



БИОХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА

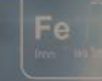
Труды
XXII Ежегодной молодежной конференции
с международным участием
ИБХФ РАН-ВУЗы



Москва
14–16 ноября 2022 г.

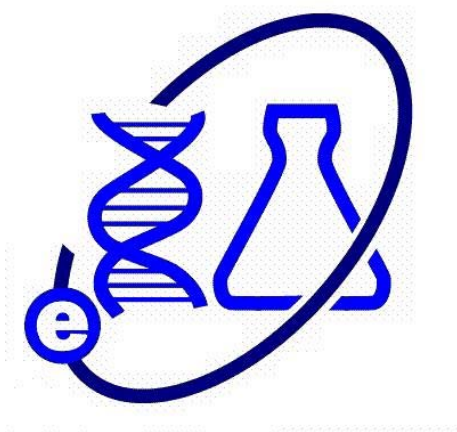


9 785209 119517



Москва
2023

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ им. Н.М. Эмануэля
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



БИОХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА

**Труды
XXII Ежегодной молодежной конференции
с международным участием
ИБХФ РАН-ВУЗы**

*Москва
14–16 ноября 2022 г.*

Москва
2023

УДК 577:53(063)
ББК 28.072+28.071+22.3
Б63

Оргкомитет ИБХФ РАН:

кандидат химических наук, начальник отдела по подготовке научных кадров

Л.В. Недоспасова;

кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник *Е.Н. Тимохина;*

кандидат химических наук, старший научный сотрудник *Т.Ю. Астахова*

Составители:

Е.Н. Тимохина, Т.Ю. Астахова

Б63 Биохимическая физика : труды XXII Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН-ВУЗЫ. Москва, 14–16 ноября 2022 г. – Москва : РУДН, 2023. – 183 с. : ил.
ISBN 978-5-209-11951-7

Всего в работе XXII Ежегодной молодежной конференции с международным участием ИБХФ РАН-ВУЗЫ «БИОХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА», приняло участие 204 человека.

Было сделано 3 приглашенных и 54 устных доклада и 30 стендовых сообщений.

Труды представлены в авторской редакции.

УДК 577:53(063)
ББК 28.072+28.071+22.3

ISBN 978-5-209-11951-7

© Коллектив авторов, 2023
© Оформление. Российский университет
дружбы народов, 2023

Воздействие магнитных наночастиц в присутствии пероксида водорода также приводит к окислению орто-фенилендиамин. Пероксидазоподобная активность магнитных наночастиц связана с наличием на их поверхности ионов Fe^{2+} . При взаимодействии МНЧ с кислородом воздуха происходит окисление ионов Fe^{2+} до ионов Fe^{3+} , и соответственно, утрата пероксидазоподобной активности. Было показано, что на поверхности магнитных наночастиц, окисленных кислородом воздуха в течение 14 дней, образуется менее устойчивое покрытие из ЧСА по сравнению с аналогичным покрытием на поверхности неокисленных кислородом воздуха МНЧ. Добавление в систему пероксида водорода при инкубации МНЧ с ЧСА позволяет повысить стабильность белкового покрытия на поверхности магнитных наночастиц, которые были окислены кислородом воздуха.

Работы по подбору условий получения устойчивых белковых покрытий выполнены за счет гранта Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>, остальные работы – в рамках государственного задания №01201253311.

Авторы благодарят Константина Олеговича Муранова и Николая Борисовича Полянского за помощь в окислении ЧСА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chubarov, A.S. Serum Albumin for Magnetic Nanoparticles Coating. *Magnetochemistry* 2022, 8, 13.
2. Karlsson H.L., Cronholm P., Gustafsson J. M. L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. // *Chem Res Toxicol.* 2008. №9(21). С. 1726–1732
3. A. V. Bychkova, M. V. Lopukhova, L. A. Wasserman, Y. N. Degtyarev, A. L. Kovarski, S. Chakraborti, V. A. Mitkevich. The influence of pH and ionic strength on the interactions between human serum albumin and magnetic iron oxide nanoparticles // *International Journal of Biological Macromolecules.* 2022. №194. С. 654-665.
4. Bychkova A. V., Lopukhova M. V., Wasserman L. A., Degtyarev Y. N., Kovarski A. L., Chakraborti S., Mitkevich V. A. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2022, 194, 654-665.
5. S. V. Dolotov and V. I. Roldughin. Simulation of ESR spectra of metal nanoparticle aggregates // *Colloid J.* №69(1). С. 9–12.
6. A. Abragam and M. Goldman, *Nuclear Magnetism: Order and Disorder.* Oxford: Clarendon, 1982.

Влияние окружения хромофора белка EGFP на сечение двухфотонного поглощения



Аслоповский В.Р.¹, Боченкова А.В.¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

Флуоресцентные белки используются в биологических исследованиях в качестве маркеров для изучения живых клеток и тканей. Модифицированный зеленый флуоресцентный белок EGFP с улучшенными спектральными характеристиками является одним из наиболее широко используемых для этих целей. В настоящее время активно развивается и применяется двухфотонная флуоресцентная микроскопия, которая имеет ряд преимуществ перед традиционной конфокальной. Поскольку метод должен быть чувствительным, яркость флуоресценции должна быть как можно выше. Она зависит, в частности, от сечения двухфотонного поглощения и квадрата интенсивности падающего излучения, 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 на основе полной атомистической модели белка EGFP из работы [1] построена модель мутации EGFP T203I, оптимизирована ее геометрия, рассчитано сечение двухфотонного поглощения и проведен анализ факторов, влияющих на него. Оптимизация геометрии проводилась методом QM/MM в варианте PBE0/(aug)-cc-pVDZ//CHARMM; квантовая часть содержала 154 или 159 атомов, описываемых 1550 или 1585 базисными функциями, для EGFP и EGFP T203I соответственно. Квантовая часть включает в себя хромофор и его ближайшее окружение. Энергии вертикальных электронных переходов рассчитаны методом XMCQDPT2 в базисе (aug)-cc-pVDZ с векторами нулевого приближения, полученными методом CASSCF в

активном пространстве, состоящем из 14 электронов на 13 π -орбиталях хромофора, с усреднением электронной плотности по семи состояниям. Расчет момента перехода и разности средних дипольных моментов проведен в нулевом порядке этой теории. Электростатическое поле остального белкового окружения учитывалось методом EFP. Для сравнения такой же расчет (в активном пространстве, состоящем из 16 электронов на 14 π -орбиталях хромофора и в aug-cc-pVTZ базисе) проведен для анионного хромофора EGFP в газовой фазе (HBDI⁻).

Сечение двухфотонного поглощения (σ_{TPA}) является макроскопической характеристикой вещества. Оно может быть рассчитано из микроскопической вероятности двухфотонного перехода (δ_{TPA}) по формуле (1) (см., например, [2])

$$\sigma_{TPA}(\omega) = \frac{4\pi^3 a_0^5 \alpha}{c} \omega^2 \langle \delta_{TPA} \rangle g(E_f - E_i; 2\omega; \Gamma) \quad (1)$$

где a_0 – боровский радиус, α – постоянная тонкой структуры, c – скорость света в вакууме, ω – энергия фотона, g – форма линии, связанная с эффектами уширения (например, лоренцева, гауссова и т. д.), Γ с параметром затухания, который обычно принимается равным 0,1 эВ в большинстве теоретических расчетов [2]. Микроскопическая вероятность двухфотонного перехода выражается через компоненты тензора двухфотонного поглощения, которые могут быть рассчитаны суммированием по состояниям. Точная формула при этом выглядит следующим образом:

$$S_{fi}^{\alpha\beta} = \sum_n \frac{\mu_{fn}^\alpha \mu_{ni}^\beta + \mu_{fn}^\beta \mu_{ni}^\alpha}{E_n - E_i - \hbar\omega} \quad (2)$$

где $\mu_{pq}^\alpha = \langle \psi_p | \mu^\alpha | \psi_q \rangle$ – декартовы компоненты дипольного момента перехода. Индексы i , n и f относятся к начальному, промежуточным и конечному состояниям соответственно, и $\alpha, \beta = x, y, z$. В рамках N-уровневой модели (NLM) суммирование проводится по конечному числу состояний:

$$S_{if}^{\alpha\beta} = \frac{\mu_{if}^\alpha \mu_{ii}^\beta + \mu_{if}^\beta \mu_{ii}^\alpha}{-\hbar\omega} + \frac{\mu_{ff}^\alpha \mu_{fi}^\beta + \mu_{ff}^\beta \mu_{fi}^\alpha}{E_f - E_i - \hbar\omega} + \sum_{n \neq i, f} \frac{\mu_{fn}^\alpha \mu_{ni}^\beta + \mu_{fn}^\beta \mu_{ni}^\alpha}{E_n - E_i - \hbar\omega} \quad (3)$$

Принимая $E_f - E_i = 2\omega$ и опуская сумму с $n \neq i, f$, получаем выражение для компонент тензора двухфотонного поглощения в рамках двухуровневой модели (TLM):

$$S_{if}^{\alpha\beta} \approx \frac{(\mu_{ff}^\alpha - \mu_{ii}^\alpha) \mu_{fi}^\beta + (\mu_{ff}^\beta - \mu_{ii}^\beta) \mu_{fi}^\alpha}{\hbar\omega} = \frac{\Delta\mu_{fi}^\alpha \cdot \mu_{fi}^\beta + \Delta\mu_{fi}^\beta \cdot \mu_{fi}^\alpha}{\hbar\omega} \quad (4)$$

Микроскопическая вероятность в рамках двухуровневой модели зависит от разности энергий электронных уровней S_0 и S_1 , дипольного момента перехода $S_0 \rightarrow S_1$ (μ) и разности средних дипольных моментов состояний S_0 и S_1 ($\Delta\mu$) (см. формулу (4)). В рамках данной модели показано, что основной вклад в сечение двухфотонного поглощения вносит разность средних дипольных моментов при переходе $S_0 \rightarrow S_1$. Показано также, что переход к N-уровневой модели не дает существенного изменения в сечениях двухфотонного поглощения, что подтверждает применимость двухуровневой модели для переходов, в которых $\mu \neq 0$ и $\Delta\mu \neq 0$ (см. табл. 1). Полученные значения сечений двухфотонного поглощения согласуются с экспериментальными данными.

Табл. 1. Рассчитанные в рамках N-уровневой модели ($N = 2, 3, \dots, 7$) сечения двухфотонного поглощения трех исследуемых систем для перехода $S_0 \rightarrow S_1$ и сравнение их с экспериментальными данными [3].

	HBDI	EGFP T203I	EGFP
μ_{10}, D	10.5	10.6	10.5
$\Delta\mu_{10}, D$	2.9	3.3	4.4
N	$\sigma_{NLM}, GM (\delta_{NLM}, a.u.)$		
2	19 (7448)	25 (11300)	45 (19262)
3	19 (7439)	25 (11358)	45 (19333)
4	18 (7340)	26 (11441)	45 (19474)
5	18 (7270)	25 (11132)	45 (19213)
6	18 (7312)	25 (11134)	45 (19209)
7	19 (7396)	25 (11109)	44 (19184)
Experiment	—	19	42

В случае EGFP и EGFP T203I изменение вектора разности средних дипольных моментов направлено от имидазольного кольца хромофора к фенольному, что соответствует переносу электронной плотности с фенольного кольца на имидазольное при переходе $S_0 \rightarrow S_1$. (см. рис. 1).

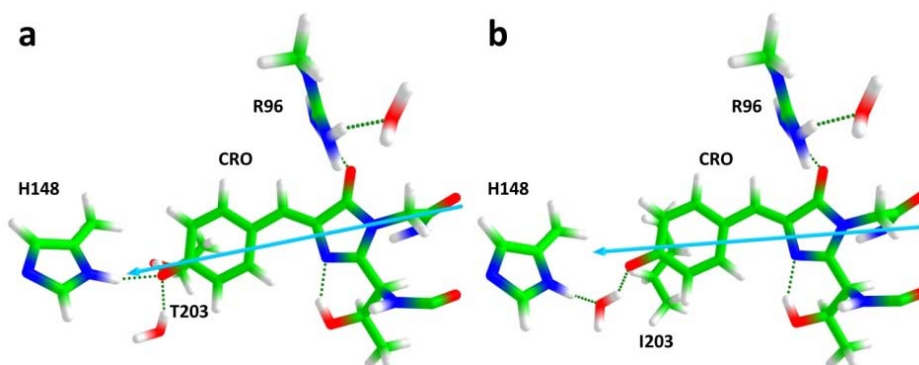


Рис. 1. Направление вектора $\Delta\mu$ в белках EGFP и EGFP T203I.

Замена полярного треонина на неполярный изолейцин уменьшает количество водородных связей кислорода хромофора. Также в случае EGFP T203I поляризующий электронную плотность хромофора гистидин H148 находится дальше от хромофора (см. рис. 2), что уменьшает длину вектора $\Delta\mu$ и, следовательно, уменьшает сечение двухфотонного поглощения.

Таким образом, увеличение сечения двухфотонного поглощения EGFP может быть достигнуто путем модификации белкового окружения хромофора при введении точечных мутаций, влияющих на электростатическое поле белка вблизи хромофора. Увеличению сечения отвечает усиление напряженности электрического поля вдоль направления от фенольного кольца хромофора к имидазольному (противоположному направлению вектора $\Delta\mu$, см. рис. 1), которое может быть достигнуто, например, изменением заряда окружения фенольного кольца хромофора на более положительный, а имидазольного – на более отрицательный, что подтверждается экспериментальными данными [4].

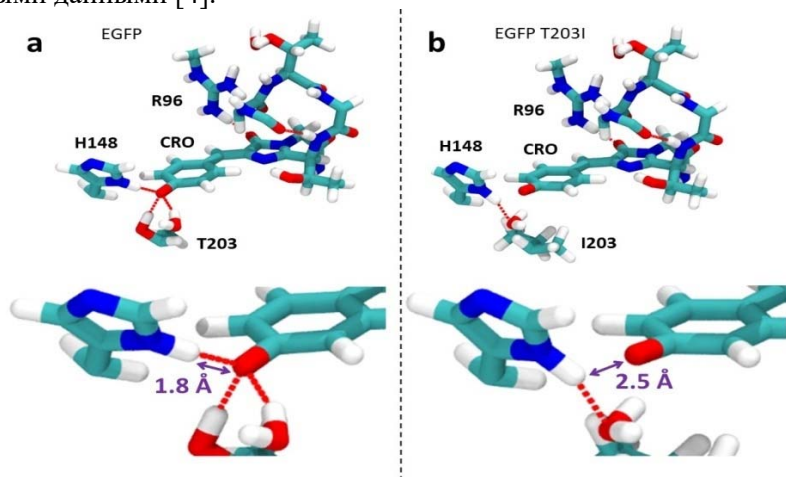


Рис. 2. Равновесные геометрии хромофора и его ближайшего окружения EGFP и EGFP T203I.

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.

Список литературы:

1. Bochenkova A. V., Andersen L.H. Ultrafast dual photoresponse of isolated biological chromophores: link to the photoinduced mode-specific non-adiabatic dynamics in proteins // *Faraday Discuss.* 2013. Vol. 163. P. 297.
2. Macak P., Luo Y., Ågren H. Simulations of vibronic profiles in two-photon absorption // *Chem. Phys. Lett.* 2000. Vol. 330, № 3–4. P. 447–456.
3. Stoltzfus C.R., Barnett L.M., Drobizhev M., Wicks G., Mikhaylov A., Hughes T.E., Rebane A. Two-photon directed evolution of green fluorescent proteins // *Sci. Rep. Nature Publishing Group*, 2015. Vol. 5, № 1. P. 11968.
4. Molina R.S., Tran T.M., Campbell R.E., Lambert G.G., Salih A., Shaner N.C., Hughes T.E.,