

Аннотация

к научно-квалификационной работе Гавшиной Александры Васильевны «Физико-химические свойства флуоресцентного белка SAASoti и его мутантных форм». Профиль и специальность: 03.01.04 – Биохимия, направление подготовки: 06.06.01 Биологические науки.

Работа посвящена получению серии мутантных форм бифотохромного флуоресцентного белка SAASoti для анализа роли различных аминокислотных остатков в реакциях фототрансформации (необратимой фотоконверсии из зеленой флуоресцентной формы в красную и обратимого фотопереключения из флуоресцирующей формы в темную). Работу можно поделить на две части: в первой части исследуют роль отдельных (пяти) остатков цистеина белка SAASoti, что необходимо для дальнейшего получения варианта флуоресцентного белка SAASoti, устойчивого к окислению (тох-варианта); во второй части исследованы аминокислотные остатки в положениях 164 и 178, замена которых в случае гомологичных белков приводила к появлению свойства обратимого фотопереключения. Все мутантные формы белка SAASoti были получены методом сайт-направленного мутагенеза, экспрессированы в клетках *E. coli*, выделены и охарактеризованы их физико-химические свойства. В ходе исследования было установлено, что аминокислотный остаток цистеина (C21) отвечает за формирование димерной примеси при повышенных концентрациях мономерного флуоресцентного белка SAASoti, вариант C106V/V127T SAASoti имеет повышенную скорость фотопереключения в темное состояние, а C72V/V127T – максимальную скорость фотоконверсии в красную форму. Формы белка SAASoti, содержащие замены F178S и M164A, обладают максимальной скоростью фотопереключения как для зеленой, так и для красной форм. Также в ходе работы была собрана флуоресцентная установка для экспрессного анализа колоний *E. coli*, экспрессирующих флуоресцентные белки. Отработана методика получения кинетических кривых фотопревращений флуоресцентных белков на колониях *E. coli* с использованием конфокальной сканирующей системы PicoQuant Microtime 200 на основе инвертированного микроскопа Olympus IX71. Методом сайт-направленного мутагенеза с вырожденными праймерами была получена библиотека мутантных форм, содержащих различные аминокислотные остатки в положениях 164 и 178. Вместе с собранной установкой данная методика образует систему экспрессного скрининга колоний для поиска форм флуоресцентных белков, обладающих заданными свойствами и перспективных с точки зрения их использования в методах микроскопии высокого разрешения.