

Компьютерный дизайн лигазы зеленой флуоресцентной метки для сайт-специфического мечения белков in vivo

Научный руководитель – Головин Андрей Викторович

Усманов Рустам Джалолович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: rustam_usmanov_97@mail.ru

Химические флуорофоры по сравнению с флуоресцентными белками более фото стабильны, ярче флуоресцируют, а также имеют меньшие размеры. Для мечения белков такими флуорофорами был разработан метод PRIME (Probe Incorporation Mediated by Enzymes), который использует модифицированную лигазу липоевой кислоты (lplA) для переноса метки на лизин в 13-аминокислотном мотиве. Ранее с учетом стерических ограничений активного центра lplA были синтезированы два флуорофора, с излучениями на 438/30 и 605/20 нм соответственно [1]. Полученные структуры показали высокую каталитическую активность в опытах in vivo. Недавно найденный бор содержащий флуорофор показал эффективную флуоресценцию с излучением света около 520 нм и на сегодняшний день является достаточно перспективным (см. Рис. 1).

Нами для адаптации lplA под этот флуорофор был произведен дизайн флуорофор связывающей полости по протоколу enzdes фреймворка Rosetta с кристаллографической структурой lplA. Была проведена параметризация трех флуорофоров и построены библиотеки конформеров как известных флуорофоров так и перспективного борсодержащего соединения. Создана интеллектуальная система отбора конформеров, использующая семи-эмпирические методы квантовой химии для оптимизации геометрии.

Наши результаты показали сравнимую сходимость с экспериментами по дизайну лигаз из работы Liu и коллег, воспроизведенными нами. Нами предложены наборы замен аминокислот в lplA, позволяющие использовать перспективный флуорофор и переданы для экспериментальной проверки.

Источники и литература

- 1) Liu, D. S., Nivon, L. G., Richter, F., Goldman, P. J., Deerinck, T. J., Yao, J. Z., . . . Ting, A. Y. (2014). Computational design of a red fluorophore ligase for site-specific protein labeling in living cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(43). doi:10.1073/pnas.1404736111

Иллюстрации

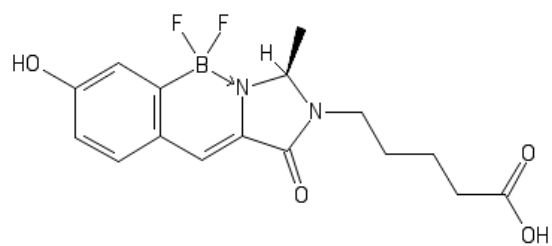


Рис. 1. Флуорофор с испусканием на 520 нм