

ВЛИЯНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ПРОДУКЦИЮ ГИДРОКСИЛЬНОГО РАДИКАЛА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

К. И. Арзамазкина, А. Д. Герман, К. И. Губаревич, В. С. Мацкевич

Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

Среди активных форм кислорода гидроксильный радикал (НО[•]) обладает наивысшей реакционной способностью и является наиболее опасным для живых систем [1]. За счет высокого редокс-потенциала ($E_0 = +2,32$ В, рН 7) гидроксильный радикал может окислять практически любое химическое соединение, включая ДНК, белки и липиды [2], опосредуя большинство цитотоксических эффектов в аэробных организмах. Один из путей образования НО[•] в живых системах – это восстановление H₂O₂, катализируемое ионами переходных металлов (Fe²⁺, Cu⁺ и др.). В связи с этим, данная реакция часто используется для количественной оценки антиоксидантной способности растительных экстрактов и биологически активных веществ. Известно, что пул свободных аминокислот играет важную роль в росте и развитии растений, сигнальных явлениях, а также участвует в реакции растения на стресс [3]. Цель данной работы – оценить способность важнейших аминокислот влиять на продукцию НО[•] в условиях *in vitro* и *in vivo*.

С использованием ЭПР-спектрометрии было показано, что смесь 1 ммоль/л CuCl₂, 1 ммоль/л L-аскорбата, 1 ммоль/л H₂O₂, рН 6 (Cu/a) с добавлением 100 ммоль/л диметилпирролиноксид (ДМПО) генерирует характерный четырехпиковый сигнал аддуктов ДМПО-НО[•]. Интенсивность данного ЭПР-сигнала была в 70 раз выше по сравнению с контролем (буферный раствор: 0,1 ммоль/л KCl, 0,1 ммоль/л CaCl₂, 1 ммоль/л ТРИС, 2 ммоль/л МЕС). Было продемонстрировано, что интенсивность ЭПР-сигнала ДМПО-НО[•] значительно снижалась в присутствии свободных аминокислот (1 ммоль/л гистидина, аланина, аспарагина и пролина). Сами аминокислоты не модифицировали сигнал ДМПО, т.е. не обладали редокс-активностью. В случае добавления гистидина в Cu/a ЭПР-сигнал уменьшался приблизительно на 80%, аланина – на 95%, аспарагина – на 90%. Добавление пролина не воздействовало на ЭПР-сигнал, вызываемый аддуктами ДМПО-НО[•]. Результаты также были подтверждены с использованием эпифлуоресцентной микроскопии и зонда дигидроэтидий в интактных корнях *Arabidopsis thaliana*, однако в данном случае эффекты были ниже. Таким образом, в работе было продемонстрировано, что свободные аминокислоты могут снижать ферментативную продукцию НО[•] в водных растворах и оказывать умеренное протекторное влияние на генерацию активных форм кислорода в интактных корнях растений при окислительном стрессе.

Работа была выполнена в рамках задания ГПНИ «Исследование функционального взаимодействия сигнально-регуляторных и антиоксидантных систем при стрессе с целью повышения общей стрессоустойчивости высших растений и создания новых биотехнологий» подпрограммы «Молекулярные и клеточные биотехнологии-2» государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» на 2021–2025 годы.

Библиографические ссылки

1. *Halliwell H., Gutteridge J. M. C.* Free radicals in biology and medicine. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press, 2015. – 905 p.
2. *Sanna D., Fadda A.* Role of the hydroxyl radical-generating system in the estimation of the antioxidant activity of plant extracts by electron paramagnetic resonance (EPR) // *Molecules*. 2022. Vol. 27, iss. 14. P. 4560.
3. Editorial: amino acids in plants: regulation and functions in development and stress defense / M. Trovato [et al.] // *Front Plant Sci*. 2021. Vol. 12. P. 772810.