

УДК 576.08:576.38

## РОЛЬ КОМПЛЕКСА ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И $\beta$ -АМИЛОИДА В АКТИВАЦИИ ШАПЕРОННОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТКИ

© 2025 г. Е. А. Дутьшева, А. В. Юракова, А. А. Сахаров, И. В. Гужова,  
Б. А. Маргулис, В. Ф. Лазарев\*

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия*

*\*E-mail: lazarev@incras.ru*

Поступила в редакцию 13.05.2025

После доработки 15.06.2025

Принята к публикации 16.06.2025

**Обоснование и цель.** Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, связаны с накоплением патологических белковых агрегатов, в частности  $\beta$ -амилоида ( $A\beta$ 1-42), чья токсичность может усиливаться при взаимодействии с другими белками, например глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой (ГАФД). Цель работы заключалась в изучении цитотоксического действия коагрегатов ГАФД и  $A\beta$ 1-42 на нейрональные клетки человека и оценке их влияния на активацию шаперонной системы — одного из ключевых механизмов клеточной защиты. **Методы.** В работе использовали модель нейрональных клеток (MSC-Neu), полученных путём перепрограммирования мезенхимных стромальных клеток пульпы зуба человека, которые экспрессировали маркеры зрелых нейронов. **Результаты.** Полученные данные демонстрируют, что коагрегаты ГАФД и  $A\beta$ 1-42 обладают выраженной нейротоксичностью, но при этом способны активировать защитные и компенсаторные механизмы, включая шаперонный аппарат. **Вывод.** Результаты подчеркивают необходимость разработки терапевтических стратегий, направленных на блокирование взаимодействия ГАФД– $A\beta$ 1-42 и поддержку клеточных защитных путей для предотвращения нейродегенерации.

**Ключевые слова:** болезнь Альцгеймера, белковые агрегаты, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа,  $\beta$ -амилоид, шапероны

**Принятые сокращения:** ГАФД — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; ИФА — иммуноферментный анализ; ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени;  $A\beta$ 1-42 —  $\beta$ -амилоидный пептид длиной 42 аминокислотных остатка.

DOI: 10.7868/S3034606125030026

Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, характеризуются прогрессирующей потерей нейронов, что связывают с накоплением патологических белковых агрегатов (Guo et al., 2020). Одним из ключевых компонентов таких агрегатов является  $\beta$ -амилоид ( $A\beta$ 1-42), пептид, формирующий токсичные олигомеры и фибриллы (Sun et al., 2015). Однако накопленные данные свидетельствуют о том, что нейротоксичность  $A\beta$ 1-42 может усиливаться при взаимодействии с другими белками, такими как глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД) — фермент, участвующий в гликолизе, но также способный образовывать стабильные комплексы с амилоидогенными пептидами (Itakura et al., 2015; Lazarev et al., 2021). Подобные комплексы могут локализовываться как внутри клеток, так и в межклеточном пространстве,

и даже в спинномозговой жидкости пациентов с болезнью Альцгеймера (Herskovits et al., 2013). Механизмы цитотоксичности таких коагрегатов, а также ответные защитные реакции нейронов остаются недостаточно изученными, что ограничивает разработку эффективных терапевтических стратегий.

Ранее нами была продемонстрирована способность коагрегатов ГАФД и  $A\beta$ 1-42 вызывать гибель клеток глиомы крысы (Lazarev et al., 2021). Однако влияние этих комплексов на нейрональные клетки человека, а также их роль в активации клеточных систем защиты, таких как шаперонный аппарат, требуют детального анализа. Известно, что при нейродегенеративных процессах защитные механизмы могут временно компенсировать стресс, но их длительная активация часто приводит к истощению ресурсов клетки (Moreno et al.,

2019). Таким образом, изучение влияния токсичных экзогенных белковых агрегатов на клеточные системы адаптации является критически важным для понимания ранних и поздних стадий нейродегенерации.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении цитотоксического эффекта коагрегатов ГАФД и Аβ1-42 (ГАФД–Аβ1-42) в отношении нейрональных клеток человека, а также анализ активации одного из наиболее важных ключевых защитных механизмов клетки — шаперонной системы (Hsp70, Hsp90). В рамках работы мы использовали модель болезни Альцгеймера, основанную на мезенхимных клетках человека, перепрограммированных в нейрональный фенотип (MSC-Neu), для оценки как повреждающего действия белковых агрегатов, так и их влияния на адаптационные пути, что критически важно для понимания ранних этапов нейродегенеративных процессов. Полученные данные призваны обосновать новые стратегии терапии, направленные на подавление образования патологических комплексов и поддержку клеточного гомеостаза.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

**Получение коагрегатов ГАФД–Аβ1-42.** В нашей работе использовали препарат ГАФД из мышцы кролика, очищенный по стандартной методике (Scores, Stoter, 1982). Аβ1-42 был синтезирован по нашему заказу («Верта», Россия).

Для получения коагрегатов ГАФД и Аβ1-42 вносили в фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий 5 мМ CaCl<sub>2</sub> в концентрациях, указанных далее. Образование агрегатов инициировали добавлением 0.005 мг/мл тканевой трансглутаминазы (Sigma–Aldrich, США), которая катализирует формирование ковалентных связей между ГАФД и Аβ1-42.

Раствор инкубировали в течение 48 ч при 37 °С, а затем для подтверждения формирования коагрегатов анализировали с помощью методики ультрафильтрации через ацетатцеллюлозную мембрану. Образцы коагрегатов смешивали с 2%-ным додецилсульфатом натрия (SDS) и подвергали ультрафильтрации с использованием установки для дот-блоттинга (BioRad, США). Полученную мембрану инкубировали с антителами либо против ГАФД, либо против Аβ1-42 (все — от «Репертуар», Россия), а затем со вторичными антителами,

конъюгированными с пероксидазой («Репертуар», Россия). Визуализацию накопления белковых агрегатов на мембране проводили с использованием протокола хемилюминесценции. Относительную интенсивность свечения белковых зон определяли с помощью программного обеспечения TotalLab Quant.

**Клетки.** Для получения нейрональных клеток мы использовали мезенхимные стволовые клетки из пульпы зуба человека MSC-DP, перепрограммированные в нейрональный фенотип согласно описанной ранее методике (Dutyshева et al., 2025). Клетки MSC-DP получены из Коллекции культур клеток позвоночных (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия). Перепрограммирование MSC-DP в нейрональный фенотип (MSC-Neu) осуществляли с помощью культивирования в течение 5 сут в среде Neurobasal (BioinnLabs, Россия), содержащей компонент Neuromax (PanEco, Россия), 3 % сыворотки плода крупного рогатого скота, 100 ед./мл пенициллина и 0.1 мг/мл стрептомицина (PanEco, Россия). Нейрональный фенотип верифицировали, анализируя экспрессию панели маркеров зрелых нейронов, включая β3-тубулин, NeuN, MAP2, синаптофизин (Syn), PSD95, и Neuro D1 с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

Для определения количества мертвых и живых клеток мы использовали набор CytoTox96 (Promega, Великобритания) и реагент 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) (Sigma Aldrich, США) соответственно. Клетки помещали в 96-луночные планшеты и после культивирования в течение ночи добавляли полученные агрегаты ГАФД–Аβ1-42 в указанной концентрации. Спустя 24 ч измеряли цитотоксичность и значение жизнеспособности. Определение оптической плотности проводили с помощью оборудования Varioscan Lux (Thermo Fisher Scientific, США).

**ПЦР в реальном времени.** Для анализа уровня экспрессии генов *hsp70* и *hsp90* в клетках MSC-Neu с помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) их гомогенизировали и растворяли в реактиве ExtractRNA («Евроген», Россия). Выделение матричной РНК осуществляли по описанному ранее протоколу (Mikeladze et al., 2021). Далее для получения комплементарной ДНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора MMLV RT («Евроген», Россия) согласно протоколу

производителя. Для анализа использовали 2 мкг РНК на пробу.

Все реакции ПЦР-РВ проводили на системе детекции CFX96 (BioRad, США) с использованием qPCRMix-HS SYBR («Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Для подтверждения корректности ампликонов использовали анализ кривой плавления. Данные анализировали на кратность изменения количества матричной РНК с использованием программного обеспечения Bio-Rad CFX (версия 3.1). Нуклеотидные последовательности праймеров были следующими:

- $\beta$ -actin: (прямой) 5'-ACCGTGAAAA-GATGACCCAGAT-3' и (обратный) 5'-GTACGACCAGAGGCATACAGG-3';
- *hsp70*: (прямой) 5'-CAAGAATGCGCTC-GAGTCCТА-3' и (обратный) 5'-GGAGAT-GACCTCCTGGCACTT-3';
- *hsp90*: (прямой) 5'-ACTCTTTACTGAACTG-GCGGAA-3' и (обратный) 5'-AGAGTCTTC-GTGTATTCCAAGCT-3'.

Актин использовали в качестве контроля для нормализации. Все праймеры были заказаны в компании «Евроген» (Россия). Параметры ПЦР-РВ: 5 мин предварительной денатурации при 95 °С; затем 40 циклов: 30 с при 95 °С, 30 с при 65 °С и 30 с при 70 °С.

**Определение субстратсвязывающей (шаперонной) активности.** Для изучения влияния агрегатов ГАФД- $A\beta$ 1-42 на шаперонную активность мы культивировали клетки MSC-Neu в течение 1 сут в присутствии предварительно сформированных агрегатов. Далее активность шаперона Hsp70 определяли в лизатах клеток с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) по методу Ваврзинова (Wawrzynów, Zylicz, 1995) с модификациями. Для это субстратный белок-мишень — карбоксиметилированный лактальбумин — иммобилизовывали в лунках 96-луночного планшета в концентрации 10 мкг/мл в фосфатно-солевом растворе. Затем добавляли клеточные лизаты в концентрации 50 мкг/мл. Далее в лунки вносили раствор моноспецифичных мышинных антител против Hsp70 (клон 2E4) с последующей гибридизацией со вторичными анти-мышинными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена («Репертуар», Россия). Проявление пероксидазной активности проводили согласно стандартному протоколу.

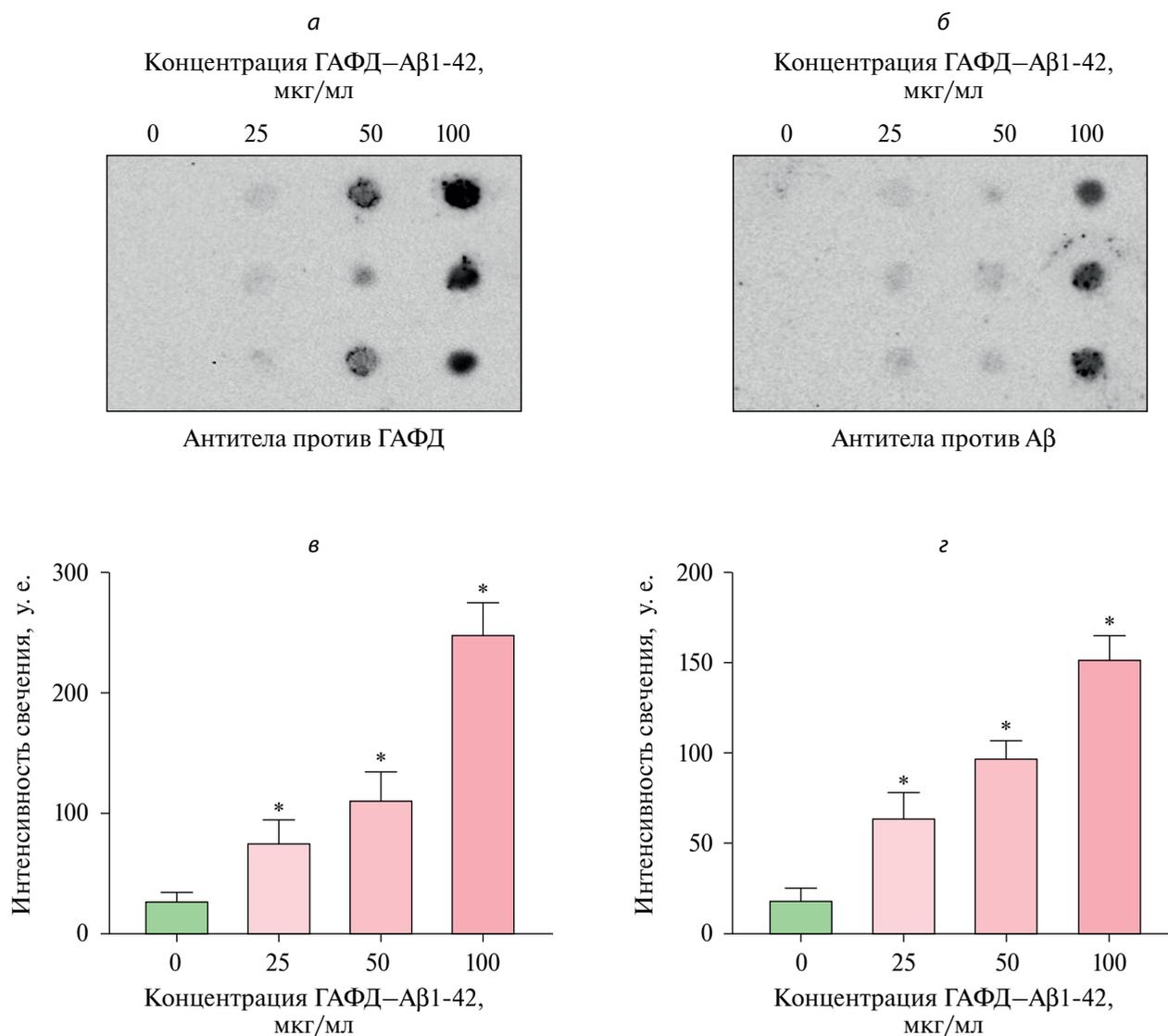
**Статистическая обработка результатов.** Рассчитывали среднее значение и его стандартное отклонение. Данные анализировали с использованием непараметрического теста Манна–Уитни с помощью программного обеспечения GraphPadPrism 8. Каждый эксперимент проводили минимум три раза. Величины  $P < 0.05$  считали статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для формирования коагрегатов ГАФД- $A\beta$ 1-42 мы использовали методику, апробированную нами ранее. Эта методика основана на искусственной сборке комплексов в процессе инкубации рекомбинантной ГАДФ и синтезированного пептида  $A\beta$ 1-42 в присутствии фермента тканевой трансглутаминазы (1 мкг/мл), которая, как мы ранее установили (Lazarev et al., 2021), обеспечивает ковалентную сшивку остатков лизинов на молекуле ГАФД и остатков глутаминна на молекуле  $\beta$ -амилоида. Процесс формирования коагрегатов мы контролировали с помощью методики ультрафильтрации через ацетатцеллюлозную мембрану с последующей гибридизацией с антителами либо против ГАФД (рис. 1а, в), либо против  $A\beta$ 1-42 (рис. 1б, г).

Цитотоксическое действие комплекса ГАФД- $\beta$ 1-42 было нами продемонстрировано ранее на клетках глиомы крысы. В рамках настоящего исследования мы оценили влияние искусственно сформированного комплекса на культуру мезенхимных клеток человека, перепрограммированных в нейрональный фенотип (MSC-Neu) (рис. 2).

С помощью теста МТТ на активность дегидрогеназ по Мосману (Mosmann, 1983) мы установили, что при длительном культивировании нейрональных клеток в присутствии белкового комплекса снижается количество живых клеток. Так, спустя 48 ч в живых оставалось только 35–40 % нейрональных клеток в зависимости от концентрации белков — компонентов агрегатов (рис. 2а). Аналогичную картину мы наблюдали и при анализе на активность лактатдегидрогеназы в культуральной среде с помощью набора CytoTox96: спустя 48 ч культивирования нейронов в присутствии коагрегатов ГАФД- $A\beta$ 1-42, количество погибших клеток составляло от 56 до 69 % в зависимости от концентрации белков (рис. 2б). Таким образом, можно утверждать, что коагрегаты ГАФД и  $A\beta$ 1-42

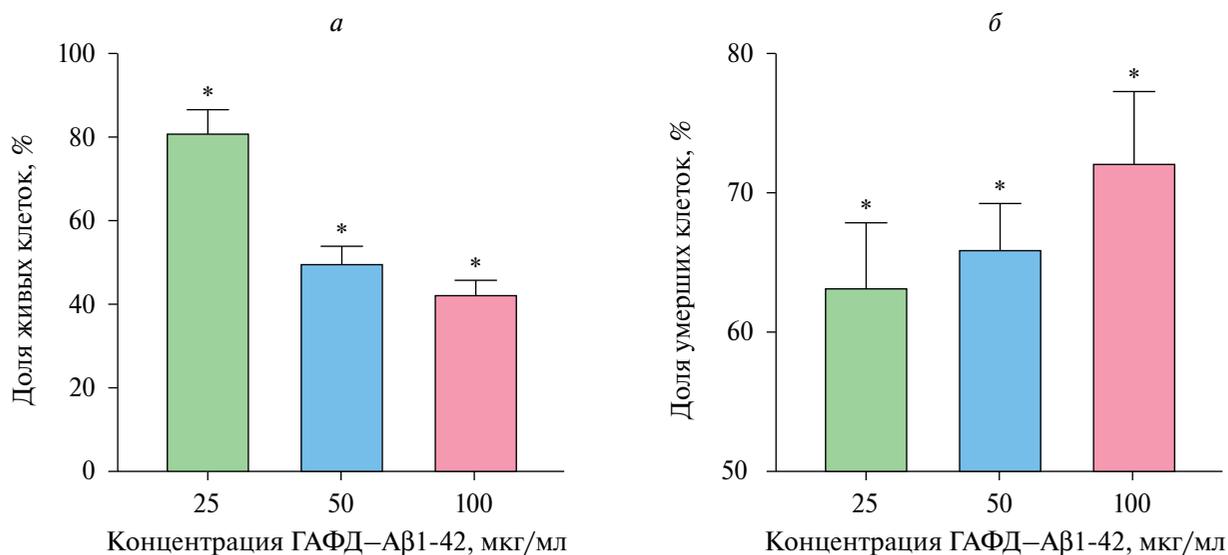


**Рис. 1.** Формирование коагрегатов ГАФД и Аβ1-42 *in vitro*. Результат анализа коагрегатов ГАФД–β1-42, сформированных *in vitro*, с помощью методики ультрафильтрации с последующей гибридизацией со специфическими антителами против ГАФД (а) или Аβ1-42 (б). Результат оцифровки интенсивности зон агрегатов, гибридизованных с антителами против ГАФД (в) или против Аβ1-42 (г). Здесь и на всех рис. на диаграммах показаны средние значения и их стандартные отклонения: различия с контролем достоверны (\*) при  $P < 0.05$  (критерий Манна–Уитни,  $n = 4$ ).

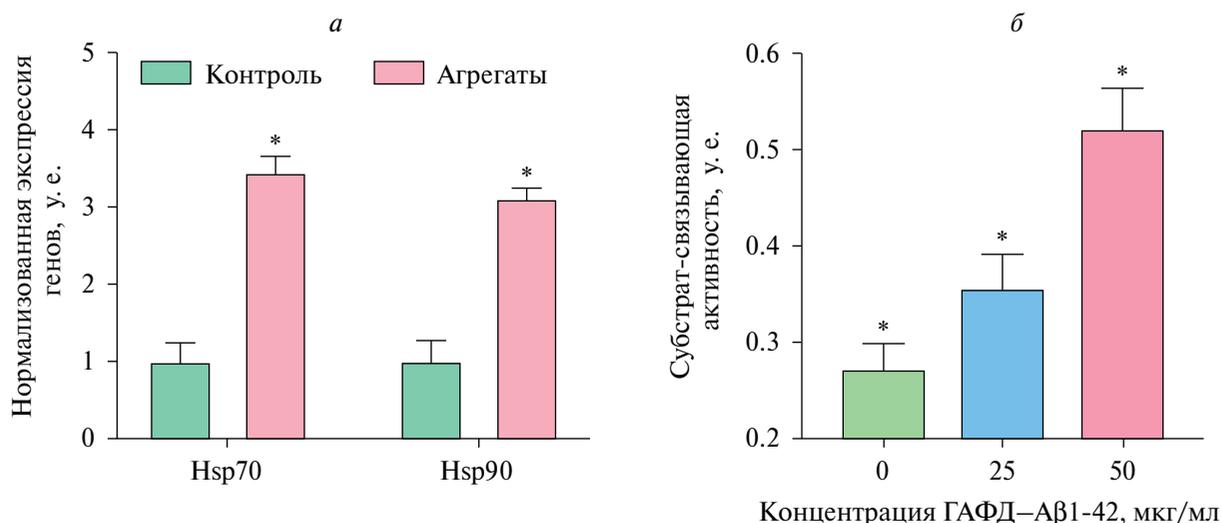
оказывают выраженное токсическое действие и на культуру нейрональных клеток человека.

Следующим этапом работы стало изучение защитной реакции нейрональных клеток на присутствие коагрегатов ГАФД–Аβ1-42. Для этого мы оценили уровень экспрессии генов белков-шаперонов, как одного из ключевых защитных элементов клеток. Мы установили, что уровень экспрессии генов *hsp70* и *hsp90* был повышен более чем в три раза в нейрональных клетках спустя 48 ч культивирования в присутствии комплексов ГАФД–Аβ1-42 (рис. 3а).

Далее мы оценили активность синтезированных *de novo* шаперонов. Для этого использовали тест на основе ИФА по методике Ваврзинова с модификациями Новоселова (Wawrzynów and Zylicz, 1995; Novoselov et al., 2005). С помощью этого теста мы установили, что связывающая субстрат активность обоих исследуемых шаперонов была повышена. Активность Hsp70 стала больше в 1.9 раза, а активность Hsp90 — в 1.78 раза (рис. 3б). Таким образом, мы установили, что активность шаперонной системы повышается в присутствии коагрегатов ГАФД–Аβ1-42.



**Рис. 2.** Анализ цитотоксического действия коагрегатов ГАФД-Аβ1-42 на культуру нейрональных клеток человека MSC-Neu. *а* — Жизнеспособность клеток MSC-Neu, оцененная с помощью метода МТТ спустя 24 ч культивирования в присутствии коагрегатов ГАФД-Аβ1-42 в концентрациях, указанных на диаграмме. *б* — Результат анализа гибели клеток MSC-Neu с помощью набора CytoTox96 спустя 24 ч культивирования в присутствии коагрегатов ГАФД-Аβ1-42 в концентрациях, указанных на диаграмме.



**Рис. 3.** Анализ влияния коагрегатов ГАФД-Аβ1-42 на активность шаперонной системы клеток MSC-Neu. Уровень экспрессии генов *hsp70* и *hsp90* (*а*) и субстрат-связывающая активность шаперона Hsp70 (*б*) в нейрональных клетках MSC-Neu спустя 24 ч культивирования в присутствии коагрегатов ГАФД-Аβ1-42 в концентрации 50 мкг/мл.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные в этой работе данные демонстрируют, что коагрегаты ГАФД и Аβ1-42 обладают выраженной нейротоксичностью в отношении нейрональных клеток человека, одновременно активируя защитные шаперонные системы. Эти результаты согласуются с ранее описанными механизмами токсичности амилоидных агрегатов,

усиливающихся при взаимодействии с другими белками, такими как ГАФД (Itakura et al., 2015; Lazarev et al., 2021). Известно, что Аβ1-42 способен образовывать стабильные комплексы с внутриклеточными ферментами, что нарушает их функции и способствует накоплению повреждений (Murakami, Ono, 2022). В частности, взаимодействие Аβ с ключевым ферментом гликолиза ГАФД может приводить не только к потере метаболиче-

ской активности, но и к формированию токсичных агрегатов, усугубляющих клеточный стресс (Schmalhausen et al., 2024). Наши результаты подтверждают эту гипотезу, показывая, что коагрегаты ГАФД–Аβ1-42 вызывают гибель нейрональных клеток даже при относительно низких концентрациях и за относительно непродолжительный период действия (рис. 2), что подчеркивает их патогенетическую роль при нейродегенеративных заболеваниях.

Важным аспектом исследования является выявление активации шаперонной системы (Hsp70, Hsp90) в ответ на воздействие коагрегатов. Повышение экспрессии генов шаперонов и их субстрат-связывающей активности (рис. 3) свидетельствует о попытке клетки компенсировать стресс, вызванный появлением экзогенных агрегатов. Это согласуется с работами, демонстрирующими, что Hsp70 и Hsp90 играют ключевую роль в подавлении агрегации патологических белков и поддержании протеостаза (Hartl et al., 2011; Lindberg et al., 2015). Однако как показано в других исследованиях, длительная активация шаперонов может привести к их функциональному истощению, что усугубляет нейродегенерацию на поздних стадиях заболевания (Moreno et al., 2019). Таким образом, выявленная двукратная активация шаперонной активности (рис. 3б) может отражать ранний компенсаторный ответ, который при хроническом стрессе может стать недостаточным.

Ограничением работы является использование перепрограммированных мезенхимных клеток (MSC-Neu), которые, несмотря на экспрессию нейрональных маркеров, могут не полностью воспроизводить функциональные особенности зрелых нейронов. Кроме того, концентрации коагрегатов, применяемые в нашем эксперименте, могли превышать физиологически релевантные уровни. Тем не менее предложенная модель позволяет изучать ранние этапы взаимодействия экзогенных агрегатов с клеточными системами, что важно для понимания механизмов нейродегенерации.

Представленная работа наглядно демонстрирует возможные пути разработки терапевтических стратегий, направленных на ингибирование образования коагрегатов ГАФД–Аβ1-42. Например, блокада участков взаимодействия между ГАФД и Аβ1-42 с помощью малых молекул или антител может снизить их нейротоксичность (Lazarev et al., 2021). Одновременно усиление шаперонной системы, например с помощью индукторов

Hsp70, могло бы повысить устойчивость нейронов к протеотоксическому стрессу (Brodsky, Chiosis, 2006). Для валидации этих подходов необходимы дальнейшие исследования на животных моделях болезни Альцгеймера.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Клетки MSC-DP получены из Коллекции культур клеток позвоночных (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия), поддержанной Министерством образования и науки Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-683).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-74-10117.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Brodsky J. L., Chiosis G. 2006. Hsp70 molecular chaperones: emerging roles in human disease and identification of small molecule modulators. *Curr. Top. Med. Chem.* V. 6. P. 1215.  
<https://doi.org/10.2174/156802606777811997>
- Dutyshcheva E. A., Kuznetcova L. S., Utepova I. A., Margulis B. A., Guzhova I. V., Lazarev V. F. 2025. Induction of chaperone synthesis in human neuronal cells blocks oxidative stress-induced aging. *Acta Naturae.* V. 17. P. 46.  
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.27531>
- Guo T., Zhang D., Zeng Y., Huang T. Y., Xu H., Zhao Y. 2020. Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegenerat.* V. 15. Art. ID: 40 (2020).  
<https://doi.org/10.1186/S13024-020-00391-7>
- Hartl F. U., Bracher A., Hayer-Hartl M. 2011. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature.* V. 475. P. 324–332.  
<https://doi.org/10.1038/nature10317>
- Herskovits A. Z., Locascio J. J., Peskind E. R., Li G., Hyman B. T. 2013. A Luminex assay detects amyloid β-oligomers in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. *PLoS One.* Art. ID: e67898.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067898>
- Itakura M., Nakajima H., Kubo T., Semi Y., Kume S., Higashida S. et al. 2015. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase aggregates accelerate amyloid-β

- amyloidogenesis in Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* V. 290. P. 26072—26087.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M115.669291>
- Lazarev V. F., Tsolaki M., Mikhaylova E. R., Benken K. A., Shevtsov M. A., Nikotina A. Lechpammer M. D., Mitkevich V. A., Makarov A. A., Moskalev A. A., Kozin S. A., Margulis B. A., Guzhova I. V., Nudler E. 2021. Extracellular GAPDH promotes Alzheimer disease progression by enhancing amyloid- $\beta$  aggregation and cytotoxicity. *Aging Dis.* V. 12. P. 1223—1237.  
<https://doi.org/10.14336/AD.2020.1230>
- Lindberg I., Shorter J., Wiseman R. L., Chiti F., Dickey C. A., McLean P. J. 2015. Chaperones in neurodegeneration. *J. Neurosci.* V. 35. P. 13853—13859.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2600-15.2015>
- Mikeladze M. A., Dutysheva E. A., Kartsev V. G., Margulis B. A., Guzhova I. V., Lazarev V. F. 2021. Disruption of the complex between GAPDH and Hsp70 sensitizes C6 glioblastoma cells to hypoxic stress. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. Art. ID: 1520.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22041520>
- Moreno D. F., Jenkins K., Morlot S., Charvin G., Csikasz-Nagy A., Aldea M. 2019. Proteostasis collapse, a hallmark of aging, hinders the chaperone-start network and arrests cells in G1. *Elife.* V. 8. Art. ID: e48240.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.48240>
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* V. 65. P. 55. PMID: 6606682.
- Murakami K., Ono K. 2022. Interactions of amyloid co-aggregates with biomolecules and its relevance to neurodegeneration. *FASEB J.* V. 36. Art. ID: e22235.  
<https://doi.org/10.1096/fj.202200235R>
- Novoselov S. S., Novoselova T. V., Verbova M. V., Margulis B. A., Guzhova I. V. 2005. The balance between Hsp70 and its cochaperones Hdj1 and Bag1 determines its substrate-binding activity. *Tsitologiya.* V. 47. N. 3. P. 220—229. PMID: 16706166
- Schmalhausen E. V., Medvedeva M. V., Muronetz V. I. 2024. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Arch. Biochem. Biophys.* V. 758. Art. ID: 110065.  
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2024.110065>
- Scopes R. K., Stoter A. 1982. Purification of all glycolytic enzymes from one muscle extract. *Methods Enzymol.* V. 90. Pt E. P. 479—490. PMID: 7154963
- Sun X., Chen W. D., Wang Y. D. 2015.  $\beta$ -Amyloid: the key peptide in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front. Pharmacol.* Art. ID: 221.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00221>
- Wawrzynów A., Zylicz M. 1995. Divergent effects of ATP on the binding of the DnaK and DnaJ chaperones to each other, or to their various native and denatured protein substrates. *J. Biol. Chem.* V. 270. P. 19300—19306.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.270.33.19300>

## THE ROLE OF THE GLYCERALDEHYDE-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE AND $\beta$ -AMYLOID COMPLEX IN THE ACTIVATION OF THE CELLULAR CHAPERONE SYSTEM

E. A. Dutysheva, A. V. Yurakova, A. A. Sakharov, I. V. Guzhova, B. A. Margulis, V. F. Lazarev\*

*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064, Russia*

\*e-mail: lazarev@incras.ru

**Objective:** Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease are associated with the accumulation of abnormal protein aggregates, particularly  $\beta$ -amyloid ( $A\beta_{1-42}$ ). Their toxicity can be enhanced by interactions with other proteins, such as glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). The present paper studies the cytotoxic effect of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and  $\beta$ -amyloid ( $A\beta_{1-42}$ ) co-aggregates on a culture of human mesenchymal cells reprogrammed into a neuronal phenotype. **Methods:** We used a model of neuronal cells (MSC-Neu) obtained by reprogramming human dental mesenchymal stromal cells that expressed markers of mature neurons. Co-aggregates were formed by incubating recombinant GAPDH and synthetic  $A\beta_{1-42}$  in the presence of tissue transglutaminase, which provides covalent cross-linking of proteins. **Results:** The data obtained demonstrate that GAPDH— $A\beta_{1-42}$  co-aggregates have pronounced neurotoxicity, but are able to activate protective and compensatory mechanisms, including the chaperone apparatus. **Conclusion:** The results emphasize the need to develop therapeutic strategies aimed at blocking the GAPDH— $A\beta_{1-42}$  interaction and supporting cellular protective pathways to prevent neurodegeneration.

**Keywords:** Alzheimer's disease, protein aggregates, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,  $\beta$ -amyloid, chaperones