

УДК 577.122

А.А.Степанова (2 курс, каф. БФ), М.Н.Богданова (6 курс, каф. БФ)

ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОТОРАСТВОРИМОГО БЕЛКА BASP1 И ЕГО ИЗОФОРМ

Значительное внимание в изучении молекулярных основ нервных процессов уделяется белкам, выполняющим в клетке разнообразные регуляторные функции и играющим важную роль в интеграции всех процессов, протекающих в мозге. При этом большое значение придается изучению новых белков, так как исследование их свойств расширяет возможности для понимания механизмов деятельности отдельных нервных клеток и всей нервной системы в целом. Особый интерес вызывают нейроспецифические белки, а также белки, экспрессия которых в нервной системе является наивысшей, поскольку их участие в процессах, характерных для нервной ткани (например, в сигнальных реакциях синаптической передачи нервного импульса) наиболее значимо. К числу таких белков и относится предмет исследований данной работы – белок BASP1 и его изоформы.

Целью описываемых в данной работе исследований явилось изучение биохимических свойств белка BASP1 и его изоформ. Исследование изоформ, образующих семейство BASP1, представляет большой интерес, поскольку различные изоформы белка, возможно, могут экспрессироваться на различных стадиях развития организма, могут иметь различную внутриклеточную локализацию, взаимодействовать с различными белками и сигнальными факторами или различаться по каким либо другим свойствам, тем самым осуществляя более тонкую регуляцию контролируемых ими процессов на основании одного и того же механизма.

Для достижения цели работы были использованы следующие методы: субклеточное фракционирование и выделение синапсом; выделение белков GAP-43 и BASP1, их очистка с помощью препаративного электрофореза; различные модификации электрофореза белков в полиакриламидном геле (в присутствии SDS, в системе 2,5 М мочевины/0,9 М уксусная кислота, в том числе с добавлением 0,5% тритона X-100); обнаружение белков и их фрагментов с помощью иммуноблоттинга.

В ходе данной работы при анализе экстрактов гомогената ткани мозга 5%-ной хлорной кислотой и 1% -ным тритоном X-100 с помощью электрофореза в ПААГ и иммуноблоттинга нами были обнаружены изоформы белка BASP1, имеющие меньшую молекулярную массу по сравнению с основным белком. Образование этих изоформ не было связано с деградацией белка, поскольку в ходе процедуры его выделения данный факт воспроизводится при добавлении в среду для приготовления гомогената ткани мозга ингибиторов протеаз. Таким образом, можно заключить, что изоформы белка BASP1 образуются в нервной клетке *in vivo*.

Анализ гидрофобных свойств изоформ белка BASP1 с помощью двумерного электрофореза в ПААГ (первое направление — система уксусная кислота/мочевина, второе — та же система, но с добавлением тритона X-100), показал, что большинство изоформ BASP1 проявляют гидрофобные свойства, причем степень их гидрофобности сходна со степенью, проявляемой самим белком. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что большинство изоформ белка BASP1 являются миристилированными.

На следующем этапе работы, при помощи препаративного электрофореза одна из изоформ была нами выделена в чистом виде с целью дальнейшего анализа.