

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

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

Достижения медицинской науки Беларуси

Выпуск V

Рецензируемый научно-практический ежегодник

Accomplishments of Medical Science in Belarus

5th Issue

**Минск
БелЦНМИ
2000**

УДК 577.112:577.15

Новые функциональные свойства молекулы фактора роста нервов и ее субъединиц

*В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова, В.С. Лукашевич,
И.Б. Лукашевич, А.В. Агурков, А.Г. Давыдовский,
Г.А. Шпак*

Рубрика: 76.03.31

Тема НИР: «Роль взаимодействия звеньев протеолиза и белковых факторов роста в регуляции функциональных свойств нервной ткани» и «Раскрыть новые механизмы регуляции протеолиза на молекулярном и клеточном уровнях».

Сроки выполнения НИР: 1999–2001 гг.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. В.Н. Никандров.

Источник финансирования: госбюджет, Министерство здравоохранения РБ.

Исследование очищенных гомогенных (по данным электрофореза и изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле) образцов фактора роста нервов (NGF) из подчелюстной слюнной железы мышей и его субъединиц позволило впервые выявить плазминоген-активаторную способность β -субъединицы белка. Методом лизиса фибриновых пластин показано, что в проявлении этой способности NGF, β - и γ -субъединицами, в сравнении с традиционными активаторами плазминогена (стрептокиназой, урокиназой, тканевым активатором из сердца свиньи), имеется лаг-период продолжительностью более 3 часов. Удельная плазминоген-активаторная способность β -субъединицы составляет 42% от таковой способности γ -субъединицы. Эти две особенности объясняют отрицательные результаты попыток определения у β -субъединицы активности активатора плазминогена в работах других исследователей. Лишь NGF и γ -субъединица способны интенсивно гидролизовать N-бензоил-DL-аргинил- ρ -нитроанилид, активность β -субъединицы по этому субстрату не превышает 6% таковой γ -субъединицы. Плазминоген-активаторная способность NGF и его субъединиц нечувствительна к перехватчикам синглетного кислорода и OH-радикала. Подавление ее нитротетразолиевым синим (10^{-2} моль) на 47, 40 и 100% в случае NGF, γ - или β -субъединиц указывает на вероятное участие в их активаторной способности супероксидного радикала (O_2^-). Это расширяет сферу реализации активации плазминогена по кислородзависимому пути.

Плазминоген-активаторная способность β -субъединицы (но не NGF или γ -субъединицы) на 20–33% подавляется ρ -хлормеркурибензоатом, а также этилендиаминотетраацетатом, о-фенантролином и 8-оксихинолином в конечной концентрации 10^{-3} моль. Выявленные различия чувствительности отражают особенности структурной организации субъединиц и дополнительно подтверждают самостоятельность плазминоген-акти-

ваторных свойств β -субъединицы.

α -субъединица не влияет на фибринолитическую активность трипсина, α -химотрипсина, субтилизина, папаина, пепсина, а также на плазминоген-активаторную способность γ -субъединицы. Однако она может полностью (эффект имеет температурозависимый характер в узком диапазоне температур) подавлять такую β -субъединицы.

NGF, β - и γ -субъединицы не расщепляют гемоглобин или фибрин. Впервые найден белковый субстрат, интенсивно гидролизуемый NGF и обеими субъединицами. Активность β -субъединицы по его гидролизу составляет 26% от активности γ -субъединицы. На этом белковом субстрате не удалось достичь проявления протеолиза при обработке α -субъединицы стрептокиназой, ионами Fe^{2+} , H_2O_2 , системами генерирования O_2 -радикала — факторами, вызывающими активацию зимогенов ряда протеиназ. Эти факты пока не дают основания считать, что α -субъединица — зимоген протеиназы.

При pH 7,6 NGF, α -, β - или γ -субъединицы подавляют восстановление нитротетразолиевого синего в системах генерирования O_2 -радикала — NADH(или аскорбат)-феназинметосульфат соответственно на 39%, 58–62%; 27–29% и 41–52%.

Полученные материалы раскрывают новые свойства молекулы NGF, ее β -субъединицы, являющейся носителем нейроростовой активности.

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

Рекомендации по использованию: на основе полученных оригинальных данных в перспективе возможна разработка биохимических приемов тестирования и стандартизации препаратов NGF, раскрытие молекулярных механизмов биологического действия β -субъединицы, а также обоснование подходов и дальнейшая разработка NGF-миметических средств для целей нейрофармакологии и трансплантации нервной ткани.

Предложения по сотрудничеству: совместные исследования механизмов биологического действия NGF с научными коллективами биохимиков, фармакологов, физиологов клетки (в РБ, странах СНГ и с зарубежными центрами), а также в области разработки NGF-миметических средств с химиками-биоорганиками, нейрофармакологами и клиницистами.

New functional properties of nerve growth factor molecule and its subunits

*V.N. Nikandrov, N.S. Pyzhova, V.S. Lukashevich,
I.B. Lukashevich, A.V. Agurkov, A.G. Davydovsky,
G.A. Shpak*

The plasminogen-activating ability of β -subunit of nerve growth factor (NGF) is described. This ability of NGF, its γ - and β -subunits is inhibited by superoxide radical scavenger — nitrotetrazolium blue. The differences in the sensitivity of NGF, γ - and β -subunit are demonstrated. The plasminogen-activating ability of β -subunit is inhibited by p -chloromercuribenzoate and chelate agents. α -subunit inhibits the plasminogen-activating ability of β -subunit (but not γ -),

and it does not show any proteolytic activity after the treatment with streptokinase, H_2O_2 , Fe^{2+} or with systems generating the superoxide radical. NGF and its subunits demonstrate O_2 -converging activity. The data obtained reveal new properties of NGF molecule.