

**ИССЛЕДОВАНИЕ НАРУШЕНИЙ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА И
БИОЭНЕРГЕТИКИ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ЭКСПРЕССИЕЙ
АБЕРРАНТНОГО БЕЛКА FUS [1-359] МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ
МИКРОСКОПИИ**

ШИТИКОВА Е.Ю.¹, БАЖЕНОВ П.А.¹, ЖУНУСОВ Н.С.², ВИНОКУРОВ А.Ю.¹

¹Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
e_shitikova_02@mail.ru

²НИУ «БелГУ», г. Белгород, Россия

Флуоресцентные зонды стали незаменимыми инструментами в клеточной биологии благодаря высокой селективности и чувствительности к рассматриваемым параметрам состояния объектов исследований. Особое значение приобрели ратиометрические зонды, принцип действия которых заключается в смещении длины волны максимума возбуждения или эмиссии в результате изменений, происходящих в клетках. По сравнению с другими флуорофорами они позволяют исключить погрешности измерений, обусловленные неравномерным распределением зонда, изменениями фокусировки в ходе эксперимента, фотобликингом и рядом других процессов [1]. Помимо этого, получаемый флуоресцентный сигнал может быть сравнительно легко преобразован в концентрацию влияющих на его величину соединений. Ратиометрические зонды нашли широкое применение для оценки состояния внутриклеточных Ca^{2+} и Mg^{2+} , позволяющей провести изучение нарушений клеточной биоэнергетики и связанных с ними процессов. Это является крайне актуальным в исследованиях нейродегенеративных заболеваний, для которых изменения в энергозатратном поддержании кальциевого гомеостаза являются весьма распространенными составляющими патологии [2]. Часто используемыми ратиометрическими зондами для определения концентраций Ca^{2+} и Mg^{2+} являются Fura-2 и Mag-Fura-2 соответственно. Оба красителя имеют максимумы возбуждения флуоресценции свободной формы 380 нм и связанной с металлом – 340 нм. Благодаря высокому сродству к Mg^{2+} и низкому – к Ca^{2+} , Mag-Fura-2 позволяет как контролировать изменения внутриклеточного уровня АТФ, так и определить время до полного истощения макроэрга при блокировании его синтеза в клетке [3].

Данные зонды были нами использованы при исследовании клеток коры головного мозга мышей с мутантным белком FUS [1-359], являющихся моделью бокового амиотрофического склероза (БАС). Показано, что период поддержания способности к сохранению градиента Ca^{2+} при блокировании синтеза АТФ выше в астроцитах и нейронах мутантов в сравнении с клетками дикого типа (ДТ). С учетом ранее показанной дисфункции митохондрий и, вероятно, связанным с ним снижением уровня макроэрга [4] это может свидетельствовать о значительных нарушениях в протекании потребляющих энергию внутриклеточных процессах. Данное предположение находит подтверждение в результатах исследования кальциевой сигнализации с использованием Fura-2, которые показывают, что в клетках головного мозга нарушены механизмы регуляции внутриклеточного Ca^{2+} , длительное увеличение концентрации которого в цитоплазме может приводить к развитию патологии.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ №075-15-2022-1095.

1. Kao J. P. Practical aspects of measuring $[Ca^{2+}]$ with fluorescent indicators // *Methods in cell biology*. – 1994. – Vol. 40. – P. 155-181.
2. Erecińska M., Silver I. A. Ions and energy in mammalian brain. *Progress in neurobiology*. – 1994. – Vol. 43. – №. 1. – P. 37-71.
3. Нырц К. Л., Бовник Ж. М., Голдберг М. Р. Ionic selectivity of low-affinity ratiometric calcium indicators: mag-Fura-2, Fura-2FF and BTC // *Cell calcium*. – 2000. – Vol. 27. – №. 2. – P. 75-86.
4. Smith E. F., Shaw P. J., De Vos K. J. The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis // *Neuroscience letters*. – 2019. – Vol. 710. – P. 132933.