

Augalų transmembraninių šviesą sugėriamųjų baltyminių kompleksų tyrimai dirbtinėje ir natūralioje panašioje aplinkoje pasitelkiant pavienių molekulių fluorescencijos mikroskopiją

Studies of plant transmembrane light-harvesting protein complexes in artificial and natural-like environment using single molecule fluorescence microscopy

Marijonas Tutkus¹, Danielis Rutkauskas¹, Jevgenij Chmeliov¹, Petra Ungerer³, Parveen Akhar⁴, Oskaras Venckus^{1,2}, Petar Lambrev⁴, Alexander Ruban³, Francesco Saccon³, Gediminas Trinkūnas¹, Leonas Valkūnas¹

¹Fizinių ir technologijos mokslų centras, Savanorių pr. 231, 02300 Vilnius, Lietuva

²Vilniaus universitetas, Gyvybės mokslų centras, Biomokslų institutas, Saulėtekio al. 7, 10257 Vilnius, Lietuva

³School of Biological and Chemical Sciences, Queen Mary University of London, Mile End Road, London E1 4NS, UK

⁴Hungarian Academy of Sciences, Biological Research Centre, Institute of Plant Biology, Temesvári krt. 62, 6726

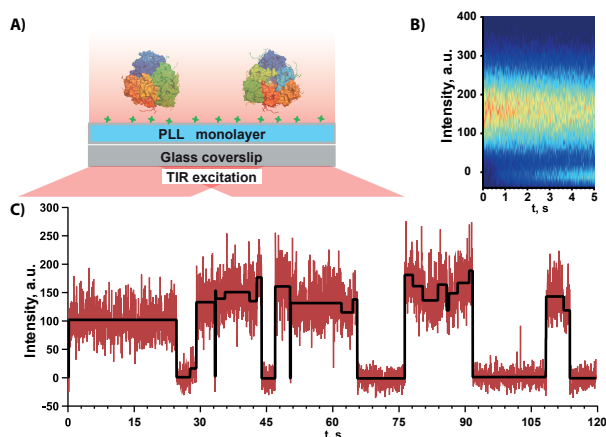
Szeged, Hungary

marijonas.tutkus@ftmc.lt

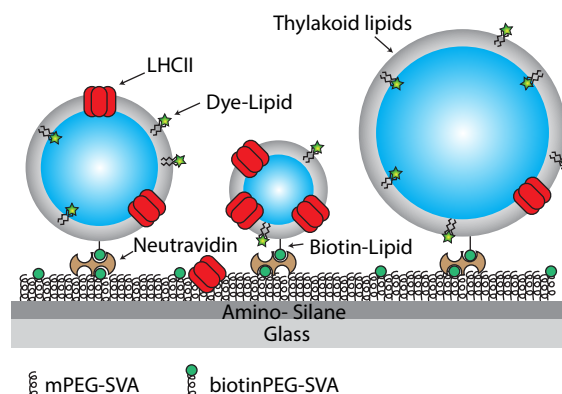
Pirmieji primityvūs šviesą surenkantys baltyminiai kompleksai atsirado prieš daugiau nei du milijardus metų. Nuo to laiko fotosintetinantys organizmai išvystė labai įvairių būdų, kaip surinktą šviesą išsaugoti organinėse molekulėse ryšių pavidalu. Natūralios šviesą surenkančios sistemos labai efektyvios – optimaliomis sąlygomis sintezei panaudojama virš 90 % sugertų fotonų. Tačiau esant intensyviai apšvietimui, įsijungia apsauginiai mechanizmai, gesinantys žalingos perteklinės energijos saugojimą ir perdavimą [1].

Augaluose gausiausias ir daugiausiai tyrinėjamas baltymų-pigmentų kompleksas – LHCII. Jo sudėtyje esantys chlorofilai *a* ir *b* atsakingi už efektyvią šviesos sugertį, o karotenoidų sudėtis daro įtaką nefotocheminiam gesinimui, tačiau tikslūs valdymo mechanizmai vis dar nežinomi [2].

LHCII tyrimams pasitelkiame inovatyvią, šioje srityje dar mažai taikytą TIRF mikroskopiją [3], pagrįstą visiškojo vidaus atspindžio kuriamu itin siauru, eksponentiškai gėstančiu, *evanescojančiu* lauku, kuris leidžia optiškai žadinti išskirtinai tik imobilizuotus molekulinis darinius. (pav. 1A).



1 pav. A) LHCII imobilizavimo metodas ant PLL modifikuoto stiklo detergento aplinkoje. B) LHCII intensyvumo priklausomybė nuo laiko esant 635 nm žadinimui. C) Reprezentatyvus vienos molekulės intensyvumo signalas ir jo laiptuota idealizacija.



2 pav. Eksperimento schemeje pavaizduotos į įvairaus skersmens imobilizuotas liposomas įterpti LHCII ir fluorescenciškai žymėti lipidai. Baltymo-pigmento kompleksų kiekybinės fluorescencijos tyrimas dažo molekulių atžvilgiu, rodo, kad daugiau LHCII turi smulkesnės liposomos.

LHCII fluorescenciją tiriamo dviejose aplinkose: dirbtinėje – tilakoidų membranos suardomos, o išlaisvinti pavieniai kompleksai ištirpinami detergento micelėse, ir į natūralią panašioje – iš tilakoidų fosfolipidų suformuojamos liposomos su įterptais LHCII. Pavienių kompleksų, išskirtų iš mutantinių augalų, tyrimai reikalingi norint susieti karotenoidų įtaką nefotocheminio gesinimo procesams. O liposomose įterpto LHCII tyrimai leidžia nagrinėti ryšį tarp fluorescencijos intensyvumo signalų ir liposomų skersmens. LHCII jautrumas membranos kreivumui gali veikti kaip mechanizmas padedantis nuo antrosios fotosistemos (PSII) atsiplaidavusiems LHCII sueiti į kreivąją tilakoidų dalį ir lokaliai padidinti jų koncentraciją.

Reikšminiai žodžiai: LHCII, TIRFM, fluorescencija, mikroskopija, liposomos.

Literatūra

- [1] T. Mirkovic, E. E. Ostroumov, J. M. Anna, R. van Grondelle, Govindjee and G. D. Scholes, Chem. Rev. **117**, 249–293 (2017).
- [2] M. Fuciman, M. M. Enriquez, T. Polívka, L. Dall’Osto, R. Bassi and H. A. Frank, J. Phys. Chem. B, **116**, 3834–3849 (2012).
- [3] A. A. Deniz, S. Mukhopadhyay and E. A. Lemke, J. R. Soc. Interface. **5**, 15–45 (2008).