

**Использование метода “затравки” для индукции амилоидной агрегации
альфа-синуклеина**

Научный руководитель – Кудрявцева София Станиславовна

Булатханова Саният Мусахайиховна

Студент (магистр)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: Saniyat200324@mail.ru

Введение. Нейродегенеративные заболевания — серьёзная проблема современной медицины, связанная с агрегацией белков. Одним из таких белков является альфа-синуклеин (a-syn), вызывающий синуклеинопатию. Хотя механизмы накопления и распространения патологических форм a-syn ЦНС до конца не изучены, ряд работ указывает, что данный процесс может идти по пути, напоминающему развитие прионной инфекции. Мы хотели попробовать адаптировать использующийся для выявления прионных заболеваний RT-QuIC анализ под изучение агрегации альфа-синуклеина, запустив её с помощью затравки из предварительно подготовленных амилоидных частиц - ядер. Новый протокол может открыть перспективы для диагностики нейродегенеративных заболеваний.

Методы. Кинетику агрегации альфа-синуклеина дикого типа и его мутантной формы A53T (ранний паркинсонизм) с добавлением амилоидных ядер исследовали в присутствии флуоресцентных красителей, позволяющих отслеживать образование амилоидных частиц. Эксперименты с тиофлавином T проводили на планшетном ридере Clariostar, в то время как пробы с конго красным изучали с помощью спектрофотометра Shimadzu UV-1601. Также определяли размер получаемых частиц методом динамического рассеяния света (ДЛС).

Результаты. Показано, что в присутствии ядер агрегация обоих типов a-syn три раза быстрее. Более того, конечный уровень флуоресценции тиофлавина T также возрастает в несколько раз. Кинетику процесса повторно изучили с помощью конго красного, чтобы исключить получение ложных результатов за счёт длительного присутствия в пробе тиофлавина T. Спектры флуоресценции конго красного, также как и показанный с помощью ДЛС постепенный рост диаметра частиц в пробах подтверждает полученные ранее данные об образовании в ходе реакции амилоидных агрегатов. Проведённая позже электронная микроскопия показала, что агрегаты — упорядоченные фибриллы.

Выводы. В процессе исследования было обнаружено, что добавление инициатора значительно ускоряет процесс агрегации обоих форм синуклеина и вероятно усиливает её.