

**Разработка новых генетически кодируемых кальциевых сенсоров, основанных на тропонине С**

**Научный руководитель – Субач Фёдор Васильевич**

*Доронин Данила Андреевич*

*Студент (бакалавр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: doronin1303@bk.ru*

В настоящее время генетически кодируемые кальциевые сенсоры (ГККС) стали важным инструментом для исследований мозга. Любой такой сенсор состоит из двух обязательных частей: флуоресцентного белка, и домена, обладающего способностью связывать кальций. Тропонин С— белок, имеющий четыре сайта связывания кальция. Большое разнообразие флуоресцентных белков и вариаций тропонина С привело нас к трём различным ГККС, представленных ниже:

1. dNTnC-модификация белка NTnC[1], разработанного ранее в нашей лаборатории. Данная модификация является попыткой увеличить контраст этого белка путём изменения длины линкеров (последовательностей аминокислот между флуоресцентной и чувствительной частью).

2. ddNTnC—модификация того же белка. Попытка уменьшить размеры сенсора[2] и линеаризовать зависимость его яркости от концентрации кальция.

3. YTnC— использован другой флуоресцентный белок.

Путём различных вариантов скрининга из этих библиотек были найдены флуоресцентные белки, имеющие чувствительность к йонам кальция. Наиболее многообещающей и разрабатываемой на данный момент является библиотека YTnC. Наилучшие клоны в библиотеке YTnC с прямым фенотипом имеют контраст порядка 700% а с обратным фенотипом – порядка 1800%. В планах– улучшить контраст, яркость и исследовать свойства полученных белков.

**Источники и литература**

- 1) Barykina N.V. A new design for a green calcium indicator with a smaller size and a reduced number of calcium-binding sites//Scientific Reports, 2016, 6:34447 | DOI: 10.1038/srep34447
- 2) Thestrup T, Optimized ratiometric calcium sensors for functional in vivo imaging of neurons and T lymphocytes//Nature methods | VOL.11 NO.2 | FEBRUARY 2014 | 175