**Характеристика свойств и структуры β-каротин** **связывающего белка BBP**

***Доминник Е.Е.1,3, Егоркин Н.А.2,3, Бойко К.М.4, Варфоломеева Л.А.4, Максимов Е.Г.2,***

***Случанко Н.Н.3***

*Студент, 5 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия*

*2Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия*

*3ФИЦ биотехнологии РАН, лаборатория белок-белковых взаимодействий, Москва, Россия*

*4ФИЦ биотехнологии РАН, лаборатория инженерной энзимологии, Москва, Россия*

*E-mail: dominnikjr@gmail.com*

β-каротин – один из наиболее гидрофобных и распространенных в природе каротиноидов, являющийся также мощным антиоксидантом и провитамином А. Вследствие низкой растворимости для перемещения в водной фазе β-каротин требует особых переносчиков. В живой природе одной из таких систем являются водорастворимые каротиноид-связывающие белки. Недавно было показано, что ярко-желтая окраска самцов пустынной саранчи *Schistocerca gregaria* обусловлена накоплением под кутикулой β-каротин-связывающего белка (BBP). Однако молекулярный механизм взаимодействия β-каротина с белком, позволяющий образовывать с ним водорастворимый комплекс, установлен не был. Цель данной работы заключалась в описании свойств и структуры белка BBP в комплексе с β -каротином и другими каротиноидами.

В данной работе BBP был выделен из кутикулы желтых самцов саранчи, а также получен в рекомбинантной форме в клетках *E.coli*, продуцирующих β-каротин. Методом гель-фильтрационной хроматографии было показано, что BBP является стабильным димером с кажущейся молекулярной массой 55 кДа, обладающим устойчивостью к изменению pH в пределах 3-10 и температуры раствора (*T*0.5~68–70 °C), а также воздействию детергентов (Tween 20, Triton X100, CHAPS). Для определения специфичности BBP к β-каротину в качестве лиганда, рекомбинантный белок был дополнительно получен в клетках *E.coli*, способных производить β-каротин, гидрокси- или кетокаротиноиды. Таким образом, было выявлено, что BBP предпочтительно связывает β-каротин, в меньшей степени кантаксантин, и совсем незначительно – зеаксантин и кантаксантин. Эксперименты по лиганд-опосредованной ренатурации BBP в присутствии различных каротиноидов продемонстрировали возможность BBP к рефолдингу и нестабильность апо-формы белка, а анализ каротиноидов из ренатурированных молекул BBP методом ВЭЖХ дополнительно подтвердил высокое сродство BBP к β-каротину (77%), меньшее – к эхиненону (72%), кантаксантину (60%), астаксантину (32%) и зеаксантину (19%). Стоит отметить, что BBP практически не связывает ликопин (8%), который, как и β-каротин, не имеет в своей структуре полярных групп. Пониженное сродство к ксантофиллам, а также особенности тонкой структуры спектра поглощения β-каротина в комплексе с BBP позволяют сделать вывод о крайне гидрофобном окружении лиганда внутри BBP, а также о деформации молекулы β-каротина в белковом туннеле. Для объяснения наблюдаемых свойств нами были проведены работы по кристаллизации BBP, в результате чего была получена его кристаллическая структура. Полученные данные подтвердили выдвинутые предположения.

Полученные результаты могут найти свое применение в сельскохозяйственных технологиях и, потенциально, в области биомедицины.