

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СИСТЕМЫ *CHAETOPTERUS VARIOPEDATUS* ДЛЯ МОНИТОРИНГА ФЕРРОПТОЗА В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ

А. С. Щеглов , А. С. Царькова

Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Москва, Россия

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Ферроптоз — особый тип программируемой гибели клеток, связанный с интенсивным окислением липидов под действием свободных ионов двухвалентного железа. Новые индукторы и супрессоры ферроптоза могут стать основой для создания препаратов для лечения нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Для поиска таких индукторов (супрессоров) ферроптоза необходимо детектировать этот процесс в живых клетках или у лабораторных животных. Люцифераза (фотопротеин) морского дракона *Chaetopterus variopedatus* для своей активности требует помимо двух кофакторов наличия ионов железа и пероксида водорода (либо органических гидропероксидов). Соответственно биолюминесцентная система морского дракона может быть использована для мониторинга ферроптоза в живых организмах.

Ключевые слова: ферроптоз, окисление липидов, биолюминесценция, люцифераза, люциферин, биоимиджинг, биомедицина, морской дракон, *Chaetopterus*

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-74-10102).

Благодарности: авторы признательны Центру высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины (Москва) за помощь в проведении исследования.

Вклад авторов: А. С. Щеглов — идея публикации, анализ литературы, написание статьи; А. С. Царькова — анализ литературы, написание статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Александр Сергеевич Щеглов
ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, г. Москва, 117997; jukart@mail.ru

Статья получена: 05.05.2021 **Статья принята к печати:** 12.05.2021 **Опубликована онлайн:** 30.05.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.024

THE POTENTIAL OF USING THE BIOLUMINESCENT SYSTEM OF *CHAETOPTERUS VARIOPEDATUS* TO STUDY FERROPTOSIS IN LIVING ORGANISMS

Shcheglov AS , Tsarkova AS

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Ferroptosis is a form of programmed cell death associated with iron-dependent lipid peroxidation. Novel ferroptosis inducers and suppressors could be instrumental in developing drugs against neurodegenerative disorders and cancer. Prior to embarking on a search for ferroptosis inducers/suppressors, this form of cell death must be studied in living cells and laboratory animals. In addition to two cofactors, luciferase (or photoprotein) of the parchment tubeworm *Chaetopterus variopedatus* requires the presence of iron ions and hydrogen peroxide or organic hydroperoxides to exert its activity. Therefore, the bioluminescence system of the parchment tubeworm can be used to study ferroptosis in living organisms.

Keywords: ferroptosis, lipid peroxidation, bioluminescence, luciferase, luciferin, bioimaging, biomedical research, parchment worm, *Chaetopterus*

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation (Project 18-74-10102).

Acknowledgements: the authors thank the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine (Moscow) for their help.

Author contribution: Shcheglov AS — study conception, literature analysis, manuscript preparation; Tsarkova AS — literature analysis, manuscript preparation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexander S. Shcheglov
Miklouho-Maclay, 16/10, Moscow, 117997; jukart@mail.ru

Received: 05.05.2021 **Accepted:** 12.05.2021 **Published online:** 30.05.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.024

Ферроптоз — новый вид программируемой клеточной гибели

Программируемая клеточная смерть — это процесс гибели клеток вследствие действия специальных внутриклеточных механизмов. Она встречается не только у высших животных, но и у беспозвоночных, растений, бактерий и грибов. Значение программируемой клеточной гибели для нормального развития и жизнедеятельности организма сложно переоценить [1]. Эмбриональное развитие и морфогенез, обновление тканей, иммунный ответ, воспаление, элиминация злокачественных и зараженных вирусами клеток — во всех этих процессах важную роль играет программируемая клеточная гибель. Избыточная или недостаточная программируемая клеточная гибель приводит к различным нарушениям, таким как нейродегенеративные, аутоиммунные, онкологические и

другие заболевания. Важность изучения программируемой клеточной гибели была подчеркнута присуждением двух Нобелевских премий по физиологии и медицине за работы по этой тематике — в 2002 и 2016 г. Первым описанным механизмом программируемой клеточной гибели был апоптоз [2]. В настоящее время известно не менее десятка различных неапоптотических механизмов программируемой клеточной гибели, таких как аутофагия, некроптоз, ферроптоз, пироптоз, партанатоз, энтоз, нетоз и др. [1]. Несмотря на интенсивные исследования, наши знания об этих процессах остаются неполными.

Интересным и перспективным с точки зрения практического использования вариантом программируемой клеточной гибели является ферроптоз. В 2004 г. было обнаружено, что новое гетероциклическое соединение эрастин вызывает ранее неизвестный неапоптотический вид клеточной гибели [3]. Эрастин

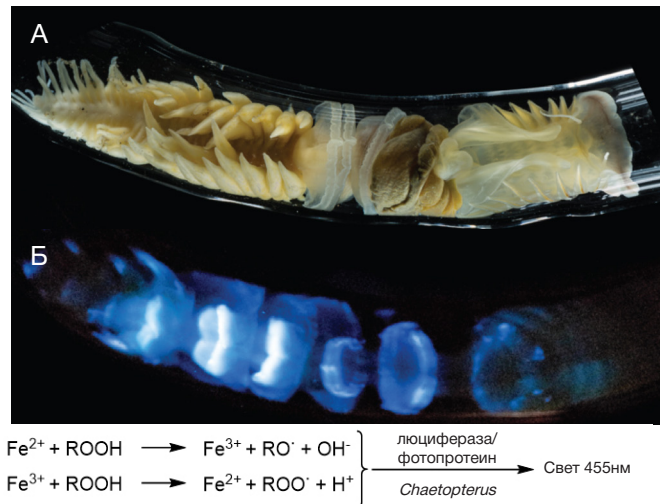


Рис. Биолюминесценция *Chaetopterus variopedatus*: сверху — особь, извлеченная из трубки, на свету (А) и в темноте (Б); снизу — возможный механизм биолюминесценции. (По данным: Mirza JD et al., 2020; фотографии предоставлены Альваро Миготто и Андерсоном Оливейра.)

напрямую взаимодействует с митохондриальными потенциалзависимыми анионными каналами (VDAC), и его действие ингибируют антиоксиданты, такие как альфа-токоферол, бутилированный гидрокситолуол и бета-каротин [4]. При обработке клеток эрастином клеточную гибель ингибируют хелатирующие агенты, связывающие двухвалентное железо [5]. В 2012 г. Диксон с соавторами предложили термин ферроптоз — особый тип программируемой клеточной гибели, связанный с интенсивным окислением липидов, вызванным наличием свободных ионов двухвалентного железа. Ферроптоз генетически, биохимически и морфологически отличается от апоптоза, некроза и аутофагии [1, 6]. В отличие от апоптоза, при ферроптозе не происходит изменений клеточного ядра и конденсации хроматина, но уменьшается объем митохондрий, возрастает плотность их мембран, уменьшаются или исчезают митохондриальные кристы [5, 6]. В процессе ферроптоза падает активность глутатион-пероксидазы 4 (GPX4), происходит зависимое от ионов двухвалентного железа окисление липидов и накопление гидропероксидов липидов, которое приводит к гибели клеток [5, 7]. Накопление двухвалентного железа и образование гидропероксидов липидов, приводящие к повреждению клеток, можно наблюдать при ряде нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, атаксия Фридрейха и других патологических процессах, включающих боковой амиотрофический склероз, перивентрикулярную лейкомаляцию, ишемический инсульт, травматические повреждения мозга и острую травму почек. Протекание вышеперечисленных заболеваний предположительно связано с запуском ферроптозного каскада [8]. В то же время, поскольку раковые клетки содержат повышенное количество ионов двухвалентного железа, индукция ферроптоза является перспективной стратегией терапии устойчивых к апоптозу опухолей. Показано, что противоопухолевый препарат сорафениб, эффективный для лечения рака почки, индуцирует ферроптоз [9]. Таким образом, изучение механизмов ферроптоза, поиск новых индукторов и супрессоров ферроптоза актуальны для создания новых препаратов для лечения нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Однако для масштабных скринингов новых индукторов (супрессоров) ферроптоза необходимо в первую очередь разработать эффективную систему

для мониторинга этого процесса в живых клетках или у лабораторных животных.

Биолюминесцентная система *Chaetopterus variopedatus* и перспективы ее использования

В современной биотехнологии и диагностике широко используют методы, основанные на биолюминесценции, так как они обладают высокой чувствительностью и низким фоновым сигналом. Биолюминесцентные системы применяют для тестов на различные аналиты, иммунологических анализов, анализов экспрессии генов, скринингов потенциальных лекарственных препаратов, биоимиджинга живых организмов, визуализации внутриклеточных структур и процессов, исследований онкологических и инфекционных заболеваний, мониторинга окружающей среды [10]. Такие системы широко распространены в природе, однако хорошо изучено и адаптировано для применения всего несколько. Расшифровка новых биолюминесцентных систем позволит создать на их основе новые методы для практического использования [11]. Одной из малоизученных и необычных систем является биолюминесцентная система морского дракона — многощетинкового червя *Chaetopterus variopedatus* (см. рис.). Этот организм-фильтратор обитает на морском дне в трубках-домиках. При извлечении из домика тело морского дракона светится, кроме того, он может выделять светящуюся слизь. Биологическая роль, как и молекулярные основы этого механизма, пока не совсем понятны [12]. Согласно полученным ранее данным, фотопротеин морского дракона *Chaetopterus variopedatus* для своей активности требует, помимо двух кофакторов, наличия ионов железа и пероксида водорода (либо органических гидропероксидов) [13]. Позднее было показано, что биолюминесцентная система *Chaetopterus variopedatus* функционирует скорее по классическому механизму «люциферин–люцифераза» и зависит от присутствия ионов двухвалентного железа [14].

Поскольку в процессе ферроптоза происходит как накопление свободных ионов двухвалентного железа, так и образование большого количества различных активных форм кислорода, при развитии ферроптоза в клетках, экспрессирующих люциферазу морского дракона и содержащих необходимые кофакторы, будет возникать люминесцентный сигнал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значение программируемой клеточной гибели для нормального развития и жизнедеятельности организма сложно переоценить, ее нарушения приводят к различным патологиям, таким как нейродегенеративные, аутоиммунные, онкологические и другие заболевания. Ферроптоз — особый неапоптотический тип программируемой клеточной гибели,

связанный с интенсивным окислением липидов, вызванным наличием свободных ионов двухвалентного железа. Изучение механизмов ферроптоза, поиск новых индукторов и супрессоров ферроптоза — актуальная научная и практически значимая задача. Биолуминесцентная система морского дракона является перспективным инструментом для мониторинга ферроптоза в живых лабораторных организмах.

Литература

1. Tang D, Kang R, Berghe TV, Vandenabeele P, Kroemer G. The molecular machinery of regulated cell death *Cell Research* 2019, 29: 347–64, DOI: 10.1038/s41422-019-0164-5.
2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972; 26 (4): 239–57. DOI: 10.1038/bjc.1972.33.
3. Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*. 2003; 3: 285–96. DOI: 10.1016/S1535-6108(03)00050-3.
4. Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, Bauer AJ., Yang WS, Fridman DJ, et al. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*. 2007; 447: 864–8. DOI: 10.1038/nature05859.
5. Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol*. 2008; 15: 234–45. DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.02.010.
6. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012; 149: 1060–72. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
7. Angeli JPF, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol*. 2014; 16: 1180–91. DOI: 10.1038/ncb3064.
8. Li J, Cao F, Yin H-I, Huang Z-j, Lin Z-t, Mao N, et al. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis*. 2020; 11 (2): 88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.
9. Yan H-F, Zou T, Tuo Q-Z, Xu S, Li H, Belaidi AA, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6 (1): 49. DOI:10.1038/s41392-020-00428-9.
10. Syed AJ, Anderson JC. Applications of bioluminescence in biotechnology and beyond. *Chem Soc Rev*. 2021 Mar 18. DOI: 10.1039/d0cs01492c.
11. Oba Y, Stevani CV, Oliveira AG, Tsarkova AS, Chepurnykh TV, Yampolsky IV. Selected least studied but not forgotten bioluminescent systems. *Photochem Photobiol*. 2017; 93 (2): 405–15. DOI: 10.1111/php.12704.
12. Mirza JD, Migotto ÁE, Yampolsky IV, de Moraes GV, Tsarkova AS, Oliveira AG. Chaetopterus variopedatus bioluminescence: A review of light emission within a species complex. *Photochem Photobiol*. 2020; 96 (4): 768–78. DOI: 10.1111/php.13221.
13. Shimomura O, Johnson FH. Chaetopterus photoprotein: crystallization and cofactor requirements for bioluminescence. *Science*. 1968; 159 (3820): 1239–40. DOI: 10.1126/science.159.3820.1239.
14. Purtov KV, Petushkov VN, Rodionova NS, Pakhomova VG, Myasnyanko IN, Myshkina NM, et al. Luciferin-Luciferase system of marine polychaete Chaetopterus variopedatus. *Dokl Biochem Biophys*. 2019; 486 (1): 209–12. DOI: 10.1134/S1607672919030104.

References

1. Tang D, Kang R, Berghe TV, Vandenabeele P, Kroemer G. The molecular machinery of regulated cell death *Cell Research* 2019, 29: 347–64, DOI: 10.1038/s41422-019-0164-5.
2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972; 26 (4): 239–57. DOI: 10.1038/bjc.1972.33.
3. Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*. 2003; 3: 285–96. DOI: 10.1016/S1535-6108(03)00050-3.
4. Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, Bauer AJ., Yang WS, Fridman DJ, et al. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*. 2007; 447: 864–8. DOI: 10.1038/nature05859.
5. Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol*. 2008; 15: 234–45. DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.02.010.
6. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012; 149: 1060–72. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
7. Angeli JPF, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol*. 2014; 16: 1180–91. DOI: 10.1038/ncb3064.
8. Li J, Cao F, Yin H-I, Huang Z-j, Lin Z-t, Mao N, et al. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis*. 2020; 11 (2): 88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.
9. Yan H-F, Zou T, Tuo Q-Z, Xu S, Li H, Belaidi AA, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6 (1): 49. DOI:10.1038/s41392-020-00428-9.
10. Syed AJ, Anderson JC. Applications of bioluminescence in biotechnology and beyond. *Chem Soc Rev*. 2021 Mar 18. DOI: 10.1039/d0cs01492c.
11. Oba Y, Stevani CV, Oliveira AG, Tsarkova AS, Chepurnykh TV, Yampolsky IV. Selected least studied but not forgotten bioluminescent systems. *Photochem Photobiol*. 2017; 93 (2): 405–15. DOI: 10.1111/php.12704.
12. Mirza JD, Migotto ÁE, Yampolsky IV, de Moraes GV, Tsarkova AS, Oliveira AG. Chaetopterus variopedatus bioluminescence: A review of light emission within a species complex. *Photochem Photobiol*. 2020; 96 (4): 768–78. DOI: 10.1111/php.13221.
13. Shimomura O, Johnson FH. Chaetopterus photoprotein: crystallization and cofactor requirements for bioluminescence. *Science*. 1968; 159 (3820): 1239–40. DOI: 10.1126/science.159.3820.1239.
14. Purtov KV, Petushkov VN, Rodionova NS, Pakhomova VG, Myasnyanko IN, Myshkina NM, et al. Luciferin-Luciferase system of marine polychaete Chaetopterus variopedatus. *Dokl Biochem Biophys*. 2019; 486 (1): 209–12. DOI: 10.1134/S1607672919030104.