

РОЛЬ ХОЛЕСТЕРИНА В МЕМБРАННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ TRPV5 В Т-КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА ЛИНИИ JURKAT

© 2020 г. Л. В. Кевер¹, С. Б. Семенова¹, *

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: svsem@incras.ru

Поступила в редакцию 10.10.2019 г.

После доработки 08.11.2019 г.

Принята к публикации 11.11.2019 г.

Многие ионные каналы локализуются в областях плазматической мембраны, обогащенных холестерином и сфинголипидами, известных как липидные рафты. Проблема взаимодействия ионных каналов с рафтами является одной из самых малоизученных в современной биологии и физиологии. В настоящей работе мы исследовали роль липидных рафтов в мембранной локализации кальциевых каналов TRPV5 (transient receptor potential vanilloid, type 5), обнаруженных нами ранее в Т-клетках человека линии Jurkat. Иммунофлуоресцентный анализ клеток показал примембранную локализацию белков TRPV5 и их колокализацию с липидными рафтами. Уменьшение мембранного холестерина с использованием метил-β-циклодекстрина (МБЦД) приводило к уменьшению поверхностной экспозиции каналов и их диффузному распределению в цитоплазме клеток. Анализ изображений клеток, полученный с помощью иммуноэлектронной микроскопии выявил локальные скопления белков TRPV5 в виде кластеров в плазматической мембране клеток. Экстракция мембранного холестерина и разрушение липидных рафтов приводили к исчезновению кластеров каналов и уходу каналов TRPV5 с плазматической мембраны клеток в цитоплазму. В целом полученные результаты показали, что локализация кальциевых каналов TRPV5 в виде кластеров в плазматической мембране критически зависит от уровня холестерина и целостности липидных рафтов в Т-клетках линии Jurkat.

Ключевые слова: кальциевые каналы TRPV5, холестерин, липидные рафты, иммуноэлектронная микроскопия, Т-клетки Jurkat

DOI: 10.31857/S0041377120030037

Кальций-проводящие каналы TRP представляют собой полимодальные ионные датчики, которые, реагируя на различные физические и химические раздражители, интегрируют множество сигналов, поступающих в клетку. Каналы TRP участвуют в подавляющем большинстве реакций организма, включая зрительную, обонятельную, болевую и температурную рецепции (Montell et al., 2002; Clapham, 2003; Flockerzi, 2007). Они задействованы в нейрогенезе, развитии мозга и синаптической трансмиссии (Vennekens et al., 2012). Ряд каналов TRP участвует в иммунитете и обменных процессах организма (Fernandes, 2012). Поэтому неудивительно, что дисфункции многих каналов суперсемейства TRP приводят к развитию различных заболеваний (Nilius, 2007).

Являясь интегральными белками, каналы TRP чувствительны к липидному составу мембраны, в которую они встроены. До недавних пор считалось, что липиды играют в клетке только пассивную роль, являясь простыми строительными блоками для мембран, разграничивая внутриклеточные компартменты и отделяя внутреннюю среду от внеклеточной среды клетки. Однако за последние десятилетия возникло новое понимание роли липидов в жизнедеятельности клеток. Стало известно, что основные липиды плазматической мембраны, такие, как холестерин и сфинголипиды могут плотно упаковываться вместе, образуя микродомены (липидные рафты), участвующие во многих функциональных реакциях клеток (Simons, Toomre, 2000; Pizzo, Viola, 2003). Известно участие рафтов в таких процессах, как транспорт мембранных белков, сборка сигнальных комплексов, передача нервных импульсов, эндо- и экзоцитоз, а также регуляция активности ионных каналов

Принятые сокращения: МБЦД – метил-β-циклодекстрин; FITC-СТВ – конъюгат β-субъединицы холерного токсина и флуоресцентного красителя FITC; TRPV5 – transient receptor potential vanilloid, type 5.