

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-262

**РОЛЬ БЕЛКА ПРОМИЕЛОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА ВО ВНУТРИКЛЕТОЧНОМ ТРАНСПОРТЕ  
КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ\*****THE ROLE OF PROMYELOCYTIC LEUKEMIA PROTEIN  
IN MAMMALIAN INTRACELLULAR CALCIUM TRANSPORT**М. В. Неклесова<sup>1</sup>, С. А. Силонов<sup>1</sup>, Е. Ю. Смирнов<sup>1</sup>, Р. Р. Шарипов<sup>2</sup>,  
А. М. Сурин<sup>2</sup>, И. М. Кузнецова<sup>1</sup>, К. К. Туроверов<sup>1</sup>, А. В. Фонин<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, МоскваM. V. Neklesova<sup>1</sup>, S. A. Silonov<sup>1</sup>, E. Y. Smirnov<sup>1</sup>, R. R. Sharipov<sup>2</sup>,  
A. M. Surin<sup>2</sup>, I. M. Kuznetsova<sup>1</sup>, K. K. Turoverov<sup>1</sup>, A. V. Fonin<sup>1</sup><sup>1</sup>Institute of Cytology RAS, Saint Petersburg<sup>2</sup>Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow

✉ Neklesova.m@mail.ru

**Аннотация**

Известно, что белок промиелоцитарного лейкоза (PML) участвует в регуляции транспорта ионов кальция из эндоплазматического ретикулума (ЭПР) в митохондрии. В настоящей работе исследовано влияние нокаута гена PML в клетках HeLa на внутриклеточный транспорт ионов кальция. Показано, что нокаут PML снижает базальный уровень  $Ca^{2+}$ , интенсифицирует высвобождение  $Ca^{2+}$  из ЭПР, увеличивает поступление  $Ca^{2+}$  в митохондрии и затрудняет деполяризацию митохондрий.

**Abstract**

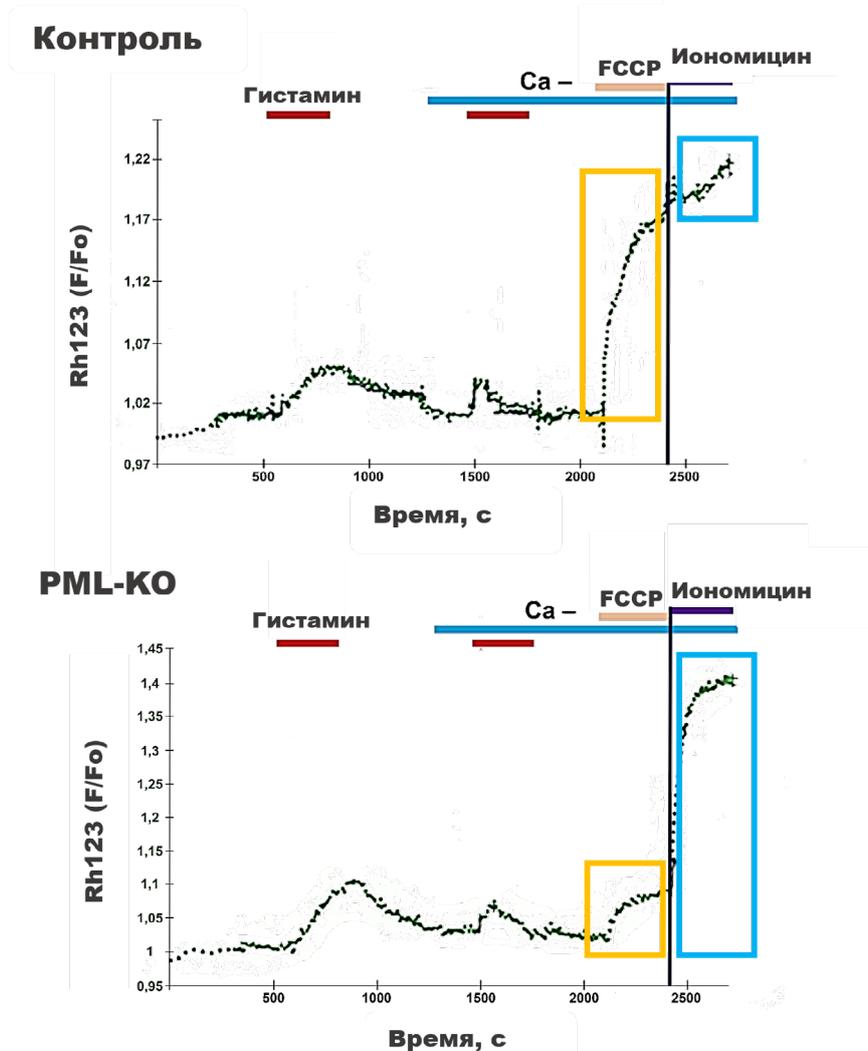
Promyelocytic leukemia protein (PML) is known to be involved in the regulation of calcium ion transport from the endoplasmic reticulum (ER) to mitochondria. In this paper, the effect of PML gene knockout in HeLa cells on intracellular transport of calcium ions was investigated. It has been shown that PML knockout reduces the basal level of  $Ca^{2+}$ , intensifies the  $Ca^{2+}$  release from ER, increases the intake of  $Ca^{2+}$  into mitochondria and complicates the depolarization of mitochondria.

Ионы кальция играют важную роль в различных процессах, влияющих на клеточный метаболизм. Например, накопление  $Ca^{2+}$  способствует инициации клеточного старения, так как вызывает снижение мембранного потенциала митохондрий и запускает выработку активных форм кислорода [1]. Известно, что пул PML, локализующийся в мембранах, ассоциированных с митохондриями (MAMs), участвует в регуляции активности инозитол-1,4,5-трисфосфатных рецепторов (IP3Rs) и, вследствие этого, в регуляции транспорта ионов кальция из люмена ЭПР в митохондрии [2]. В настоящей работе исследовано влияние нокаута гена PML в клетках HeLa на транспорт ионов кальция. Была получена клеточная линия HeLa с нокаутом гена PML (PML-KO) с использованием технологии CRISPR/Cas9.

Установлено, что как отношение интенсивностей флуоресценции при длинах волн регистрации 340/380 нм, так и суммарная интенсивность флуоресценции ратиометрического индикатора внутриклеточного кальция Fura-2 ниже в PML-KO клетках HeLa по сравнению с клетками дикого типа. Введение в исследуемые клетки агониста IP3Rs — гистамина — также приводило к существенному уменьшению анализируемых характеристик Fura-2 в нокаутных по PML клетках HeLa по сравнению с контрольными клетками. В совокупности это свидетельствует о более низком базальном уровне ионов кальция в клетках HeLa, нокаутных по PML, по сравнению с клетками дикого типа. При этом высвобождение  $Ca^{2+}$  из ЭПР в ответ на гистамин было значимо ( $p < 0,05$ ) выше (на 41 %) в клетках PML-KO как в буфере с  $Ca^{2+}$ , так и в бескальциевом буфере. Это позволяет предположить, что нокаут PML вызывает активацию IP3Rs. Также установлено существенное (на 34 %) увеличение концентрации ионов кальция в митохондриях в нокаутных по PML клетках по сравнению с контрольными клетками, что свидетельствует об увеличенном захвате  $Ca^{2+}$  митохондриями в отсутствие PML. Кроме того, введение протонофора FCCP (1  $\mu$ M), вызывающего деполяризацию митохондрий и потерю ими способности удерживать накопленный  $Ca^{2+}$ ,

\* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 22-15-00429).

вызывало значительно большее снижение интенсивности флуоресценции индикатора митохондриального потенциала — красителя Rh123 — в митохондриях клеток дикого типа по сравнению с PML-KO клетками. Несмотря на то что используемая концентрация FCCP должна была бы почти полностью деполяризовать митохондрии, полная деполяризация митохондрий в клетках PML-KO происходила только после введения в них ионофора иономицина (см. рисунок).



Изменения митохондриального потенциала (интенсивность флуоресценции Rh123) в клетках HeLa дикого типа (контроль) и в клетках с нокаутом гена PML (PML-KO)

В совокупности полученные данные позволяют заключить, что отсутствие PML вызывает снижение базального уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме, увеличивает высвобождение ионов кальция из ЭПР и затрудняет деполяризацию митохондрий.

#### Литература

1. Martin N. et al. Regulation and role of calcium in cellular senescence // Cell Calcium. 2023. P. 102701.
2. Giorgi C. et al. PML regulates apoptosis at endoplasmic reticulum by modulating calcium release // Science. 2010. Vol. 330, No. 6008. P. 1247–1251.