

Изучение роли гемоксигеназы НМОХ1 при индукции окислительного стресса различными молекулярными механизмами.

Научный руководитель – Кудряшова Ольга Михайловна

Баранникова Мария Владимировна

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: barannikova.mv@phystech.edu

Окислительный стресс (ОС) характеризуется запуском окислительных процессов при недостаточной активности антиоксидантных систем клетки. Оксигеназы - ферменты, катализирующие включение атома кислорода в субстрат окисления с восстановлением O₂ до H₂O. При неполном восстановлении O₂ образуются активные формы кислорода, запускающие перекисное окисление липидов. Ген НМОХ1 (Heme Oxygenase-1) кодирует фермент, катализирующий расщепление гема с образованием биливердина, СО, Fe²⁺, влияющих на окислительно-восстановительный баланс клетки. Известны антиоксидантная и регуляторная функции НМОХ1 в контексте ОС. В данной работе исследуется роль НМОХ1 при индукции ОС посредством перекисного воздействия, а также выключения различных антиоксидантных систем клетки.

В работе проводился биоинформатический анализ публичных данных РНК-секвенирования эндотелиальных клеток пупочной вены человека в различных временных точках после обработки перекисью и эксперимента по нокауту НМОХ1 (датасет GSE72991).

В ходе анализа дифференциальной экспрессии (ДЭ) генов (DESeq2) при индукции перекисного окисления клеточный ответ был разделен на ранний (<4ч), промежуточный (4-6ч) и поздний (>6ч), что согласуется с ранее описанными результатами [1]. Для ДЭ генов проводился анализ активности программ транскрипционных факторов (Decoupler). Транскрипционные факторы (TFs) PPARGC1A, ATF4, CREB1 были выявлены как наиболее активные для промежуточного ответа, а TFs SREBF1, SREBF2 показали уменьшение активности при позднем ответе. При воздействии H₂O₂ на клетки с нокаутом НМОХ1 анализ TFs показал снижение активности PPARGC1A и активируемых им PPARA, PPARG по сравнению с клетками, где НМОХ1 оставался активным. Эти данные могут свидетельствовать о сонаправленном действии НМОХ1 и PPARGC1A - регулятора генов энергетического метаболизма, активатора окисления жирных кислот (ЖК).

Для выявления роли НМОХ1 при индукции ОС посредством выключения антиоксидантных систем клетки был проведен анализ РНК-секвенирования и протеома клеточного ответа (24ч и 48ч) на линии Pfa1 при воздействии Erastin (блокирует транспорт цистина), BSO (останавливает синтез глутатиона), ML210, Tamoxifen (ингибирование/нокаут GPX4). В ходе анализа ДЭ генов РНК-секвенирования НМОХ1 был выявлен как наиболее высоко экспрессируемый в образцах, подвергшихся воздействию BSO и Erastin, по данным ДЭ протеома уровень белка Hmox1 также был повышен в этих образцах. Интересно, что анализ программ TFs показал повышение активности PPARGC1A при индукции ОС посредством Erastin и BSO, а анализ обогащения генов ssGSEA показал снижение уровня генов-мишеней SREBFs при активном НМОХ1.

Полученные результаты позволяют предположить о возможном запуске отдельных молекулярных механизмов окисления ЖК и регуляции мевалонатного пути в контексте ОС, регулируемых НМОХ1.

Источники и литература

- 1) Raghunandan, S., Ramachandran, S., Ke, E., Miao, Y., Lal, R., Chen, Z.B., Subramaniam, S., 2021. Heme Oxygenase-1 at the Nexus of Endothelial Cell Fate Decision Under Oxidative Stress. *Front. Cell Dev. Biol.* 9.