

Оценка осцилляций митохондриального трансмембранного потенциала

Научный руководитель – Плотников Егор Юрьевич

Денисова А.А.¹, Попков В.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: savouriess2112@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, Москва, Россия, *E-mail: popkov.vas@gmail.com*

Митохондрии - это двумембранные органеллы, основной функцией которых принято считать обеспечение клетки энергией. На их внутренней мембране за счет трансмембранного транспорта протонов образуется электрохимический градиент, состоящий из электрического потенциала и разницы рН по разные стороны мембраны. Этот трансмембранный потенциал обеспечивает движущую силу для синтеза АТФ, и его изменения сильно влияют на биоэнергетику клетки. В условиях метаболического стресса потенциал на внутренней мембране может изменяться, причем в отдельных случаях, эти изменения носят периодический, осциллирующий характер [1] когда падения величины потенциала чередуются с его повышением.

Ранее осцилляции митохондриального потенциала исследовались в основном для различных типов дифференцированных клеток. В данной работе мы исследовали наличие осцилляций митохондриального потенциала на мезенхимальных стволовых клетках. Было показано, что в этих клетках фотодинамически индуцированный окислительный стресс также сопровождается осцилляциями мембранного потенциала митохондрий. Фотодинамический стресс вызывали облучением нагруженных флуоресцентным зондом TMRE клеток лазером с длиной волны 543 нм на конфокальном лазерном микроскопе. В результате экспериментов были подобраны оптимальные для визуализации концентрации веществ, оказывающих влияние на энергетический метаболизм. После инкубации клеток с этими веществами проводилась съемка изображений с частотой 3 кадра в секунду на конфокальном микроскопе. Для подсчета изменения интенсивности флуоресценции отдельной митохондрии в процессе облучения был разработан подход, который на конфокальном изображении измеряет характеристики нагруженных TMRE органелл: площадь, периметр, среднюю интенсивность флуоресценции в каждом кадре видео. Анализ общей интенсивности флуоресценции при добавлении ингибитора гликолиза 2-дезоксид-Д-глюкозы показал, что уменьшение скорости клеточного метаболизма при одновременном увеличении роли электрон-транспортной цепи в обеспечении клетки энергией приводит к падению частоты осцилляций мембранного потенциала, увеличению амплитуды колебаний и уменьшению тотальной флуоресценции.

Таким образом в работе был разработан методический подход к прижизненной оценке осцилляций трансмембранного потенциала индивидуальных митохондрий в клетке методами конфокальной микроскопии. Полученные результаты свидетельствуют о наличии зависимости между метаболической активностью клетки и ее способностью регулировать колебания митохондриального потенциала, вызванные фотодинамическим стрессом. В дальнейшем мы планируем расширить список анализируемых веществ, а также увеличить точность выделения органелл при цифровом анализе изображений.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-14-00173.

Источники и литература

- 1) Zorov, D. B., Juhaszova, M., & Sollott, S. J. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. In *Physiological Reviews* (Vol. 94, Issue 3, pp. 909–950). American Physiological Society. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>