

**Модулируемая система индуктивно-резонансного переноса энергии на основе белков, связывающих GFP-подобные хромофоры**

**Научный руководитель – Мишин Александр Сергеевич**

**Гавриков Алексей Семенович**

*Аспирант*

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва, Россия

*E-mail: gavrikovalexey1@gmail.com*

Индуктивно-резонансный перенос энергии между флуоресцентными белками широко применяется для исследования белок-белковых взаимодействий и биохимических процессов *in cellulo*. В качестве акцепторов резонансного переноса энергии могут выступать не только классические флуоресцентные белки, но и двухкомпонентные системы, представляющие собой синтетические флуорогены, - хромофоры, которые флуоресцируют только при связывании со специализированным белком активатором. Активация флуорогена происходит при его нековалентном взаимодействии с лиганд-связывающим “карманом” белка. Преимуществом такой системы является полная обратимость связывания флуорогена с белком активатором и возможность многократной активации флуоресценции на протяжении длительного времени [1].

В рамках работы проводили скрининг пар для индуктивно-резонансного переноса энергии, в которых акцептором выступают мутантные формы липокалина B1c, а донорами - синие и зеленые флуоресцентные белки. В качестве модели для тестирования переноса энергии *in vitro* был выбран сенсор активности каспазы-3. Эффективность переноса энергии оценивали по изменению интенсивности флуоресценции флуоресцентного белка донора при добавлении синтетического хромофора и после добавления каспазы-3 в условиях флуориметрии. В результате скрининга найдена пара с 60% эффективностью передачи энергии (NeonGreen - B1c16912). Эффективность данной донорно-акцепторной пары в составе белка слияния с гистоном H2B на первом этапе *in cellulo* экспериментов была определена в условиях широкопольной флуоресцентной микроскопии на модели культуры клеток млекопитающих (линии HEK293T). Вторым этапом *in cellulo* экспериментов была микроскопия времени жизни флуоресценции (FLIM). Время жизни флуоресценции донора NeonGreen в фракции пары с активированным акцептором падало с 2,78 нс до 0,8 нс, что соответствует 70% эффективности переноса энергии.

Мы полагаем, что системы индуктивно-резонансной передачи энергии с подобным “управляемым” акцептором качественно превосходят традиционные пары на основе флуоресцентных белков. Динамический контроль акцептора, достигаемый добавлением или отмывкой хромофора, позволит более точно определять эффективность переноса энергии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного фонда (проект №16-14-10364).

**Источники и литература**

- 1) Nina G. Bozhanova, Mikhail S. Baranov, Natalia V. Klementieva, Karen S. Sarkisyan, Alexey S. Gavrikov, Ilia V. Yampolsky, Elena V. Zagaynova, Sergey A. Lukyanov, Konstantin A. Lukyanov and Alexander S. Mishin. Protein labeling for live cell fluorescence microscopy with a highly photostable renewable signal // Chem. Sci., 2017, 8, 7138-7142