

УДК 577.352.4+544.147

# ВПЛИВ КАЛІКСАРЕНУ С-956 НА КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ МІОЦИТІВ МАТКИ

*Т. О. Веклич, к. біол. н., О. А. Шкрабак, к. біол. н., Ю. В. Ніконішина, студентка*  
 veklich@biochem.kiev.ua

Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, м. Київ, Україна

Транспортна  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРаза (КФ 3.6.1.38) плазматичних мембран (ПМ) виконує функцію  $\text{Mg}^{2+}$ -АТР-залежної кальцієвої помпи, яка використовує енергію гідролізу АТР для відкачування  $\text{Ca}^{2+}$  із клітини проти градієнта концентрації, що існує між зовнішньо- та внутрішньоклітинним середовищем. Вона транспортує один іон Са в результаті гідролізу 1 молекули АТР. З огляду на вищезазначене, перспективним є пошук сполуки, яка би дозволяла змінювати активність  $\text{Ca}^{2+}$ -помпи ПМ. З цієї точки зору цікавими є каліксарени, оскільки в попередніх дослідах було знайдено, що калікс[4]арен С-956 здатний селективно (відносно інших АТР-гідролаз ПМ) інгібувати активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ( $I_{0,5} = 15,0 \pm 0,5$  мкМ). Метою цієї роботи було вивчення залежності кінетичних параметрів інгібування  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ клітин гладеньких м'язів калікс[4]ареном С-956 від концентрації іонів Mg, Са та АТР. Калікс[4]арени були синтезовані член-кор. НАНУ В. І. Кальченко та його колегами (Інститут органічної хімії НАНУ). Експерименти були виконані на суспензії ПМ клітин міометрію, оброблених 0,1 % розчином дигітоніну.

Було вивчено залежність питомої активності  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ від концентрації іонів Mg, Са та АТР в інкубаційному середовищі при різних концентраціях каліксарену С-956 (відповідно, 1; 10; 30; 60 та 100 мкМ). Розраховані нами коефіцієнти активації іонами Са та Mg ( $K_{\text{Ca}}$ ,  $K_{\text{Mg}}$ ), а також відповідні коефіцієнти Хілла ( $n_{\text{H,Ca}}$ ,  $n_{\text{H,Mg}}$ ) свідчать про те, що калікс[4]арен С-956 діє як повний неконкурентний інгібітор. У концентрації до 50 мкМ калікс[4]арен С-956 практично не впливає на вказані коефіцієнти. При цьому дозозалежно від концентрації С-956 зменшується максимальна швидкість ензиматичного гідролізу АТР  $V_{\text{max}}$ . Показано, що підвищення концентрації АТР в середовищі інкубації в діапазоні від 0,01 до 3 мМ у відсутності С-956 призводило до збільшення ензиматичної активності  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази за умов фіксованої концентрації  $\text{MgCl}_2$  (3 мМ) в інкубаційному середовищі. При внесенні в середовище інкубації С-956 в усіх випадках спостерігається монотонне зниження з різним ступенем ефективності активності  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази, при цьому залежність ензиматичної активності від АТР виявляє характер, подібний до відповідної контрольної залежності без калікс[4]арену С-956, але відбувається зниження платового рівня активності зі зростанням концентрації калікс[4]арену. За допомогою конфокальної мікроскопії ми показали, що ця сполука підвищує концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  у міоцитах міометрію.

Отже, ми показали, що калікс[4]арен С-956 не впливає на коефіцієнти активації для іонів Са та Mg, уявну константу Міхаеліса  $K_m$  за АТР, проте ця сполука у всіх випадках зменшує максимальну початкову швидкість  $V_{\text{max}}$  реакції гідролізу АТР. Таким чином, калікс[4]арен С-956 діє як повний неконкурентний інгібітор  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ.

Дані цієї роботи можуть слугувати підґрунтям для використання калікс[4]арену С-956 як селективного та ефективного інгібітора  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ, що, своєю чергою, матиме важливе значення для подальшого з'ясування мембранних механізмів  $\text{Ca}^{2+}$ -обміну у ГМ, зокрема під час вивчення ролі ПМ у забезпеченні електромеханічного sprzęження в них.

Автори висловлюють вдячність академіку НАНУ, професору С. О. Костеріну за обговорення результатів дослідів та творчі дискусії.