

трансгенных мышей, у которых ген GFP экспрессирован под контролем промотора OMP - маркера зрелых обонятельных нейронов. У таких мышей зрелые нейроны, установившие контакт с обонятельной луковицей, обладают зеленой флуоресценцией. Для локализации аноктамина-1 мы использовали коммерческие специфические антитела и вторичные антитела, меченные AlexaFluor-647 с красной флуоресценцией. Обонятельный эпителий содержит три основных клеточных типа, расположенных рядами. Нижний ряд образован базальными клетками, далее следуют несколько рядов обонятельных нейронов, и верхний ряд образован опорными клетками. С помощью конфокальной микроскопии на срезах обонятельного эпителия красная флуоресценция была обнаружена в цитоплазматической мембране обонятельных нейронов, в опорных клетках она не детектировалась. При совмещении зеленой и красной флуоресценции поверхность зрелых зеленых нейронов окрашивалась желтым, мембраны незрелых нейронов имели красную флуоресценцию.

Эти результаты позволяют сделать вывод, что аноктамин-1 локализован в цитоплазматической мембране зрелых и незрелых обонятельных нейронов. К настоящему времени установлено, что аноктамин-1 экспрессирован в вомеронасальных нейронах, отвечающих за детекцию ферромонов, а также в синаптических терминалах фоторецепторных клеток. Мы впервые получили доказательства локализации этого белка в обонятельных нейронах мыши.

БЕЛКИ, УЧАСТВУЮЩИЕ В АКТИВАЦИИ И ПОДДЕРЖАНИИ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМОГО ВХОДА КАЛЬЦИЯ В НЕЙРОНАЛЬНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

Колобкова Ю.А., Вигонт В.А.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

kolobkova_yulia@mail.ru

Болезнь Хантингтона (БХ) – это нейродегенеративное заболевание, вызванное умножением в первом экзоне гена белка хантингтина кодона CAG, кодирующего глутамин. В норме количество глутамин-кодирующих повторов не превышает 35, в то время как при заболевании наблюдаются полиглутаминовые тракты длиной до 90 и более глутаминов.

В последнее время появляется все больше работ, в которых патогенез нейродегенеративных заболеваний, в том числе БХ, связывают с нарушениями нейрональной кальциевой сигнализации.

Кальций является универсальным вторичным посредником в клетке. Один из наиболее общих типов притока кальция из внеклеточной среды в цитозоль – депо-управляемый кальциевый вход, для активации которого необходимо понижение концентрации кальция во внутриклеточных депо.

Так как при БХ, в первую очередь, страдают нейроны стриатума (MSN), особый интерес представляет изучение нарушения кальциевой сигнализации в модели БХ на первичной культуре MSN.

Для создания модели БХ в клетках первичной культуры нейронов стриатума мыши мы использовали лентивирусную инфекцию, с помощью которой проэкспрессировали 1-й экзон мутантного белка хантингтина, содержащего полиглутаминовый тракт длиной 138 остатков глутамина (клетки MSN-138Q).

Результаты электрофизиологических экспериментов (метод Patch-clamp в конфигурации whole-cell) показали, что депо-управляемый вход кальция в клетках MSN-138Q существенно (в 2 раза) выше, чем в клетках, экспрессирующих 1-й экзон хантингтина с длиной тракта 15 остатков глутамина (что является нормой) и в интактных клетках MSN.

Важными участниками регуляции депо-управляемого кальциевого входа. в клетках являются каналобразующие белки TRPC1, Orai1 и белок STIM1 – сенсор кальция в люмене эндоплазматического ретикулума.

Для того, чтобы исследовать роль данных белков в поддержании депо-управляемого входа в клетках MSN-138Q мы подавили их экспрессию в этих клетках с помощью малых интерферирующих РНК.