

Развитие окислительного стресса в дрожжах

Научный руководитель – Звягильская Рената Александровна

Голева Т.Н.¹, Рогов А.Г.²

1 - Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия, *E-mail: goleva13@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: lloss@rambler.ru*

Митохондрии, помимо общеизвестной роли в энергозапасании, выполняют и другие жизненно важные функции в клетке. Они глубоко интегрированы в общий клеточный обмен, играют основную роль в таких глобальных процессах, как проведение клеточных сигналов, в системе выбора клетки между жизнью и смертью, являются основными источниками избыточных активных форм кислорода в клетке. Дисфункция митохондрий приводит к старению и многочисленным патологиям. Митохондрии, в отличие от других органелл, постоянно меняют свои размеры и форму, подвергаясь непрерывному процессу слияния и фрагментации, регулируемый динамин-подобным белком. Принимается, что эта динамика митохондрий играет важную роль в восстановлении функций поврежденных органелл путем их смешивания с интактными органеллами. В последнее время появляется все больше работ, связывающих нейродегенеративные и другие заболевания с дисфункцией митохондрий, а именно, с нарушением их динамики, с зависимым от митохондрий окислительным стрессом [1]. Цель работы заключалась в моделировании и прослеживании процесса развития окислительного стресса в клетках дрожжей. В качестве объекта исследования использовали дрожжи *Dipodascus magnusii*, гигантские клетки, содержащие в норме разветвленный митохондриальный ретикулум, что делает их идеальной моделью для такого рода исследования. Окислительный стресс индуцировали добавлением 750 мкМ прооксиданта терт-бутилпероксида (t-BHP). Окислительный стресс детектировали методами флуоресцентной микроскопии, Time-lapse микроскопии и проточной цитометрии на протяжении 100 минут после начала воздействия прооксиданта. Для выявления различных активных форм кислорода в клетке и их локализации использовали совместно два флуоресцентных зонда, которыми нагружались клетки до воздействия прооксиданта: H2DCFDA - маркер на пероксид водорода, обладающий после окисления зеленой флуоресценцией, и MitoSox Red - маркер на анион радикал, обладающий спектром эмиссии в красной области спектра. Показано, что воздействие прооксиданта t-BHP приводило сначала к появлению активных форм кислорода в митохондриях, а затем, спустя определенный лаг-период, к генерализованному окислительному стрессу. Предварительная инкубация клеток дрожжей в течение часа с 800 нМ SkQ1, митохондриально-направленным антиоксидантом, уменьшало развитие окислительного стресса, но не отдаляло начала его развития. Фрагментация митохондрий была связана с внутримитохондриальными активными формами и предшествовала генерализованному окислительному стрессу. Исследование проводилось при частичной финансовой поддержке РФФ (грант № 17-74-10212), РФФИ (гранты №№ 16-34-01272 и 17-00-00124) и РАН (Программой по клеточной и молекулярной биологии и постгеномным технологиям).

Источники и литература

- 1) Goleva T., Rogov A., Zvyagilskaya R. Alzheimer's Disease: Molecular Hallmarks and Yeast Models // Journal of Alzheimers Disease & Parkinsonism –2017. –V. 7, №6. –P. 394–401.