

**Резюме проекта**  
Выполняемого при поддержке **РФФИ**  
**«Сравнительный биоинформатический анализ флаavin-зависимых оксидоредуктаз  
светящихся бактерий»**  
по этапу« \_ » /за 2014год / промежуточный

Договор № \_\_\_\_\_

**Приоритетное направление:** Науки о жизни.

**Критическая технология:** Геномные, протеомные и постгеномные технологии.

**Период выполнения:** 18 сентября - 18 декабря 2014 г.

**Ключевые слова:** Биолюминесцентная система бактерий, флаavin-зависимая оксидоредуктаза, люцифераза, комплекс люциферазы и оксидоредуктазы, активный центр, филогенетический анализ, консервативность макромолекул, физико-химические свойства макромолекул, молекулярная динамика, графовая база данных.

**1. Цель фундаментального исследования:**

Установление общих мотивов первичной и третичной структуры люцифераз и разных типов оксидоредуктаз биолюминесцентных бактерий и анализ структурных предпосылок формирования комплекса между ними.

**2. Основные результаты проекта:**

- Впервые был проведен филогенетический анализ всех расшифрованных на данный момент первичных последовательностей бактериальных люцифераз. В результате было выявлено разбиение на две группы, что согласуется с представлениями о кинетических характеристиках данных ферментов и экологическими нишами, занимаемыми соответствующими видами светящихся бактерий.
- Филогенетический анализ первичной последовательности  $\beta$ -субъединицы известных на данный момент люцифераз позволил сделать предположение об эволюции кодирующего гена, возникшего в результате дубликации гена  $\alpha$ -субъединицы.
- Были обнаружены значительные различия в структуре активных центров «быстрых» и «медленных» люцифераз и предложены возможные различия в механизмах образования фермент-субстратного комплекса и стабилизации интермедиатов биолюминесцентной реакции.
- Две флаavin-зависимые оксидоредуктазы бактерии *Escherichia coli* (fre и frp) обладают высокой степенью подобия с оксидоредуктазами биолюминесцентных бактерий. Данные оксидоредуктазы могут обеспечивать люциферазу восстановленным флавином в рекомбинантных бактериях, что имеет важное значение для прижизненного имиджинга и изучения экспрессии генов.
- Анализ топологических свойств флаavin-зависимых оксидоредуктаз различных типов показал, что их активные центры обладают высокой гомологией, а участки вдали от них менее консервативны.

- Распределение электростатического потенциала на поверхностях оксидоредуктаз не исключает возможности формирования неустойчивого комплекса с люциферазой.

### **3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках фундаментального, прикладного научного исследования, экспериментальные разработки**

В рамках работы по проекту была построена база данных, содержащая в виде графа информацию о генетике, протеомике и метаболомике для следующих светящихся организмов: *Aliivibrio fischeri ES114*, *Aliivibrio salmonicida LFI1238*, *Aliivibrio wodanis*, *Candidatus Photodesmus katoptron Akat1*, *Photobacterium damselaе subsp. damselaе CIP*, *Photobacterium damselaе subsp. piscicida DI21*, *Photobacterium leiognathi subsp. mandapatensis svers. I.I.*, *Photobacterium phosphoreum ANT220*, *Photorhabdus asymbiotica*, *Photorhabdus luminescens subsp. laumondii TTO1*, *Photorhabdus temperata J3*, *Shewanella woodyi ATCC 51908*, *Vibrio albensis VL426*, *Vibrio azureus NBRC 104587*, *Vibrio campbellii ATCC BAA-1116*, *Vibrio harveyi IDA3*, *Vibrio orientalis CIP 102891 = ATCC 33934*, *Vibrio sagamiensis NBRC 104589*, *Vibrio splendidus 12B01*, *Vibrio splendidus LGP32*, *Vibrio vulnificus YJ016*. Информация взята из Metacyc, Genbank, NCBI Taxonomy и PDB. Общее количество вершин - 1526650, общее количество связей - 4878913.

Доступ к базе данных может быть осуществлен посредством специального модуля py2neo высокоуровневого языка программирования Python, а также через web-браузер.

### **4. Назначение и область применения результатов проекта**

Проект имеет широкое фундаментальное значение, так как нацелен на установление механизмов трансформации энергии в ферментативных системах на молекулярном уровне, в частности ферментов реакции билюминесценции. Результаты проекта расширят представления об организации ферментативных систем в клетках (главным образом, систем с переносом энергии) и позволят повысить эффективность использования подобные системы в фундаментальных исследованиях.

Обнаруженные структурные различия, характерные для двух групп люцифераз, позволят пересмотреть существующие представления о конструировании биотестов и создании различных экспресс-систем для экологического мониторинга на основе билюминесцентной ферментативной системы. Моделирование мутаций активного центра люцифераз и анализ возможного вклада таких изменений в структуру апо- и холоформ фермента позволит управлять процессом билюминесценции и использовать наиболее подходящие мутанты для различных прикладных направлений.

### **5. Возможность коммерциализации результатов проекта**

Графовая база данных, содержащая последовательности геномов светящихся бактерий может быть востребована широким кругом ученых, занимающихся бактериальной билюминесценцией по всему миру, особенно с учетом высокой коммерциализуемости билюминесцентного анализа.

### **6. Эффекты от внедрения результатов проекта**

В долгосрочной перспективе результаты проекта внесут важный вклад в фундаментальные исследования функционирования полиферментных систем,

метаболических процессов и ферментативных систем с переносом энергии. Также использование результатов проекта в различных прикладных направлениях позволит усовершенствовать подходы к конструированию биотестов на основе биферментной системы, состоящей из люциферазы и флавин-зависимой оксидоредуктазы и позволит расширить применение живого свечения в биотехнологии.

#### **7. Наличие соисполнителей**

-

Руководитель работ по проекту

Заведующая кафедрой биофизики, д.б.н., профессор

В.А. Кратасюк