

## ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТ БЕЛКОВЫЙ КОМПЛЕКС. ВЛИЯНИЕ ПОЛИАЛЛИЛАМИНА НА СТРУКТУРУ И ФУНКЦИИ УРЕАЗЫ.

Дурденко Е.В., Дыбовская Ю.Н., Тихоненко С.А., Сабурова Е.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Россия, 142292, Моск. обл. г.Пушино, пр-т Науки  
E-mail: ekaterina-durdenko@rambler.ru

Взаимодействие ферментов с полиэлектролитами (ПЭ) имеет как прикладное, так и фундаментальное значение для понимания биологических феноменов выживания организмов и происхождения некоторых патологических явлений внутри высших организмов. Настоящая работа посвящена экспериментальному и теоретическому изучению механизма взаимодействия катионного гомополиэлектролита полиаллиламингидрохлорида (ПАА) с гексамерным ферментом уреазой из *Canavalia ensiformis*. За структурными характеристиками комплекса следили методами флуоресцентной спектроскопии, кругового дихроизма и спектрофотометрии, за ферментативной активностью методом стационарной ферментативной кинетики. Показано, что: 1) ПАА медленно (с постоянной времени порядка мин) инактивирует уреазу; 2) сродство субстрата – мочевины, к частично инактивированной уреазе в присутствии ПАА не изменяется; 3) интенсивность белковой флуоресценции уменьшается на 10 % при образовании комплекса уреазы с ПЭ; 4) данные кругового дихроизма в полосе поглощения пептидных групп свидетельствовали о сохранении вторичной структуры белка в комплексе с ПАА; 5) методом турбидиметрического титрования фермента ПЭ показано, что комплекс уреазы-ПАА становится растворимым только при их молярном соотношении  $< 1/2$ .

Для того, чтобы объяснить ингибиторное действие полиэлектролитов на ферменты и определить потенциально реакционные зоны для связывания ПЭ в настоящей работе выполнены расчёты электрического потенциала уреазы с помощью решения уравнения Пуассона-Больцмана численным методом с использованием метода Гаусса-Зейделя. Для этого была построена расчетная структура Jack bean уреазы из *Canavalia ensiformis* по аминокислотной идентичности с *Bacillus pasteurii* уреазой (4ubpC.pdb; X-RAY 1.55 Å; идентичность составляет 58,1 %); используя программу “Swiss-model” ([www.expasy.org/swissmod/swiss-model.html](http://www.expasy.org/swissmod/swiss-model.html)). Были определены довольно протяженные площади с «отрицательным» потенциалом на поверхности белка, представляющие участки для благоприятного связывания поликатионов, расположенные в области активного центра уреазы.

На основе полученных экспериментальных и расчетных данных предлагается модель механизма инактивации уреазы полиэлектролитом ПАА, с участием специфических катион связывающих сайтов в области активного центра уреазы, определяющих структурную динамику комплекса фермент-полиэлектролит.