

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОПРЯЖЕНИЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ В ПРОЦЕССЕ МЕХАНОЗАВИСИМОЙ АКТИВАЦИИ В МЕМБРАНЕ КЛЕТОК K562

© 2019 г. В. И. Чубинский-Надеждин^{1, *}, Ю. А. Негуляев^{1, 2}, Е. А. Морачевская¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251 Россия

*E-mail: vchubinskiy@gmail.com

Поступила в редакцию 20.04.2019 г.

После доработки 21.05.2019 г.

Принята к публикации 21.05.2019 г.

Механо-управляемые катионные каналы, активирующиеся при деформации мембраны, являются ключевыми участниками процессов передачи механических сигналов с клеточной поверхности к цитоплазматическим структурам. Оставалось неясным, каким образом реализуются механозависимые реакции с участием ионных каналов в нативных клетках. В данной работе анализировали развитие активности одиночных каналов в клетках миелоидной лейкемии человека K562 в ответ на подачу механического стимула — растяжения участка мембраны. Регистрация ионных токов с использованием классических вариантов метода патч-кламп позволила выявить функциональную кластеризацию и взаимодействие различных типов каналов в плазматической мембране в процессе механотрансдукции. В клетках K562 обнаружена сопряженная активация механочувствительных кальций-проводящих каналов и калиевых кальций-зависимых каналов. Записи токов в реальном масштабе времени демонстрируют, что поступление кальция из внеклеточной среды в цитоплазму через механо-управляемые каналы активирует локализованные с ними калиевые каналы, которые не имеют собственной механочувствительности. В экспериментах на клетках K562 и трансформированных фибробластах 3T3-SV40 показано сохранение функционального сопряжения каналов в процессе их механозависимой активации после действия деструктора микрофиламентов цитохалазина Д. Результаты позволяют полагать, что в плазматической мембране клеток K562 и 3T3-SV40 функционируют кластеры, включающие калиевые SK-каналы и белки Piezo1/2, формирующие стретч-активируемые катионные каналы.

Ключевые слова: патч-кламп, механочувствительные каналы, клеточная мембрана, локальный вход кальция, актиновый цитоскелет, клетки миелоидной лейкемии человека K562

DOI: 10.1134/S0041377119070113

Изменения клеточной механики вовлечены в основные аспекты жизнедеятельности клеток, включая подвижность, пролиферацию, апоптоз и дифференцировку. Передача механического сигнала в клетках эукариот связана, в первую очередь, с активацией ионных каналов плазматической мембраны и реорганизацией актинового цитоскелета. В системном анализе мембранных путей механотрансдукции центральную роль отводят механо-управляемым (mechanically gated) катионным каналам, активация которых индуцируется растяжением (stretch) или деформацией мембраны (Arnadottir, Chalfie, 2010). Такие каналы принято называть также стретч-активируемыми каналами (SAC-каналами). По-видимому, именно они вовлечены в важнейшие реакции живой клетки на изменения микроокружения.

Принятые сокращения: K_{Ca} — калиевые кальций-зависимые каналы, SAC-каналы (stretch activated channels) — стретч-активируемые каналы.

SAC-каналы вызывают повышенный интерес в связи с их предполагаемым участием в процессах клеточной адгезии и подвижности, они предлагаются в качестве перспективных мишеней противоопухолевой терапии (Maroto, Namill, 2007). Новый импульс эти исследования получили после идентификации трансмембранных белков Piezo1/2 как молекулярных коррелятов механочувствительных катионных SAC-каналов в клетках млекопитающих и человека (Coste et al., 2010). Однако многочисленные результаты, полученные в последние годы с использованием молекулярно-генетических подходов, оставляют открытыми вопросы о том, каким образом реализуются механозависимые реакции на уровне плазматической мембраны в нативных клетках.

Новым этапом в изучении клеточной механотрансдукции стало выявление сопряженной активации различных типов катионных каналов в ответ на подачу механического стимула. Благодаря применению классических вариантов метода патч-кламп для