

Определение причин патологического подщелачивания лизосом с помощью оптогенетического подхода на различных клеточных моделях.

Научный руководитель – Ильинский Николай Сергеевич

Алехин В.А.¹, Павлов В.В.²

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: alekhin.va@phystech.edu*;

2 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: pavlov.vv@phystech.edu*

Патологическое подщелачивание лизосом – важная причина дисфункции лизосом, которая, в свою очередь, может приводить к различным болезням [1, 2]. Подщелачивание лизосом вызывается различными патологическими процессами, наиболее важными из которых являются подавление активности вакуолярной АТФазы, пермеабиллизация мембраны лизосом, накопление в их просвете протонных губок. Эти патологические процессы могут вносить разный вклад в развитие тех или иных патологий, поэтому, их различение может иметь значение для корректного подбора терапии.

Мы предлагаем в качестве способа выявления патологических процессов, вызывающих подщелачивание лизосом, использовать характерные особенности процесса изменения рН лизосом при их временном подкислении оптогенетическим инструментом lyso-Rhodopsin - амплитуду изменения рН просвета лизосом и скорость его реподщелачивания после окончания воздействия.

Работа выполнена на клетках линии НЕК293Т и на клетках колоректального рака линии НСТ116 (моделирование патологических процессов препаратами), а также на двух клеточных линиях, полученных от пациентов с лизосомными болезнями накопления (ЛБН). В работе использовался конфокальный микроскоп производства компании ZEISS. Подавление активности вакуолярной АТФазы моделировалось воздействием бафиломицина А1, накопление протонных губок – гидроксихлорохина, хлорохина или U18666A, а пермеабиллизация лизосомной мембраны – LLОМе.

По результатам работы по моделированию лизосомных патологических процессов препаратами на двух клеточных линиях (НЕК и НСТ116) были выявлены значительные различия между этими процессами в характере оптогенетических откликов. Например, было установлено на НЕК и подтверждено на НСТ116, что при подавлении активности вакуолярной АТФазы средняя скорость восстановления патологического рН после окончания освещения значительно меньше, чем при других причинах подщелачивания, а при пермеабиллизации мембраны – меньше амплитуда изменения рН. Помимо этого, на пациентских клеточных линиях было также показано, что характер оптогенетических откликов при разных ЛБН значительно отличается.

Авторы выражают благодарность Министерству науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-03-2026-305, проект FSMG-2024-0012).

Источники и литература

- 1) 1. Carmona-Gutierrez D. et al. The crucial impact of lysosomes in aging and longevity // Ageing research reviews, Т. 32. 2016. С. 2-12.
- 2) 2. Nixon R. A. The role of autophagy in neurodegenerative disease // Nature medicine, Т. 19. 2013. No. 8. С. 983-997.