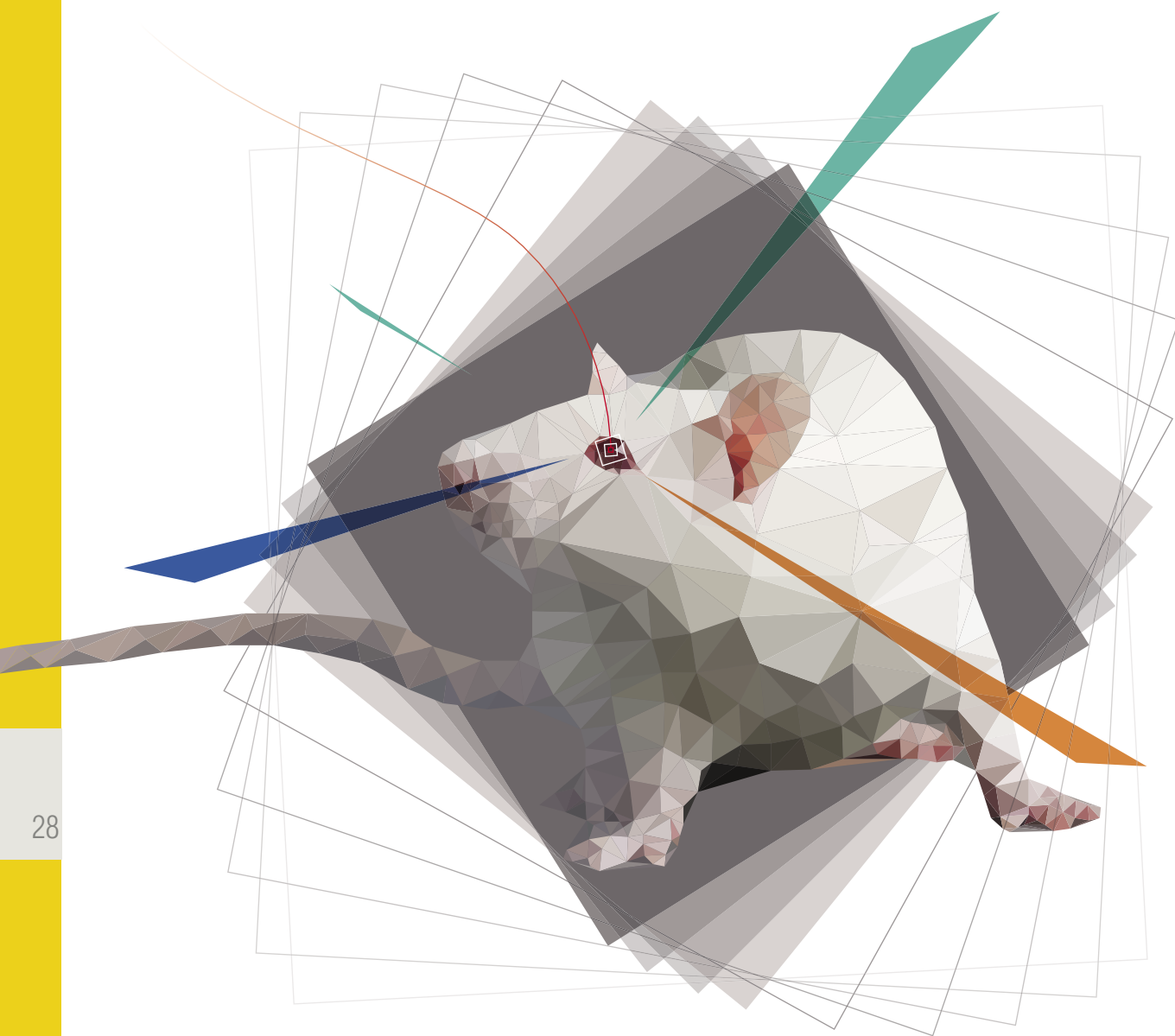


Пролить СВЕТ на память



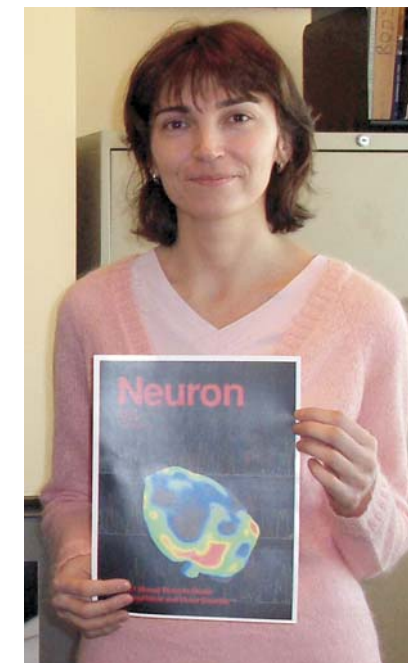
Одним из наиболее выдающихся научных результатов 2014 г. журнал *Science* признал результаты работ по чрезвычайно точной манипуляции мозговыми нейрональными процессами путем облучения светом отдельных нейронов у генно-инженерных лабораторных животных. С помощью такого оптогенетического метода группе ученых из Массачусетского технологического института (США) удалось воздействовать на память, превратив плохие воспоминания в хорошие

Классические подходы к изучению функций мозга основаны на разрушении определенного отдела мозга либо на его химической или электрической стимуляции/угнетении и последующем анализе произошедших изменений. Но эти довольно грубые манипуляции не позволяют, к примеру, точно определить тип нейронов, в которых произошли нарушения (а нейроны отличаются по функции, морфологическим и биохимическим особенностям, профилю экспрессии (активации) генов), что затрудняет понимание полученных эффектов. Современные молекулярно-генетические технологии дают возможность выполнять более тонкие процедуры вплоть до манипулирования экспрессией отдельных генов в тканях мозга, что дает более точные результаты.

Одним из относительно новых и, как уже очевидно, перспективных методологических подходов к изучению функций мозга является *оптогенетика*. Оптогенетический метод позволяет извне регулировать активность нейронов и, соответственно, работу мозга с помощью света. Для этого нужно предварительно с помощью генно-инженерных методов внести в клетки мозга ген, кодирующий особый светочувствительный белок, который при активации под действием света вызывает возбуждение или ингибирование нейрона. Так, появляется возможность регулировать активность нейрона, «включая» и «выключая» экспрессию этого гена. Свет при этом подается с помощью лазера прямо в мозг экспериментального животного – мыши или крысы – через вживленный в него оптоволоконный световод.

Светочувствительные рецепторные белки *опсины*, реагирующие на свет, присутствуют во многих организмах (например, зрительный пигмент *родопсин*, содержащийся в сетчатке глаза у многих животных, от морских беспозвоночных до человека). Под действием света родопсин с помощью белков-посредников вызывает возбуждение нейрона, происходит открытие ионных каналов, и возбуждение передается дальше по нервным путям. Для задач оптогенетики наиболее удобным оказался светочувствительный белок *ChR2* (*канальный родопсин-2*), выделенный из водорослей, который сам по себе служит каналом для прохода катионов сквозь клеточную мембрану.

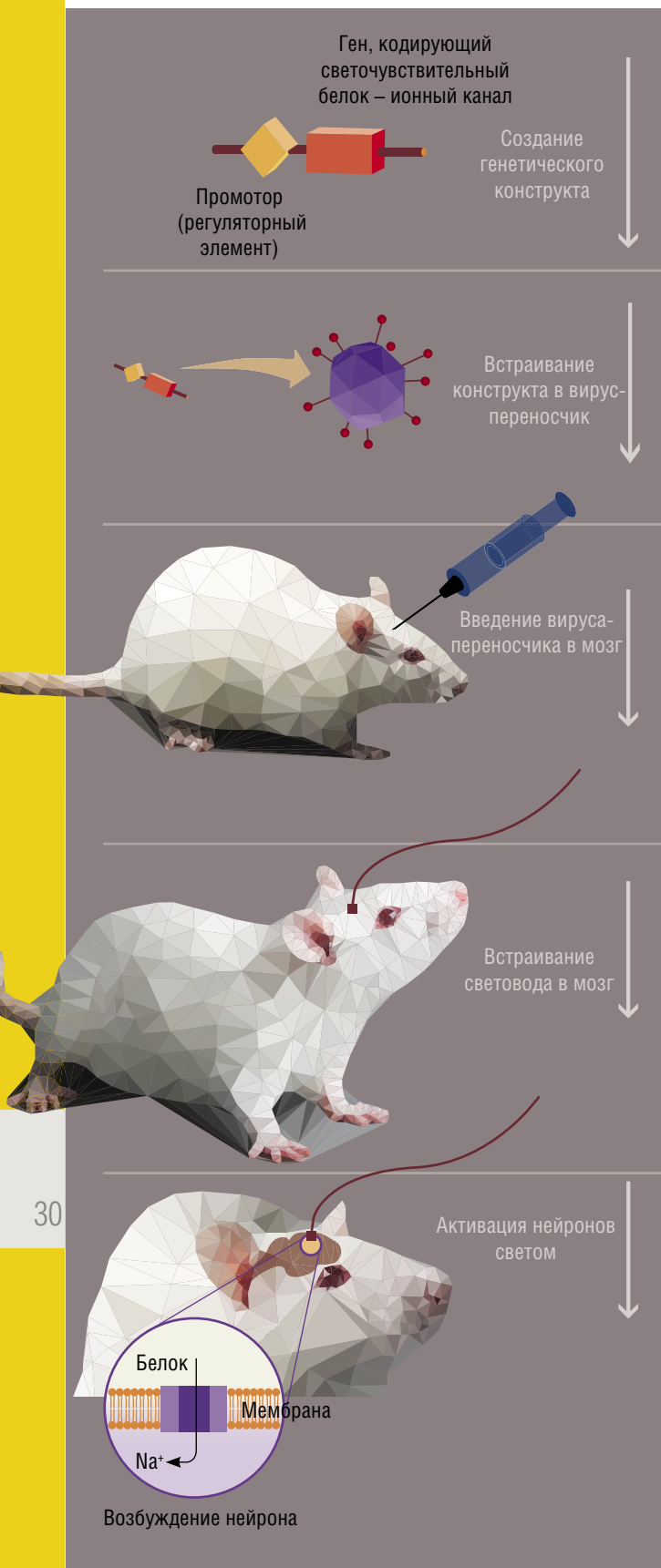
Предположение о возможности манипулировать нейрональными процессами с использованием оптогенетического подхода была высказана еще в 1999 г. Нобелевским лауреатом Ф. Криком, одним из первооткрывателей структуры ДНК (Crick, 1999). Затем этот метод был успешно применен в экспериментах на плодовых мушках (Zemelman *et al.*, 2002, 2003). Немного позже оптогенетический подход был применен и к млекопитающим – лабораторным крысам и мышам – группой исследователей под руководством К. Дейсера и Э. Бойдена, которые начали использовать *ChR2*, а также ряд других опсинов (Boyden *et al.*, 2005; Adamantidis *et al.*, 2007). Оказалось, что оптогенетические манипуляции позволяют, например, корректировать некоторые поведенческие отклонения у экспериментальных животных, такие как *ангедонию* – отказ от удовольствия, последствия тревожности, а также дефицит эпизодической памяти, связанный с посттравматическими расстройствами (Convington *et al.*, 2010; Tye *et al.*, 2011; Goshen *et al.*, 2011).



ЛИПИНА Татьяна Викторовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальных моделей патологии когнитивной деятельности Института физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН (Новосибирск). Автор и соавтор 46 научных работ

Ключевые слова: гены, мозг, поведение, нейронаука, экспериментальные модели ментальных заболеваний.
Key words: genes, brain, behavior, neuroscience, animal models for mental disorders

© Т.В. Липина, 2015



Одной из фундаментальных задач нейронауки является расшифровка нейрональных основ памяти. Ведь наша память меняется со временем: воспоминания могут тускнеть, а иногда мы можем даже «помнить» события, которые вообще не происходили. Одна из причин, по которым могут происходить изменения в нашей памяти, – это изменение эмоционального контекста воспоминаний. Например, приятные воспоминания о романтическом ужине могут перестать быть таковыми после размолвки, и хотя пространственная память в этом случае сохраняется, позитивные ассоциации теряются.

Наша пространственная память (память «где?») закодирована в особой структуре мозга – *гиппокампе*, а эмоциональность воспоминаний, их сопряжение с позитивными или негативными эмоциями (память «что?») кодируется в *миндалевидном теле (амигдале)*. Считается, что эмоциональная память тесно связана с процессами запоминания и обучения. Нейроны амигдалы передают сигналы двигательной и гормональной системам мозга, непосредственно вовлеченными в реакции «предпочтения» и «избегания» (LeDoux, 2014).

В 2014 г. группа исследователей из Массачусетского технологического института под руководством Нобелевского лауреата С. Тонегавы опубликовала в журнале *Nature* свою очередную работу по изучению нейрональных основ памяти, в которой изложены результаты исследований взаимосвязи между представительствами пространственной и эмоциональной памяти и возможность управления такими ассоциациями (Redondo *et al.*, 2014). Ученые применили оптогенетический подход, а свои эксперименты они проводили на самцах лабораторных мышей, в мозг которых был вживлен световод.

Мыши, на которых проводился эксперимент, принадлежали к генетической линии *c-fos tTA*: у этих животных можно регулировать экспрессию гена *c-fos*, экспрессирующегося при обучении и формировании памяти. Этот ген «выключают» добавлением в корм антибиотика доксициклина. Экспериментальных животных дополнительно «усовершенствовали», встроив им в нейроны гиппокампа и амигдалы ген, кодирующий светочувствительный белок *ChR2*, который мог экспрессироваться только одновременно с активацией маркера нейрональной активности *c-fos*.

Оптогенетический метод позволяет извне регулировать работу мозга с помощью непосредственного воздействия светом через вживленный в мозг оптоволоконный световод. Предварительно с помощью генно-инженерных методов в нейроны нужно встроить ген, кодирующий светочувствительный белок, являющийся одновременно и ионным каналом: под действием света он вызывает возбуждение или ингибирование нейрона

В эксперименте одну группу мышей сначала подвергали слабому воздействию электрического тока («наказание»), а к другой группе запускали самок («поощрение»). Поскольку перед этим доксициклин удалялся из мышинного рациона, в активировавшихся нейронах гиппокампа и амигдалы происходила экспрессия гена *c-fos* и, соответственно, наработка белка *ChR2*. В результате нейроны, которые участвовали в формировании конкретной пространственной и эмоциональной памяти, оказались «помечены» этим светочувствительным белком. После этого в диету вновь был добавлен антибиотик, чтобы «выключить» экспрессию генов и таким образом сохранить нейрональный след негативной или позитивной памяти.

Затем мышей вновь помещали в ту же экспериментальную установку и, подавая свет, активировали у них нейроны, содержащие белок *ChR2*. У мышей, на которых накануне воздействовали электрошоком, воздействие светом активировало «память страха», поэтому они начинали активно избегать места своего наказания. И, напротив, животные, у которых накануне было «свидание» с самкой, после активации «памяти счастья» надолго оставались в экспериментальном отсеке, вспоминая «приятные» моменты.

На следующем этапе эксперимента было решено проверить возможность изменения памяти в зависимости от эмоционального контекста. Выяснилось, что если мышей с «памятью страха», у которых оптогенетически были активированы соответствующие нейроны гиппокампа, поместить к самкам, то ассоциации с этим местом «переключатся» с изначально негативных на положительные! Кстати сказать, «обратное» переключение ассоциаций с вознаграждения на страх при активации нейронов амигдалы оказалось затруднительным.

Более того, в еще одной своей работе исследователям удалось даже сформировать у экспериментальных животных ложную память! Мышей сначала помещали в нейтральную одну камеру (условно, «камера А»), светочувствительным белком «пометив» у них нейроны гиппокампа, связанные с нахождением в этом месте. Затем животных помещали в другую камеру (условно, «камера В»), где их подвергали воздействию электрошока и одновременно оптогенетически активировали у них нейроны гиппокампа, несущие пространственную информацию о «камере А». После этого мыши начали избегать «камеру А», хотя в ней их никогда не подвергали «наказанию» (Ramirez *et al.*, 2013).

То, что память может меняться с плохой на хорошую и наоборот, было известно давно, но только сейчас стали приоткрываться механизмы такого переключения сознания. Применение метода оптогенетики и использование генетически-модифицированных животных позволит в будущем подробно откартировать нейрональные пути головного мозга. Это приблизит

нас не только к более глубокому пониманию нейробиологических процессов мозга, но и, в конечном счете, созданию кардинально новых подходов для лечения ментальных заболеваний, которым сегодня подвержено около четверти человечества.

И если считать, что основная функция головного мозга – это централизованный контроль над всем организмом, то расшифровка секретов его работы может дать огромный толчок эволюции самого современного общества.

Лумепамыра

Adamantidis A.R. *et al.* Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons // *Nature*. 2007. V. 450. P. 420–424.

Boyden E.S. *et al.* Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity // *Nat. Neurosci.* 2005. V. 8. P. 1263–1268.

Crick F. *The impact of molecular biology on neuroscience* // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 1999. V. 354. P. 2021–2025.

Goshen I. *et al.* Dynamics of retrieval strategies for remote memories // *Cell*. 2011. V. 147. P. 678–689.

LeDoux J.E. *Coming to terms with fear* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111. P. 2871–287.

Lima S.Q., Miesenböck G. *Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons* // *Cell*. 2005. V. 121. P. 141–152.

Ramirez S. *et al.* Creating a false memory in the hippocampus // *Science*. 2013. V. 341(6144). P. 387–391.

Redondo L., Kim J., Arons A.L. *et al.* Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram. // *Nature*. 2014. V. 513(7518). P. 426–30.

Robinson M.J.F. *et al.* Optogenetic excitation of central amygdala amplifies and narrows incentive motivation to pursue one reward over another // *J. of Nsci.* 2014. N. 34(50), P. 16567–16580.

Tye K.M. *et al.* Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety // *Nature*. 2011. V. 471. P. 358–362.

Zemelman B.V. *et al.* Amygdala Selective photostimulation of genetically *chARGed* neurons // *Neuron*. 2002. V. 33. P. 15–22.

Zemelman B.V. *et al.* Photochemical gating of heterologous ion channels: remote control over genetically designated populations of neurons // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003. V. 100, P. 1352–1357.

