

Влияние оптогенетических средств на энергетический баланс клетки

Научный руководитель – Горделий Валентин Иванович

Бухалович С.М.¹, Власова А.Д.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail:* *buhalovich.sm@phystech.edu*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия, *E-mail:* *nastya-tsvetik@yandex.ru*

Оптогенетика в последние несколько лет активно выходит за рамки контроля возбудимых клеток с помощью света. Уникальные преимущества метода, такие как пространственное и временное разрешение, чрезвычайно актуальны также для контроля внутриклеточных органелл и метаболических процессов. Ещё одним важным свойством оптогенетического подхода является специфичность воздействия. Это достигается с помощью совершенствования способов доставки родопсинов в целевой компартмент, а также увеличением селективности их работы.

В данной работе было исследовано влияние оптогенетических воздействий на уровень АТФ в невозбудимой клетке. На плазматической мембране клеток HeLa были экспрессированы родопсины: прямая и обратная протонные помпы. Данные родопсины осуществляют светоиндуцированный перенос протонов из и внутрь клетки соответственно. Была подтверждена преимущественная локализация исследуемых белков на плазматической мембране и функционирование согласно литературным данным. В дополнение к родопсинам в цитозоле клеток HeLa был экспрессирован генетически-кодируемый АТФ-чувствительный флуоресцентный сенсор АTeam 1.03 (АТ). Концентрация АТФ для АТ определяется с помощью отношения пиков флуоресценции 527нм/ 475нм. При физиологических условиях отношение пиков составляет более 2,5.

При освещении в течение около 8,5 мин. происходило статистически значимое уменьшение данного отношения для клеток экспрессирующих родопсина. При этом для АТ наблюдается снижение отношения при уменьшении рН, и рост при увеличении рН. Если для обратной протонной помпы это изменение может быть вызвано рН-зависимостью сенсора, то для прямой помпы рН-зависимость имеет противоположный характер. Таким образом, при светоиндуцированной гиперполяризации плазматической мембраны с помощью родопсина - прямой протонной помпы было показано снижение концентрации АТФ в цитозоле клеток. Данный эффект наиболее вероятно объясняется работой АТФаз поддерживающих концентрацию ионов.

Энергетический баланс - важнейшая характеристика для клетки, влияющая на подавляющее число клеточных функций. Таким образом, при использовании родопсинов для оптогенетического контроля метаболизма клеток следует учитывать их способность опосредованно влиять на концентрацию АТФ в клетке. Такое влияние может быть, как целевым, так и нежелательным. В случае оптогенетического контроля метаболических процессов в клетке, требующего длительного освещения, возможное влияние на уровень АТФ должно быть учтено.