

Оптические методы и исследование субклеточной структуры функционирующей клетки

Г. В. Максимов

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия;

Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия

Представлен анализ результатов исследований трехмерной структуры функционирующих клеток с помощью методов оптической томографии, атомно-силовой микроскопии, лазерной интерференционной (ЛИМ), сканирующей ион-проводящей микроскопии (Scanning Ion-Conductance Microscopy – SICM) и Раман - микроскопии. Отмечается, что без использования специфических маркеров, данный комплекс методов позволят контролировать динамику внутриклеточных процессов, связанных с перераспределением внутриклеточных везикул, изменением структуры цитоскелета и морфологии клетки.

Ключевые слова: Оптические методы, Клетка, Структура.

Цитирование: Максимов, Г. В. Оптические методы и исследование субклеточной структуры функционирующей клетки / Г. В. Максимов // HOLOEXPO 2022: XIX Международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям : Тезисы докладов. — Барнаул: ИП Колмогоров И. А., 2022. — С. 391–392.

Активация специфических рецепторов при генерации и проведении возбуждения в нервной клетке инициирует цепь биофизических процессов, вызывающих как изменение трансмембранного потенциала, перераспределение ионов, так и перестройку цитоскелета, экзоцитоз везикул, а также к объема клетки и синтез АТФ в митохондриях. В данной работе, с помощью сканирующей ион-проводящей микроскопии, атомно-силовой микроскопии, лазерной интерференционной микроскопии, стационарной флуориметрии и спектроскопии комбинационного рассеяния исследовали изменение топографии поверхности клеток и жесткости структур цитоплазмы нейронов в норме и при возбуждении нервной клетки.

Установлено, что при активации рецепторов ацетилхолина (АХР) в нейронах наблюдаются изменения десорбции мембраносвязанного Ca^{2+} , жесткости цитоплазмы клетки (модуль Юнга) и амплитуды оптической разности хода структур цитоплазмы клеток (ОРХ). Предположено, что увеличение ОРХ в примембранной области (мембранный и примыкающий к мембране слои цитоплазмы) при активации АХР, связано с вектором распределения везикул в цитоплазме нейронов. Доказано, что изменение жесткости структур цитоплазмы при активации АХР обусловлены изменениями распределения и конформации белков цитоскелета, участвующих в цитоплазматическом транспорте и высвобождении везикул. Выявленные эффекты могут быть связаны с экзоцитозом везикул из нейрона за счет десорбции мембраносвязанного Ca^{2+} и увеличения концентрации внутриклеточного Ca^{2+} . Вероятно, экзоцитоз серотонинсодержащих везикул (ССВ) осуществляется не равномерно, а на поверхности нейролеммы существуют сайты для формирования кластеров ССВ везикул в местах с различным локальным поверхностным зарядом. Активация АХР вызывает вход Ca^{2+}

через каналы L-типа и/или десорбцию мембраносвязанного Ca^{2+} , что последовательно стимулирует изменение вязкости плазматической мембраны нейрона и экзоцитоз везикул, а также активирует выход Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума. Вероятно, увеличение внутриклеточного Ca^{2+} , контролируя синтез АТФ в митохондриях, активирует подвижность молекул кинезина, и кластеры ССВ транспортируются ближе к цитоплазматической поверхности нейролеммы. Таким образом, кластеры периферических ССВ и митохондрии получают больше Ca^{2+} и АТФ, чем в центре клетки. Предположено, что слияние ССВ с нейролеммой способствует выходу серотонина и активации серотониновых рецепторов, локализованных на экстраклеточной поверхности мембраны, что повышает вклад фосфолипазы С в образовании инозитолтрифосфата, стимулирует выход Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума, усиливая экзоцитоз ССВ.

Благодарность

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№ 19-79-30062), а также Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

Optical methods and study of the subcellular structure of a functioning cell

G. V. Maksimov

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

National Research Technological University «MISIS», Moscow, Russia

An analysis of the results of studies of the three-dimensional structure of functioning cells using the methods of optical tomography, atomic force microscopy, scanning ion-conductance microscopy, laser interference and Raman microscopy is presented. It is noted that without the use of specific markers, this set of methods will make it possible to control the dynamics of intracellular processes associated with the redistribution of intracellular vesicles, changes in the structure of the cytoskeleton and cell morphology.

Keywords: Optical methods, Cell, Structure.