

Влияние метформина и ампролиума на сукцинирование и глутарилирование низкомолекулярных белков в мозге крыс

Научный руководитель – Буник Виктория Ивановна

Емельянова А.А.¹, Граф А.В.², Карлина И.С.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: a_emelyanova_03@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва, Россия, *E-mail: nastjushka@gmail.com*; 3 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: aniram0107@mail.ru*

Сукцинирование и глутарилирование - посттрансляционные модификации белков с участием сукцинил-КоА и глутарил-КоА, которые продуцируются комплексами 2-оксоглутаратдегидрогеназы (ОГДГ) и 2-оксоадипатдегидрогеназы (ОАДГ), использующими дифосфат тиамин (витамина В1) в качестве кофермента. Поэтому ингибирование внутриклеточного транспорта тиамин - известное побочное действие таких лекарств как метформин и ампролиум (М+А) - может влиять на экспрессию генов за счет изменения ацилирования гистонов [1]. Цель работы - определить механизмы регуляции данными лекарствами сукцинирования и глутарилирования гистон-содержащей фракции белков мозга.

М+А вводили по двум схемам: 1. Циклами 5 введений + 2 дня перерыв в течение 25 дней, из них первые 3 дня по 200 мг/кг метформина и 40 мг/кг ампролиума и далее по 70 мг/кг метформина и 40 мг/кг ампролиума; 2. Ежедневно по 150 мг/кг метформина и 40 мг/кг ампролиума в течение 30-ти дней. Для Вестерн-блоттинга использовали первичные антитела на сукцинирование #РТМ-401 (РТМ Biolabs, США, разведение 1:3000), глутарилирование #РТМ-1151 (РТМ Biolabs, США, разведение 1:2000), десукцинилазу/деглутарилазу сиртуин 5 #8782 (Cell Signaling Technology, США, разведение 1:2000), ОГДГ #РА5-28195 (ThermoFisher, разведение 1:2000), ОАДГ #РА5-24208 (ThermoFisher, разведение 1:400) и конъюгированные с пероксидазой вторичные антитела #P-GAR Iss (Имтек, Россия, разведение 1:3000).

При низкой дозе метформина и прерывистом введении М+А наблюдали снижение уровней сукцинирования белков 15 и 16 кДа и экспрессии ОГДГ. Глутарилирование данных белков, экспрессия ОАДГ и сиртуина 5 не менялись. Напротив, при высокой дозе метформина и ежедневном введении М+А изменений в сукцинировании низкомолекулярных белков и экспрессии ОГДГ не наблюдали. Глутарилирование же белков 15 и 16 кДа, экспрессия ОАДГ и сиртуина 5 увеличивались.

Отрицательный заряд гистонов, возрастающий при сукцинировании или глутарилировании, препятствует их взаимодействию с ДНК. Ожидаемое при росте глутарилирования гистон-содержащих белков мозга усиление белковой транскрипции подтверждается ростом экспрессии ОАДГ и сиртуина 5. Напротив, падение сукцинирования низкомолекулярных белков мозга соответствует снижению экспрессии ОГДГ. Отсутствие эффектов ежедневного введения М+А на сукцинирование низкомолекулярных белков и экспрессию ОГДГ свидетельствует о компенсаторном значении роста глутарилирования гистонов.

Результаты показывают, что хроническое действие М+А меняет сукцинирование или глутарилирование гистон-содержащей фракции белков мозга в соответствии с регуляцией тиамин-зависимых процессов на уровне экспрессии белков.

Финансирование. Работа поддержана грантом РФФИ № 20-54-7804

Источники и литература

- 1) 1. В.А. Алешин, Г.В. Мкртчян, В.И. Буник. Механизмы некоферментного действия тиамина: белковые мишени и медицинское значение. Биохимия, 2019, Vol. 84, No. 8, pp. 1051-1075.