

lyso-Rhodopsin: оптогенетический подход для выявления причин патологического защелачивания лизосом

Научный руководитель – Ильинский Николай Сергеевич

Алехин В.А.¹, Назарова С.Ф.², Бухалович С.М.³, Багаева Д.Ф.⁴

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: vadim.aleh@rambler.ru*; 2 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: nazarova.sf@phystech.edu*; 3 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: buhalovich.sm@phystech.edu*; 4 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: bagaeva_dina@mail.ru*

Нарушение работы лизосом - важная причина болезней и патологических состояний [1,2]. Она может происходить из-за патологического защелачивания их просвета, вызываемого несколькими причинами, такими как подавление активности вакуолярной АТФазы, пермеабиллизация мембраны лизосом, накопление в их просвете мусора, акцептирующего протоны (т.н. протонных губок). Патологическое защелачивание лизосом, вызываемое различными причинами, часто предшествует тем или иным патологиям, например, болезни Альцгеймера[3]. Следовательно, разработка способов раннего выявления защелачивания лизосом и установления его причины представляется актуальной задачей.

В данной работе мы демонстрируем эффективность оптогенетического инструмента lyso-Rhodopsin как средства выявления причины патологического защелачивания лизосом; критериями, на основании которых делается вывод о причине защелачивания, выступают характерные особенности процесса изменения рН лизосом при их временном закислении lyso-Rhodopsin: амплитуда изменения рН их просвета и скорость его повторного защелачивания после окончания оптогенетического воздействия.

В ходе работы изменения рН просвета лизосом оценивались по изменениям интенсивности флуоресценции белка рНluorin (домена слитного белка lyso-Rhodopsin). Были изучены три причины патологического защелачивания лизосом, при этом подавление активности вакуолярной АТФазы моделировалось воздействием бафиломицина А1, накопление протонных губок – гидроксихлорохина, а пермеабиллизация мембраны – LLOME; наблюдения за процессами изменения рН лизосом проведены с помощью оборудования для микроскопии от компании ZEISS.

Было выявлено, что экспериментальные кривые изменения рН лизосом статистически значимо различаются в зависимости от причины защелачивания. Например, установлено, что при подавлении активности вакуолярной АТФазы средняя скорость восстановления патологического рН после окончания освещения значительно меньше, чем при других причинах защелачивания, а при пермеабиллизации мембраны – меньше амплитуда возможного оптогенетического закисления.

По всей видимости, оценку этих показателей (скорость восстановления рН и амплитуду его изменения при оптогенетическом воздействии) можно использовать в качестве критерия для определения причины патологического защелачивания лизосом. Мы предполагаем, что предлагаемый нами подход может быть перспективным способом раннего выявления нарушений лизосомальной функции и патологий, к которым они приводят.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 24-24-00504, <https://rscf.ru/project/24-24-00504/>

Источники и литература

- 1) Nixon R. A. The role of autophagy in neurodegenerative disease //Nature medicine. – 2013. – Т. 19. – №. 8. – С. 983-997.

- 2) Carmona-Gutierrez D. et al. The crucial impact of lysosomes in aging and longevity //Ageing research reviews. – 2016. – Т. 32. – С. 2-12.
- 3) Lee J. H. et al. Faulty autolysosome acidification in Alzheimer's disease mouse models induces autophagic build-up of A β in neurons, yielding senile plaques //Nature neuroscience. – 2022. – Т. 25. – №. 6. – С. 688-701.