

**Использование низкомолекулярных декстранов для мечения
неспецифической кальций-зависимой поры митохондрий**

Научный руководитель – Круглов Алексей Георгиевич

Колосова О.С.¹, Харечкина Е.С.²

1 - Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: kolosova.olga@spcru.ru*; 2 - Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия, *E-mail: kalya.kypri@gmail.com*

Во многих патологических состояниях клеток неспецифическая кальций-зависимая пора митохондрий (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) играет центральную роль [5]. Структура комплекса точно не идентифицирована: внутренний диаметр mPTP, способной пропускать вещества массой от 650 Да [4] до 1,5-2,2 кДа [2], оценивают в 2,8 нм [3]. При определённых условиях индукция mPTP обратима [1]. Разработка новых методов исследования mPTP является перспективным направлением науки. В исследовании проверяли гипотезу о том, что mPTP можно пометить, зафиксировав в ней молекулы полимеров, размер которых незначительно превышает средний диаметр канала поры (рис. 1). Для этого использовали низкомолекулярные декстраны, связанные с флуоресцентными метками (FITC либо TRITC), массой 4-4,5 кДа.

Оценивали флуоресценцию меченых декстранов, связавшихся с митохондриями печени крыс (RLM), в двух пробах: 1) mPTP индуцировали и оставляли в таком состоянии («Открытая mPTP»); 2) mPTP индуцировали, а затем подавляли при помощи смеси ингибиторов («Временная mPTP»). Контрольная проба на связывание декстрана со структурами матрикса содержала аламетицин, вызывающий полную пермеабиллизацию митохондрий [4]. На графиках данные выражены в процентах относительно флуоресценции контрольной пробы с ЭГТА, подавляющим индукцию mPTP (рис. 2).

Было установлено, что больше декстрана связывается с митохондриями, в которых mPTP открыта в течение всего эксперимента. Таким образом, в исследовании показали теоретическую возможность мечения mPTP при помощи низкомолекулярных полимеров. Данные результаты могут быть использованы с целью выделения данного комплекса и идентификации его составляющих.

Источники и литература

- 1) Haworth, R. A., Hunter, D. R. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria: II. Nature of the Ca²⁺ trigger site // Archives of Biochemistry and Biophysics, 1979, № 195, p. 460-467.
- 2) Kruglov, A. G., Kharechkina, E. S., Nikiforova, A. B., Odinkova, I. V., Kruglova, S. A. Dynamics of the permeability transition pore size in isolated mitochondria and mitoplasts // FASEB J., 2021, № 35(8), e21764.
- 3) Massari, S., Azzone, G. F. The equivalent pore radius of intact and damaged mitochondria and the mechanism of active shrinkage // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, 1972, № 283, p. 23-29.
- 4) Pfeiffer D. R., Gudz T. I., Novgorodov S. A., Erdahl W. L. The peptide mastoparan is a potent facilitator of the mitochondrial permeability transition // Journal of Biological Chemistry, 1995, № 270(9), p. 4923-4932.
- 5) Šileikytė, J., Forte, M. The Mitochondrial Permeability Transition in Mitochondrial Disorders // Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 3403075.

Иллюстрации

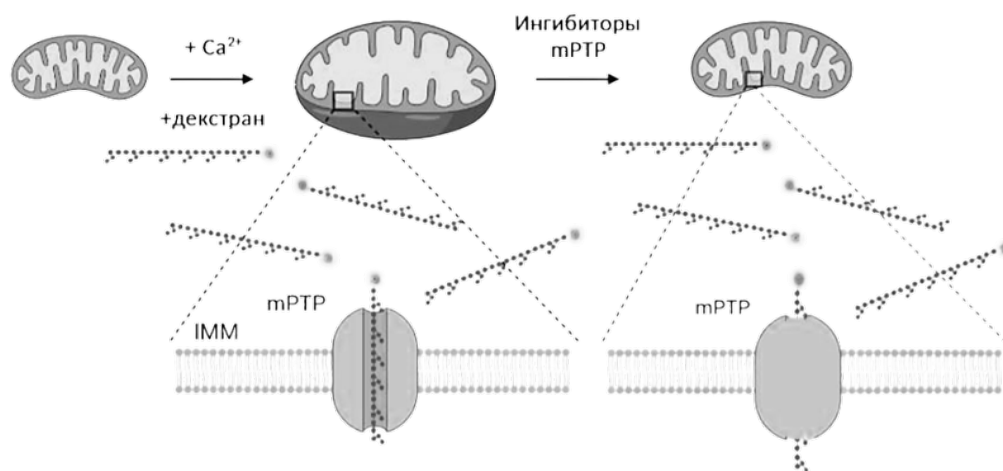
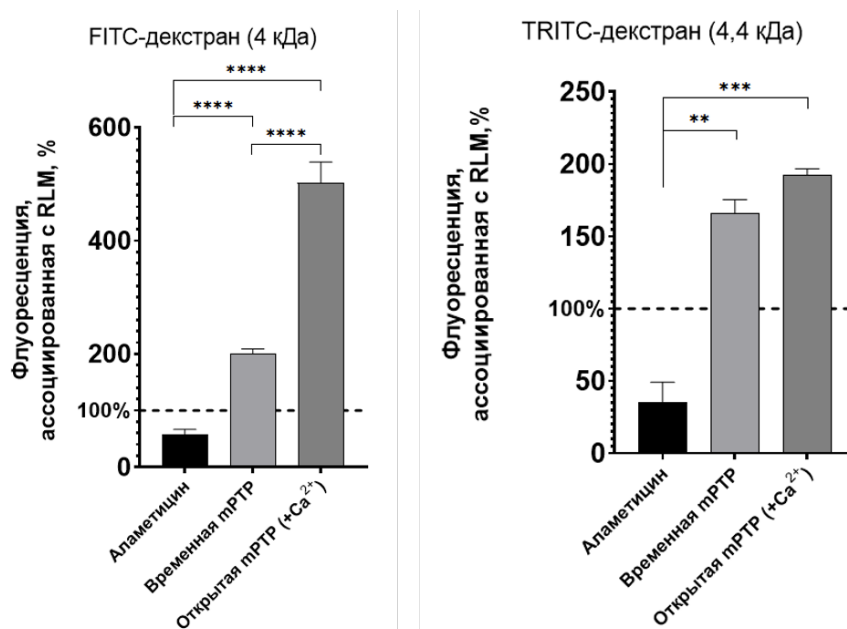


Рис. Рисунок 1. Принципиальная схема исследования.



100 % соответствуют флуоресценции пробы с ЭГТА. Данные представлены как среднее \pm SEM (n=3-9). Данные представлены как среднее \pm SEM (n=3). **p = 0,0015, ***p = 0,0004, ****p < 0,0001 (unpaired t-test).

Рис. Рисунок 2. Флуоресценция меченых декстранов, связавшихся с митохондриями, обработанными различными агентами, данные флуориметрического анализа.