

## Протонная оптогенетика для модуляции рН цитозоля и везикул в клетках нервной ткани

Научный руководитель – Ильинский Николай Сергеевич

Багаева Д.Ф.<sup>1</sup>, Ясковец А.А.<sup>2</sup>

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: bagaeva\_dina@mail.ru*; 2

- Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: yaskovets.aa@phystech.edu*

Оптогенетика является мощным инструментом для исследования нейрональных сетей. Традиционно она фокусируется на контроле потенциала действия. В настоящий момент оптогенетика расширилась на применение к функциям органелл, а также глиальных клеток, в частности астроцитов [3].

Одним из перспективных направлений является использование протонной помпы Arch3, направленной в синаптические везикулы для функционального замещения вакуолярной АТФ-азы [1]. Несмотря на эффективность данного подхода в контексте оптогенетического закисления везикул и модуляции накопления нейромедиаторов, он обеспечивает лишь однонаправленный контроль. В отличие от существующих стратегий подавления синаптической передачи, таких как кластеризация везикул или неспецифическое изменение ионного гомеостаза [2, 4], разрабатываемый нами подход на основе обратной протонной помпы позволяет осуществлять тонкую обратимую модуляцию функционального состояния везикул, не нарушая целостности цитоскелета пресинаптического окончания.

Для реализации данного подхода нами были сконструированы адено-ассоциированные вирусные векторы, обеспечивающие экспрессию целевого белка в первичных культурах нейронов и астроцитов. Методами флуоресцентной микроскопии подтверждена эффективная доставка белка в синаптические везикулы нейронов и плазматическую мембрану астроцитов. С использованием генетически кодируемых рН-сенсоров продемонстрирована возможность оптогенетического контроля внутривезикулярного и внутриклеточного рН. Примечательно, что оптогенетически индуцированное защелачивание цитозоля астроцитов сопровождалось значимым повышением внутриклеточной концентрации кальция.

Таким образом, разработанные вирусные конструкции представляют собой новые эффективные инструменты для исследования рН-зависимых процессов в нейронах и астроцитах. Предложенный подход расширяет набор доступных оптогенетических инструментов для отдельного исследования пресинаптических механизмов и глиальной физиологии в культуральных системах.

Публикация подготовлена в рамках гранта Программы «Мозг» АНО «Идея».

### Источники и литература

- 1 Rost B. R. et al. Optogenetic acidification of synaptic vesicles and lysosomes //Nature neuroscience. – 2015. – Т. 18. – №. 12. – С. 1845-1852.
- 2 Vettkötter D. et al. Rapid and reversible optogenetic silencing of synaptic transmission by clustering of synaptic vesicles //Nature communications. – 2022. – Т. 13. – №. 1. – С. 7827.
- 3 Vlasova A. D. et al. Intracellular microbial rhodopsin-based optogenetics to control metabolism and cell signaling //Chemical Society Reviews. – 2024. – Т. 53. – №. 7. – С. 3327-3349.
- 4 Wiegert J. S. et al. Silencing neurons: tools, applications, and experimental constraints //Neuron. – 2017. – Т. 95. – №. 3. – С. 504-529.