

ООО «НКЦ «ЛАБТЕСТ» Россия, Москва, 123557, Большой Тишинский пер.38 Тел: +7 (495) 605 3507, 605 3610 Факс: +7 (495) 518 9452 info@lab-test.ru. www.lab-test.ru



Применение спектрофлуориметра ChronosDFD с цифровой обработкой сигнала в частотной области (ISS, США) в биохимических исследованиях.

Аннотация статьи

AMPHIPHILIC RESIDUES 29-44 OF DREAM N-TERMINI MEDIATE CALMODULIN:DREAM COMPLEX FORMATION

Walter G. Gonzalez, Andres S. Arango, Jaroslava Miksovska Biochemistry, 2015, 54 (28), 4391-403

АМФИФИЛЬНЫЕ ОСТАТКИ 29-44-ОЙ АМИНОКИСЛОТ N-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА БЕЛКА DREAM УЧАСТВУЮТ В ФОРМИРОВАНИИ ПРОМЕЖУТОЧНОГО КОМПЛЕКСА КАЛЬМОДУЛИН:DREAM

Среди множества молекулярных механизмов передачи сигнала ключевую роль играют взаимодействия белок-белок и белок-ион. В этих взаимодействиях важное место занимают ионы кальция Са²⁺ и кальций-связывающие белки. Кальций участвует в регуляции многих клеточных процессов, таких как апоптоз, сокращения мышц, нейрональная сигнализация, клеточная пролиферация и т.д.. Такая важная роль ионов кальция привлекают внимание исследователей к механизмам связывания кальция с кальций-связывающим белком и передачи иона кальция от белков к биологическим клеткам. Понимание этих механизмов может помочь при лечении заболеваний, связанных с нарушением кальциевого обмена.

Одним из наиболее изученных кальций-связывающих белков является кальмодулин (CaM) — небольшой, широко распространённый, кислый кальций-связывающий белок, представитель суперсемейства белков EF-hand. Молекула белка состоит из двух глобулярных долей (доменов), каждая из которых имеет по два Ca^{2+} -связывающих сайта, содержащих структуру спираль-петля-спираль (EF-hand). Связанный с кальцием кальмодулин связывается в клетке со многими другими белками, регулируя их активность. Он связывает и активирует более 40 мишеней.

Важным подтверждением большой роли ионов кальция является открытие кальций-связывающего белка DREAM (англ. downstream regulatory element (DRE) antagonist modulator), регулирующего экспрессию генов, этот белок также относится к суперсемейству EF-hand. Последние исследования выявили, что кальмодулин и DREAM формируют комплексы, которые также участвует в процессах регуляции. Например, показано, что этот комплекс усиливает активность кальцийнейрина — серин-треониновой фосфатазы, участвующей в сигнальных путях, необходимых для регуляции генов. Механизмы взаимодействия кальмодулина и DREAM между собой и биологическая роль их комплексов представляют большой интерес для исследователей.

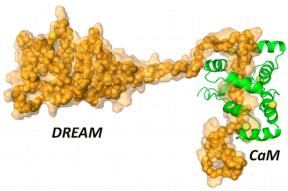


Рис. 1. Комплекс DREAM с кальмодулином.

Одной из работ в этой области стало исследование, проведённое группой американских исследователей под руководством Ярославы Миксовской из Флоридского международного университета.

Ими был проведён анализ последовательности аминокислот N-концевого домена белка DREAM, участвующего в связывании кальмодулина, а также его вторичной и третичной структуры. Одним из методов, который был использован исследователями, был флуоресцентный анализ. Для измерения анизотропии флуоресценции был использован спектрофлуориметр ChronosFD (ISS).

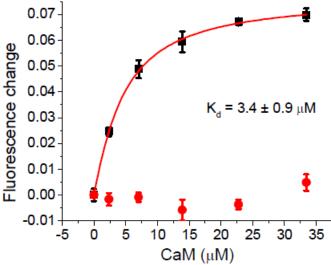


Рис. 2. Изменение флуоресценции DREAM при добавление кальмодулина в отсутствии (\bullet) и присутствии (\blacksquare) 1 мМ Ca^{2+} .

На основе полученных данных исследователями выдвинуто предположение о механизме связывания белка DREAM с кальмодулином. Было показано, что в связывании DREAM с кальмодулином участвует короткий участок полипептидной цепи, расположенный между 29 и 44 аминокислотами, при этом связывание кальмодулина с DREAM зависит от присутствия кальция. Полученные кривые затухания анизотропии флуоресценции были использованы для вычисления корреляционного времени вращения комплекса DREAM-CaM, на основе этих результатов сделано предположение о структуре и форме комплекса. Кроме того, показано, что связывание DREAM с кальмодулином исключает неспецифическое связывание DREAM с ДНК.

Исследователи считают, что полученные ими данные значительно расширяют понимание механизмов взаимодействия DREAM и кальмодулина и их потенциальной роли в экспрессии генов.

Подготовил Алексей Шнитко ООО «НКЦ «ЛАБТЕСТ»

тел.: +7 495 605 35 07 факс: +7 495 605 39 44 a.shnitko@lab-test.ru www.lab-test.ru