

ОПТОГЕНЕТИКА. ОПТОГЕНЕТИЧНІ ЗАСОБИ У БІОТЕХНОЛОГІЇ

Стогній К.М., Кузь О.П.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, karinastohnii@gmail.com

Abstract

This article is devoted to optogenetics as a science combining physics and biology, its application in biotechnology, and the latest research techniques. Various optogenetic tools are observed and the mechanisms of their work, as well as their possible application areas.

Keywords: *optogenetics, opsins, biotechnology, neurons, biofuels.*

Вступ. Оптогенетика – експериментальний метод в біологічних дослідженнях, що включає поєднання оптики і генетики в технологіях, які призначені для контролю (шляхом викликання або гальмування) чітко визначених подій в клітинах живих тканин тварин. Оптогенетичні виконавчі пристрої – це білки, які змінюють активність клітини, в якій вони виражаються, коли ця клітина піддається впливу світла (рис. 1). Ці виконавчі механізми можуть бути використані для індукування одного або декількох потенціалів дії (які можуть бути організовані в регулярні спайкові поїзди або які можуть бути псевдовипадковими з керованою користувачем швидкістю), придушення нейронної активності або модифікації біохімічних сигнальних шляхів, з мілісекундним контролем над часом подій [1].

Метою роботи є поглибити знання з оптогенетики та розглянути можливі методи застосування оптогенетичних засобів.

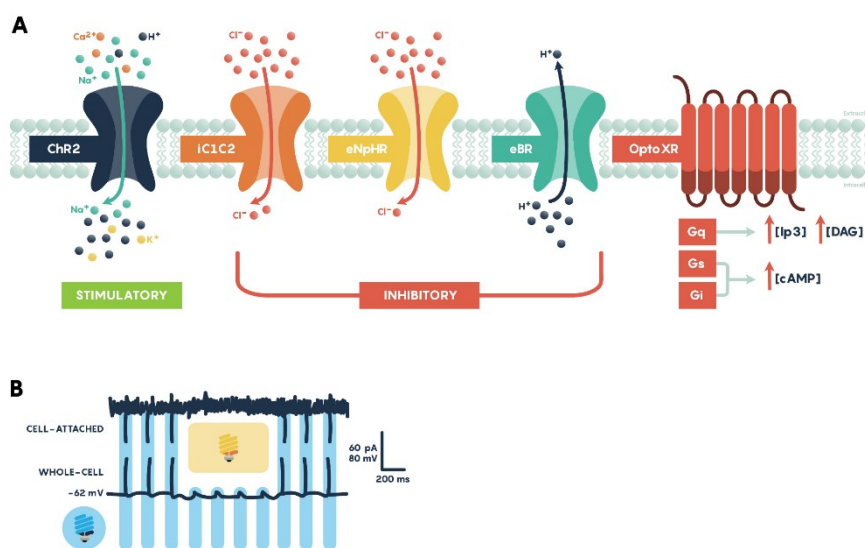


Рис 1. Клітина що піддається впливу світла. А - показує збудливий ефект синього світла на мембранно-зв'язаний опсин, що функціонує як канал. В - показує потенціали дії у відповідь на синє (збудливе) світло [1].

Матеріали та методи. У роботі зроблено огляд оптогенетичних пристроїв та визначено їх відмінності та особливості. Описано що собою представляють ці пристрої та сфери їх використання. Для глибшого розуміння теми був проведений порівняльний аналіз різних джерел інформації.

Результати та обговорення. Згідно з проаналізованою літературою встановлено, що до оптогенетичних пристроїв відносяться: опсини, каналні родопсини, хлоридні насоси або галородопсини, а також протонні насоси.

Опсини – це білки, які зв'язуються зі світлореактивними хімічними речовинами, що лежать в основі зору, фототаксису, циркадних ритмів та інших світлопосередкованих реакцій організмів.

Канальні родопсини, а саме channelrhodopsin-2 (ChR2) – це неспецифічний канал катіону, виділений із зелених водоростей *Chlamydomonas reinhardtii*. ChR2 поглинає синє світло, викликаючи конформаційні зміни, які дозволяють катіонам H^+ , Na^+ , K^+ і Ca^{2+} пасивно дифундувати вниз їх градієнтів концентрації. Коли ChR2 виражається в нейронах, його відкриття викликає швидко деполяризацію плазматичної мембрани, яка може викликати потенціали дії. Важливо відзначити, що канал також дуже швидко закривається, коли синє світло перемикається. Тому один потенціал дії може генеруватися з коротким імпульсом синього світла, без тривалих залишкових ефектів стимуляції. ChR2 здатний керувати активністю нейронів на частотах від 1 до 40 Гц [2].

Ефекти галородопсинів вперше були відзначені наприкінці 1970-х років хлоридним транспортом. Показано, що білок, отриманий з *Natronomonas pharaonis* і розроблений для запобігання скупченню в ендоплазматичному ретикулумі, створює певні фотоцикли порівняно з іншими мікробними, світлочутливими хлоридними транспортерами [3].

Протонні насоси також можуть використовуватися для інгібування нейронів через гіперполяризацію, викачуючи протони з клітини, і мають деякі особливості, які роблять їх бажаними альтернативами хлоридним насосам, які включають швидке відновлення після інактивації та струми більшого розміру після активації. Арка (archaerhodopsin-3 від *Halorubrum sodomense*), Мас (від гриба *Leptosphaeria maculans*), АрХТ (архаерходопсин з штаму *Halorubrum* TR009) та eBR (посилена версія бактеріородопсину з *Halobacterium salinarum*) - це протонні насоси, які показати надійну ефективність при гальмуванні [1].

Зважаючи на особливі властивості розглянутих нами оптогенетичних засобів, вони знаходять застосування у різних галузях промисловості, зокрема і у біотехнології. Наприклад, при виробництві фармакологічних та інших цінних субстратів, зокрема для підвищення виходу таких речовин як нарингенін, лікопін, дезоксивіолацеїн, молочна кислота та фікоціанобілін [1].

У випадку біотехнологічного отримання молочної кислоти було використано OptoEXP-ор і OptoAMP Ots для регуляції синтезу лактатдегідрогенази, що дозволило підвищити стійкість молочнокислих бактерій до низького рН [1].

З використанням оптогенетичних засобів досягнуто підвищення синтезу лікопіну, який застосовується для профілактики раку та пухлин, захисту серцево-судинної системи та його антипроліферативної та антиоксидантної дії. Так, з використанням фітохрому *A. thaliana* В (PhyB) і фітохром-взаємодіючого фактора 3 (PIF3) у *E. coli* дозволило досягти виходу лікопіну майже в 2 рази вище (до 6 мг/л) порівняно з контролем.

Нещодавно було показано, що біосинтез дезоксивіолацеїну посилюється світловим прискоренням перетворення продезоксивіолацеїну в дезоксивіолацеїн через котрансфекцію дріжджового штаму з касетним кодуванням VioE-optoCluster та VioC-optoCluster OTs [4].

Різні оптогенетичні засоби активно використовуються при дослідженні неврологічних розладів, наприклад, у терапії хвороби Паркінсона можна передбачити перемикач, який знижує активність дофамінових нейронів для запобігання дискінезій, викликаних трансплантатом, або перетворює його на підвищення терапевтичних переваг [5].

Також повідомляється про проведення досліджень мозку з використанням оптогенетичних засобів, а саме у нейробіології для вивчення функцій мозкових ланцюгів у кількох масштабах, дозволяючи маніпулювати нейронною активністю з високою часовою та просторовою роздільною здатністю [6].

Перспективним напрямком використання оптогенетичних засобів є виробництво біопалива. Оптогенетичний контроль інженерних шляхів дозволяє створити новий режим роботи біореактора з використанням періодичних світлових імпульсів для покращення експресії ферментів під час фази ферментації. Використовуючи ці досягнення, можливо контролювати шлях синтезу ізобутанолу для отримання до 8,5 г/л – 1-ізобутанолу.

Наведені результати свідчать про перспективність застосування оптогенетики у метаболічній інженерії для виробництва багатьох цінних продуктів [7].

Висновки. За результатами роботи визначено основні групи оптогенетичних засобів та їх основні галузі застосування у сучасному виробництві та біотехнології.

Список використаної літератури:

1. Ju D. W. Neuroscience: Canadian 1st Edition. Open Library Publishing Platform – Pressbooks for Ontario's Postsecondary Educators. URL: <https://ecampusontario.pressbooks.pub/neurosciencecdn/>.
2. Wimmer V. C., Lester H. A., Petrou S. ION CHANNELS | Ion Channel Mutations in Familial Epilepsy. Encyclopedia of Basic Epilepsy Research. 2009. С. 651–658. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-012373961-2.00146-6>.
3. Lanyi J. K. 8.10 Light Capture and Energy Transduction in Bacterial Rhodopsins and Related Proteins. Comprehensive Biophysics. 2012. С. 206–227. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374920-8.00816-x>.
4. Optogenetic approaches in biotechnology and biomaterials / V. V. Reshetnikov та ін. Trends in Biotechnology. 2022. URL: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.12.007>.
5. Chen Y., Xiong M., Zhang S.-C. Illuminating Parkinson's therapy with optogenetics. Nature Biotechnology. 2015. Т. 33, № 2. С. 149–150. URL: <https://doi.org/10.1038/nbt.3140>.
6. Optogenetics in Brain Research: From a Strategy to Investigate Physiological Function to a Therapeutic Tool / E. Montagni та ін. Photonics. 2019. Т. 6, № 3. С. 92. URL: <https://doi.org/10.3390/photonics6030092>.
7. Optogenetic regulation of engineered cellular metabolism for microbial chemical production / E. M. Zhao та ін. Nature. 2018. Т. 555, № 7698. С. 683–687. URL: <https://doi.org/10.1038/nature26141>.