

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНЫХ ЦЕНТРОВ "МЕДЛЕННЫХ" И "БЫСТРЫХ" ЛЮЦИФЕРАЗ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

Темлякова Е.А., Деева А.А.¹, Немцева Е.В.¹, Кратасюк В.А.¹

Лаборатория механизмов функционирования клеточного генома, ИБК РАН, 142290, Пушкино, Институтская 3, evgenia.teml@gmail.com

¹Лаборатория биолюминесцентных биотехнологий, СФУ, 660041, Красноярск, Свободный 79

Основу свечения бактерий составляет люминесцентная реакция, катализируемая особым ферментом – бактериальной люциферазой. Данный фермент широко используется в экологическом мониторинге, в биосенсорах, при изучении экспрессии генов, для прижизненной визуализации и во многих других фундаментальных и прикладных задачах. Различия кинетических характеристик люцифераз разных видов светящихся бактерий и особенности их функционирования представляют особый интерес как для понимания механизмов свечения, так и для развития и усовершенствования методов биолюминесцентного анализа.

В настоящей работе были исследованы обе субъединицы фермента, для этого был проведен филогенетический анализ и анализ гомологии полипептидов, определены консервативные участки аминокислотных последовательностей и их расположение в третичной структуре белка и др. Показано, что светящиеся бактерии могут быть разделены на две непересекающиеся группы по ряду аминокислотных остатков, при этом в первую группу попадают бактерии рода *Vibrio*, *Photorhabdus* и бактерия *Candidatus photodesmus katoptron*, а во вторую группу – *Shewanella*, *Aliivibrio*, *Photobacterium*. Такое разделение хорошо согласуется с представлением о двух типах бактериальных люцифераз – “быстрых” и “медленных”, о существовании которых упоминалось в ряде экспериментальных работ [1, 2].

На основе расшифрованной кристаллической структуры α -субъединицы люциферазы *Vibrio harveyi* были построены 3D-модели α -субъединицы для других светящихся бактерий. Были проанализированы структуры активных центров и поверхности α - и β -субъединиц двух типов люцифераз с целью выявления различий, оказывающих влияние на кинетические параметры фермента.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 14-34-50215-мол_нр.

Литература.

1. Valkova N., et al Control of Luminescence Decay and Flavin Binding by the LuxA Carboxyl-Terminal Regions in Chimeric Bacterial Luciferases // *Biochemistry*. **38**, 1999. pp. 13820-13828.
2. Hosseinkhani S. et al. Random mutagenesis of bacterial luciferase: critical role of Glu175 in the control of luminescence decay // *Biochem. J.* **385**, 2005. pp. 575–580.