

Оптогенетическое влияние на мембранный потенциал митохондрий клеток человека

Научный руководитель – Куклин Александр Иванович

Бухалович Сергей Михайлович

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: buhalovich.sm@phystech.edu

Оптогенетический подход позволяет неинвазивным способом контролировать клеточные функции с точным временным и пространственным разрешением. В классической оптогенетике для контроля потенциала нервных клеток используются светоактивируемые ионные каналы и помпы [1]. Новым направлением в оптогенетике стал контроль физиологических параметров органелл с помощью света. Мембранный потенциал митохондрий (МПМ) является важным фактором для функционирования клетки. Оптогенетический контроль МПМ может быть осуществлён при помощи направленной экспрессии родопсинов - оптогенетических средств в этих органеллах.

Для реализации контроля МПМ были получены генетические конструкции содержащие мутанты канального родопсина 2, трансляционно слитые с сигнальными последовательностями митохондриального импорта и флуоресцентным белком. Для данных конструкций оптимизированы уровни трансфекции и локализации в клетках HEK293T. Контроль митохондриальной локализации канального родопсина осуществлялся при помощи митохондриального красителя MitoTracker Deep Red. Исследования МПМ проводились с помощью потенциал-чувствительного зонда TMRM. Осуществлён подбор оптимальных условий освещения. Был показан светоиндуцированный сброс МПМ с помощью мутанта канального родопсина 2 (ChR2:C128S/D156A), что согласуется с литературными данными [2]. Также было обнаружено уменьшение флуоресценции TMRM в трансфецированных клетках в сравнении с нетрансфецированными в отсутствие освещения в среднем более чем на 60%. При этом, такого эффекта не обнаруживалось в клетках трансфецированных конструкциями, содержащие сигнальный пептид трансляционно слитый с флуоресцентным белком без канального родопсина. Данный эффект может быть связан с активацией канального родопсина до начала эксперимента, либо с влиянием экспрессии канального родопсина в митохондриях на МПМ. Поэтому в дальнейшей работе планируется использование других родопсинов, что, вероятно, позволит снизить влияние экспрессии белка на физиологию митохондрий в исследуемых клетках до освещения.

Источники и литература

- 1) Gushchin I., Gordeliy V. Microbial rhodopsins //Membrane protein complexes: structure and function. – 2018. – С. 19-56.
- 2) Tkatch T. et al. Optogenetic control of mitochondrial metabolism and Ca²⁺ signaling by mitochondria-targeted opsins //PNAS 2017, V. 114, № 26, P. E5167-E5176.