**Мембранні ефекти амілоїдних фібрил**

*Лаврик О.О. (науковий керівник – проф. Трусова В.М.)*

В світлі останніх досліджень стало відомо, що відкладення нерозчинних білкових агрегатів (амілоїдних фібрил) в органах відіграють важливу роль в нейродегенеративних захворюваннях, таких як хвороба Альцгеймера, Паркінсона та інші [1]. Такі висновки спонукали до інтенсивного вивчення процесів згортання та агрегації білків та зробили особливо актуальним з’ясування молекулярних механізмів токсичності білкових агрегатів. На даний час вважається, що в результаті взаємодій амілоїдних білків з мембраною клітин відбувається ушкодження самої мембрани з подальшим порушенням функцій клітин і, навіть, відмиранням клітин[2,3]. Даний процес є причиною багатьох патологій та захворювань. В зв’язку з цим актуальним є дослідження молекулярних механізмів токсичності білкових агрегатів.

Саме тому мета даної роботи полягала у дослідженні дії нативного та фібрилярного лізоциму на структуру та фізико-хімічні властивості модельних ліпідних мембран із цвіттеріонного ліпіду фосфатидилхоліну та його сумішей з аніонним ліпідом кардіоліпіном та стеролом холестерином методом флуоресцентної спектроскопії. Для проведення даного дослідження були обрані два флуоресцентних зонда – пірен та Лаурдан. Пірен – це неполярний флуоресцентний зонд, який широко використовується для вивчення структурних властивостей як модельних, так і біологічних мембран. Спектр флуоресценції пірену має яскраво виражену вібронну структуру[4]. Лаурдан (6-лауроіл-2-диметиламінонафталін) є амфіфільним флуоресцентним зондом, належить до групи зондів, чутливих до полярності оточення. Лаурдан широко застосовується завдяки здатності реагувати на зміни в оточуючому середовищі зміщенням спектрів випромінювання [5]. З цими змінами кількісно пов’язаний параметр флуоресценції, відомий як генералізована поляризація (GP):



де  та  - вимірювані інтенсивності флуоресценції на довжинах хвиль, що відповідають максимумам флуоресценції в стані гелю та рідкого кристалу відповідно .

Аналіз вібронної структури спектрів флуоресценції пірену показав, що як нативний, так і фібрилярний лізоцим викликали зниження полярності мікрооточення мономерів пірену, ступінь якого залежав від складу ліпосом. Введення до складу модельних мембран холестерину посилювало дію фібрил лізоциму на полярність ліпідного бішару. Виявлено суттєве зменшення вільного об’єму ліпосомальних мембран під впливом обох форм лізоциму, але зміни цього параметру, викликані фібрилярним білком, були значно більш виражені. Аналіз спектрів флуоресценції Лаурдану показав, що у відсутності холестерину обидві форми білка викликають зростання ступеня гідратації ліпідного бішару та зменшення щільності пакування ліпідних молекул, причому цей ефект був більш вираженим для нативного білка. Проте, у присутності холестерину спостерігались протилежні зміни ступеня гідратації, близькі по величині для фібрилярного та нативного білка.

Спостережувані ефекти вказують на можливість модуляції мембранотропної дії патогенних білкових агрегатів шляхом варіювання вмісту холестерину у ліпідному бішарі.

Список літератури:

1. Chiti F., Dobson C. M. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease // Annu. Rev. Biochem. – 2006. – Vol. 75. – P. 333-366.
2. Stefani M. Protein misfolding and aggregation: new examples in medicine and biology of the dark side of the protein world // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – Vol. 1739. – P. 5-25.
3. Butterflied S.M., Laushel H.A. Amyloidogenic protein-membrane interactions: mechanistic insight from model systems // Angew. Chem. Int. Ed. – 2010. – Vol. 49. – P. 5628-5654.
4. Blackwell M.F., Gounaris K., Barber J. Evidence that pyrene excimer formation in membranes is not diffusion-controlled // Biochim. Biophys. Acta. – 1986. – V. 858. – P. 221-234.
5. Bagatolli L.A., Gratton E., Fidelio G.D. Water dynamics in glycosphingplipid aggregates studied by LAURDAN fluorescence // Biophysical Journal. – 1998. – V. 75. – P. 331-341.