

Изучение токсичности различных форм прионного белка на клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y

Научный руководитель – Мельникова Александра Кирилловна

Медведева Мария Витальевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: maryshick@mail.ru

Одним из плеяды амилоидогенных белков является прионный белок, возбудитель таких наследственных и инфекционных заболеваний, как почесуха овец (скрепи), губчатая энцефалопатия коров, а также синдром Крейцфельда-Якоба и синдром Герстманна-Штройслера-Шейнкера [1]. Для обозначения этого инфекционного агента Прузинер ввёл термин «прион» (prion, proteinacious infectious particles) или PrP (prion protein) - очищенный белок возбудителя скрепи [4]. PrP может существовать в двух конформационных состояниях: в растворимой форме PrP^C и в виде нерастворимых протеазоустойчивых амилоидных фибрилл PrP^{Sc}, накапливающихся в нервных клетках и в межклеточном пространстве и вызывающих дегенерацию тканей мозга [1]. Фрагменты амилоидных фибрилл PrP попадают в ЦНС и провоцируют амилоидную агрегацию клеточного PrP^C, который присутствует в организме млекопитающих. Было показано, что PrP^{Sc} отличается от нормального PrP^C своей вторичной структурой, а именно, преобладанием β -структур, содержание которых увеличивается от 3% до 43% [3].

Клеточные модели воздействия различных форм прионного белка на нервные клетки необходимы для лучшего понимания механизма развития амилоидогенных заболеваний, причин и механизмов токсичности прионного белка.

Нами были получены олигомеры и фибриллы рекомбинантного овечьего прионного белка, размеры которых мы оценили с помощью метода динамического лазерного светорассеяния. Согласно литературным данным, олигомеры прионного белка обладают большей нейротоксичностью, чем фибриллы, и именно олигомеры являются главным переносчиком инфекции [2]. Мы оценили выживаемость клеток нейробластомы SH-SY5Y при добавлении во внеклеточную среду различных концентраций мономеров, олигомеров и фибрилл прионного белка с помощью МТТ-теста и красителя резазурина. Кроме того, мы измерили флуоресценцию тиофлавина Т при связывании с полученными фибриллами приона и установили, каким образом количество амилоидных структур в фибриллах прионного белка взаимосвязано с их токсическим действием на клетки нейробластомы SH-SY5Y.

Источники и литература

- 1) Стройлова Ю.Ю., Киселев Г.Г., Шмальгаузен Е.В., Муронец В.И. Прионы и Шапероны: Враги или друзья? // Биохимия, 2014, том 79, вып. 8, с. 957-973.
- 2) Huang P., Lian F., Wen Y., Guo C., Lin D. Prion protein oligomer and its neurotoxicity // Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2013, том 45, вып. 6, с. 442-51.
- 3) Huang Z., Prusiner S.B., Cohen F.E. Scrapie prions: a three-dimensional model of an infectious fragment // Fold. Des., 1995, том 1, вып. 1, с. 13-19.
- 4) Prusiner S.B., Groth D.F., Bolton D.C., Kent S.B., Hood L.E. Purification and structural studies of a major scrapie prion protein // Cell, 1984, том 38, вып. 1, с. 127-134.