

**Измерение пероксидазной активности цитохрома *c* по восстановлению
нитроксильного радикала ТЕМПО**

Научный руководитель – Степанов Герман Олегович

Кузнецова Антонина Львовна

Студент (специалист)

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.

Пирогова, Москва, Россия

E-mail: ton_kuz@mail.ru

Хорошо известно, что в основе физиологической роли цитохрома *c*, как посредника в процессах программируемой клеточной гибели, лежит изменение его конформации в результате взаимодействия с анионными фосфолипидами [1]. Это взаимодействие приводит к появлению у цитохрома высокой пероксидазной активности, которая проявляется после структурных перестроек его активного центра и является неотъемлемой частью развития апоптотического процесса [2].

В наших экспериментах была выбрана модельная система, состоящая из липосом, содержащих тетраолеил кардиолипин, и позволяющая измерять выход нитроксильного радикала ТЕМПО из липосом через поры, которые образуются за счет пероксидазной реакции. Мы обнаружили, что добавление пероксида водорода, запускающего пероксидазную реакцию, приводит к выходу нитроксильного радикала из липосом и его последующему восстановлению аскорбатом, присутствующим в среде. Оказалось, что скорость восстановления ТЕМПО была пропорциональна как концентрации пероксида водорода, так и количеству цитохрома *c*. Все измерения проведены при помощи электронного парамагнитного резонанса, благодаря которому замерялась кинетика изменения амплитуды сигнала ТЕМПО в течение 10 минут после добавления пероксида водорода.

Анализ полученных данных позволил сделать вывод, что взаимодействие цитохрома *c* с DOPC/TOCL содержащими липосомами, приводит к резкому увеличению проницаемости последних. Данная модель может быть использована для экспресс оценки влияния комплексов цитохрома *c* с фосфолипидами на развитие механизмов апоптоза после действия активаторов и супрессоров пероксидазной активности цитохрома, играющих решающую роль в лечении патологий.

Источники и литература

- 1) Valerian E Kagan, Vladimir A Tyurin, Jianfei Jiang, Yulia Y Tyurina, Vladimir B Ritov, Andrew A Amoscato, Anatoly N Osipov, Natalia A Belikova, Alexandr A Kapralov, Vidisha Kini, Irina I Vlasova, Qing Zhao, Meimei Zou, Peter Di, Dimitry A Svistunenko, Igor V Kurnikov & Gregory G Borisenko. Cytochrome *c* acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors // Nat Chem Biol 2005 Sep 14;1(4):223-32
- 2) Alexander M.Firsov, Elena A.Kotova, Evgeniya A.Korepanova, Anatoly N.Osipov, Yuri N.Antonenko. Peroxidative permeabilization of liposomes induced by cytochrome *c*/cardiolipin complex // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes Volume 1848, Issue 3, March 2015, Pages 767-774