**Зерний, Евгений Юрьевич.**

## Фоторецепторный аннексин А4: обнаружение, локализация и функциональные характеристики : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10. - Москва, 2004. - 147 с. : ил.

## Оглавление диссертациикандидат химических наук Зерний, Евгений Юрьевич

ВВЕДЕНИЕ.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

АННЕКСИНЫ - СЕМЕЙСТВО Са27ФОСФОЛИПИДСВЯЗЫВАЮ-ЩИХ БЕЛКОВ».

1. Са2+-связывающие белки в регуляции зрительной трансдукции.

1.1. Общая схема зрительной трансдукции.

1.2. Регуляция зрительной трансдукции.

2. Структура и общие свойства аннексинов.

2.1. Номенклатура.

2.2. Тканевая и внутриклеточная локализация.

2.3. Гены и первичная структура.

2.4. Вторичная и третичная структуры.

2.5. Димеризация и четвертичная структура.

2.6. Связывание с мембранами и агрегация клеточных мембран.

2.7. Взаимодействие с лигандами нелипидной природы.

3. Функциональная активность аннексинов.

3.1. Участие в транспорте и организации клеточных мембран.

3.2. Регуляция проводимости и образование ионных каналов.

3.3. Участие в клеточной пролиферации и дифференцировке.

3.4. Аннексины в крови и межклеточном пространстве.

4. Аннексинопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

1. Реактивы.

2. Выделение НСП из сетчаток быка и получение экстракта НСП.

3. Очистка аннексина А4 (р32) из НСП и печени быка.

4. Получение отмытых мочевиной фоторецепторных мембран.

5. Получение поликлональных моноспецифических антител против ан-нексина А4 из печени быка.

6. Получение фракции белков НСП, способных Са -зависимым образом взаимодействовать с иммобилизованным аннексином А4.

7. Определение концентрации белков.

8. БОЗ-электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ).

9. Иммуноблотгинг.

10. Масспктрометрический анализ белковых препаратов.

11. Иммунофлуоресцентное окрашивание срезов сетчатки и печени.

12. Связывание аннексина А4 с отмытыми мочевиной фоторецепторны-ми мембранами.

13. Агрегация отмытых мочевиной фоторецепторных мембран в присутствии аннексина А4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

1. Выделение и очистка фоторецепторного белка р32 и его идентификация как аннексина А4.

1.1. Получение и характеристика фракции фоторецепторных "Са -зависимых" белков.

1.2. Выделение и очистка фоторецепторного белка с кажущейся молекулярной массой 32 кДа (р32).

1.3. Доказательство способности гомогенного р32 взаимодействовать с фоторецепторными мембранами Са -зависимым образом.

1.4. Идентификация р32 как аннексина А4.

1.5. Изучение локализации аннексина А4 в сетчатке быка.

2. Изучение функциональных свойств фоторецепторного аннексина А

2.1. Взаимодействие аннексина А4 с фоторецепторными мембранами

2.1.1. Са -зависимое связывание аннексина А4 с фоторецепторными мембранами.

2.1.2. Ъгс -зависимое связывание аннексина А4 с фоторецепторными мембранами.

2.2. Аннексии А4-зависимая агрегация фоторецепторных мембран.

2.2.1. Аннексии А4-зависимая агрегация фоторецепторных мембран в присутствии ионов кальция.

2.2.2. Аннексии А4-зависимая агрегация фоторецепторных мембран в присутствии ионов цинка.

3. Поиск потенциальной белковой мишени (мишеней) для аннексина А4 в фоторецепторной клетке.

3.1. Выявление растворимых белков НСП, связывающихся с иммобилизованным аннексином А4 Са -зависимым образом.

3.2. Идентификация потенциальных белковых мишеней аннексина А

ВЫВОДЫ.