

УДК 577.325.3

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ГЛИЦЕРОФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПРИСУТСТВИИ ОКСАЛОАЦЕТАТА РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ

© Ремизов В.В.<sup>1</sup>, Ремизов Н.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Российская Федерация

<sup>2</sup> Самарский национальный исследовательский университет  
имени академика С.П. Королева, г. Самара, Российская Федерация

e-mail: vasiaremizov@gmail.com

Целью проведенного исследования является изучение влияния различных концентраций оксалоацетата на конформационную структуру глицерофосфатдегидрогеназы (ГФД) в температурном градиенте.

На приборе Prometheus NT.48 (NanoTemper Technologies, Германия) изучалась конформационная и термическая стабильность белков методом дифференциальной сканирующей флуориметрии (ДСФ). Принцип ДСФ основан на изменении эндогенной флуоресценции триптофана и тирозина при длинах волн 330 и 350 нм.

Было подготовлено шесть разведений, в которых конечная концентрация ГФД составляла 1 мкМ, а конечная концентрация раствора оксалоацетата была различной – 0,5 мкМ, 1 мкМ, 2 мкМ, 4 мкМ, 8 мкМ, 16 мкМ. Полученный раствор (10 мкл) вносили в капилляры прибора. ДСФ проводили при интенсивности лазера 30 %, диапазон нагрева составлял от 20 °С до 95 °С, шаг температуры – 1 °С /мин.

Были построены регрессионные модели. Скаттерограмма исходных данных приведена на рисунке. Независимой переменной была температура, зависимой – соотношение флуоресценций. Для температур 20–40 °С были построены линейные математические модели.

Теоретический интерес представляют такие параметры, как скорости плавления; температуры, при которых начинается нисходящий участок кривой; температуры, при которых скорости плавления максимальны. Именно эти показатели характеризуют конформационную стабильность белка при его нагревании. Для нахождения этих параметров был рассмотрен ряд нелинейных моделей: синусоида, сигмоида, уравнение Хилла [1; 2], кубическая парабола.

Было решено использовать уравнение кубической параболы. Это уравнение отличается от остальных вариантов своей простотой, наличием содержательной интерпретации коэффициентов, единым фильтром для всех концентраций (44–56 °С).

Для большинства моделей коэффициент детерминации составлял от 0,64 до 0,84, для контрольного образца коэффициент детерминации составил 0,16, а для образца с концентрацией оксалоацетата 16 мкМ – 0,33, что делает качество данных моделей неприемлемым. В целом с уменьшением концентрации оксалоацетата коэффициенты детерминации увеличивались.

Построенные математические модели позволили выяснить, что точки перегиба при разных концентрациях интермедиата не различаются, однако в некоторых разведениях существенно различаются скорости плавления. Для образца с концентрацией оксалоацетата 0,5 мкМ максимальная скорость плавления ГФД в точке перегиба составляет минус 3,14±0,11, для образца с концентрацией 1 мкМ – минус 3,35±0,14, для образца с концентрацией 2 мкМ – минус 2,72±0,12, для образца с концентрацией 4 мкМ – минус 2,66±0,12, для образца с концентрацией 8 мкМ – минус 2,58±0,13.

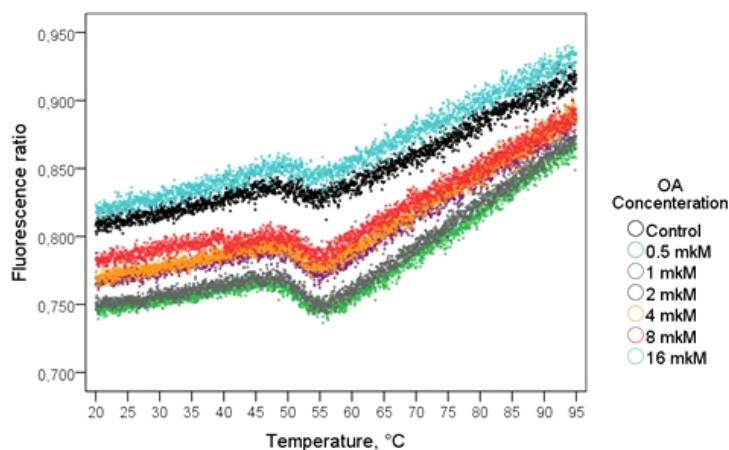


Рис. Кривые плавления глицерофосфатдегидрогеназы (1 мкМ) в комплексе с оксалоацетатом в различной концентрации

Установлено, что концентрации оксалоацетата 0,5–1 мкМ способствуют повышению термодинамической стабильности ГФД, а концентрация оксалоацетата 16 мкМ вызывает снижение ее термостабильности.

Данное исследование может помочь понять молекулярную основу нормы и патологических состояний, что, в свою очередь, перспективно для разработки новых стратегий потенциальных терапевтических мишеней.

### Библиографический список

1. Гильмиярова Ф.Н. [и др.]. Конформационные особенности лактатдегидрогеназы: влияние температурного фактора в присутствии малых молекул, математическая модель // Бюллетень сибирской медицины. 2020. Т. 19, №. 3. С. 6–14.
2. Reeve R., Turner J.R. Pharmacodynamic Models: Parameterizing the Hill Equation, Michaelis-Menten, the Logistic Curve, and Relationships Among These Models // Journal of Biopharmaceutical Statistics. 2013. № 23. P. 648–661.