

УДК 577.112:577.322.7

**О.И.Поварова (5 курс, каф.БФ),
К.К.Туроверов, д.ф.-м.н., зам. дир. (ИНЦ РАН)**

КИНЕТИКА РАЗВОРАЧИВАНИЯ АКТИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МОЧЕВИНЫ

Изучение белков в денатурированных частично свернутых состояниях является в последнее время предметом интенсивных исследований. Актуальность этих исследований обусловлена не только ее значимостью для решения фундаментальной проблемы самосборки белков в процессе биосинтеза, но и тем, что ассоциация белков в денатурированных частично-свернутых состояниях представляет большую проблему для биотехнологии и медицины. Действительно, ассоциация и агрегация белков приводит к возникновению ряда тяжелых заболеваний, получивших название конформационных болезней (болезни Альцгеймера и Паркинсона, катаракта, злокачественная миелома и др.), а образование специфических белковых преципитатов является главной проблемой при получении нативных рекомбинантных белков.

Целью данной работы явилось изучение процессов сворачивания - разворачивания актина под воздействием мочевины и выяснение роли инактивированного актина в этих процессах.

Для решения этой задачи была исследована кинетика изменения величин ряда характеристик собственной УФ-флуоресценции и интенсивности флуоресценции гидрофобного зонда АНС при денатурации актина под воздействием мочевины. Обнаружено что при конечных концентрациях мочевины 3...4,5 М временные зависимости интенсивности флуоресценции при длине волны 320 нм (I₃₂₀), а также такие характеристики как параметр $A=I_{320}/I_{365}$ и анизотропия флуоресценции τ имеют минимум. Как известно, эти характеристики имеют минимальные значения для полностью развернутого состояния. Это означает, что образование инактивированного актина под воздействием мочевины из нативного состояния осуществляется через образование существенно развернутого состояния. Обнаруженный кинетический интермедиат имеет выраженный спектр КД в дальней УФ-области. Это свидетельствует о сохранении в этом состоянии выраженной вторичной структуры. Следовательно, есть основания полагать, что обнаруженный кинетический интермедиат является состоянием типа расплавленной глобулы. Об этом же свидетельствует существенное возрастание интенсивности флуоресценции гидрофобного зонда АНС сразу же после перехода актина в это состояние.

Таким образом, получены новые данные о том, что инактивированный актин не является промежуточным состоянием на пути разворачивания нативного актина, как это считали ранее. По-видимому, инактивированный актин является результатом процесса самоассоциации макромолекулы актина в состоянии расплавленной глобулы, конкурирующего с процессом правильного сворачивания белка.