

**Разработка редокс-инструментов для метаболической инженерии клеток мозга**

**Научный руководитель – Белоусов Всеволод Вадимович**

**Фетисова Елена Сергеевна**

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия

*E-mail: fetisova.el.s@gmail.com*

Пероксид водорода участвует в формировании редокс-баланса (redox - reduction-oxidation) и выполняет сигнальные функции в физиологических условиях.  $H_2O_2$  способен окислять редокс-чувствительные остатки цистеина в белках, влияя на их конформацию и/или функционирование. Данный тип регуляции был продемонстрирован для ряда фосфатаз, киназ, белков защитных путей, а также кальциевых каналов. Генерация  $H_2O_2$  может осуществляться под воздействием специфических стимулов, длительность его присутствия и миграции контролируется работой антиоксидантных систем. Таким образом в клетке формируется редокс-ландшафт, в котором сигнальные пути в различных компартментах подвергаются избирательной редокс-модификации [3].

Было показано, что АФК оказывают влияние на функционирование клеток нервной системы, формирование долговременной потенциации. Однако изучение редокс-процессов, протекающих в синаптических компартментах, а также в астроцитах, активно влияющих на функционирование синапсов, было затруднено из-за отсутствия подходящих инструментов [1, 2].

Для изучения влияния редокс-статуса клеток на спайкование нейронной сети в первичной смешанной гиппокампальной культуре нами был создан ряд генетических конструкций с использованием биосенсора для детекции  $H_2O_2$  (HyPer) и оксидазы D-аминокислот (ДААО). Фермент позволяет осуществлять генерацию  $H_2O_2$ , контролируруемую через количество внесенного субстрата. Используя специфические промоторы, сигнальные последовательности и синаптические белки, мы добились астроцитарной и нейрональной локализации наших конструкторов, позволяющей определить влияние редокс-статуса отдельных компартментов нейронов и астроцитов на активность сети. Для регистрации активности нейронов использовались биосенсоры, реагирующие на изменения концентрации внутриклеточного кальция (GECO, Camp). Нами подобраны оптимальные условия для ведения клеточных культур, трансфекции, трансдукции, имаджинга и формирования устойчивой спайковой активности. Эксперименты лягут в основу исследований *in vivo* для уточнения роли  $H_2O_2$  в формировании долговременной потенциации.

**Источники и литература**

- 1) Fellin, T., Pascual, O. & Haydon, P. G. Astrocytes Coordinate Synaptic Networks: Balanced Excitation and Inhibition. *Physiology*. 2006, 21. p. 208–215.
- 2) Kamsler, A. & Segal, M. Hydrogen peroxide modulation of synaptic plasticity. *J. Neurosci*. 2003, 23. p. 269–76.
- 3) Stone, J. R., & Yang, S. Hydrogen Peroxide: A Signaling Messenger. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2006, 8(3-4). p. 243–270.