

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка Российской академии наук

Программа подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре
06.06.01 Биологические науки

Нагибина Галина Сергеевна

**МЕТОД СТАБИЛИЗАЦИИ БЕЛКОВ, ОСНОВАННЫЙ НА
ПРЕДСКАЗАНИИ НАТИВНО-РАЗВЕРНУТЫХ УЧАСТКОВ**

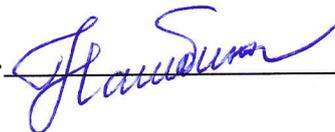
Аннотация выпускной научно-квалификационной работы

Научный руководитель:

д. ф.-м. н. Мельник Б.С.



Аспирант: Нагибина Г.С.



Пушино
2018

В данной работе исследованы белки Gao из *Drosophila melanogaster* и HmaL1 из *Haropalarmis marismortui*. В белках спроектированы дисульфидные связи таким образом, чтобы увеличить их стабильность. Выбор участка полипептидной цепи для введения цистеинового мостика осуществлялся в соответствии с предложенным подходом, заключающимся в использовании программ, созданных для предсказания нативно-развернутых участков в белках. Такие программы в структурированных белках предсказывают не нативно-развернутые, а «ослабленные» и подвижные участки белка, которые не способны приобрести жесткую структуру без дополнительных взаимодействий. Соответственно, введение дисульфидных связей в такие участки с большей вероятностью приведет к стабилизации белка. Проверка такого подхода представлена в данной работе.

С помощью программ PONDR-FIT и IsUnstruct нами были выбраны предположительно «ослабленные» участки, которые предсказываются программами как нативно-развернутые.

В выбранных участках были спроектированы мутации (дисульфидные связи), направленные на стабилизацию структуры белков: V82C-I111C в Gao и E82C-D114C в HmaL1.

Белки Gao из *D. melanogaster* и HmaL1 из *H. marismortui* дикого типа и мутантные формы с дисульфидными связями, выделены и очищены в достаточном количестве для проведения физико-химических экспериментов.

Полученные белки были исследованы методами дифференциальной сканирующей микрокалориметрии, флуоресцентной спектроскопии, спектроскопии кругового дихроизма и методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии ДСН.

Показано, что спроектированный в белке Gao из *D. melanogaster* дисульфидный мостик привел к увеличению температуры плавления одного из доменов этого белка на 4 градуса.

Показано, что спроектированный в белке HmaL1 из *H. marismortui* дисульфидный мостик привел к увеличению стабильности белка, повысив температуру его плавления приблизительно на 10 градусов.

Анализ данных, полученных в результате работы с белками Gao из *D. melanogaster* и HmaL1 из *H. marismortui*, позволяет сделать вывод, что дисульфидные связи, введенные в участки, предсказанные программами как нативно-развернутые, действительно приводят к повышению стабильности белков в ходе тепловой денатурации.