

**Оптогенетическое воздействие на клеточные модели заболеваний,
ассоциированных с лизосомами**

Научный руководитель – Ильинский Николай Сергеевич

Добрынин Н.С.¹, Павлов В.В.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: dobrynin.ns@phystech.edu*;

2 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: pavlov.vv@phystech.edu*

Заболевания, связанные с возрастом, протеинопатии и рак остаются актуальной проблемой для современного общества, несмотря на значительные достижения в области медицины и фундаментальной науки. Предотвращение этих заболеваний требует внимания к проблеме дестабилизации кислотности внутриклеточного пространства и отдельных органелл, например лизосом. Регуляция pH в лизосомах в здоровом организме тщательно регулируется, однако с возрастом или под влиянием различных патологий этот механизм поддержания гомеостаза ослабевает [3].

Для эффективной работы лизосом необходимо поддерживать низкий pH, соответствующий оптимальным условиям для содержащихся в них гидролаз. Это достигается благодаря работе специального белка, расположенного в мембране лизосом - вакуолярной АТФ-азы [2]. Ингибирование вакуолярной АТФ-азы приводит к нарушению кислотности лизосом, что влечет за собой серьезные последствия для здоровья человека [1]. Поэтому важно иметь удобный и точный инструмент для контроля активности вакуолярной АТФ-азы. Существующие методы мониторинга активности данного белка трудоёмки и не позволяют проводить функциональные тесты *in situ*.

Решением для данной проблемы может быть применение средств родопсиновой оптогенетики. В данной работе клетки НЕК293 Phoenix трансфицировались плазмидой pCMV, содержащей ген родопсина, прямой протонной помпы, выбрасывающей протоны из лизосомы. При помощи оптогенетического инструмента можно изменять pH лизосом и наблюдать за его возвращением к нормальному состоянию. Время, необходимое для нормализации pH, будет различаться в зависимости от состояния вакуолярной АТФ-азы. В данной работе сравниваются клетки со здоровыми лизосомами и клетки, где вакуолярные АТФ-азы в лизосомах ингибированы бафиломицином А1 или метформинном. Разница в активности вакуолярных АТФ-аз однозначно определяется по времени, необходимом для нормализации pH лизосом. Данный оптогенетический метод контроля активности вакуолярных АТФ-аз производится *in situ* и открывает возможность для дальнейшего мониторинга функциональности лизосом в приложении *in vivo*.

Оптогенетические эксперименты выполнены за счет гранта Российского научного фонда 21-64-00018. Тесты активности вакуолярной АТФ-азы выполнены за счёт проекта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение # 075-03-2024-117, проект FSMG-2024-0012).

Источники и литература

- 1) Bonam S.R. Lysosomes as a therapeutic target // Nat. Rev. Drug Discov. 2019. 18, 923–948.
- 2) Carmona-Gutierrez D. The crucial impact of lysosomes in aging and longevity // Ageing research reviews. 2016. vol. 32, 2-12.
- 3) Freeman, S.A. Determinants, maintenance, and function of organellar pH // Physiol. Rev. 2023. 103, 515–606.