

УДК 577.25

**ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ СЕМИСПИРАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В  
КЛЕТКАХ ГРАНУЛЕЗЫ МЫШИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИ  
КОДИРУЕМЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БИОСЕНСОРОВ**

**Почетная П.А.** (Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова),

**Алешина Н.М.** (Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН)

**Научный руководитель – к. б. н., Никишин Д. А.**

(Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН)

**Аннотация.** Для исследования семиспиральных рецепторов был создан флуоресцентный биосенсор. Созданный генетический конструктор трансфицировали в клетки гранулезы мыши. С помощью биосенсора удалось увидеть активацию сигнальных механизмов в клетках.

**Введение.** Гуморальная регуляция роста фолликулов в яичнике является актуальной фундаментальной научной проблемой, имеющей прямое прикладное отношение к сохранению репродуктивного потенциала женщины. Клетки гранулезы – это звено, опосредующее влияние организма на созревающие яйцеклетки. Активность клеток гранулезы регулируется большим количеством паракринных и аутокринных факторов. Механизм действия многих факторов связан с семиспиральными рецепторами (GPCR). В связи с этим, определение функциональной активности GPCR является ключевой задачей в исследовании сигнальных путей в регуляции физиологического статуса фолликулярных клеток. Бета-аррестин является основным регулятором активности GPCR. После связывания с лигандом бета-аррестин присоединяется к рецептору, что обеспечивает его десенситизацию. Таким образом, бета-аррестин является удобным белком для создания биосенсора активности рецепторов.

**Основная часть.** Для исследования широкого спектра семиспиральных рецепторов нами был создан флуоресцентный биосенсор путем клонирования гена бета-аррестина-2 крысы в одну рамку считывания с дальним красным флуоресцентным белком mKate2. Полученный гибридный белок при активации GPCR в клетке меняет локализацию с цитоплазматической на примембранную. Для исследования GPCR, сопряженных с Gq-белком, к которым относится экспрессирующийся в клетках гранулезы рецептор серотонина HTR2A, использовали биосенсором pH-YFP. Данный белок заякорен на мембране, а при активации рецепторов, фосфолипаза PLC гидролизует место прикрепления биосенсора, поэтому молекула желтого флуоресцентного белка YFP уходит в толщу клетки. Таким образом, мы наблюдаем смещение сигнала из подмембранного пространства в центр клетки.

**Выводы.** Исследование активности GPCR в клетках гранулезы с применением генетически кодируемых флуоресцентных биосенсоров имеет огромные преимущества, так как позволяет исследовать сигнальные механизмы как в живых клетках в реальном времени, так и на фиксированном материале. Данный методический подход имеет большое поле для создания методов детекции самых разнообразных молекул и процессов. В экспериментах с применением фармакологических лигандов показана активность рецепторов к нескольким сигнальным факторам, в том числе к ФСГ и серотонину. Дальнейшее применение разработанного методического подхода позволит получить новые данные о возможных гуморальных механизмах регуляции функциональной активности клеток гранулезы и станет основой для разработки методов исследования других процессов развития.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-04-00303.*