

## Оценка измерения вязкости фосфолипидных мембран при взаимодействии с цитохромом *c*

Научный руководитель – Степанов Герман Олегович

Макарова Н.В.<sup>1</sup>, Кузнецова А.Л.<sup>2</sup>, Сидорова К.О.<sup>3</sup>

1 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: natalia3517257@mail.ru*; 2 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: ton\_kuz@mail.ru*; 3 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: ksenyasidorova@inbox.ru*

Иницирующим фактором внутреннего пути развития апоптоза является выход цитохрома *c* из митохондрий в цитоплазму [1]. Хорошо описано предшествующее апоптозу взаимодействие цитохрома *c* с анионными ненасыщенными фосфолипидами мембран, в частности с кардиолипином. Данное взаимодействие сопровождается изменением конформации активного центра цитохрома, что приводит к резкому повышению его пероксидазной активности [2]. Пероксидазная активность способствует разрыхлению и пермеабиллизации мембран, что сопровождается изменением их микровязкости.

Наряду с кардиолипином преобразовывать активный центр цитохрома *c* может и малоизученная фосфатидная кислота. В нашем эксперименте был изучен процесс изменения микровязкости мембран, вызванный пероксидазной активностью цитохрома *c* после его взаимодействия с фосфатидной кислотой.

Для определения микровязкости был использован метод спиновых зондов. Экспериментальная модель состояла из двух видов липосом различного состава: из диолеилфосфатидилхолина (DOPC); диолеилфосфатидилхолина и диолеилфосфатидной кислоты (DOPA) в соотношении 1:1, в качестве спинового зонда использовали 16:0-5 доксилфосфатидилхолин. К образцам липосом одновременно были добавлены цитохром *c* и пероксид водорода. Полученные образцы были измерены при помощи радиоспектроскопии ЭПР. По полученным спектрам были рассчитаны параметры упорядоченности.

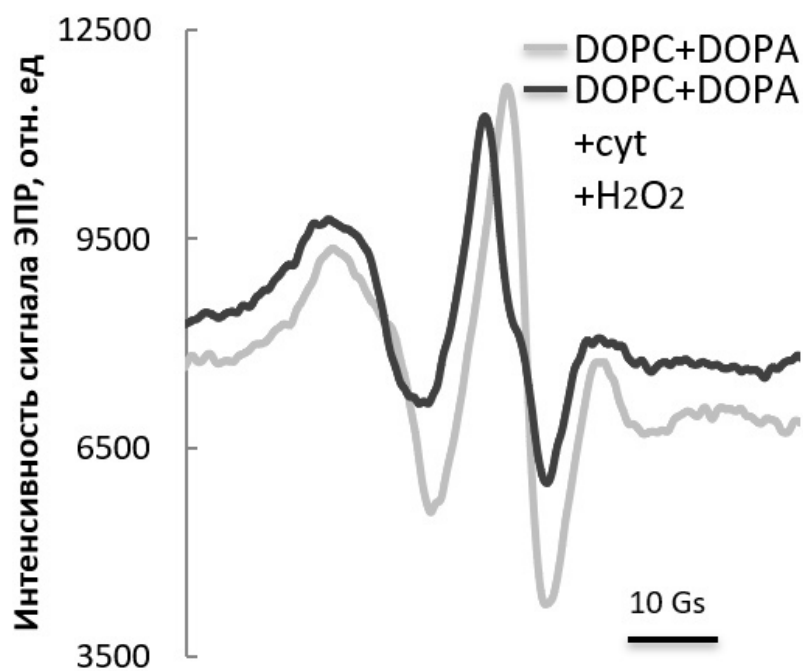
В нашем эксперименте было продемонстрировано, что для DOPC:DOPA-содержащих мембран при одновременном присутствии цитохрома *c* и пероксида водорода параметр упорядоченности статистически значимо снижается на 6.35%, в то время как аналогичный параметр для DOPC-содержащих мембран статистически значимо не изменяется.

Таким образом, однозначно показано, что присутствие фосфатидной кислоты в составе липосомальных мембран при взаимодействии с цитохромом *c* и перекисью водорода приводит к уменьшению их микровязкости. Данный процесс, по всей вероятности, предшествует выходу цитохрома *c* в цитоплазму и развитию процессов гибели клетки.

### Источники и литература

- 1) 1) Marion MacFarlane, Ann C. Williams. Apoptosis and disease: a life or death decision // EMBO reports 2004 Jul;5(7):674-8
- 2) 2) Dariush Mohammadyani et al. Structural characterization of cardiolipin-driven activation of cytochrome *c* into a peroxidase and membrane perturbation, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, Volume 1860, Issue 5, 2018

### Иллюстрации



**Рис. 1.** Серая кривая: ЭПР-спектр спинового зонда 16:0-5 Doxyl PC в системе, содержащей 1,5 мМ липосом(DOPC+DOPA). Чёрная кривая: ЭПР-спектр спинового зонда 16:0-5 Doxyl PC в системе, содержащей 1,5 мМ липосом(DOPC+DOPA) с добавками цитохрома с и пероксида водорода в концентрациях 270 мкМ и 33 мкМ соответственно. Измерения были проведены на ЭПР-спектрометре ESR 70-03 XD/2 при частоте 9,335 ГГц, середине поля 3321 Гс, модуляции 1 Гс, коэффициенте усиления 1000, ослаблении СВЧ 20 дБ, при комнатной температуре.