

Оценка количественных характеристик взаимодействия кардиолипина и фосфатидной кислоты с цитохромом С в реакциях апоптоза

Научный руководитель – Осипов Анатолий Николаевич

Стручкова Айталина Алексеевна

Студент (специалист)

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.

Пирогова, Москва, Россия

E-mail: aiiitoo@mail.ru

Изучение апоптотических механизмов клеточной гибели является ключевым звеном в исследовании патогенеза многих заболеваний [2]. Было показано, что цитохром С (Cyt C), может служить инициатором реакций апоптоза в результате связывания с анионными мембранными липидами, в частности, с кардиолипином (ТОСЛ) и фосфатидной кислотой (DOPA) [1].

В данной работе была проведена оценка стехиометрии и константы диссоциации химической реакции взаимодействия Cyt C с ТОСЛ и DOPA в составе липосомальных мембран, также рассмотрен механизм данной реакции при воздействии агентов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Измерение образования белок-липидных комплексов проводилось методом регистрации тушения флуоресцентной метки NBD-PC, конъюгированной с фосфатидилхолином (DOPC) в составе липосом. Липосомы содержали 20% ТОСЛ или 20% DOPA, 79.5% DOPC, 0.5% NBD-PC. Разрушение Cyt C при реакциях ПОЛ оценивалось методом спектрофотометрии. Было зарегистрировано падение пика поглощения Core, вызванное воздействием активных форм кислорода на Cyt C. Обработка кривых титрования флуоресценции была проведена с использованием модели Ленгмюра. Константы диссоциации K_d составили $8.32 \cdot 10^{-6}$ М ($R^2=0.984$); $4.98 \cdot 10^{-6}$ М ($R^2=0.986$) и $0.80 \cdot 10^{-6}$ М ($R^2=0.705$) для липосом, содержащих ТОСЛ, DOPA и полностью состоящих из DOPC. Полученная стехиометрия взаимодействия Cyt C - липидных комплексов равна: ТОСЛ/CytC=18.19; DOPA/CytC=7.42; DOPC/CytC= 0.68.

По полученным данным химического взаимодействия можно сказать, что Cyt C наиболее способен к образованию комплексов с ТОСЛ, связывание с DOPA сравнимо и высоко, а с DOPC - относительно незначимо. Данные выводы соотносятся с результатами предыдущих исследований на данную тему [3]. Полученные данные могут полезны в дальнейшем изучении свойств Cyt C и его роли в молекулярном механизме развития апоптоза, что является крайне важным для лучшего понимания обширного спектра патологических процессов.

Источники и литература

- 1) Владимиров Г.К. и др. Динамика формирования комплексов цитохрома с с анионными липидами и механизм реакций образования липидных радикалов, катализируемых этими комплексами // Биол. мембраны. 2020. Т. 37. No. 4. С. 287–298.
- 2) Huang C., Freter C. Lipid Metabolism, Apoptosis and Cancer Therapy // IJMS. 2015. Vol. 16. No. 1. P. 924–949.
- 3) Vladimirov Yu.A. et al. Cardiolipin activates cytochrome c peroxidase activity since it facilitates H₂O₂ access to heme // Biochemistry (Moscow). 2006. Vol. 71. No. 9. P. 998–1005.