

## МИКРОТРУБОЧКИ И АКТИНОВЫЕ ФИЛАМЕНТЫ УЧАСТВУЮТ В ОБЕСПЕЧЕНИИ СЛИЯНИЙ И РАЗДЕЛЕНИЙ ВЕЗИКУЛ НА ЭНДОЦИТОЗНОМ ПУТИ ЭФР-РЕЦЕПТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

© 2020 г. М. В. Харченко<sup>1, \*</sup>, М. В. Злобина<sup>1, 3</sup>, Р. С. Каменцева<sup>1</sup>, Е. С. Корнилова<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

<sup>3</sup>Центрально-Европейский Технологический Институт, Университет Масарика, Брно, 62500 Чехия

\*E-mail: mariannakharchenko@gmail.com

Поступила в редакцию 02.02.2020 г.

После доработки 21.02.2020 г.

Принята к публикации 21.02.2020 г.

Исследовали влияние разборки микротрубочек нокодазолом и деполимеризации актинового цитоскелета цитохалазином Д, а также их сочетанного действия на динамику эндоцитоза комплексов эпидермального фактора роста и его рецептора в клетках HeLa. С помощью конфокальной микроскопии показали, что в клетках, фиксированных через разные промежутки времени после стимуляции эндоцитоза, на его ранних стадиях имеет место высокая степень колокализации рецептора с маркером ранних эндосом EEA1, коррелирующая с укрупнением эндосом в результате слияний, и перемещение эндосом на более поздних стадиях в околядерную область (ОЯО). Перемещение в ОЯО зависит от микротрубочек. Нокодазол не препятствует формированию эндосом, но блокирует их слияния и перемещение. В то же время разрушение актиновых микрофиламентов, не нарушая процесса EEA1-зависимых слияний и транспортировки эндосом в ОЯО, приводит к укрупнению эндосом, препятствуя разделению ранних эндосом и созревших мульти-везикулярных эндосом. При разрушении обоих типов цитоскелета вновь сформированные рецептор-содержащие эндоцитозные пузырьки не укрупняются, не созревают и не перемещаются в ОЯО. Прижизненная съемка эндосом с ЭФР, связанным с квантовыми точками, подтвердила данные, полученные на фиксированных клетках, и позволила проанализировать характер перемещений эндосом. Оказалось, что редкие периоды быстрого линейного пробега сменяются длительными хаотическими колебаниями в пределах небольшой области, при этом направления линейных пробегов могут быть совершенно различными, а не только в сторону ЦОМТ. Наши данные позволяют предположить, что роль микротрубочек заключается не только в обеспечении перемещения эндосом, но и в обеспечении платформы для их слияний. Это предположение может объяснить и кажущиеся хаотичными перемещения эндосом, позволяющие повысить вероятность их контактов и, следовательно, слияний.

**Ключевые слова:** рецептор ЭФР, эндоцитоз, эндосомы, слияния, EEA1, микротрубочки, микрофиламенты, нокодазол, цитохалазин Д

**DOI:** 10.31857/S004137712005003X

Система тубулиновых микротрубочек и актиновых микрофиламентов выполняет в эукариотических клетках множество функций — от придания механической прочности клетке до участия в ее делении. В культивируемых эпителиальных клетках система микротрубочек организована радиально, имея центр схождения (ЦОМТ) в околядерной области, в непосредственной близости от аппарата Гольджи и большей части лизосом. В связи с этим сложилось устойчивое представление об интерфаз-

ных микротрубочках как о “рельсах”, обеспечивающих перемещения везикул и аггросом на большие (по меркам клетки) расстояния с помощью моторных белков. Такая организация позволяет упорядочивать процессы эндоцитоза, в ходе которых везикулы с грузом, формируемые практически на всей поверхности плазматической мембраны, могут концентрироваться в околядерной области (ОЯО), что повышает вероятность их взаимодействия, в частности, с лизосомами, и увеличивает эффективность деградации груза (Matteoni, Kreis, 1987). Радиальные микротрубочки также обеспечивают эффективность доставки экзоцитозных пузырьков и секреторных гранул от транс-сети аппарата Гольджи к плазматической мембране.

**Принятые сокращения:** КТ — квантовые точки; ОЯО — околядерная область; ЦОМТ — центр организации микротрубочек; ЭФР — эпидермальный фактор роста; EEA1 — early endosomal autoantigen 1; TSA — трихостатин А; ЭФР-КТ — эпидермальный фактор роста, связанный с квантовой точкой.