

Влияние разных форм прионного белка на работу эукариотических шаперонов

Научный руководитель – Муронец Владимир Израилевич

Кудрявцева София Станиславовна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: sofia.kudriavtceva@gmail.com

Кудрявцева С.С.¹, Стройлова Ю.Ю.^{2,3} Муронец В.И.²

sofia.kudriavtceva@gmail.com

¹ Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² Институт Физико-Химической Биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Институт молекулярной медицины, Москва, Россия

Как известно, самопроизвольная укладка полипептидной цепи в присущую ей вторичную и третичную структуру является медленным и неэффективным процессом. Поэтому в клетке существует особый класс белков - молекулярные шапероны, которые увеличивают скорость и эффективность сворачивания биомакромолекул и предотвращают их агрегацию. Надлежащая работа системы шаперонов является ключом к правильному функционированию многих клеточных систем, которые подвергаются воздействию различных стрессовых факторов.

В природе существует ряд тяжёлых заболеваний, причиной которых является накопление белковых агрегатов в нервной ткани, например, болезни Паркинсона, Хантингтона, прионные заболевания и другие. Такие агрегаты образуются из белков, утративших свою нативную конформацию (неправильно свёрнутых белков), и, следовательно, функцию. Структурные изменения могут быть опосредованы закислением среды, окислительным стрессом или внесением посттрансляционных модификаций. При этом клеточная система шаперонов получает сигнал тревоги и начинает взаимодействовать с неправильно свёрнутыми белками и их агрегатами [1]. Однако результат взаимодействия шаперонов с амилоидогенными белками, склонными к агрегации в настоящее время до конца не изучен и может носить двойственный характер [2].

Таким образом, целью нашей работы было изучить взаимодействие модельного эукариотического шаперона TRiC₁₆ с разными формами прионного белка (PrP): нативным белком, олигомерами, фибриллами, а также после гликирования метилглиоксалем (MGO), появляющимся в клетках при нарушении метаболизма углеводов [3]. MALDI-TOF анализ показал, что в случае гликирования PrP метилглиоксалем модификации подвергаются в основном аргинины (в частности, в положениях 27 и 51), образуя гидроимидазолон. Спектры кругового дихроизма и флуоресценции триптофана указывают на частичное разворачивание альфа-спиралей модифицированного прионного белка. Гликированный PrP образует большие аморфные агрегаты вместо олигомеров и медленнее образует амилоидные фибриллы.

Кроме того, мы исследовали влияние различных форм прионного белка на активность шаперона TRiC₁₆. Для изучения изменений в работе шаперона мы использовали систему, включающую полностью денатурированную сперматозоидную глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (denGAPDS). Мы инкубировали denGAPDS с TRiC₁₆ в присутствии разных

форм PrP и изучали восстановление активности фермента. Шаперон-зависимая реактивация denGAPDS была практически блокирована мономерами PrP. Гликирование прионного белка приводило к сокращению лаг-фазы и росту уровня реактивации до 70% от максимального, что указывает на снижение сродства у гликированных молекул к активному центру TRiC₁₆. Олигомеры PrP замедляли шаперон-зависимую реактивацию фермента, а фибриллы увеличивали лаг-фазу до 40 минут, но в конечном итоге уровень реактивации denGAPDS возвращался на исходный уровень, что может свидетельствовать о возникновении стерических затруднений.

Представленные данные показывают, что эукариотический шаперон TRiC₁₆ лучше связывается с мономерными формами прионного белка, чем со своим естественным белком-партнёром denGAPDS. Это может существенно навредить работе защитных систем клетки и привести к усилению амилоидной трансформации PrP. При этом гликирование прионного белка значительно уменьшает указанный эффект.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 16-14-10027).

Источники и литература

- 1) Saibil H. (2000). Molecular chaperones: Containers and surfaces for folding, stabilising or unfolding proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 10, 251–258.
- 2) Stroylova Y.Y., Kiselev G.G., Schmalhausen E.V., Muronetz V.I. (2014) Prions and chaperones: Friends or foes?, *Biochemistry (Moscow)*, 79 (8), 761-775.
- 3) Kalapos M.P. (2013). Where does plasma methylglyoxal originate from?. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 5 (99), 260–271.