

Влияние химических модификаций и конформационной подвижности на сечение двухфотонного поглощения флуоресцентного белка EGFP

Аслоповский В.Р.¹, Боченкова А.В.¹

¹*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия
E-mail: aslopovskiyvladislav@gmail.com*

Флуоресцентные белки используются в биологических исследованиях в качестве маркеров для изучения живых клеток и тканей. В настоящее время активно развивается и применяется двухфотонная флуоресцентная микроскопия, которая имеет ряд преимуществ перед традиционной конфокальной. Яркость флуоресценции в этом случае зависит от сечения двухфотонного поглощения, поэтому поиск флуоресцентных белков с большим сечением двухфотонного поглощения является важной задачей. Целью работы является анализ влияния окружения хромофора на сечение двухфотонного поглощения в белке EGFP.

В данной работе построены полноатомные модели EGFP и его модификации T203I; получена молекулярно-динамическая (MD) траектория EGFP T203I в NPT-ансамбле при 298 К. После релаксации сольватной оболочки вдоль MD-траектории для оптимизации были выбраны 15 геометрий белка с шагом 0.1 нс. Оптимизация геометрии проводилась методом QM/MM в варианте PBE0/(aug)-сс-pVDZ//CHARMM. Квантовая часть включает в себя хромофор и его ближайшее окружение. Энергии вертикальных электронных переходов рассчитаны методом XMCQDPT2 в базисе (aug)-сс-pVDZ с векторами нулевого приближения, полученными методом SA(7)-CASSCF(14,13). Расчет момента перехода и разности средних дипольных моментов проведен в нулевом порядке этой теории. Электростатическое поле остального белкового окружения учитывалось методом EFP. Сечения двухфотонного поглощения для первых трех переходов в белке EGFP и EGFP T203I рассчитаны путем прямого суммирования по состояниям с учетом 7 состояний.

Показано, что увеличение сечения двухфотонного поглощения EGFP может быть достигнуто путем модификации белкового окружения хромофора при введении точечных мутаций, влияющих на электростатическое поле белка вблизи хромофора. Также показано, что мутация T203I приводит к частичному разрушению сетки водородных связей хромофора и возникновению существенной конформационной подвижности активного центра; при этом сечение двухфотонного поглощения белка сильно зависит от конформации и варьируется в широких пределах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №21-73-00145 с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова, а также вычислительного кластера лаборатории квантовой фотодинамики, закупленного по программе развития МГУ имени М.В. Ломоносова.