Исследование сезонных изменений свойств мембранных препаратов

саркоплазматического ретикулума скелетных мышц суслика

Spermophilus undulatus

Лерхендорф Юлия Александровна

студентка

Российский государственный медицинский университет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия E-mail: v.skylink@mail.ru

Известно, что млекопитающие, проводящие зиму в состоянии зимней спячки (гибернации), способны переносить снижение температуры тела от 37°C до 1-2°C, сохраняя при этом контроль над протеканием обмена веществ. Однако молекулярные механизмы, обеспечивающие нормальное функционирование разнообразных ферментных систем животных-гибернаторов в таком широком диапазоне температур, практически не изучены. В частности, отсутствует информация о сезонных адаптационных изменениях Са-транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума (СР), обеспечивающих сократительную активность скелетной мускулатуры. В нашей лаборатории было показано, что активность Са-АТФазы и Са-каналов (рианодиновых рецепторов) СР скелетных мышц типичного гибернатора – суслика Spermophilus undulatus, при гибернации снижается более, чем в 2 раза, однако причины снижения активности этих ферментных систем пока неизвестны. Поскольку активность Са-транспортирующих систем мембран контролироваться многими факторами (физико-химическим состоянием липидной фазы мембран СР, олигомерным состоянием Са-АТФазы, фосфорилированием эндогенными протеинкиназами Са-АТФазы, Са-каналов и белков, участвующих в регуляции их активности, и т.д.), мы проанализировали сезонные изменения некоторых из этих факторов. Степень эксимеризации гидрофобного флуоресцентного зонда пирена в препаратах СР зимних животных ниже, чем в препаратах СР летних сусликов, что свидетельствует об увеличении микровязкости и/или гидрофобного объема мембран СР. Значения констант Штерна-Фольмера для тушения собственной флуоресценции Са-АТФазы пиреном выше, а для тушения гидрофильным тушителем КІ ниже в препаратах СР зимних сусликов по сравнению с препаратами СР летних животных, что может свидетельствовать об изменении доступности гидрофильного и гидрофобного доменов молекулы фермента для тушителей в разные сезоны года. Анализ олигомерного состояния Са-АТФазы в мембранах СР методом «молекулярной сшивки» показал, что в присутствии комплекса о-фенантролина с ионами меди молекулы Са-АТФазы в препаратах СР зимних животных «сшиваются» друг с другом почти в 5 раз быстрее, чем в препаратах СР летних животных. Эти данные указывают на стабилизацию олигомерных комплексов Са-АТФазы в мембранах СР зимних сусликов и хорошо согласуются с данными по тушению флуоресценции Са-АТФазы пиреном. Установлено, что эндогенные протеинкиназы фосфорилируют в мембранных препаратах СР 10 индивидуальных белков с молекулярными массами от 22 до 160 кДа, причем уровень фосфорилирования белков в препаратах СР зимних сусликов существенно выше, чем в препаратах летних животных. В препаратах СР зимних сусликов наиболее значительно увеличивается уровень фосфорилирования белка с молекулярной массой 44 кДа, который с использованием метода масс-спектрометрии идентифицирован как креатинкиназа. Предполагается, что наблюдаемые сезонные изменения физикохимических свойств липидной фазы мембран СР, олигомерного состояния Са-АТФазы и фосфорилирования регуляторных белков могут приводить к снижению функциональной активности Са-транспортирующих систем мембран саркоплазматического ретикулума скелетных мышц во время гибернации.