

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ПОЛЯРНОСТИ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТИРОЗИНА

Костюченко Н.С., Хрусталёва Т.А., Хрусталёв В.В.

*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

**Введение.** В настоящее время для определения конформации белка широко используются методы, основанные на анализе положения максимума флуоресценции остатков триптофана. Однако в ряде белков и функциональных доменов могут отсутствовать остатки триптофана, но присутствовать остатки тирозина. Известно, что положение максимума флуоресценции на спектре испускания остатков тирозина неизменно. Поэтому представляется актуальным исследование характера спектра возбуждения флуоресценции тирозина в зависимости от особенностей его микроокружения.

**Цель работы** – изучить влияние температуры и полярности растворителя на спектры возбуждения и испускания свободного тирозина и его остатка в пептиде SF23.

**Материалы и методы.** Для изучения влияния температуры в качестве среды использовался 0,01 М Na, К-фосфатный буферный раствор (рН = 7,4 при T = 22 °С). Спектры регистрировали в интервале температур от 22 до 50 °С.

Для определения влияния полярности среды на флуоресценцию тирозина были приготовлены образцы, в которых в качестве растворителя использовались следующие вещества: метанол, этанол, ацетонитрил, диметилсульфоксид (ДМСО) и гексан. В качестве спектров сравнения использовались спектры проб на основе 0,01 М Na, К-фосфатного буферного раствора (рН = 7,4).

Спектры возбуждения и испускания регистрировались на термостатируемом флуориметре Solar CM2203 (Беларусь) с длиной оптического пути 1 см. Спектры возбуждения снимали в диапазоне 200-300 нм при длине волны эмиссии 302 нм, при длине волны возбуждения 270 нм регистрируемый диапазон испускания был: 295-395 нм. Поскольку тирозин и SF23 имеют разную растворимость в веществах, используемых в эксперименте, полученные спектры нормализовали.

**Результаты.** При изучении влияния температуры, полученные спектры свободного тирозина свидетельствовали о снижении интенсивности флуоресценции при повышении температуры. Спектры раствора SF23 также демонстрировали снижение интенсивности, однако в диапазоне температур 38-44 °С наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции относительно аналогичного диапазона для свободного тирозина.

При снятии спектров возбуждения в ДМСО и гексане отсутствовал пик в районе 220 нм, соответствующий максимуму поглощения пептидных связей, как в случае свободного тирозина, так и в случае остатка в составе SF23, но сохранялся пик в районе 280 нм, соответствующий максимуму поглощения ароматической боковой цепи. Формы спектров возбуждения в метаноле и этаноле соответствовали таковым в водном (буферном) растворе: сохранялись оба пика, преобладал пик в районе 280 нм. Спектр в ацетонитриле отличался преобладанием пика в районе 220 нм над пиком в районе 280 нм. Форма спектров испускания во всех растворителях существенно не отличалась от спектров сравнения.

**Выводы.** Наблюдаемое снижение интенсивности флуоресценции свободного тирозина и его остатка в SF23 при увеличении температуры, возможно, является следствием увеличения доли безызлучательной релаксации возбуждённого тирозина. Зарегистрированное в диапазоне температур 38-44 °С увеличение флуоресценции остатка тирозина в SF23 связано с изменением структуры пептида, а именно переходом олигомерной формы в мономерную. В отличие от ацетонитрила, метанола, этанола и воды, как ДМСО, так и гексан препятствуют передаче энергии от пептидных связей к ароматической системе тирозина: ДМСО за счёт водородных связей с атомами из основной цепи, а гексан – за счёт гидрофобных контактов с ароматической системой.