

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИОННО-МОДУЛИРОВАННОГО МЕТОДА НАКАЧКИ-ЗОНДИРОВАНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ МОЛЕКУЛ КОФЕРМЕНТОВ В СВОБОДНОЙ И СВЯЗАННОЙ ФОРМАХ

Белашов М.В. (ИТМО, ФТИ им. Иоффе), Волков Д.А. (ФТИ им. Иоффе), Горбунова И.А. (ФТИ им. Иоффе), Васютинский О.С. (ФТИ им. Иоффе)

Научный руководитель – Сасин М.Э., старший научный сотрудник ФТИ

Введение. Взаимодействие внутриклеточных коферментов с белками — ключевой регуляторный фактор метаболизма живой клетки, определяющий её нормальное функционирование и развитие. Этот процесс представляет существенный интерес для исследований в области биофизики, цитологии и молекулярной биологии, поскольку связывание коферментов с белковым окружением приводит к заметным изменениям их фотофизических и динамических свойств. К числу таких изменений относятся перераспределение времен релаксации, изменение ориентационной подвижности и спектральных характеристик. Традиционные методы, основанные на исследовании флуоресценции, не всегда позволяют получить прямую информацию о сверхбыстрой динамике и ориентационной анизотропии. В связи с этим актуальным является применение поляризационно-модулированного метода накачки–зондирования, дающего представление о фемтосекундных процессах релаксации и ориентационной динамики биологически важных молекул.

Основная часть. В работе рассматривается применение поляризационно-чувствительного метода накачки-зондирования для исследования релаксационных процессов и ориентационной динамики молекул внутриклеточного кофермента NAD в восстановленной форме (NADH) в свободном состоянии и связанными с белками. Метод основан на возбуждении молекул кофермента в растворе поляризованным импульсом накачки и регистрации изменения состояния поляризации зондирующего импульса при его взаимодействии с возбужденными молекулами.

Связывание коферментов с белками приводит к изменению их релаксационной и ориентационной динамики, что отражается в характере затухания поляризационно-зависимого сигнала. Анализ временных зависимостей позволяет разделять вклады быстрых фемтосекундных процессов, связанных с внутримолекулярной релаксацией, и более медленных пикосекундных процессов, обусловленных вращательной диффузией и взаимодействием с белковым окружением.

Использование поляризационной модуляции и балансного детектирования обеспечивает высокую чувствительность к малым изменениям ориентационной направленности и подавление шумов. Такой подход позволяет оценивать влияние белкового связывания на динамические параметры внутриклеточных коферментов и является эффективным и экономичным инструментом исследования биомолекулярных комплексов.

Выводы. Показано, что поляризационно-модулированный метод накачки–зондирования является информативным подходом для исследования процессов связывания внутриклеточных коферментов с белками. Метод позволяет получать прямую информацию об ориентационной динамике и временах релаксации в фемто- и

пикосекундном диапазоне. Практическое использование результатов возможно при исследовании белок-связанных форм NADH, FAD и других биологически важных молекул.

Список использованных источников:

1. Горбунова И.А. Поляризационно-чувствительная фемтосекундная спектроскопия в исследованиях хромофоров в биологических и модельных средах: дис. ... канд. физ.-мат. наук. — М.: ФИАН, 2014.
2. Gorbunova L.A., Sasin M.E., Beltukov Y.M., Vasyutinskii O.S. Ultrafast polarization-modulation transient spectroscopy of biological molecules // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2020. – Vol. 22. – P. 18155.

Автор _____ Белашов М.В.

Научный руководитель _____ Сасин М.Э.