

ПАЛСИНГ-АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ЗАВИСИТ ОТ ИХ МОБИЛЬНОСТИ

Абдрахимова Й.Р.^{1*}, Абдрахимов Ф.А.²

¹Институт фундаментальной медицины и биологии,
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия
E-mail: yoldez.abdrahimova@kpfu.ru

Ключевые слова: митофлешы АФК, мобильность митохондрий, пульсации интенсивности флуоресценции

Митохондрии являются многофункциональными органеллами, которые наряду с энергообеспечением клеток, играют важную роль в регуляции многих клеточных процессов, включая функции модуляции редокс-статуса и сигналинга, в том числе за счет генерации активных форм кислорода (АФК)[1]. Благодаря возможности детектировать внутриклеточные динамические события в высоком пространственно-временном разрешении, а именно на уровне индивидуальных органелл в режиме реального времени, предметом интенсивного изучения последних лет стали динамические феномены, наблюдаемые как высокоамплитудные флуктуации интенсивности флуоресценции специфических красителей в секундных диапазонах. К таковым относят пульсации ('pulsing') трансмембранного потенциала митохондрий ($\Delta\psi_m$) и часто связанные с ними «вспышки» флуоресценции АФК-детектирующих систем, которые получили название митофлешей ('mitoflashes')[2]. На данный момент природа динамических феноменов, в том числе триггерные механизмы, остаются непонятыми, особенно в случае митохондрий клеток растений.

В данной работе исследовали зависимость динамических событий от мобильности митохондрий в клетках. В качестве объектов исследований были использованы колеоптили этиолированных проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Мироновская 808), выращенных гидропонным способом (23–25 °С, 3 сут) в темноте. Образцы окрашивали 0.5 μ M TMRM или совместно с 10 μ M DCF-DA, просматривали в Zeiss LSM META 510 с последующим мультитрековым анализом в ImageJ (Fiji) с помощью программы TrackMate v6.0.1 [3]. Для количественного анализа мобильности митохондрий использовали time-lapse серии фреймов (3 мин) области интересов (ROI) площадью 2000-3000 μ m² с временным разрешением 0,8 мс/пиксель (500 мс/фрейм).

Исходя из данных трэкинг-анализа индивидуальных митохондрий, органеллы были условно отнесены к 3 субпопуляциям по скорости и характеру движения - «бегущие», «бродячие» и «сидячие». Перемещение органелл за 3мин мониторинга составило более 10 μ m у «бегущих», 1–10 μ m и менее 1 μ m – у «бродячих» и «сидячих», соответственно. «Бегущие» митохондрии характеризовались почти прямолинейным и однонаправленным движением и достаточно быстро покидали ROI. «Бродячие» имели широкий диапазон средних скоростей вследствие stop-and-go типа движений; для них отмечены наиболее частые изменения направления движения и контакты с другими митохондриями. Органеллы с минимальной подвижностью - «сидячие» - контактировали с плазмалеммой, и хотя составляли 55% от общего числа митохондрий в ROI, пульсировали чаще, чем более мобильные, а именно 80% от общего числа событий. Интересно отметить, что в момент пульсации скорость движения мобильных органелл резко снижалась и становилась сопоставимой с таковой «сидячей» субпопуляции. Таким образом установлено, что палсинг-активность митохондрий зависит от их поведения, а соотношение субпопуляций скорее всего определяется запросами клетки в соответствии с текущей ситуацией и/или изменениями окружающей среды. Факт транзитной остановки органелл в момент палсинг-активности

свидетельствует о том, что в субкортексе клеток могут существовать сайты модификации и/или реорганизации компонентов мембран митохондрий, которые ведут к образованию временных поровых каналов, детектируемых по-быстрому и обратимому характеру как выброса TMRM вследствие падения $\Delta\psi_m$, так и внутримитохондриального окисления DCF. Высокая амплитуда, кратковременность и строгая локализация выявленных митофлэшей АФК позволяет предположить об их сигнальном значении, тогда как сама индукция пульсаций при остановке митохондрий – о проявлении системной, а не только стохастической, как постулируется в литературе, природе динамических феноменов.

Список литературы

1. Dietz K.-J., Mittler R., Noctor G. // *Plant Physiol.* 2016. 171, 1535–1539.
2. Wang W., Fang H., Groom L. et al. // *Cell.* 2008. 134, 279–290.
3. Tinevez J.-Y., Perry N., Schindelin J., et al. // *Methods.* 2017. 115, 80–90.

THE PULSING-ACTIVITIES OF MITOCHONDRIA DEPEND ON THEIR MOBILITY

Abdrakhimova Y.R.¹, Abdrakhimov F.A.²

¹Institute of fundamental medicine and biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

²Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

Keywords: ROS mitoflashes, mitochondrial mobility, fluorescence intensity pulsing.

Using the real-time single-organelle tracking analysis, we first revealed the close dependence the frequency of mitochondrial dynamic events, such as transmembrane potential ($\Delta\psi_m$) pulsing and ROS flashing, on the motility of the organelles in the coleoptile cells of wheat seedlings that were grown in the dark (23–25 °C, 3d). According to traffic velocities of individual mitochondria, we distinguished 3 basic subpopulations, namely ‘running’ (more than 10 μm distance traveled for 3 min), ‘walking’ (1–10 μm) and ‘sitting’ (less than 1 μm) ones. The high flickering activity (80% from the total events) was inherent mainly for non-mobile mitochondria, which, in turn, were 55% from the total number of organelles in ROI; they had close contacts with the plasma membrane, and so could be involved in communication between intra- and extracellular compartments. It should be stressed that at the moment when the pulsing events were happen, velocity speeds of the mobile mitochondria declined sharply and became common with those of ‘sitting’ ones. This fact may be explained by existence of the cell sub-cortex sites of modifying and/or reorganizing of mitochondrial membrane components to result in a formation of the transient pore channels that detected in a sudden and reversible manner in the cases as TMRM emission due to $\Delta\psi_m$ dissipation as intramitochondrial oxidation of DCF. These outstanding characteristics of ROS mitoflashes allow to suggest their role in cell signalling whilst the stopping of mitochondrial traffic before pulsing induction could indicate on systemic, not only stochastic as postulated in literature, nature of the dynamic phenomena.

