**Определение влияния конформационной подвижности на фотофизические свойства белка EGFP**

***Аслоповский В.Р.***

*Аспирант 1 г/о*

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

*E-mail: aslopovskiyvladislav@gmail.com*

В настоящее время активно развивается и применяется двухфотонная флуоресцентная микроскопия, которая имеет ряд преимуществ перед традиционной конфокальной. Яркость флуоресценции в этом случае зависит от сечения двухфотонного поглощения, поэтому расчет сечений двухфотонного поглощения флуоресцентных маркеров является важной задачей, равно как и моделирование спектров двухфотонного поглощения с корректным учетом вкладов однородного и неоднородного уширения. Целью работы является исследование вклада неоднородного уширения в спектр двухфотонного поглощения флуоресцентного белка EGFP, активно применяющегося в биоимиджинге, а также выявление конформационно подвижных остатков, существенно влияющих на величину сечения двухфотонного поглощения.

Для молекулярно-динамического моделирования конформационной подвижности активного центра EGFP использована сольватированная модель белка, основанная на кристаллографической структуре с PDB ID 1EMA. Молекулярно-динамическое моделирование системы проводили в NPT-ансамбле с периодическими граничными условиями при температуре 300 К с последующим охлаждением до 1 К. Для исследования конформационного пространства активного центра вдоль молекулярно-динамической траектории с временным интервалом в 100 пс отобрано 100 геометрий системы; сольватная оболочка указанных структур удалена и проведена оптимизация геометрий методом КМ/ММ (PBE0/(aug)-cc-pVDZ//CHARMM) всех выбранных структур, включая охлажденную. Электронные энергии для состояний S0 и S1 рассчитаны на уровне XMCQDPT2[7]/SA(7)-CASSCF(14,13)/(aug)-cc-pVDZ//EFP.

Для количественной оценки величины неоднородного уширения значения энергий вертикального перехода аппроксимированы гауссовым распределением. Полученное значение полной ширины на половине высоты (FWHM) оказалось равным 533 см-1, что отражает слабое отличие энергий вертикального перехода для различных конформеров EGFP. Таким образом, вклад неоднородного уширения оказывается значительно меньше вклада однородного. Данная оценка также позволяет построить спектр двухфотонного поглощения EGFP на основе расчета интенсивности вибронных переходов для одной (наиболее репрезентативной) структуры и уширения полученных линий гауссовыми функциями; при этом ширина используемых гауссовых функций является физически обоснованной и отражает вклад неоднородного уширения в спектр. Кроме того, для полученной выборки в рамках подхода прямого суммирования по первым семи электронным состояниям рассчитаны сечения двухфотонного поглощения. Показано влияние подвижности 145-го тирозина и трех молекул воды, находящихся в непосредственной близости от хромофора, на среднюю величину сечения двухфотонного поглощения и энергию вертикального перехода S0 → S1. Показано, что данный эффект связан с влиянием электростатического поля на разницу постоянных дипольных моментов хромофора в состояниях S0 и S1.

*Автор благодарен научному руководителю Боченковой А.В. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-13-00126 с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова, а также вычислительного кластера лаборатории квантовой фотодинамики (RSC Tornado), закупленного по программе развития МГУ имени М.В. Ломоносова.*