

УДК 581.198

А. Б. Мазина^{1,2}, Н. И. Газизова¹,
А. Г. Даминова^{1,2}, Ф. В. Минибаева^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»
(КИББ ФИЦ КазНЦ РАН),

420111, Россия, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,

²Казанский (Приволжский) федеральный университет,
420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, 18,

abmazina@gmail.com

S-НИТРОЗИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОЙ АУТОФАГИИ В *TRITICUM AESTIVUM*

Ключевые слова: аутофагия, оксид азота, антимицин А, S-нитрозилирование белков, пшеница.

В жизнедеятельности эукариот большое значение имеет высококонсервативный, сложно-регулируемый катаболический процесс аутофагия. В растениях роль аутофагии показана в онто- и органогенезе [1], в процессах старения и программируемой гибели клеток [2]. В регуляцию аутофагии вовлечены активные формы азота (АФА), в том числе, оксид азота, однако информация об индукции [3] или подавлении [4] аутофагии с помощью АФА противоречива. Роль оксида азота в индукции аутофагии во многом обусловлена синергичным действием АФА и активных форм кислорода [5].

Вступая во взаимодействие с белками, NO регулирует их активность посредством ключевых посттрансляционных модификаций, например, S-нитрозилирования сульфгидрильных (тиоловых) групп белков. S-нитрозилирование белков, представляющее собой ковалентное присоединение группы оксида азота (-NO) к тиолу цистеина в белке с образованием S-нитрозотиола (SNO), является механизмом NO-опосредованной передачи сигнала во многих процессах, в том числе аутофагии. К сожалению, информация об NO-индуцированной аутофагии в растениях довольно скудна, а информация о посттрансляционных модификациях, которым подвергаются белки во время процесса, почти отсутствуют. В связи с этим, настоящая работа посвящена анализу S-нитрозилирования белков при индукции аутофагии в клетках корней пшеницы *Triticum aestivum* L.

Нами показано, что воздействие на проростки *T. aestivum* доноров NO индуцирует накопление аутофагосом в клетках корней. Биоинформатический анализ выявил наличие гипотетических сайтов S-нитрозилирования в структуре ключевых аутофагических белков (AuTophagy-related protein) *T. aestivum*, участвующих на разных стадиях аутофагии. Это указывает на возможность посттрансляционных модификаций аутофагических белков при NO-индуцируемой аутофагии.

С использованием специфических моноклональных первичных антител и вторичных флуоресцентных антител было показано, что при индукции аутофагии донором оксида азота KNO₂ и митохондриальным ингибитором антимицином А происходит S-нитрозилирование белков. Наибольшая флуоресценция белков наблюдалась при аутофагии, индуцированной

воздействием NO-донора, что может свидетельствовать о важности природы индуктора аутофагии и тонких механизмах S-нитрозилирования белков.

Для подтверждения предположения о повышении уровня S-нитрозилирования белков в условиях индуцированной аутофагии нами проводился анализ нитрозилирования белков методом иммунопреципитации с использованием антител Anti-S-nitrosocysteine и дальнейшим Вестерн-блотом со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой. Обнаружено, что по сравнению с контролем в образцах, обработанных KNO₂ и антимицином А, наблюдалось увеличение содержания S-нитрозилированных белков.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют о том, что одним из NO-опосредованных механизмов регуляции аутофагии в клетках корней пшеницы является S-нитрозилирование белков. Это подтверждается данными биоинформатического анализа о наличии гипотетических сайтов S-нитрозилирования у аутофагических белков и экспериментальными свидетельствами повышения уровня S-нитрозилированных белков в условиях индуцированной аутофагии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-34-90042.

Список литературы

1. Siyiannis V. F., Protonotarios V. E., Zechmann B. A. et al. // Protoplasma. 2012. Vol. 49. P. 671–686.
2. Hanamata S., Kurusu T., Okada M. et al. // Plant Signal. 2013. Vol. 6. P. 847–864.
3. Filomeni G., Zio D., Cecconi F. // Cell Death and Differentiation. 2015. Vol. 22 (3). P. 377–386.
4. Sarkar S., Korolchuk V. I., Renna M. // Molecular Cell. 2011. Vol. 43(1). P. 19–32.
5. Lee J., Giordano S., Zhang J. // Biochemical Journal. 2012. Vol. 441(2). P. 523–540.