

Сравнение паттернов сукцинирования белков и их изменений при ингибировании продукции сукцинил-КоА в здоровой ткани мозга крысы и клетках глиобластомы

Научный руководитель – Буник Виктория Ивановна

Завилейский Л.Г.¹, Карлина И.С.², Буник В.И.³, Артюхов А.В.⁴, Алешин В.А.⁵, Уласов И.В.⁶, Граф А.В.⁷

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: zavileyskiylev@mail.ru*; 2 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: aniram0107@mail.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия, *E-mail: bunik@belozersky.msu.ru*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: whitelord32br@gmail.com*; 5 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: Aleshin_Vasily@mail.ru*; 6 - Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина, Москва, Россия, *E-mail: ulasov.iv@1msmu.ru*; 7 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва, Россия, *E-mail: nastjushka@gmail.com*

Сукцинирование - пост-трансляционная модификация (ПТМ) белков, имеющая регуляторное значение [1]. Кроме непосредственного влияния на активности метаболических ферментов, данная модификация является одним из видов эпигенетической регуляции, контролирующей, в частности, злокачественное перерождение, инвазивность и опухолевый рост [2-4]. Целью данной работы являлся сравнительный анализ сукцинирования белков здоровой ткани мозга крыс и клеток опухолей мозга человека, а также роли в сукцинировании 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса (ОГДК), который продуцирует необходимый для ПТМ сукцинил-КоА. Для решения поставленных задач использовали гомогенаты коры мозга крыс и лизаты клеточных линий глиобластом U87 и T98G; антитела против сукцинированных белков; специфическое ингибирование ОГДК сукцинилфосфонатом (СФ) или его мембранопроницаемым триэтилэфиром (ТЭСФ)[5]. Ингибиторы ОГДК в дозе 0,02 ммоль на кг или физиологический раствор вводили, соответственно, экспериментальным или контрольным животным интраназально, кору мозга извлекали через 24 часа после введения. Клетки инкубировали с 0,5 mM СФ в течение 24 часов. Вестерн-блоттинг лизатов раковых клеток и гомогенатов коры мозга выявил до 6 основных полос различных молекулярных масс (от 90 до 18 кДа), взаимодействующих с антителами против сукцинил-лизиновых остатков белков. В коре мозга и в клетках T98G действие СФ снижало сукцинирование белков с молекулярными массами 18-30 кДа. В клетках U87 СФ увеличивал сукцинирование белковой полосы с массой 18 кДа. Таким образом, при ингибировании ОГДК наблюдали определенное сходство изменений сукцинирования белков коры мозга и клеток T98G, но не U87. Исследованные препараты мозга и клеток отличались по распределению сукцинированных белков по молекулярным массам. Основной вклад в разницу паттернов сукцинирования в клетках U87 и T98G вносят белки с молекулярными массами 60, 50 и 25 кДа. На уровне тенденции ($p=0,1$) клетки T98G обладали меньшим уровнем активности ОГДК, более высоким общим сукцинированием белков и большей реактивностью данной ПТМ к действию СФ, чем клетки U87. При исследовании мозга крыс снижение сукцинирования было

более выражено при действии ТЭСФ, чем СФ. В соответствии с предыдущими исследованиями об обратимом действии фосфоновых аналогов 2-оксоглутарата, при измерениях активности ОГДК *in vitro* мы не наблюдали статистически значимого падения общего уровня активности ОГДК под действием СФ или ТЭСФ ни в лизатах раковых клеток, ни в гомогенатах мозга крыс. Наоборот, в случае ТЭСФ была заметна тенденция к компенсаторному росту активности ($p = 0,07$). Корреляционный анализ выявил достоверную положительную корреляцию ($r = 0,67$, $p = 0,005$) общего уровня активности ОГДК в мозге крыс и интенсивности сукцинирования белков с массой около 50 кДа, близкой к массе E2o субъединицы ОГДК, для которой известно сукцинирование. Таким образом, в ткани мозга крыс и клетках глиобластомы обнаружены специфические особенности паттернов сукцинирования и их реактивности к ингибированию ОГДК. Действие СФ и ТЭСФ значительно меняет сукцинирование белков, электрофоретическая подвижность которых соответствует таковой гистонов, подвергающихся разнообразным ПТМ для регуляции клеточных функций [6]. Авторы благодарят профессора Н.В.Лукашева и к.х.н. А.В.Казанцева за синтез и очистку СФ и ТЭСФ. Исследование поддержано грантом РФФИ 18-14-00116.

Источники и литература

- 1) Weinert et al., 2013. doi: 10.1016/j.celrep.2013.07.024
- 2) Bringman-Rodenbarger et al., 2018. doi: 10.1089/ars.2017.7264
- 3) Liu et al., 2020. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110607
- 4) Wang et al., 2019. doi: 10.1111/jcmm.13920
- 5) Bunik et al., 2005. doi: 10.1021/bi0503100
- 6) Forcob et al., 2014. doi: 10.1186/1756-8935-7-4