

**Разработка и применение нового молекулярного инструмента для термогенетической активации клеток млекопитающих на основе TRPA1 канала курицы**

**Научный руководитель – Подгорный Олег Владимирович**

*Мухаметшина Лиана Фанилевна*

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

*E-mail: mukhametchinal@gmail.com*

Наряду с оптогенетикой был разработан метод термогенетики, суть которого заключается в управлении активностью клеток, экспрессирующих термочувствительные каналы семейства TRP, с помощью нагревания. Такие каналы в ответ на различные температуры кроме ионов натрия пропускают также катионы кальция, которые выполняют роль вторичного мессенджера в клетке и участвуют в различных клеточных процессах[3]. Кроме того, в отличие от оптогенетики нагревание клеток можно производить с помощью менее фототоксичного инфракрасного излучения.

Недавно было продемонстрировано, что соматосенсорные нейроны *Danio rerio*, экспрессирующие рекомбинантные термочувствительные TRPA1 каналы змеи, могут быть активированы нагреванием с помощью инфракрасного лазера [1]. Однако, для работы с клетками млекопитающих температурные пороги активации экспрессируемых каналов должны находиться в узком диапазоне между 37 и 41-42 °С. Например, канал TRPV1 человека, являющийся наиболее перспективным каналом для термогенетики на млекопитающих, имеет температурный порог активации около 43°С. При длительном нагреве клеток до такой температуры происходят деструктивные процессы, ведущие к их гибели. Поэтому следующим шагом был проведен поиск каналов с необходимыми свойствами, а именно хорошей проводимостью и безопасным для млекопитающим температурным порогом активации.

Перспективным кандидатом является TRPA1 канал курицы, температурный порог активации которого составляет 40°С [2]. В этой связи открытая рамка считывания TRPA1 канала курицы была клонирована в экспрессионный вектор вместе с репортерным флуоресцентным белком tdTomato через последовательность, кодирующую саморасщепляющийся пептид p2A. После чего было проведено тестирование термо- и хемочувствительности канала при его экспрессии в клетках линий HeLa и HEK293. Ответ клеток регистрировали с помощью флуоресцентного кальциевого сенсора GCaMP6s. При нагревании клеток более 40 °С и при добавлении аллил изотиоцианата, химического агониста TRPA1 каналов, наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции кальциевого сенсора в клетках, экспрессирующих tdTomato. Таким образом, полученные нами результаты показывают, что рекомбинантный TRPA1 канал курицы проявляет функциональную активность при его гетерологичной экспрессии в клетках линий HeLa и HEK293 и может быть использован для термогенетической активации клеток млекопитающих.

**Источники и литература**

- 1) Ermakova Y. G. [и др.]. Thermogenetic neurostimulation with single-cell resolution // Nature Communications. 2017. № 1 (8). С. 15362.

- 2) Saito S. [и др.]. Heat and Noxious Chemical Sensor, Chicken TRPA1, as a Target of Bird Repellents and Identification of Its Structural Determinants by Multispecies Functional Comparison // *Molecular Biology and Evolution*. 2014. № 3 (31). С. 708–722.
- 3) Saito S., Tominaga M. Functional diversity and evolutionary dynamics of thermoTRP channels // *Cell Calcium*. 2015. № 3 (57). С. 214–221.