

**Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Белорусский центр научной медицинской информации
Белорусская академия медицинских наук**

**Health Ministry of the Republic of Belarus
Belarusian Center of Scientific Medical Information
Belarusian Academy of Medical Sciences**

Достижения медицинской науки Беларуси

Выпуск VI

Рецензируемый научно-практический ежегодник

Accomplishments of Medical Science in Belarus

6th Issue

**Минск
БелЦНМИ
2001**

УДК 577.12:577.15

Эндонуклеазная активность субъединиц фактора роста нервов

*В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова, В.С. Лукашевич***Рубрика: 76.03.41***Тема НИР: «Раскрыть новые механизмы регуляции протеолиза на молекулярном и клеточном уровнях».**Сроки выполнения НИР: январь 1999 г. — декабрь 2001 г.**Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. В.Н. Никандров.**Организация-соисполнитель: Институт физиологии НАНБ.**Источник финансирования: госбюджет.*

Методом лизиса ДНК селезенки быка (или тРНК) в тонком слое агара с последующей визуализацией после обработки 2N HClO₄ показано, что очищенные гомогенные (по данным электрофореза и изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле) образцы α -, β - и γ -субъединиц фактора роста нервов из подчелюстной слюнной железы мышей обладают ДНК-азной и РНК-азной активностью в 0,06 моль фосфатном или 0,05 моль трис-HCl буфере при pH 7,6.

Исследование зависимости «концентрация субъединиц — активность» выявило, что ДНК-азная и РНК-азная эндонуклеазная активность проявляется у β -субъединицы при более низких концентрациях, чем у α - и γ -субъединиц. Однако эта зависимость у β -субъединицы имеет вид кривой с насыщением, тогда как активность α - и γ -субъединиц изменяется фактически линейно в широком диапазоне концентраций. Изучен эффект ионов Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, а также ЭДТА, цитрата, арсенита, L-лизина, L-гистидина и L-аргинина в конечной концентрации 10⁻³ моль на проявление эндонуклеазной активности всех трех субъединиц. Установлено, что характер действия перечисленных эффекторов зависит от используемой буферной системы. ДНК-азная активность α -субъединицы в трис-буфере умеренно угнеталась лишь ЭДТА, ионами Cu, Co, Fe и Mg (на 20–35%). В фосфатном буфере все эффекторы подавляли эту активность на 50–65%. ДНК-азная активность β -субъединицы в трис-буфере на 20–35% угнеталась ионами Ca, Mg, Mn, Co, Cu и на 20–25% повышалась в присутствии цитрата, ЭДТА, арсенита, лизина и аргинина. Однако в фосфатном буфере лишь цитрат, ЭДТА, арсенит и ионы Cu вызывали увеличение ДНК-азной активности. Эта же активность γ -субъединицы в трис-буфере лишь в присутствии цитрата, ЭДТА и аргинина увеличивалась на 20–40%. В фосфатном буфере почти все эффекторы вызвали умеренное (на 20–40%) подавление этой активности (кроме ионов Ca, Co, аргинина), а ионы Cu — ее повышение.

РНК-азная активность α -субъединицы в трис-буфере угнеталась лишь ионами Fe на 30%, тогда как в фосфатном буфере эффективны были только добавки арсенита или лизина: активность возрастала на 30–40%. РНК-азная активность β -субъединицы малочувствительна к эффекторам. В трис-буфере она на 20% подавлялась ионами Ca и Mg и на 70% увеличивалась в присут-

ствии ионов Cu. В фосфатном буфере лишь ЭДТА вызывал небольшое угнетение этой активности. РНК-азная активность γ -субъединицы в трис-буфере подавлялась только ионами Ca (на 20%), тогда как в фосфатном буфере все используемые катионы металлов вызвали ее угнетение на 20–45%. Следовательно, все субъединицы фактора роста нервов способны гидролизовать ДНК и РНК. Различия действия эффекторов на эндонуклеазную активность субъединиц свидетельствуют о том, что эта активность, по-видимому, обусловлена разными каталитическими свойствами субъединиц фактора роста нервов, а не загрязнениями тканевыми эндонуклеазами. Это дает основания предполагать наличие у исследуемых субъединиц нового функционального свойства.

Область применения: энзимология, биология клетки, экспериментальная нейробиология, нейрофармакология, нейротрансплантология.

Рекомендации по использованию: на основе оригинальных данных в перспективе возможна разработка приемов тестирования субъединиц фактора роста нервов, раскрытие молекулярных механизмов биологического действия этого фактора, а также обоснование подходов и дальнейшая разработка миметических средств фактора роста нервов для нейрофармакопии и нейротрансплантологии.

Предложения по сотрудничеству: совместные исследования биологического действия фактора роста нервов с различными научными коллективами по биохимии, фармакологии, физиологии клетки, со специалистами в области биоорганической химии, нейрофармакологии и клиницистами.

Endonuclease activity of nerve growth factor subunits

V.N. Nikandrov, N.S. Pyzhova, V.S. Lukashevich

The DNAase and RNAase activity of nerve growth factor α -, β - and γ -subunits was detected. Endonuclease activity was studied subject to the subunit concentration and the effects of Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ ions, EDTA, citrate, lysine, histidine, arginine and arsenite. All subunits were shown to have endonuclease activity in two buffer systems: tris-HCL and phosphate.

Field of application: enzymology, cellular biology, experimental neurobiology, neuropharmacology and neurotransplantation.

Proposals for co-operation: joint study of NGF biologic effect (biochemistry, pharmacology, cellular physiology); development of NGF-mimetics (biorganic chemistry, neuropharmacology, clinical medicine).