

Изучение роли процессов убиквитилирования белков в регуляции аутофагии в нервных клетках

Научный руководитель – Мухина Ирина Васильевна

Шурганова Е.В.¹, Максимова Н.С.², Пчелин П.В.³

1 - Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: liza2309shur@yandex.ru*; 2 - Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: Naterruna@yandex.ru*; 3 - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: ptch.pv@gmail.com*

В настоящее время актуальным остается поиск механизмов возникновения и развития нейродегенеративных заболеваний и методов их лечения. Известно, что данные заболевания во многом связаны с нарушением механизмов регуляции внутриклеточных процессов. Многие заболевания нервной системы обусловлены нарушением процессов митофагии. В частности, развитие болезни Паркинсона связывают с дисфункцией митохондрий, окислительным стрессом, изменениями процесса аутофагии и образованием агрегатов белков.[1] Нарушение работы митохондрий может приводить к гибели клеток. Селективное разрушение митохондрий путём аутофагии (митофагии) предотвращает накопление дефектных митохондрий и обеспечивает поддержание жизнедеятельности клетки. Особое значение процесс митофагии имеет в гомеостазе нервных клеток. Убиквитин-протеасомальная система является одним из ключевых механизмов, обеспечивающих посттрансляционную модификацию белков, участвующих в регуляции разнообразных клеточных процессов.

Целью данного исследования явилось изучение роли процессов убиквитилирования белков в регуляции митофагии в нервных клетках.

Для оценки роли процессов убиквитилирования белков в митофагии гомогенат головного мозга мышей линии C57BL/6 инкубировали с ингибитором 26S протеасомы MG132. Путем дифференциального центрифугирования производилось разделение митохондриальной и цитоплазматической фракции. Анализ белков осуществляли методом вестерн-блоттинга с использованием антител к LC3B (маркер аутофагии) и цепям убиквитина, ассоциированным по лизину-63 (K-63 цепи). Для оценки работы дыхательной цепи митохондрий использовали метод высокоразрешающей респирометрии.

В результате исследования было выявлено, что в нервных клетках головного мозга присутствуют две протеоформы LC3B: LC3B-I и LC3B-II. Уровень экспрессии LC3B-I выше в митохондриальной фракции в сравнении с цитоплазмой. Ингибитор протеасомы MG132 приводит к увеличению уровня экспрессии LC3B в митохондриях, что указывает на процесс инициации процесса аутофагии. При этом отмечено изменение скорости дыхания митохондрий. Кроме того, действие ингибитора MG132 на митохондрии сопровождается накоплением цепей K-63 убиквитина средней молекулярной массы. Следует отметить, что K-63 цепи убиквитина могут быть сигналом как для деградации белков с помощью убиквитин-протеасомальной системы, так и для запуска различных молекулярных путей, в том числе аутофагии.

Таким образом, наблюдается взаимосвязь между процессами убиквитилирования белков, ингибированием 26S протеасомы и инициацией процесса аутофагии. Полученные результаты способствуют пониманию молекулярных путей регуляции митофагии и ее роли в функционировании нервных клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00690 и РНФ проект № 17-75-10202.

Источники и литература

- 1) Arduíno, D. M., Esteves, A. R., Cardoso, S. M. Mitochondrial fusion/fission, transport and autophagy in Parkinson's disease: when mitochondria get nasty // Parkinson's disease, 2011. p. 1-13.