

Разработка улучшенной версии кальциевого сенсора FAvCaMP2 на основе яркого зеленого флуоресцентного белка mAvicFP1 и кальмодулина из грибов *Schizosaccharomyces pombe*

Научный руководитель – Субач Федор Васильевич

Леснов Глеб Дмитриевич

Студент (магистр)

Государственный университет просвещения, Москва, Россия

E-mail: glebblack@gmail.com

Генетически кодируемые кальциевые индикаторы (ГККИ) являются незаменимыми инструментами для визуализации нейронной активности и кальциевой сигнализации в живых клетках. На данный момент зеленые ГККИ разрабатываются на основе двух флуоресцентных белков: EGFP или mNeonGreen [3]. Однако сенсоры на основе обоих флуоресцентных белков обладают некоторыми недостатками. У ГККИ на основе EGFP небольшая яркость, а у индикаторов на основе mNeonGreen низкая фотостабильность и медленная кинетика. Для решения этой проблемы для разработки ГККИ мы использовали яркий зеленый белок mAvicFP1 [1], который обладает низкой гомологией с EGFP и mNeonGreen.

Ранее при разработке кальциевого индикатора FAvCaMP, за основу был взят NTnC-подобный дизайн, где на N- и C-концах расположены две части флуоресцентного белка, а кальций-связывающий домен расположен посередине [2]. В качестве кальций-связывающего домена был выбран CaM-M13-комплекс из грибов *S. pombe*, который так же имеет не высокую гомологию с CaM-M13-комплексом из *H. sapiens* и *M. musculus*. Подобный дизайн обеспечивает сохранения свойств сенсора при переклонировании в разные конструкции, в отличие от индикаторов с GCaMP-подобным дизайном. Однако полученный сенсор FAvCaMP обладал пониженным сродством к ионам кальция.

Для улучшения сродства к ионам кальция был проведен раунд мутагенеза с измененными условиями скрининга, в результате чего был получен сенсор FAvCaMP2, обладающий сродством к ионам кальция оптимальным для использования в цитозоле нейронов.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт»

Источники и литература

- 1) Lambert G. G., Depernet H., Gotthard G., Schultz D. T., Navizet I., Lambert T., Bindels D. S., Levesque V., Moffatt J. N., Salih A., Royant A., Shaner N. C. *Aequorea victoria's secrets* // BioRxiv – 2019.
- 2) Nasu Y., Shen Y., Kramer L., Campbell R. E. Structure- and mechanism-guided design of single fluorescent protein-based biosensors. // *Nature Chemical Biology*. – 2021. – Vol. 17. – P. 509-518.
- 3) Shaner N. C., Lambert G. G., Chamma A., Ni Y., Cranfill P. J., Baird M. A., Sell B. R., Allen J. R., Day R. N., Israelsson M., Davidson M. W., Wang J. A bright monomeric green fluorescent protein derived from *Branchiostoma lanceolatum* // *Nature Methods* – 2013. – Vol. 10. – No. 5. – P. 407–409.