

ISSN 2499-9962

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

**Актуальные вопросы
биологической физики
и химии**

**Том 3, № 4
2018**

Севастополь

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И
ХИМИИ**

Научный журнал

**Том 3, № 4
2018**

**RUSSIAN JOURNAL of
BIOLOGICAL PHYSICS and CHEMISTRY
Volume 3, No. 4, 2018**

Севастополь
2018

Учредитель и издатель

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»
ул. Университетская, 33, Севастополь, 299053, Российская Федерация

«Актуальные вопросы биологической физики и химии» – научный журнал посвященный актуальным вопросам общей и молекулярной биофизики, нанобиофизики, экологической биофизики, а также современным проблемам биоорганической биофизической и медицинской химии. Издание рассчитано на научных работников, аспирантов, студентов.

Журнал зарегистрирован в Международном центре ISSN (ISSN 2499-9962), Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (свидетельство ПИ № ФС 77-72655 от 16.04.2018), индексируется в библиографической базе данных научных публикаций российских ученых (РИНЦ). Издается с апреля 2016 г. С 2018 г. выходит 4 раза в год.

Издан при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 18-04-20061).

Главный редактор

Евстигнеев М.П. (Севастополь).

Chief Editor

Evstigneev M.P. (Sevastopol).

Научный редактор

Твердислов В.А. (Москва).

Science Editor

Tverdislov V.A. (Moscow).

Редакционная коллегия

Артюхов В.Г. (Воронеж);
Барановский С.Ф. (Севастополь);
Бержанский В.Н. (Симферополь);
Кожевников В.Н. (Ньюкасл, Великобритания);
Костюков В.В. (Севастополь);
Нечипуренко Ю.Д. (Москва);
Паркинсон Дж. (Глазго, Великобритания).
Песик Я. (Гданск, Польша);
Солдатов А.А. (Севастополь);
Эрнандес Сантьяго А.А. (Пуэбла, Мексика).

Editorial Board

Artyuhov V.G. (Voronezh);
Baranovskiy S.F. (Sevastopol);
Berzhansky V.N. (Simferopol);
Kozhevnikov V.N. (Newcastle, UK);
Kostjukov V.V. (Sevastopol);
Nechipurenko Yu.D. (Moscow);
Parkinson J. (Glasgow, UK);
Pesic Ya. (Gdansk, Poland);
Soldatov A.A. (Sevastopol);
Hernandez Santiago A.A. (Puebla, Mexico).

Ответственный секретарь

Воронин Д.П. (Севастополь).

Executive Secretary

Voronin D.P. (Sevastopol).

Рекомендован к печати Ученым советом ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет».

СОДЕРЖАНИЕ

Том 3, № 4, 2018

ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

К.М. Щукина, А.С. Неруш, А.Г. Орлова

Изменение уровня АФК в клетках HeLa Kyoto на разных стадиях цисплатин-индуцированной клеточной гибели 699

Т.А. Телегина, Р.Г. Геворгиз, М.В. Нехорошев, М.В. Бирюков, Ю.Л. Вечтомова, М.С. КрицкийСпектральные характеристики каротиноидов из цианобактерии *Arthrospira platensis* в условиях адаптивного ответа на обезвоживание 706**Л.В. Яковенко**

Фазовые переходы и хиральность в липидных бислоях 711

Ю.Д. Коробкина, Ф.Н. Балабин, Е.Ю. Симоненко, А.Н. Свешникова

Механизмы прогестерон-индуцированной кальциевой сигнализации в сперматозоидах 714

Д.В. Дьякова, С.А. Лермонтова, Л.Г. Клапшина, А.В. Юдинцев, И.В. Балалаева

Исследование стабильности липосом, загруженных тетраakis(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразином 718

А.А. СолдатовНапряжение кислорода в крови, скелетных мышцах и особенности тканевого метаболизма у кефали-сингиля (*Liza aurata risso*, 1810) в условиях острой экспериментальной гипоксии 724**А.К. Хамицаев, Л.В. Яковенко**

Анализ степени симметрии макромолекул с помощью непрерывной меры хиральности ... 730

О.С. Завьялова

Сравнительный анализ прогностических моделей расчета химических сдвигов необмениваемых протонов дезоксиолигонуклеотидов 734

В.А. Сало, А.С. Бучельников, Д.П. Воронин, М.П. ЕвстигнеевКомплексообразование фуллерена C₆₀ с акридиновым мутагеном ICR-191 в водном растворе 738**Ю.А. Яковлева, А.Ф. Сулейманова, О.С. Ельцов, А.С. Бучельников, М.П. Евстигнеев, В.Н. Кожевников**

Исследование самоассоциации циклометаллированных комплексов Pt(II) арилбипиридинов с помощью метода диффузионно-упорядоченной ЯМР-спектроскопии 745

И.В. Головченко, А.Ю. МинтякОсобенности поведения фуллерена C₆₀ в водном растворе в присутствии молекул кофеина 752

МЕХАНИЗМЫ ПРОГЕСТЕРОН-ИНДУЦИРОВАННОЙ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В СПЕРМАТОЗОИДАХ

Коробкина Ю.Д., Балабин Ф.Н., Симоненко Е.Ю., Свешникова А.Н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: juliajessika@gmail.com

Поступила в редакцию: 16.07.2018.

Аннотация. В человеческих сперматозоидах акросомная реакция и гиперактивация, два важных события оплодотворения, регулируются концентрацией свободных ионов кальция в цитоплазме клетки. Оба данных события могут быть индуцированы стероидным гормоном прогестероном, который опосредованно активирует находящийся в жгутике сперматозоида кальциевый канал CatSper. Сквозь него ионы кальция входят в клетку и диффундируют в шейку сперматозоида, где присутствует изоформа фермента фосфолипазы C PLC δ . Её активность повышается при повышении концентрации ионов кальция; она катализирует производство вторичного мессенджера инозитолтрифосфата из мембранного фосфолипида фосфатидилинозитола 4,5-бисфосфата. Инозитолтрифосфат активирует расположенные на кальциевом депо сперматозоида RNE инозитолтрифосфатные канал-рецепторы, способствуя выходу ионов кальция в цитоплазму.

Ключевые слова: сперматозоиды, кальцевая сигнализация, математическое моделирование, прогестерон.

Свободные ионы кальция являются универсальными переносчиками сигнала внутри клетки; их концентрация в цитоплазме зависит от работы десятков различных каналов, регулируемых активацией клеточных рецепторов. Кальций, в свою очередь, быстро и часто обратимо активирует различные клеточные ферменты и катализирует закрытие собственных каналов в мембране.

Кальцевая сигнализация встречается практически во всех, даже невозбудимых, клетках эукариот. Исключением не являются и человеческие сперматозоиды.

Кальцевый сигнал является одним из важных регуляторов процесса оплодотворения. Два ключевых события оплодотворения – акросомная реакция и гиперактивация – индуцируются повышением концентрации свободных ионов кальция в цитоплазме клетки [1].

Акросомная реакция (рис. 1) – экзоцитоз акросомы, фермент-содержащей органеллы, находящейся в передней части головки спермия. Её содержимое – гиалуронидаза и акрозин – способно растворять прозрачную оболочку яйцеклетки [1].

Гиперактивация – изменение характера движения жгутика спермия для облегчения его перемещения в вязкой среде. Гиперактивация связана с изменением характера потребления кислорода в митохондриях [2].

Было показано, что повышение концентрации кальция может быть индуцировано стероидным гормоном прогестероном [6]. Он опосредованно активирует кальцевый канал CatSper, расположенный в хвостовом отделе спермия, через который кальций из внешней среды входит в клетку.

CatSper – один из важнейших кальцевых каналов в сперматозоиде; ток через данный канал – один из немногих кальцевых токов, которые можно обнаружить в зрелом спермии. Данный канал расположен в середине жгутика, однако, как ни странно, является важной частью механизма, приводящего к акросомной реакции. В покое он ингибируется 2-арахидоноилглицеролом, в изобилии присутствующем в мембране клетки. Липаза ABHD2, которая расщепляет ингибитор, напрямую активируется прогестероном [1].

Вошедшие через CatSper в клетку ионы кальция диффундируют в головку спермия, где находится фермент фосфолипаза C. В человеческих сперматозоидах присутствует несколько изоформ фосфолипазы C, однако существенно активной является только одна – фосфолипаза C δ , чья активность повышается при повышении концентрации ионов кальция. Фосфолипаза C катализирует производство инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ3), активирующего каналы-рецепторы к ИФ3 (ИФ3Р), расположенные в мембране внутриклеточного хранилища кальция в сперматозоиде. Открытие каналов-рецепторов способствуют выходу ионов кальция в цитоплазму. В отличие от большинства соматических клеток, в которых кальцевым депо является эндоплазматический

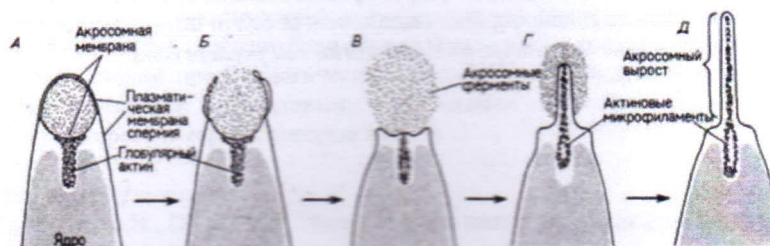


Рисунок 1. Акросомная реакция (Гилберт С. Биология развития в трех томах, т.1)

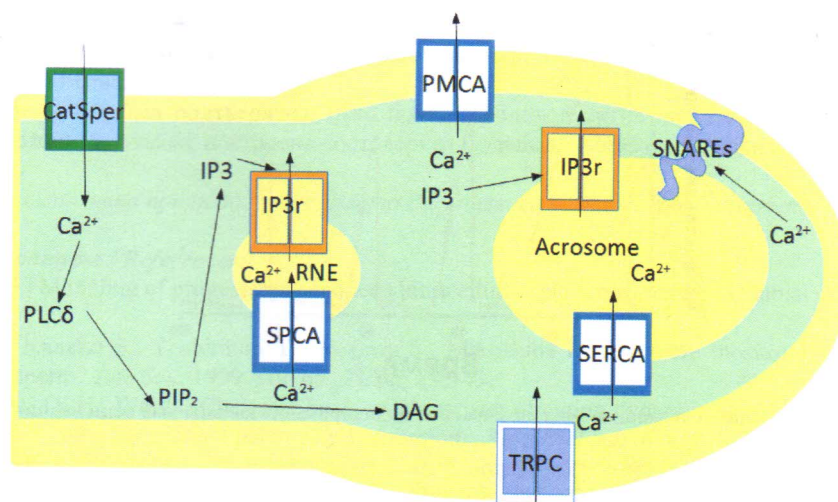


Рисунок 2. Схема кальциевой сигнализации в сперматозоиде

ретикулум, в сперматозоиде им служит специфичная для данного типа клеток органелла RNE (redundant nuclear envelope), образующаяся из ядерной оболочки в ходе созревания сперматозоида.

Целью настоящей работы является анализ механизмов кальциевой сигнализации в сперматозоидах при стимуляции канала CatSper прогестероном.

Для исследования активации сперматозоидов прогестероном было использовано два подхода, эксперимент и математическое моделирование. Эксперименты проводились на флуоресцентном микроскопе Nikon Eclipse TI; образцы, полученные от здоровых доноров, инкубировались с чувствительной к концентрации кальция флуоресцентной меткой Fura Red и фиксировались в проточных камерах, покрытых поли-L-лизинном (рис. 3). Изменение флуоресценции кальциевой метки при активации сперматозоидов 5 μM раствором прогестерона регистрировалось в режиме эпифлуоресценции; местоположение клеток контролировалось в режиме DIC. Далее относительное изменение флуоресценции пересчитывалось в абсолютную концентрацию кальция.

Также на основе существующей модели кальциевой сигнализации в сперматозоидах [1] и схемы реакций (рис. 3) была построена система дифференциальных уравнений в частных производных. Данная система была проинтегрирована с помощью библиотеки SciPy языка программирования Python и программного пакета COPASI. Подбор констант модели производился на основе существующих экспериментальных данных по динамике концентрации кальция в цитоплазме [1, 5].

В отличие от существующих моделей кальциевой сигнализации в сперматозоидах, в данной работе проводилось моделирование динамики кальция в кальциевом депо RNE. Также нами была использована другая модель ИФЗР, соответствующая типу рецептора, присутствующего в сперматозоидах [2, 3]. Ещё одним отличием являлось то, что оценки максимального тока в случае полностью открытых ИФЗР были основаны на количестве копий ИФЗР в спермии, полученных на основе данных о протеомике сперматозоида, и экспериментальной зависимости тока через единичный ИФЗР от концентрации кальция в депо [4].



Рисунок 3. Имобилизированные на полилизине сперматозоиды, окрашенные Fura Red. Слева – флуоресценция связавшейся с кальцием краски, справа – несвязавшейся

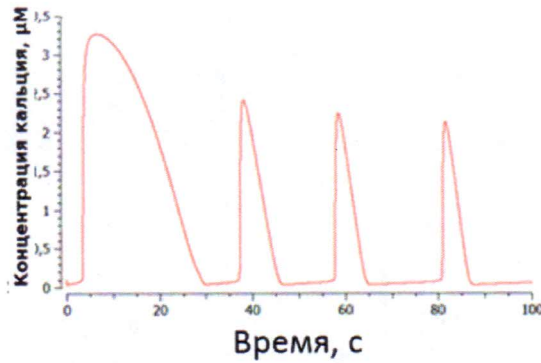


Рисунок 4. Предсказанные с помощью математического моделирования кальциевые осцилляции

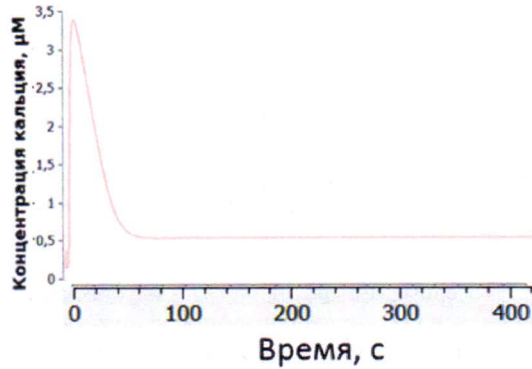


Рисунок 5. Результат математического моделирования – одиночный кальциевый пик

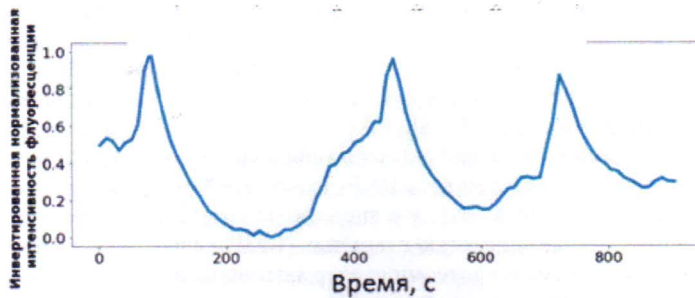


Рисунок 6. Кальциевые осцилляции в сперматозоиде, активированном 5 μM прогестероном. Осцилляторный ответ

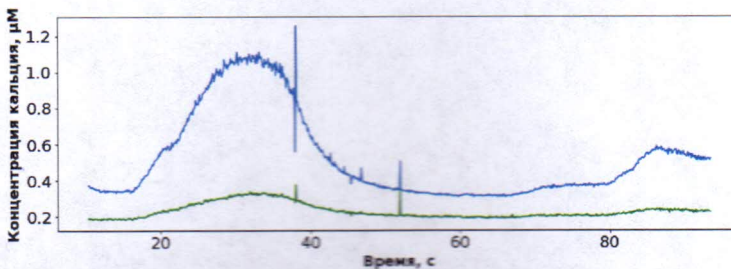


Рисунок 7. Ответ на активацию 5 мМ прогестероном. Зеленая кривая – концентрация кальция в головке сперматозоида, голубая – в шейке

Экспериментально нами были обнаружены два типа динамики концентрации кальция в человеческих сперматозоидах при активации прогестероном. Большая часть клеток отвечала на стимуляцию начальным пиком концентрации кальция и дальнейшим её стабильным поднятием по сравнению с концентрацией покоя (рис. 7). Примерно в 10 % клеток наблюдались следующие за начальным пиком низкочастотные осцилляции ($T \sim 300$ с) (рис. 6). В существующей литературе также были описаны осцилляции концентрации кальция при активации прогестероном, но их период составил ~ 60 с [2].

Построенная нами математическая модель в зависимости от параметров связывания кальция с инозитолтрифосфатным рецептором способна описывать как одиночный пик концентрации кальция (рис. 5), так и осцилляторный ответ (рис. 4).

Таким образом, нами был подтвержден путь прогестероновой активации гиперактивации и акросомной реакции в сперматозоидах, а также построена достоверная модель кальциевой сигнализации в данной клетке.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00029).

Список литературы / References:

1. Li L.F. [et al.] Modeling of progesterone-induced intracellular calcium signaling in human spermatozoa. *J. Theor. Biol.*, 2014.
2. Kuroda Y., Kaneko S., Yoshimura Y., Nozawa S., Mikoshiba K. Are there inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) receptors in human sperm? *Life Sci.*, 1999, vol. 65 (2), pp. 135-43.
3. Cai X., Li X., Qi H., Wei F., Chen J., Shuai J. Comparison of gating dynamics of different IP3R channels with immune algorithm searching for channel parameter distributions. *Phys Biol.*, 2016, vol. 13 (5), pp. 056005.
4. Horia Vais, Kevin Foscett J., Don-On Daniel Mak. Unitary Ca^{2+} current through recombinant type 3 InsP3 receptor channels under physiological ionic conditions. *J. Gen. Physiol.*, 2010, vol. 136 (6), pp. 687-700.
5. Xia J., Reigada D., Mitchell C.H., Ren D. CATSPER channel-mediated Ca^{2+} entry into mouse sperm triggers a tail-to-head propagation. *Biol. Reprod.*, 2007, vol. 77 (3), pp. 551-559.
6. Lishko P.V., Botchkina I.L., Kirichok Y. Progesterone activates the principal Ca_v2b channel of human sperm. *Nature*, 2011, vol. 471 (7338), pp. 387-391.

MECHANISMS OF PROGESTERONE-INDUCED CALCIUM SIGNALING IN SPERMATOZOA

Korobkina J.D., Balabin F.N., Simonenko E.Yu., Sveshnikova A.N.

Lomonosov Moscow State University

Leninskie gory, 1, 119991, Moscow, Russia; e-mail: juliajessika@gmail.com

Abstract. In human spermatozoa acrosome reaction and hyperactivation, two important fertilization events, are regulated by free calcium ion concentration in cell cytosol. Both of those events can be induced by progesterone, a steroid hormone which indirectly activates CatSper. CatSper is a cation channel located in sperm flagella; calcium ions enter cytosol through the open channel and then diffuse into spermatozoon midpiece, where a specific isoform of phospholipase C, $\text{PLC}\delta$, is located. Activity of this enzyme is upregulated by calcium concentration rise; $\text{PLC}\delta$ catalyzes inositol-1,4,5-triphosphate production from a membrane phospholipid phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. IP3 activates IP3 channel-receptors located on the spermatozoon calcium store, redundant nuclear envelope (RNE), and thus induces calcium release into cell cytoplasm through those receptors.

Key words: spermatozoa, calcium signaling, mathematical modeling, progesterone.

Научный журнал
АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ
Том 3, № 4, 2018

Russian Journal of Biological Physics and Chemistry
Volume 3, No. 4, 2018

Учредитель и издатель:

ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»
ул. Университетская, 33, Севастополь, 299053, Российская Федерация

Компьютерная верстка: Д.П. Воронин, И.В. Головченко

Рекомендован к печати Ученым советом
ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»

Адрес редакции:

ул. Университетская, 33, Севастополь, 299053, Российская Федерация
Тел. +7(8692) 43-51-10, e-mail: journal@sevbppc.ru

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС 77-72655 от 16.04.2018, выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций

Публикуемые материалы прошли процедуру рецензирования и экспертного отбора.

Авторы несут ответственность за добросовестность фактов, цитат, имен собственных, географических названий и другой информации. Редакция не несет ответственности за нарушение авторами исключительных прав на результаты интеллектуальной деятельности третьих лиц. Мнение редакции может не совпадать с мнением автора. При перепечатке материалов ссылка на журнал «Актуальные вопросы биологической физики и химии» обязательна.

Формат – 60x84/8. Бумага офсетная. Гарнитура – Times New Roman. Усл. печ. л. – 29,6.
Тираж – 60 экз. Подписано в печать 07.09.2018.

Изготовлено с готового оригинал-макета на полиграфической базе РИИЦ «Медиацентр»
ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»,
ул. Курчатова, 7, Севастополь, 299015, Российская Федерация