, что белок может быть сходным с натриевыми ионными каналами и с сенсорным родопсином. Все указанные предположения являются рабочими гипотезами, которые мы планируем проверить экспериментально. Для этой цели используются различные биофизические методы исследования белков в клетках других организмов: флуоресцентная микроскопия или метод локальной фиксации потенциала (Patch-clamp), изучение фото-цикла методом флеш-фотолиза и другими.

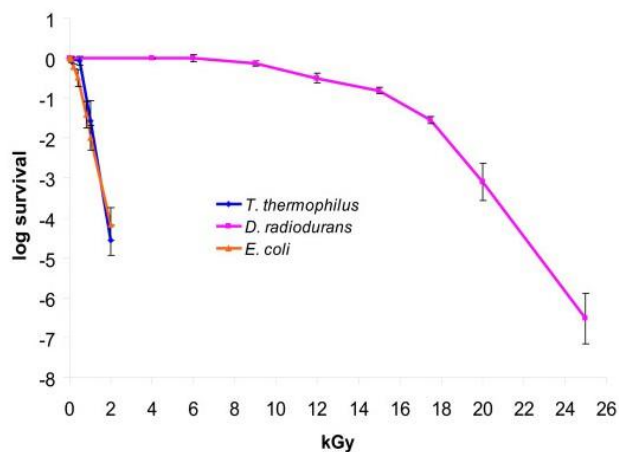


Рис. 1. Устойчивость к радиационному облучению у *Deinococcus Thermus* и *E. Coli*

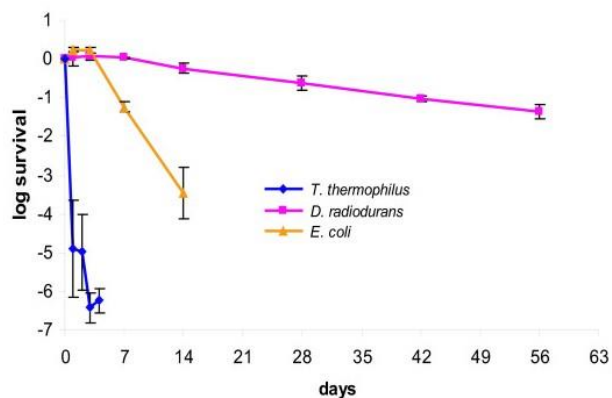


Рис. 2. Устойчивость к недостатку воды у *Deinococcus Thermus* и *E. Coli*



Рис. 3. Сравнение аминокислотной формулы исходного бактериородопсина и исследуемого белка

Аминокислота	Сокращение/ символ	$M_r^*$	Значения $pK_a$			$pI$	ГН**	Встречаемость в белках (%)***
			$pK_1$ (—COOH)	$pK_2$ (—NH <sub>2</sub> )	$pK_R$ (R-группы)			
<b>Неполярные алифатические R-группы</b>								
Глицин	Gly	G	75	2,34	9,60	5,97	20,4	7,2
Аланин	Ala	A	89	2,34	9,69	6,01	1,8	7,8
Пролин	Pro	P	115	1,99	10,96	6,48	1,6	5,2
<b>Отрицательно заряженные R-группы</b>								
Аспарагиновая кислота	Asp	D	133	1,88	9,60	3,65	2,77	23,5

Рис. 4. Сравнение свойств описываемых аминокислот.

### Литература:

1. Georg Nagel, Tanjef Szellas, Wolfram Huhn, Suneel Kateriya, Nona Adeishvili, Peter Berthold, Doris Ollig, Peter Hegemann, Ernst Bamberg "Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel", 2003
2. А.Е. Ушаков, П.А. Попов, А.М. Казеннов, С.В. Грудинин, «Предсказание функции родопсинов», Тезисы 58-й Конференции МФТИ, 2015
3. Emma Griffiths, Radhey S. Gupta "Identification of signature proteins that are distinctive of the Deinococcus-Thermus phylum", 2007