Влияние сополимера N,N-диметилакриламида и N-акрилоил-m-аминофенилборной кислоты на активность и термоагрегацию ГАФД из скелетных мышц кролика

Стогов Сергей Владимирович

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия E-mail: stogoffster@gmail.com

Многие белки находятся в клетке не в свободном, а связанном состоянии. Например, в виде комплексов с нуклеиновыми кислотами, полисахаридами или другими белками. Эти взаимодействия изучены недостаточно, что связано со сложностью исследования комплексов *in vivo*. При модельном изучении в качестве партнёров для взаимодействия с белками удобно использовать синтетические полимеры. Сотрудниками биотехнологического факультета Лундского университета был синтезирован бор-содержащий сополимер N-акрилоил-m-фенилборной кислоты и N,N-диметилакриламида способный образовывать ковалентные сшивки с поливиниловым спиртом и углеводными компонентами гликокаликса эндотелиоцитов. В работе было изучено влияние данного сополимера на активность и термоагрегацию глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы.

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД, КФ 1.2.1.12) катализирует одну из реакций гликолиза: окисление 3-фосфоглицеринового альдегида до 1,3-дифосфоглицериновой кислоты. Также существуют данные о проявлении ферментом ацилфосфатазной и урацил-ДНК-гликозилазной активности. Показано участие ГАФД в апоптозе и развитии нейродегенеративных заболеваний.

В последнее время резко возрос интерес к агрегации белков. Причиной этого стал факт, что целый ряд нейродегенеративных заболеваний сопровождается образованием крупных белковых агрегатов. Нами было показано предотвращение агрегации ГАФД сополимером N,N-диметилакриламида и N-акрилоил-таминофенилборной кислоты при значении рН среды 9,0. Было установлено, что снижение рН среды и добавление поликатиона приводит к разрушению белоксополимерного комплекса. Добавление в среду фруктозы приводит лишь к частичному разрушению белок-сополимерного комплекса.

За функциональным состоянием фермента следили по его каталитической активности. Оказалось, что кратковременная инкубация с бор-содержащим сополимером не оказывает существенного влияния на активность фермента как при комнатной температуре, так и при термоинактивации при 55° С.

Однако методом аналитического ультрацентрифугирования было установлено, что более длительная инкубация ГАФД в среде с бор-содержащим сополимером (+4°C, 18–20 часов) приводит к диссоциации каталитически активных тетрамеров фермента до неактивных мономеров.

Известно, что бор-содержащий сополимера связывается с поверхностью разных типов клеток. В связи с этим нами было изучено влияние сополимера на подвижность сперматозоидов. Присутствие в среде сополимера приводило к снижению скорости движения сперматозоидов и образованию групп сцепленных подвижных сперматозоидов. Предполагается использование бор-содержащего сополимера для разделения сперматозоидов с разной подвижностью и их фиксации на различных носителях.