

Рациональный дизайн новых флуоресцентных генетически-кодируемых сенсоров мембранного потенциала клетки на основе археородопсина-3

Научный руководитель – Рязанцев Михаил Николаевич

Николаев Дмитрий Михайлович

Сотрудник

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: dmitrii.m.nikolaev@gmail.com

Генетически-кодируемые сенсоры мембранного потенциала клетки (Genetically-Encoded Voltage Indicators, GEVI) широко применяются в качестве инструментов для визуализации изменений электрического потенциала нейронов и кардиомиоцитов [1,2]. Один из перспективных классов GEVI – сенсоры на основе мембранного белка археородопсина-3, обладающего потенциал-зависимой флуоресценцией. В связи с тем, что археородопсин дикого типа характеризуется низким квантовым выходом флуоресценции (0.01%) и неоптимальным для биологических применений максимумом поглощения (556 нм), ряд исследований был направлен на поиск более ярких мутантных форм белка со сдвинутым в длинноволновую область спектром поглощения [3-5]. При этом отсутствие данных о механизме, определяющем интенсивность флуоресценции белка, не позволяло применить метод рационального дизайна, и все широко используемые сенсоры (максимумы поглощения 580-630 нм, квантовые выходы флуоресценции 0.4-1.0%), были получены методом направленной эволюции.

В данной работе для создания новых сенсоров на основе археородопсина использовался метод рационального дизайна. Для определения факторов, отвечающих за повышение квантового выхода флуоресценции, проведен сравнительный анализ флуоресцентных мутантных форм археородопсина [4] и микробных родопсинов дикого типа. На основе полученной информации проведен молекулярный дизайн новых сенсоров мембранного потенциала, которые характеризуются наиболее смещенными в длинноволновую область максимумами полос поглощения (639-648 нм) и квантовыми выходами флуоресценции увеличенными на 10-15% по сравнению с наиболее яркими из ранее опубликованных мутантных форм археородопсина-3.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-73-00041, <https://rscf.ru/project/23-73-00041/>. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.

Источники и литература

- 1) Armbruster M. et al. <https://doi.org/10.1038/s41593-022-01049-x>
- 2) Adam Y. et al. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1166-7>
- 3) Hochbaum D. R. et al. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3000>
- 4) McIsaac R. S. et al. <https://doi.org/10.1073/pnas.1413987111>
- 5) Piatkevich K. D. et al. <https://doi.org/10.1038/s41589-018-0023-6>