

ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ ПОСРЕДСТВОМ ИОННЫХ КАНАЛОВ В КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ

Ионные каналы представлены в виде интегральных мембранных белков, которые контролируют канал нескольких ионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Cl^-) через липидные мембраны в клетках. Перенос ионов по открытому ионному каналу определяется электрохимическим градиентом для конкретных ионов через рассматриваемую мембрану [1]. Ионные каналы способствуют выполнению ряда функций. Так, они регулируют рН и объем клетки, обеспечивают пассивный транспорт ионов и воды через мембрану, внутриклеточную концентрацию ионов кальция [2]. Для изучения ионных каналов в возбужденных тканях используются различные электрофизиологические, биохимические, фармакологические, генетические и другие методы. В представленной работе применяются электрофизиологические методы, которые заключаются в регистрации потенциалов и токов, протекающих через мембрану возбудимой клетки [3].

Данное исследование направлено на исследование внеклеточных коммуникаций и взаимодействий по ионным каналам. Измерение внеклеточного тока проводилось с помощью ионоселективных электродов (ИСЭ), которые обладают такими преимуществами как высокая эффективность, точность и избирательность (Рисунок 1).

ИСЭ были изготовлены на углеродном волокне и модифицированы полиэлектролитами методом послойного осаждения (МПО). Сборка МПО была успешно реализована на катионообменной мембране, которая включает ионофор, обратимо связывающийся с определенным ионом. Такой подход обеспечивает высокую стабильность при измерении и хранении датчиков. ИСЭ были погружены в растворы соответствующих солей (KCl , NaCl , CaCl_2). Далее проводилась калибровка полученных электродов на стандартных растворах солей. Значения потенциала непрерывно контролировалось с помощью потенциостата. Электродвижущая сила измерялась между рабочим ИСЭ и электродом сравнения.

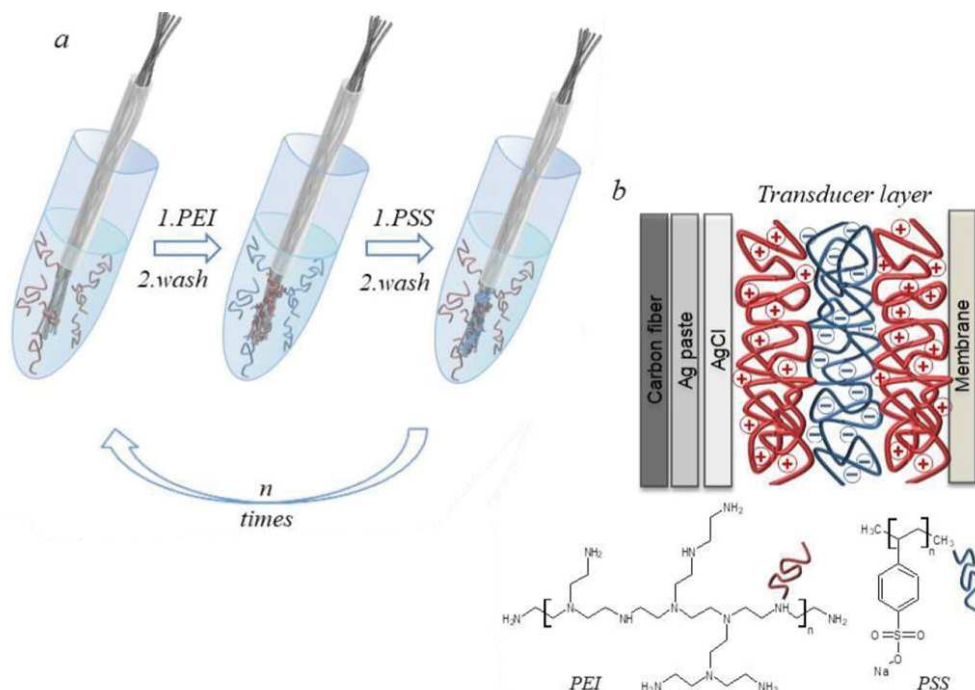


Рис 1. Ионоселективный электрод: модификация углеродного волокна послойной сборкой полиэлектrolита (а), общая схема ионоселективного электрода (б).

Остеобласты C2C12 были выбраны в качестве контрольной клеточной линии для исследования кальциевых каналов из-за их высокой чувствительности к ионам Ca^{2+} . Так, после предварительной калибровки электроды погружали в среду с клетками для обнаружения ионов кальция. Активация кальциевых каналов проходила добавлением рецептора, связанного с G-белком, норадреналина в различных концентрациях. В ходе работы проводилось фиксирование скачков тока, которые связаны с клеточной коммуникацией и доказывают ее активность во время активации каналов.

Таким образом, предложенная система в дальнейшем будет оптимизирована для обнаружения клеточных коммуникаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shad K.F., Salman S., Afridi S., Tariq M., Asghar S. Introductory Chapter: Ion Channels [электронный ресурс] // peer-reviewed chapter. 2021.
2. P. Subramanyam, H.M. Colecraft. Ion channel engineering: perspectives and strategies // Journal of molecular biology. – 2015 – Т. 427, № 1 – С. 190–204.
3. E. Nanou, W.A. Catterall. Calcium Channels, Synaptic Plasticity, and Neuropsychiatric Disease // Neuron. – 2018 – Т. 98, № 3 – С. 466-481.