

**Родопсиновая оптогенетическая система для контроля pH лизосом:  
оптимизация отклика на свет**

**Научный руководитель – Ильинский Николай Сергеевич**

**Щукина Вера Сергеевна**

*Студент (магистр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: potemina@phystech.edu*

Правильное функционирование лизосом в клетке зависит от поддержания их кислотности (pH). При старении организма лизосомы постепенно защелачиваются, что приводит к нарушению аутофагии и к различным нейродегенеративным расстройствам [1].

В настоящее время существует оптогенетический подход контроля pH лизосом (lyso-pHoenix), использующий светочувствительную белковую протонную помпу Arch3 в мембране лизосом [2]. Данный метод позволяет управлять работой лизосом обратимо, низкоинвазивно, точно по времени и положению в клетке. Необходима оптимизация данной методики и её апробация в клеточной модели нарушенной аутофагии.

В представленной работе на примере конструкции lyso-pHoenix [2] были проведены эксперименты оптимизации оптогенетического закисления лизосом в трансфицированных клетках НЕК293Т, в которых путем фармакологического влияния различных ингибиторов вакуолярной АТФазы было подавлено естественное закисление лизосом. Кислотность лизосом определялась по уровню флуоресценции белкового сенсора super-ecliptic pHluorin, встроенного в конструкцию lyso-pHoenix [3]. Работа родопсина Arch3 активировалась светодиодным освещением длиной волны 590 нм.

В результате проведения экспериментов удалось добиться стабильной работы лизосомального белка lyso-pHoenix, как было ранее показано в статье Rost et al. [2]. Также впервые были проведены контрольные эксперименты, подтверждающие, что без работы родопсина (исключение из эксперимента транс-ретиналя, освещения, модифицированная плаزمиды без родопсина) эффект закисления не наблюдается.

Описанный подход может быть применен для замедления старения путем инициации аутофагии, что по результату действия схоже с работой молекулы рапамицина, блокирующего серин-треониновую киназу mTOR, которая подавляет аутофагию [4].

### **Источники и литература**

- 1) Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation // Nature. – 2016. – Т. 539. – №. 7628. – С. 180-186.
- 2) Rost B.R., Schneider F., Grauel M.K., Wozny C., Bentz C.G., Blessing A., Rosenmund T., Jentsch T.J., Schmitz D., Hegemann P., Rosenmund C. Optogenetic acidification of synaptic vesicles and lysosomes // Nat. Neurosci. – 2015. – Т. 18 – № 12 – 1845–1852.
- 3) Sankaranarayanan S. et al. The use of pHluorins for optical measurements of presynaptic activity // Biophysical journal. – 2000. – Т. 79. – №. 4. – С. 2199-2208
- 4) He C., Klionsky D. J. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy // Annual review of genetics. – 2009. – Т. 43. – С. 67-93.