

Механизм влияния вязкости на стадии реакции, катализируемой бактериальной люциферазой *Photobacterium leiognathi*

Научный руководитель – Немцева Елена Владимировна

Лисица Альберт Евгеньевич

Сотрудник

Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия

E-mail: ALisitsa@sfu-kras.ru

Активность ферментов в клетке определяется многими факторами, среди которых немаловажную роль играет вязкость микроокружения. *In vitro* внутриклеточные условия могут быть смоделированы с помощью соразтворителей, что позволяет уменьшить число регуляторных факторов. Целью работы было проанализировать влияние вязкости среды на многостадийный ферментативный процесс - биолуминесцентную реакцию бактерий. Нестационарная кинетика реакции, катализируемой бактериальной люциферазой, в буферных растворах с этиленгликолем, глицерином, сахарозой, сорбитолом, глюкозой и декстраном, была изучена методом остановленного потока и проанализирована с помощью математической модели, разработанной в соответствии с последовательностью стадий реакции. Для выявления воздействия соразтворителей на структуру люциферазы применяли методы молекулярной динамики.

Установлено, что во всех изученных средах замедляется связывание флавина (в диффузионно-зависимой манере), но отсутствует воздействие на скорость связывания кислорода. Кроме того, обнаружено, что все соразтворители, кроме этиленгликоля и глицерина, снижают скорость темнового распада пероксифлавинового интермедиата реакции и увеличивают скорость образования электронно-возбужденного интермедиата. Методами молекулярной динамики показано, что молекулы глицерина и этиленгликоля проникают глубже в полость активного центра люциферазы по сравнению с другими соразтворителями, что может объяснять более выраженное замедление связывания флавина в присутствии этих соразтворителей. Получено, что молекулы этиленгликоля оказывают специфическое воздействие на конформацию бактериальной люциферазы, что может быть причиной наблюдаемого снижения каталитической константы фермента. В то же время, в присутствии сахарозы обнаружены конформационные изменения функционально важного аминокислотного остатка люциферазы αGlu175 , что может обуславливать зарегистрированное увеличение каталитической константы [1].

Таким образом, установлено, что все изученные соразтворители индуцируют замедление связывания субстратов реакции. Однако сорбитол, глюкоза и сахароза и способствуют увеличению каталитической константы люциферазы, что в итоге приводит к сохранению количества испускаемых квантов света за один оборот фермента.

При поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект No. FSRZ-2020-0006)

Источники и литература

- 1) Lisitsa A. E. et al. Mechanisms of viscous media effects on elementary steps of bacterial bioluminescent reaction //International journal of molecular sciences. – 2021. – Т. 22. – №. 16. – С. 8827.