

Кумейша Е. С.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СУБКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР С ПОМОЩЬЮ МИКРОСКОПИИ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Научный руководитель к.т.н, ст. преп. Недзведзь О. В.

Кафедра медицинской и биологической физики

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Множество жизненно важных процессов, таких как внутриклеточная передача сигналов или транспорт белка, происходит на клеточном уровне. Регистрация и анализ субклеточных структур играют важную роль при проведении биофизических и биохимических исследований.

Одним из важных процессов, протекающих на клеточном уровне, является перемещение везикул, содержащих белок GLUT4 на мембрану клетки. GLUT4 - регулируемый инсулином белок-переносчик глюкозы, который в отсутствие инсулина преимущественно содержится в цитоплазме клеток жировой и мышечной ткани. Понимание влияния инсулина на пространственно-временную регуляцию внутриклеточного транспорта GLUT4 важно для объяснения патогенеза диабета 2 типа у человека.

Цель: на основе видеоизображений, полученных при помощи флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения (TIRF-микроскопии) определить параметры внутриклеточного транспорта GLUT4, такие как скорость перемещения везикул в околосмембранной области.

Материалы и методы. Метод TIRF-микроскопии - это оптический метод, используемый для наблюдения флуоресценции отдельных молекул, основанный на явлении полного внутреннего отражения. При углах падения, больших критического, свет отражается, но генерирует электромагнитное поле, которое может проникать во вторую среду на глубину около 100 нм и вызывать флуоресценцию отдельных молекул в тонком слое непосредственно вблизи границы раздела. Малая глубина проникновения затухающей волны является основным преимуществом TIRF-микроскопии по сравнению с традиционной флуоресцентной микроскопией. Излучение возбуждается только в молекулах флуорофора, расположенных очень близко к границе раздела, создавая очень тонкий оптический срез. За пределами этого среза флуоресценция минимальна, что позволяет получать изображения с очень высокой контрастностью.

Результаты и их обсуждение. Для того, чтобы проанализировать пространственно-временную зависимость между передачей сигналов инсулина и внутриклеточным перемещением везикул, необходимо определить параметры перемещения везикул GLUT4 по микроотрубкам. Одним из таких параметров является скорость перемещения везикул. Измерения были выполнены с помощью алгоритма оптического потока, реализованного с помощью языка программирования Python.

Скорость перемещения везикул была определена в различных единицах измерения, получены следующие результаты: 0-3 px/fps, 3.75-15 px/s, 0.5µm/s-2µm/s.

Выводы. Процесс зависимости между передачей инсулина и внутриклеточным перемещением везикул GLUT4 является сложным и недостаточно изученным, однако использование методов TIRF-микроскопии позволяет определить новые характеристики транспорта белка GLUT4 в клетках, такие как скорость смещения везикул и форма траектории.