

Изучение липидного окружения Na^+/K^+ АТФ-азы мембран синапсом из мозга крыс при окислительном стрессе

Научный руководитель – Пиняскина Елена Владимировна

Гаджимагомедова Р.¹, Балакеримова Г.Э.², Наврузбекова К.И.³

1 - Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия, E-mail: elpin1@rambler.ru; 2

- Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия, E-mail:

nika_maksimova1998@mail.ru; 3 - Дагестанский государственный университет, Махачкала,

Россия, E-mail: karinagamsina07@mail.ru

Для изучения липидного окружения фермента, динамических свойств синаптосомальных мембран использовали флуоресцентный метод анализа. Поскольку необходимо одновременное сканирование и глубинных и поверхностных слоев мембраны, использовали пирен и АНС. Структурное состояние мембран исследовали методом латеральной диффузии пирена. Микровязкость липидного бислоя мембран синапсом Рэ/Рм (337) оценивали при длине волны возбуждения 337 нм, а микровязкость зон белок-липидных контактов Рэ/Рм (280) - при максимуме возбуждения 280 нм, максимумы длин волн флуоресценции составляли для мономеров пирена 390 нм, для эксимеров 470 нм. Эффективность переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков на пирен оценивали по тушению флуоресценции суспензии синаптосомальных мембран при длине волны возбуждения 280 нм и длине волны флуоресценции 330 нм в отсутствие пирена и после инкубации проб с зондом. Полярность липидного бислоя и зон белок-липидных контактов мембран синапсом оценивали по соотношению интенсивности флуоресценции двух мономерных форм F_{370}/F_{390} в тонкой структуре пирена при длинах волн возбуждения 337 нм и 280 нм.

Показано, что при гипотермии наблюдается снижение (на: 37% при +30° С, на 24% при +20° С, и на 4% при +20 °С пролонгированной) коэффициента эксимеризации (I_{470}/I_{390}) аннулярных липидов (пирен 280 нм) относительно контроля, характеризующего текучесть аннулярных липидов, составляющих микроокружение мембранных белков, на фоне практически неизменного параметра I_{J70}/I_{J90} (280) - полярности зон белок-липидных контактов. Это явление может быть связано либо с повышением микровязкости мест локализации пирена в районе гидрофобных остатков жирных кислот липидного бислоя, либо - перераспределением зонда из липидной фракции мембран в белковую. Снижение коэффициента эксимеризации общих липидов (I_{470}/I_{390} - пирен 337 нм), указывает на увеличение насыщенности жирнокислотных ацилов мембранных липидов, приводящее к повышению микровязкости липидного бислоя. О структурных перестройках мембранных белков свидетельствует снижение эффективности безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков синапсом на пирен.

Таким образом, нами показано, что усиление свободно-радикального окисления при окислительном стрессе приводит к снижению текучести мембран, окислению белков цитоскелета и нарушению их связи с мембранными липидами. На фоне возрастания микровязкости липидного бислоя при холодном стрессе отмечено повышение текучести аннулярных липидов, составляющих микроокружение мембранных белков. Показано усиление структурных перестроек в мембранных белках, что подтверждается снижением эффективности индуктивно-резонансного переноса энергии с триптофанилов мембранных белков на пирен, в результате различных мембранных процессов.