АКТИВАЦИЯ КАНАЛОВ TRPC1 КАЛЬЦИЕВЫМИ СЕНСОРАМИ STIM2 ВОВЛЕЧЕНО В ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗМЕНЕНИИ УРОВНЯ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛЬЦИЯ В ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ РЕТИКУЛУМЕ ПРИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Скобелева К.В., Рязанцева М.А.
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург (Россия)
ksu-sko@ya.ru

В 50% случаев наследственной болезни Альцгеймера (БА) наблюдаются мутации в гене, кодирующем белок преснелин-1 (PS1). Белок PS1 хорошо известен, как компонент комплекса гамма-секретазы, участвующей в разрезании белка предшественника амилоида. В связи с этим, предыдущие исследования связывали патологию БА с нарушениями в ферментативной активности PS1. Однако были обнаружены мутации в гене белка PS1, вызывающие БА, но не нарушающие ферментативную функцию белка. Было показано, что мутация PS1 M146V не нарушает активность гамма-секретазного комплекса, но приводит к изменениям в регуляции кальциевого гомеостаза в нейронах, включая нарушение депонирования кальция эндоплазматическим ретикулумом (ЭР).

В нашей работе мы исследовали влияние мутации PS1 M146V на регуляцию концентрации Ca^{2+} во внутриклеточных кальциевых депо клеток нейробластомы человека линии SK-N-SH. Содержание Ca^{2+} во внутриклеточных депо определяли с помощью флуоресцентного зонда Fura-2AM. Для оценки количества содержащегося в клетке Ca^{2+} использовался иономицин, приводящий к опустошению внутриклеточных кальциевых депо. Было обнаружено, что экспрессия мутанта приводит к повышению содержания Ca^{2+} во внутриклеточных депо по сравнению с клетками, экспрессирующими PS1 дикого типа. Снижение экспрессии кальциевого сенсора ЭР STIM2 с помощью shRNA уменьшало уровень Ca^{2+} в депо до контрольных значений. В связи с тем, что STIM2 может активировать депо-управляемые кальциевые каналы, образованные белком TRPC1, мы предположили, что увеличение концентрации Ca^{2+} в депо клеток может быть связано с активностью этих каналов. Снижение экспрессии белка TRPC1 с помощью shRNA тоже возвращало уровень Ca^{2+} в депо до контрольных значений. Также было установлено, что в клетках, экспрессирующих PS1 M146V наблюдается снижение уровня экспрессии белка TRPC1, но не белка Orai1, который является основной субъединицей CRAC-каналов, активируемых белком STIM1. Можно предположить, что снижение экспрессии TRPC1 является компенсаторным ответом клетки на активность STIM2 в клетках с экспрессией PS1 M146V.

Таким образом, обнаружено, что активность кальциевого сенсора ЭР STIM2 и депо-управляемых кальциевых каналов могут быть источником патологического повышения Ca^{2+} во внутриклеточных депо, вызванного экспрессией мутантного PS1 M146V.

Работа поддержана грантами: РФФИ, Zeiss («ОПТЭК»), МКБ, стипендия Президента РФ.

РОЛЬ ГАММА-ДЕЛЬТА Т ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРЕКЛЮЧЕНИИ ИЗОТИПОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В В-1 КЛЕТКАХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ Т-НЕЗАВИСИМЫХ АНТИГЕНОВ ВТОРОГО ТИПА (ТН-2 АГ)

Снегирева Н.А., Гаврилова М.В., Сидорова Е.В.
ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Москва (Россия)
hell59@mail.ru

В-1 клетки отвечают на Т-независимые антигенов второго типа (ТН-2 АГ) формированием IgM-антител и естественных иммуноглобулинов. В то же время в тонком кишечнике В-1 клетки могут переключаться с синтеза IgM на синтез IgA. Механизм переключения в отсутствие Т-помощи до сих пор остается неизвестным. В настоящее время изучается роль гамма-дельта Т клеток в переключении изотипов иммуноглобулинов в В-1 клетках под действием ТН-2 АГ.

В работе использовались мыши линии СВА. В-1 клетки получали из брюшной полости, а гамма-дельта Т клетки из тонкого кишечника. Чистота клеточных популяций определялась методом проточной цитофлоуриметрии. В качестве ТН-2 АГ использовали альфа (1→3) декстран.

В-1 и гамма-дельта Т клетки (10:1) культивировали в круглодонных 96-луночных плейтах в среде RPMI1640 с 10% ЭТС 4 суток в CO_2-инкубаторе с декстраном и без. Число IgM- и IgA-образующих клеток определяли методом ELISPOT.