

ОЦЕНКА СТЕХИОМЕТРИИ И КОНСТАНТЫ ДИССОЦИАЦИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАРДИОЛИПИНА И ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ С ЦИТОХРОМОМ С

А. А. Стручкова, Г. О. Степанов, А. Н. Осипов

ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова" Минздрава Российской Федерации, Москва, Россия

Процессы регулируемой клеточной гибели, в том числе и апоптоза, играют значительную роль в развитии заболеваний различных этиологий, включая онкологические заболевания [1]. При изучении данных процессов немаловажно понимание механизмов взаимодействия цитохрома С (CytC) с анионными фосфолипидами клеточных мембран. При данном взаимодействии увеличивается пероксидазная активность CytC, что приводит к формированию пор в мембране, обеспечивающих его выход из митохондрий [2]. Роль тетраолеилкардиолипина (TOCL) в данном процессе хорошо известен [3], однако, остаются менее изученными механизм молекулярного взаимодействия CytC и диолеилфосфатидной кислоты (DOPA), а также константы диссоциации и стехиометрия данных белок-липидных взаимодействий.

В данной работе выполнена оценка стехиометрии и констант диссоциации взаимодействия CytC с фосфолипидными липосомальными мембранами, содержащими TOCL и DOPA, а также диолеилфосфатидилхолин (DOPC). Данное взаимодействие оценивалось по тушению интенсивности флуоресценции фосфатидилхолина, меченого NBD (NBD-PC) при их титровании возрастающими концентрациями CytC. Количество NBD-PC во всех липосомах составляло 0.5%.

На основе полученных кривых титрования по модели Ленгмюра были рассчитаны равновесные константы диссоциации TOCL-, DOPA-, и DOPC-содержащих липосом с CytC, которые составили, соответственно, $K_d=8.32 \cdot 10^{-6}$ М ($R_2=0.984$); $4.98 \cdot 10^{-6}$ М ($R_2=0.986$) и $0.80 \cdot 10^{-6}$ М ($R_2=0.705$). Стехиометрия взаимодействия для комплексов липид-белок составила TOCL/CytC=18.19; DOPA/CytC=7.42; DOPC/CytC=0.68.

Таким образом, данное исследование показало, что связывательная способность CytC зависит от вида фосфолипидов, входящих в состав мембран, при этом, его химическое взаимодействие с ранее изученным кардиолипином (TOCL) сравнимо со взаимодействием с фосфатидной кислотой (DOPA). Кроме того, связывание CytC с фосфатидилхолин (DOPC)-содержащими мембранами оказалось незначимым.

Сравнительно близкие стехиометрические показатели и значения константы диссоциации фосфатидной кислоты и кардиолипина свидетельствуют о том, что фосфатидная кислота обладает схожей связывательной способностью к CytC, что и кардиолипин. Следовательно, изучение механизмов влияния фосфатидной кислоты имеет значение при исследовании молекулярных механизмов развития апоптоза и особенности патологической физиологии ряда заболеваний, связанных с данным процессом.

Библиографические ссылки

1. *Yılmaz M. B., Muz D.* Apoptosis in cancer: 2 // *Turk. J. Vet. Res.* 2022. Vol. 6, iss. 2. P. 85–95.
2. Release of cytochrome C from Bax pores at the mitochondrial membrane / *M. Zhang [et al.]* // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, iss. 1. P. 2635.
3. Conformational properties of cardiolipin-bound cytochrome c / *J. Hanske [et al.]* // *Proc. Natl. Acad. Sci. Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2012. Vol. 109, iss. 1. P. 125–130.