

медления торсионной релаксации его фрагментов. Кроме того, можно заметить, что время затухания флуоресценции ThT в присутствии амилоидных фибрилл на основе исследуемых амилоидогенных белков различно. Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать заключение о том, что время жизни флуоресценции ThT, но не его анизотропия, как это отмечается в литературе (Sabate, Saure, 2007), может быть использовано для исследования кинетики образования амилоидных фибрилл и их полиморфизма.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 16-04-01614_а), стипендии Президента РФ (СП-841.2018.4), грантов Президента РФ (МК-512.2017.4) и СПбГУ (1.42.720.2017 и 1.40.1327.2017).

Список литературы

- Сулацкая А. И., Волова Е. А., Комиссарчик Я. Ю., Снигиревская Е. С., Маскевич А. А., Дробченко Е. А., Кузнецова И. М., Туроверов К. К. 2013. Исследование кинетики образования амилоидных фибрилл на основе инсулина. Цитология. 55 (11) : 809—814. (Sulatskaya A. I., Volova E. A., Komissar-chik Ya. Yu., Snigirevskaya E. S., Maskevich A. A., Drobchenko E. A., Kuznetsova I. M., Turoverov K. K. 2014. Investigation of the kinetics of insulin amyloid fibrils formation. Cell Tissue Biol. 8 : 186—191.)
- Чеботарева Н. А., Курганов Б. И., Ливанова Н. Б. 2004. Биохимические эффекты молекулярного краудинга. Биохимия. 69 : 1522—1536. (Chebotareva N. A., Kurganov B. I., Livanova N. B. 2004. Biochemical effects of molecular crowding. Biochemistry. 69 (11) : 1239—1251.)
- Kuznetsova I. M., Sulatskaya A. I., Maskevich A. A., Uversky V. N., Turoverov K. K. 2016. High fluorescence anisotropy of thioflavin t in aqueous solution resulting from its molecular rotor nature. Anal. Chem. 88 : 718—724.
- LeVine H., 3rd. 1993. Thioflavine T interaction with synthetic Alzheimer's disease beta-amyloid peptides: detection of amyloid aggregation in solution. Protein Sci. 2 : 404—410.
- LeVine H., 3rd. 1999. Quantification of beta-sheet amyloid fibril structures with thioflavin T. Methods Enzymol. 309 : 274—284.
- Maskevich A. A., Stsiapura V. I., Kuzmitsky V. A., Kuznetsova I. M., Povarova O. I., Uversky V. N., Turoverov K. K. 2007. Spectral properties of thioflavin T in solvents with different dielectric properties and in a fibril-incorporated form. J. Proteome Res. 6 : 1392—1401.
- Mohanty J., Choudhury S. D., Pal H., Bhasikuttan A. C. 2012. Early detection of insulin fibrillation: a fluorescence lifetime assay to probe the pre-fibrillar regime. Chem. Commun. 48 : 2403—2405.
- Sabate R., Saure S. J. 2007. Thioflavin T fluorescence anisotropy: an alternative technique for the study of amyloid aggregation. Biochem. Biophys. Res. Commun. 360 : 135—138.
- Serio T. R., Cashikar A. G., Moslehi J. J., Kowal A. S., Lindquist S. L. 1999. Yeast prion [PSI⁺] and its determinant, Sup35. Methods Enzymol. 309 : 649—673.
- Sulatskaya A. I., Kuznetsova I. M., Belousov M. V., Bondarev S. A., Zhouravleva G. A., Turoverov K. K. 2016. Stoichiometry and affinity of thioflavin T binding to Sup35p Amyloid Fibrils. PLoS ONE. 11: e0156314.

Поступила 6 VII 2018

FLUORESCENCE LIFETIME AND ANISOTROPY OF FREE AND BOUND TO AMYLOID FIBRILS THIOFLAVIN T

M. I. Sulatsky,¹ A. I. Sulatskaya,^{1,*} N. P. Rodina,¹ M. V. Belousov,^{2,3} S. A. Bondarev,² G. A. Zhouravleva,² K. K. Turoverov,^{1,4} I. M. Kuznetsova¹

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064,

² St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034,

³ All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, St. Petersburg, 196608, and

⁴ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 195251;

* e-mail: ansul@mail.ru

In the present work, fluorescence decay curves of benzothiazole dye, thioflavin T (ThT), in water-glycerol mixtures, under macromolecular crowding conditions simulating the densely populated cell medium and bound to insulin and yeast prion protein (Sup35NM) amyloid fibrils were studied. It was shown that the dye fluorescence anisotropy in solutions with high viscosity, in the presence of crowding agents and bound to amyloid fibrils, is extremely high and practically does not differ from that of ThT in water solution. At the same time, the fluorescence lifetimes of ThT bound to insulin and Sup35NMp fibrils differ from each other and several orders of magnitude longer than that in aqueous solutions. It was suggested that the obtained results are caused by ThT molecular rotor nature. On the basis of this work results, it was concluded that the measurement of the ThT fluorescence lifetime (but not its fluorescence anisotropy) can be used to study the kinetics of amyloid fibrils formation and their polymorphism.

Key words: fluorescent probes, thioflavin T (ThT), amyloid fibrils, fluorescence anisotropy, fluorescence lifetime, fluorescence decay curves, insulin, Sup35NMp