

Сравнительный анализ ацетилирования, сукцинирования и глутарилирования глутаматдегидрогеназы животных в печени и мозге.

Научный руководитель – Бунник Виктория Ивановна

Чашникова А.А.¹, Алешин В.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: chashk@list.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: Aleshin_Vasily@mail.ru*

Глутаматдегидрогеназа (ГДГ) катализирует обратимое НАД(Р)(Н)-зависимое окислительно-восстановительное взаимопревращение L-глутамата и 2-оксоглутарата [4]. В мозге ГДГ регулирует метаболизм нейротрансмиттера глутамата, а в печени отвечает за окисление глутамата в цикле трикарбоновых кислот [2, 4]. Важную роль в регуляции ГДГ играют аллостерические активаторы (АДФ, лейцин) и ингибиторы (ГТФ). В связи с ролью ацилирования белков в регуляции метаболизма [1] целью данной работы является сравнительное исследование тканевой специфичности регуляции ГДГ с помощью реакций ацетилирования, сукцинирования и глутарилирования.

ГДГ печени быка (“Sigma”) и изолированных из мозга и печени крыс митохондрий инкубировали с уксусным, янтарным и глутаровым ангидридами (2 мМ, рН 7,5). Активность определяли в реакции восстановительного аминирования 2-оксоглутарата (2,5 мМ) по уменьшению поглощения НАДН при 340 нм [3]. Масс-спектрометрию проводили как опубликовано [3].

В препаратах ГДГ митохондрий мозга и печени ацетилирование значительно (70-80%) инактивировало фермент, в то время как глутарилирование и сукцинирование не оказывало достоверного эффекта на базальную активность ГДГ. Однако глутаровый ангидрид снижал активность очищенного фермента печени быка (70%). При ацилировании ГДГ печени наблюдалась тенденция к увеличению влияния активаторов: модификация ангидридами очищенной ГДГ печени повышала относительную амплитуду активации АДФ, для реакции сукцинирования показано достоверное увеличение активации лейцином. В препарате ГДГ митохондрий печени было выявлено усиление эффекта лейцина при ацетилировании и глутарилировании ГДГ. Напротив, ацилирование ГДГ мозга не влияло на аллостерическую регуляцию. На основании данных масс-спектрометрии и кристаллических структур ГДГ (3АОЕ, 1HWY, 3JDO, 6DNK) предполагается ацилирование в исследованных препаратах ГДГ остатков лизина в сайтах связывания 2-оксоглутарата (171, 183), лейцина (211), АДФ (545, 548), НАД(Ф)Н (191, 352) и ГТФ (346, 503).

Определены различия в регуляции ГДГ митохондрий мозга и печени крысы ацилированием. Ацетилирование ГДГ инактивирует фермент мозга и печени. Глутарилирование и сукцинирование не влияют на ГДГ мозга, но регулируют ГДГ печени, снижая базальную активность ГДГ и увеличивая эффект активаторов.

Выполнено при поддержке гранта РНФ № 18-14-00116.

Источники и литература

- 1) Matthew D. Hirsche, Metabolic regulation by lysine malonylation, succinylation and glutarylation, *Molecular & Cellular Proteomics*, 14 (9), 2308-2315.
- 2) McKenna MC, Glutamate oxidation in astrocytes: Roles of glutamate dehydrogenase and aminotransferases. *J Neurosci Res.* 2016 Dec;94(12):1561-1571.

- 3) Mkrtychyan G, Molecular mechanisms of the non-coenzyme action of thiamin in brain: biochemical, structural and pathway analysis, *Anal Biochem*, 552:100-109.
- 4) Cleanthe Spanaki, (2012), The Role of Glutamate Dehydrogenase in Mammalian Ammonia Metabolism, *A. Neurotox Res*, 21:117.