

А.В. Шалыгин*, Д.О. Колесников, А.Ю. Скопин,
Л.Н. Глушанкова, К.О. Гусев, Е.В. Казначеева

**РОЛЬ БЕЛКОВ ORAI В РЕГУЛЯЦИИ
АНСАМБЛЯ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ
КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ**

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

A.V. Shalygin*, D.O. Kolesnikov, A.Yu. Skopin,
L.N. Glushankova, K.O. Gusev, E.V. Kaznacheyeva

**REGULATION OF DIFFERENT STORE-
OPERATED CALCIUM CHANNELS BY ORAI
PROTEINS**

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia

*a_shalygin@mail.ru

Депо-управляемый кальциевый вход один из основных компонентов кальциевой сигнализации клеток, который активируется при опустошении внутриклеточных кальциевых депо. Необходимым компонентом этой системы являются белки плазматической мембраны Orai, однако спектр электрофизиологических характеристик депо-управляемых кальциевых каналов неоднороден. Цель этой работы изучить, роль белков Orai в регуляции депо-управляемых кальциевых каналов с разными электрофизиологическими характеристиками токов.

Методом локальной фиксации потенциала на клеточных линиях с оверэкспрессией, нокдауном (shRNA) или нокаутом (CRISPR-Cas9) белков Orai1 или Orai3 показано, что белки TRPC1 формируют каналы независимо от Orai, но их чувствительность к состоянию депо зависит от белков Orai. Высокоселективные кальциевые каналы с проводимостью порядка 1 пСм включают в свой состав белки Orai. Дальнейшие исследования будут направлены на роль разных депо-управляемых кальциевых каналов в активации сигнальных каскадов.

Работа поддержана грантами РФФИ 17-54-80006 (Шалыгин, Глушанкова, Гусев), РФФИ 19-14-00114 почки (Скопин, Казначеева).

А.В. Щулькин*, И.В. Черных, А.С. Есенина,
М.М. Градинарь, П.Д. Ерохина, Е.Н. Якушева
**ЛИНИЯ КЛЕТОК CASO-2 КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ
ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БЕЛКА-
ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P**

*Рязанский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова, Рязань, Россия*

A.V. Shchulkin*, I.V. Chernykh, A.S. Esenina,
M.M. Gradinar, P.D. Erokhina, E.N. Yakusheva

**CASO-2 CELL LINE AS A MODEL FOR TESTING
THE TRANSPORT PROTEIN P-GLYCOPROTEIN
FUNCTION**

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

*alekseyshulkin@rambler.ru

Гликопротеин-P (P-glycoprotein, Pgp, ABCB1-белок, MDR1-белок) — АТФ-зависимый белок-транспортер, локализующийся на билиарной поверхности гепатоцитов, на апикальной мембране энтероцитов и эпителиоцитов проксимальных почечных канальцев, на цитоплазматических мембранах эндотелиоцитов гистогематических барьеров, а также опухолевых клеток. Основной функцией Pgp является выведение ксено- и эндобиотиков из клеток во внеклеточное пространство, биологические жидкости (кровь, желчь, мочу) и просвет кишечника. Для оценки функционирования Pgp при патологических состояниях или изучения влияния экзогенных и эндогенных веществ на его активность используют клеточные линии, гиперэкспрессирующие данный белок-транспортер.

Цель настоящего исследования — изучить возможность использования линии клеток Caso-2, для оценки активности белка-транспортера Pgp.

Линия клеток Caso-2 была закуплена в ФГБУН «Институт цитологии» РАН (Санкт-Петербург).

Методами иммуноцитохимии и вестерн-блот было подтверждено наличие данного белка в цитоплазматических мембранах клеток данной линии.

Для оценки активности Pgp клетки линии Caso-2 высевали в специальную трансвелл-систему. Оценивали транспорт субстрата Pgp — фексофенадина (150 мкмоль/л) из клеток наружу. Концентрацию фексофенадина определяли методом ВЭЖХ с УФ детектированием.

Показано, что классические ингибиторы Pgp — верапамил (200, 100, 50, 10, 1 мкмоль/л) и хинидин (200, 100, 50, 10, 1 мкмоль/л) дозозависимо снижали транспорт фексофенадина из клеток линии Caso-2, что свидетельствует об уменьшении активности изучаемого белка-транспортера.

Таким образом, линия клеток Caso-2, полученная из ФГБУН «Институт цитологии» РАН (Санкт-Петербург), может быть использована для изучения функционирования белка-транспортера Pgp.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-415-623001 p_мол_a