

АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ТОКОВ ЧЕРЕЗ ОДИНОЧНЫЕ ИОННЫЕ КАНАЛЫ ТРОМБОЦИТОВ

Кохан А.Ю.^{1,2}, Шамова Е.В.^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Методы электрофизиологии, в частности, метод фиксации потенциала «пэтч-кламп», позволяют регистрировать многие важные мембранные характеристики клеток, такие как трансмембранный потенциал, емкость, проводимость и временные характеристики ионных каналов. Ионные каналы плазматической мембраны не только поддерживают ионный гомеостаз клетки, но и играют важную роль во внутриклеточной передаче сигналов. Анализ ионных каналов методом «пэтч-кламп» представляет особую сложность при исследовании клеток малых размеров, таких как тромбоциты (около 2 мкм). Недавние исследования позволили идентифицировать ряд ранее не охарактеризованных ионных каналов плазматической мембраны тромбоцитов. Однако существует не так много информации о точных характеристиках данных ионных каналов из-за трудностей в обработке данных, полученных методом «пэтч-кламп». Целью данной работы стала разработка алгоритма расчета параметров одиночных ионных каналов тромбоцитов по регистрируемым кинетикам токов.

Алгоритм состоит из трех частей. Первая часть – вычитание базовой линии. Мы использовали метод «качающегося круга». Он моделирует вращение окружности по «внутренней поверхности» кинетики тока и сохраняет траекторию верхней точки окружности. Затем эта траектория вычитается из исходного сигнала. Радиус окружности в алгоритме равен половине длины кинетики. Данный алгоритм позволил правильно идентифицировать изменение базового тока не изменяя амплитуду одиночных каналов.

Вторая часть алгоритма – этап фильтрации. С учетом быстрого открытия и закрытия одиночных каналов использовали нелинейный фильтр с банком прямых и обратных предикторов переменной длины. Получены наилучшие результаты со следующими параметрами: 16 прямых и обратных предикторов с длиной от 2 до 64 точек, параметром нелинейности 2 и размером окна сравнения 20 точек. Каждая кинетика обрабатывалась 2-3 раза для достижения наилучшего результата. Применение данного фильтра не влияло на форму кинетик одиночных токов, но в то же время значительно снизило уровень шума.

В заключительной части разработан метод обнаружения и оценки параметров одиночных событий. Метод основан на вычислении производной сигнала, присваивания индексов +1 и -1 полученным пикам и дальнейшем вычислении амплитуды и времени между последовательными пиками +1 и -1. Выходной массив состоял из амплитуды тока каждого ионного канала, а также времени их открытия и закрытия, из которого легко вычислить время нахождения в открытом и закрытом состоянии для каждого типа ионного канала в записи.

Алгоритм был протестирован на кинетиках одиночных токов тромбоцитов, активированных тромбином (0,05 ед/мл). Необработанная кинетика была проанализирована с помощью программного обеспечения WinEDR, а затем с помощью разработанного алгоритма. Предложенный метод позволил идентифицировать ионные каналы точнее, чем WinEDR и значительно сократить время анализа.

Таким образом, предложен алгоритм обработки кинетик токов, регистрируемых методом «пэтч-кламп», позволяющий повысить точность результатов и сократить время анализа. Предлагаемый алгоритм может быть использован для анализа характеристик ионных каналов тромбоцитов и других типов клеток.