

Оптогенетический подход к оценке активности вакуолярной АТФазы как инструмент для скрининга лекарственной терапии нейродегенеративных заболеваний

Научный руководитель – Ильинский Николай Сергеевич

Павлов Владислав Владиславович

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: pavlov.vv@phystech.edu

Аутофагия — ключевой внутриклеточный механизм, отвечающий за удаление агрегирующих белков, патогенов и поврежденных органелл, таких как митохондрии. Нарушение аутофагии связано с нейродегенеративными заболеваниями, часто вызванными дефектами в аутофагии и лизосомных функциях, особенно в регуляции pH [3]. Оптимальный pH в лизосомах, необходимый для активности гидролаз, поддерживается вакуолярной АТФазой (протонной помпой), и ее активность может служить индикатором способности клетки к аутофагии [1, 2]. Нарушения в работе АТФазы могут иметь серьезные последствия для организма, что подчеркивает важность разработки методов для оценки ее активности.

В данной работе мы представляем систему оценки эффективности лекарственной терапии на основе анализа активности вакуолярной АТФазы с помощью родопсиновой оптогенетики. В данной работе сравнивается действие различных веществ, влияющих на метаболизм клетки. Анализ активности вакуолярной АТФазы проводился оптогенетически следующим образом. Клетки НЕК293 Phoenix-AMPHO были трансфицированы плазмидой рСМV с геном родопсина – протонной помпы и флуоресцентным сенсором pH. Освещением индуцировался кратковременный лизосомный стресс, связанный с временным повышением pH внутри лизосом, и оценивалась скорость восстановления pH до исходного уровня. Кислотность клеток, инкубированных с разными веществами, релаксировала в начальном pH с разной скоростью. Преимущество оптогенетического метода контроля активности вакуолярной АТФазы в том, что он производится *in situ*, а также в уникальной обратимости воздействия, т.е. возможности запуска подщелачивания и мгновенного выключения воздействия.

Таким образом, была разработана и протестирована система для *in situ* скрининга препаратов для максимального изменения активности vATPase, которая может быть использована для оценки эффективности лекарственной терапии нейродегенеративных заболеваний.

Работа поддержана Министерством Науки и Высшего образования РФ (Государственное задание на науку FSMG-2024-0012, соглашение № 075-03-2025-662)

Источники и литература

- 1) Bonam S. R., Wang F., Muller S. Lysosomes as a therapeutic target //Nature reviews Drug discovery. – 2019. – Т. 18. – №. 12. – С. 923-948.
- 2) Forgac M. Vacuolar ATPases: rotary proton pumps in physiology and pathophysiology //Nature reviews Molecular cell biology. – 2007. – Т. 8. – №. 11. – С. 917-929.
- 3) Nixon R. A., Rubinsztein D. C. Mechanisms of autophagy-lysosome dysfunction in neurodegenerative diseases //Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2024. – Т. 25. – №. 11. – С. 926-946.