

**Влияние точечной мутации консервативного остатка аргинина в N-концевом домене на физико-химические свойства некоторых малых белков теплового шока человека**

**Научный руководитель – Гусев Николай Борисович**

***Шатов Владислав Михайлович***

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

*E-mail: shatovm@inbox.ru*

В геноме человека выявлено 10 генов, кодирующих малые белки теплового шока (small heat shock proteins, sHsp). Мономеры всех представителей семейства sHsp имеют сходную структуру, состоящую из консервативного  $\alpha$ -кристаллинового домена (70-80 остатков) и переменных по длине и структуре N-концевых и C-концевых доменов. Кристаллиновый домен участвует во взаимодействии мономеров и формировании димеров, в то время как N- и C-домены обеспечивают взаимодействие между димерами и формирование крупных олигомерных комплексов [2]. N-концевой домен представляет особый интерес, потому что он может играть важную роль в регуляции функционирования sHsp. Это обусловлено тем, что в этом домене располагаются участки пост-трансляционных модификаций (сайты фосфорилирования и неэнзиматического гликирования), а также центры связывания белков-субстратов. Несмотря на значительную переменность, N-концевой домен всех sHsp человека содержит консервативный пептид RLF $\alpha$ QxFG, мутации в котором приводят к уменьшению средних размеров олигомеров и изменению шапероноподобной активности sHsp [1]. Целью данной работы является исследование роли консервативного остатка аргинина, расположенного в этом домене, в поддержании олигомерной структуры и свойств трех sHsp (HspB1, HspB5, HspB6) человека.

Подобраны условия экспрессии и выделения рекомбинантных HspB1, HspB5 и HspB6 с точечной заменой консервативного остатка аргинина на аланин. Установлено, что указанные точечные замены сопровождаются уменьшением экспрессии HspB5 и HspB6. Все исследуемые белки экспрессировались в растворимом виде. Проводя фракционирование сульфатом аммония с последующей ионообменной хроматографией и гель-фильтрацией, мы смогли получить в гомогенном виде HspB1 и HspB5. Экспрессия HspB6 сопровождалась накоплением протеолитического фрагмента этого белка с кажущейся молекулярной массой на 1,5-2 кДа меньшей молекулярной массы интактного белка. Используя метод гель-фильтрации, исследовали олигомерное состояние полученных белков. Точечная замена R27A HspB1 сопровождается дестабилизацией крупных олигомеров этого белка и накоплением мелких олигомеров с кажущимися молекулярными массами от 48 до 200 кДа. Аналогичная точечная замена R22A в HspB5 не сопровождается существенными изменениями его олигомерного состояния. Начато исследование влияния точечной мутации консервативного остатка аргинина на олигомерное состояние HspB6.

### **Источники и литература**

- 1) Pasta, S.Y. et al. Role of the conserved SRLFDQFFG region of  $\alpha$ -crystallin, a small heat shock protein: Effect on oligomeric size, subunit exchange, and chaperone-like activity // Journal of Biological Chemistry. 2003, №278(51). p. 51159–51166.

- 2) Treweek, T.M. et al. Small heat-shock proteins: Important players in regulating cellular proteostasis // Cellular and Molecular Life Sciences. 2015, №72(3). p. 429–451.