

Ассоциация молекул в состоянии "расплавленной глобулы"

Поварова О.И., Ржанова П.Б., Кузнецова И.М., Туроверов К.К.

молодой ученый, студент, сотрудники

*Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербургский Государственный Политехнический
Университет, Санкт-Петербург, Россия*

E-mail: olp@mail.cytspb.rssi.ru, kkt@mail.cytspb.rssi.ru

Одна из широко известных моделей сворачивания белков основана на представлении о существовании универсального промежуточного состояния, названного по совокупности присущих ему характеристик состоянием "расплавленной глобулы". В этом состоянии белок характеризуется, в частности, повышенной способностью к связыванию флуоресцентного зонда АНС. Считается, что АНС связывается с гидрофобными кластерами молекулы, которые становятся доступными в этом состоянии растворителю. Однако, нами было замечено, что этот эффект не всегда наблюдается для белков в состоянии "расплавленной глобулы". Ранее было показано, что карбоангидраза II разворачивается с образованием промежуточного состояния типа "расплавленная глобула" при денатурации мочевиной и гуанидингидрохлоридом (GdnHCl), однако возрастание интенсивности флуоресценции АНС наблюдается только в случае денатурации GdnHCl. В то же время было отмечено, что возрастание интенсивности флуоресценции АНС часто сопровождается возрастанием анизотропии триптофановой флуоресценции и светорассеяния (как это было, например, зарегистрировано нами для актина), что не укладывается в модель "расплавленной глобулы", а скорее свидетельствует об агрегации белка.

Сделано предположение, что обнаруженные эффекты могут иметь место в том случае, если белки в состоянии "расплавленной глобулы" ассоциируют, и при этом молекулы АНС встраиваются между макромолекулами белка, образующими ассоциат. Для образования ассоциатов необходимо два условия – наличие гидрофобных кластеров на поверхности и отсутствие существенного электростатического отталкивания макромолекул. В частности, такие условия могут возникать для белков, имеющих небольшой отрицательный заряд при нейтральных рН, при переводе их в растворы с небольшим содержанием GdnHCl. С ростом числа ионов GuH^+ , связанных с белком, увеличивается количество положительных групп на поверхности белка и при некоторой концентрации GdnHCl исходно в целом отрицательно заряженная макромолекула белка становится нейтральной. Таким образом, если молекула белка имеет гидрофобные кластеры, или они возникают при денатурации белка, при определенных концентрациях GdnHCl создаются условия для ассоциации макромолекул между собой. Это и является причиной возрастания светорассеяния, степени поляризации собственной флуоресценции и встраивания молекул АНС между макромолекулами белка, образующими ассоциат. Подтверждением предложенного объяснения является также тот факт, что уменьшение рН раствора а, следовательно, изменение числа отрицательно заряженных групп на поверхности карбоангидразы II, приводит к тому, что возрастание интенсивности флуоресценции АНС и анизотропии флуоресценции наблюдается при меньших концентрациях GdnHCl.

Работа поддержана грантом РФФИ 07-04-01038, Программой МКБ РАН и Программой "Ведущие научные школы РФ" (НШ-9396.2006.4).