# Дежавю и другие манипуляции над «мышиным» сознанием (обзор достижений)

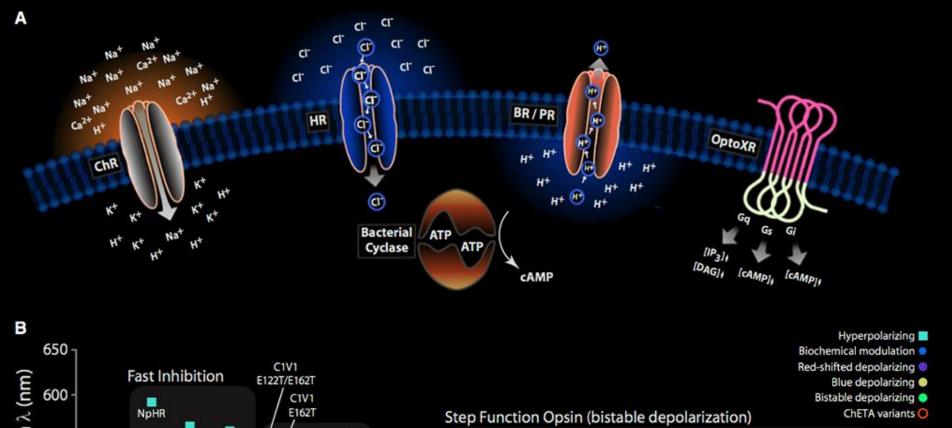


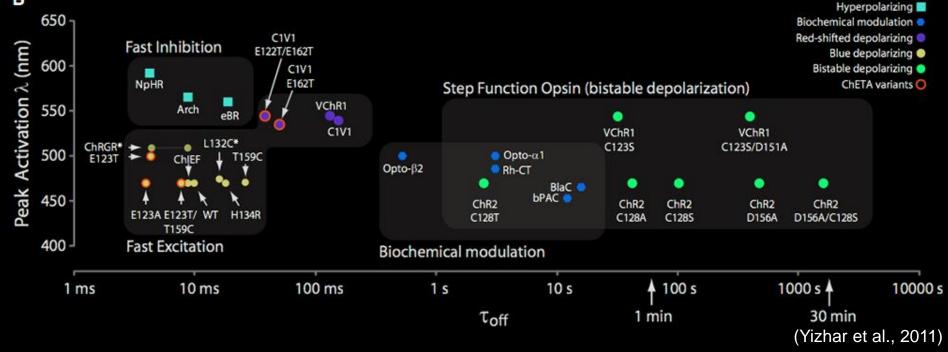
- Развитие молекулярного инструментария оптогенетики
- Использование его в изучении работы мозга и процессов памяти

- Технология синтетических рецепторов активируемых заданным лигандом
- DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs)

 Использование её в изучении работы мозга и процессов памяти

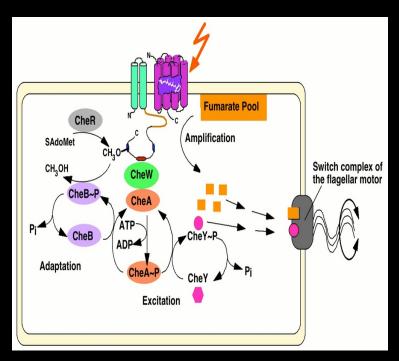
#### Инструментарий оптогенетики





# 1970-1980e Открытие и изуение опсинов

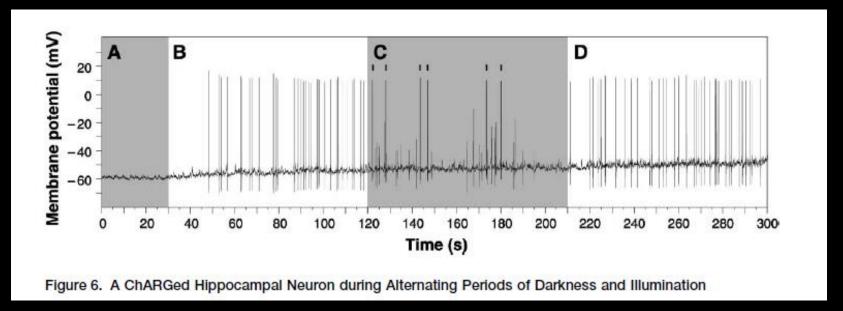
- Halobacterium salinarum:
  - Подвижный организм
  - Может жить только при свете как источнике энергии (Bacteriorhodopsin)



## 2002

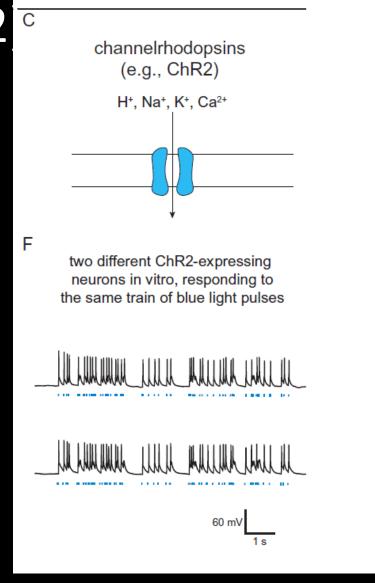
### chARGe мог быть ответом

- Трехгенная система фототрандукционного каскада дрозофилы которая экспрессировалась и работала в культуре гиппокамапальных нейронов.
  - chARGe= Arrestin-2 rhodopsin связанный с альфа субъединицей g-белка.



# 2003 и 2004 Каналородопсин-2 (Channelrhodopsin-2

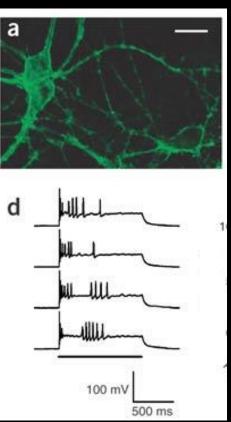
- Chlamydomona reinhardtii
  использует каналородопсин-2
  (ChR2) для
  фототаксиса(Sineshchekov et al.
  2002).
- ChR2 катионный канал, открывающийся в ответ на свет, используется для движения в С. reinhardtii.



## 2005

# Первая публикация по оптогенетике

 В 2005 первую статью об использовании оптогенетики на культуре гиппокампальных нейронов





#### Millisecond-Timescale Optical Control of Neural Dynamics in the Nonhuman Primate Brain

Xue Han, 1.\* Xisofeng Qian, 1 Jacob G. Bernstein, 1 Hui-hui Zhou, 2 Giovanni Talei Franzesi, 1 Patrick Stem, 3 Roderick T. Bronson, 3 Ann M. Graybiel, 2 Robert Desimone, 2 and Edward S. Boyden 1.2.4.\*

<sup>1</sup>Media Lab, Synthetic Neurobiology Group

Massachusetts Institute of Technology, 77 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA02139, USA

DOI 10.1016/j.neuron.2009.03.011

 – ChR2 может быть использован на нечеловекообразных обезьянах для модуляции активности в определенном наборе нейронов (α-CaMKII промотор) не вызывая смерти нейронов или иммуного ответа

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>McGovern Institute, Department of Brain and Cognitive Sciences

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Koch Center for Cancer Research

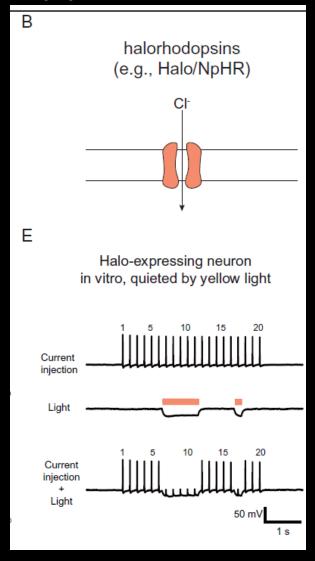
<sup>\*</sup>Department of Biological Engineering

<sup>\*</sup>Correspondence: xuehan1@gmail.com (X.H.), esb@media.mit.edu (E.S.B.)

#### 2007

# N. pharaonis Галородопсин

- галородопсин археи N. Pharaonis может использоваться для ингибирования нейронов (Clканал)
- При экспресии его в с. elegans можно модулировать локомоцию червя in vivo.



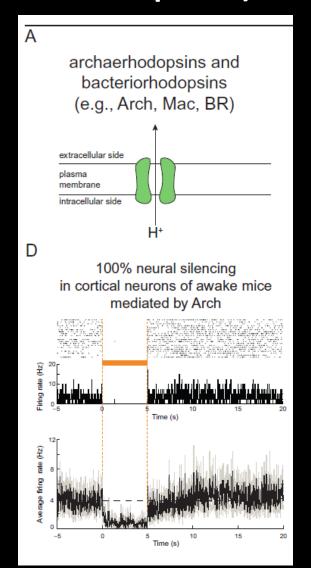
### 2010

# Археродопсин (Arechearhodopsin)

• Разрешение ограничений галородопсина:

### Археродопсины

- Могут полностью выключить нейрон.
- Быстро восстанавливаются после стимуляции
- Гиперполяризуют клетку выкачивая H+ (Chow et al. 2010).



Две наиболее интригующие проблемы работы мозга это механизмы сознания и памяти

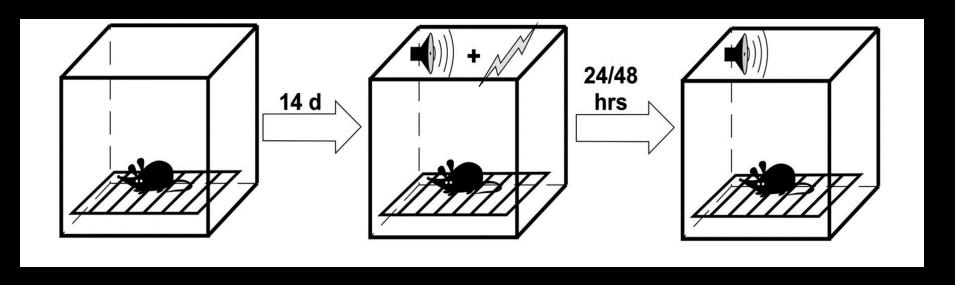
- •Больше всего нас интересует сознание
- •Но память исследовать гораздо проще

#### Как память

- формируется в мозге?
- хранится в мозге на протяжение многих лет?
- избирательно извлекается, когда это необходимо?



# Примерная схема эксперимента с обучением на мышах (память о страхе).

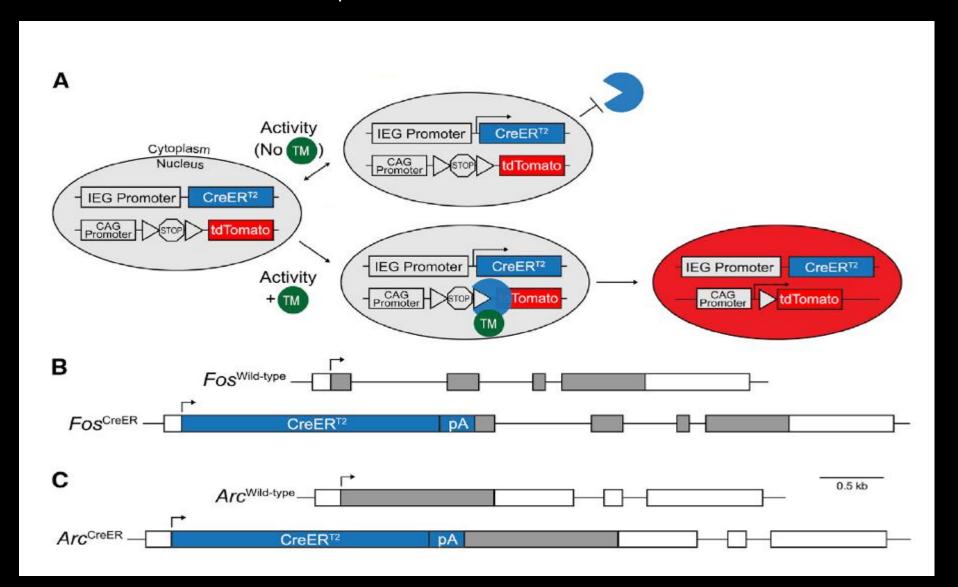


# Гены раннего ответа(immediate early genes c-fos, Arc) активируются при обучении.

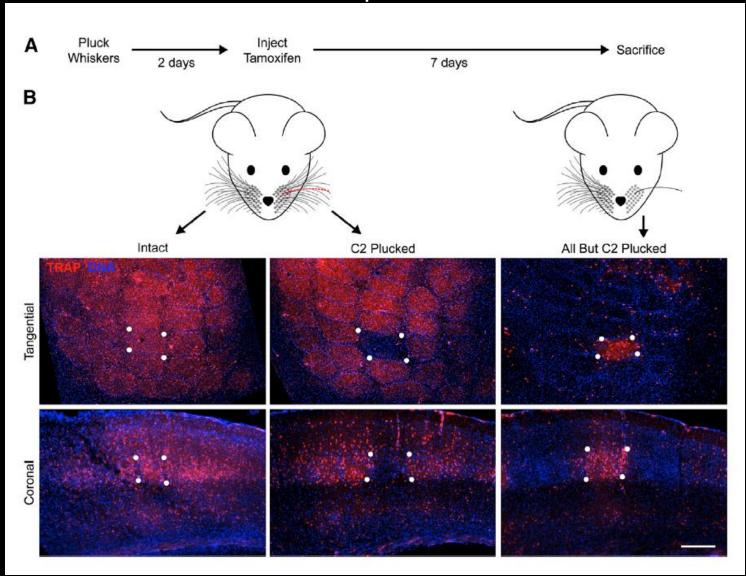


обучение

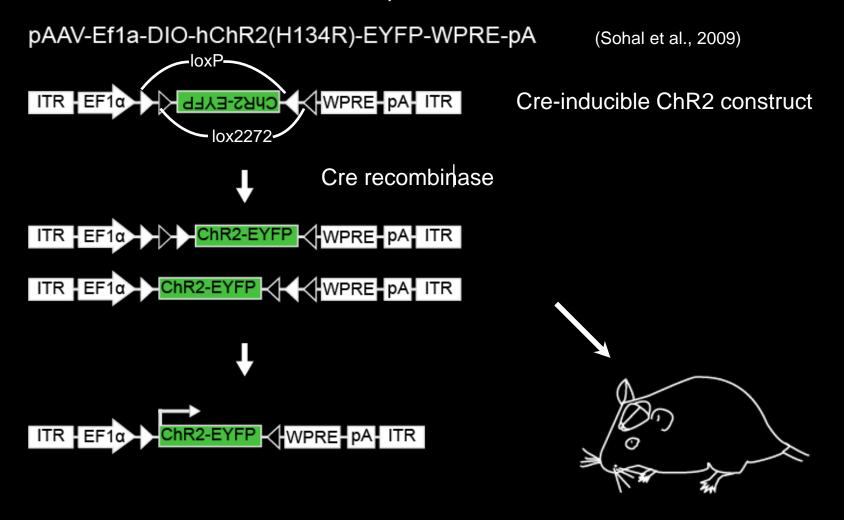
# Схема генетических конструктов которые могут быть использованы для картирования нейрональной активности в мозге



Отсутствие активности корковых микроколонок после удаления вибрисс.

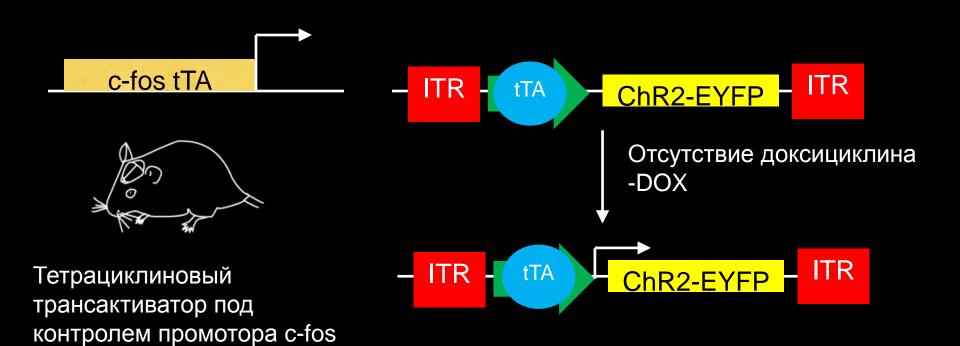


Примерная генетическая стратегия таргетированной экспрессии в определенных клетках нервной системы



Тканеспецифичный промотор в Cre мыши

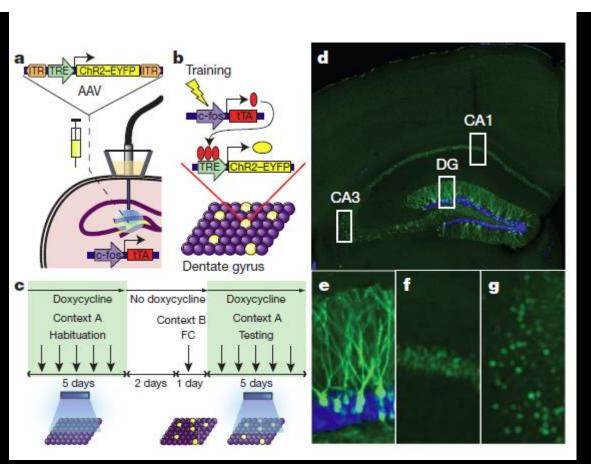
#### Tet-off система для оптогенетики



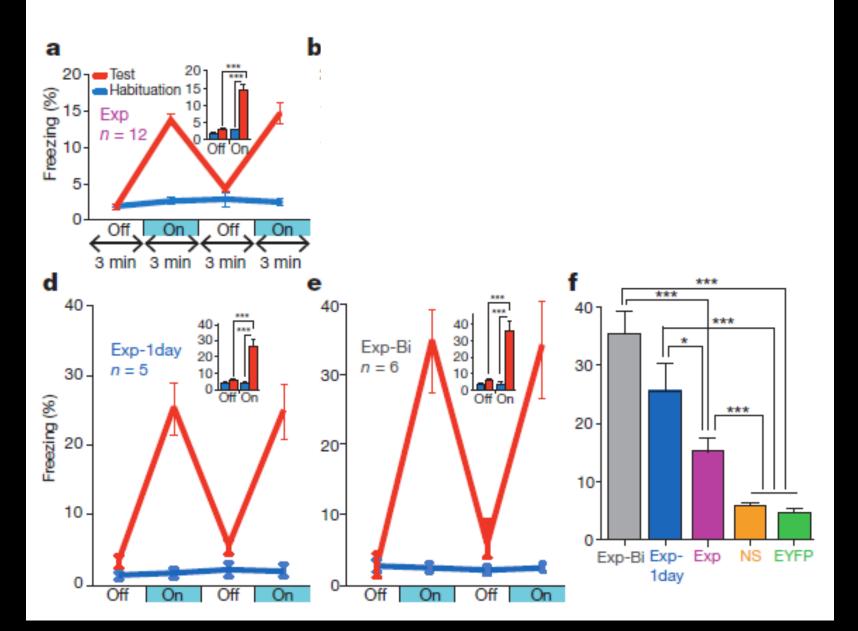
# LETTER

# Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall

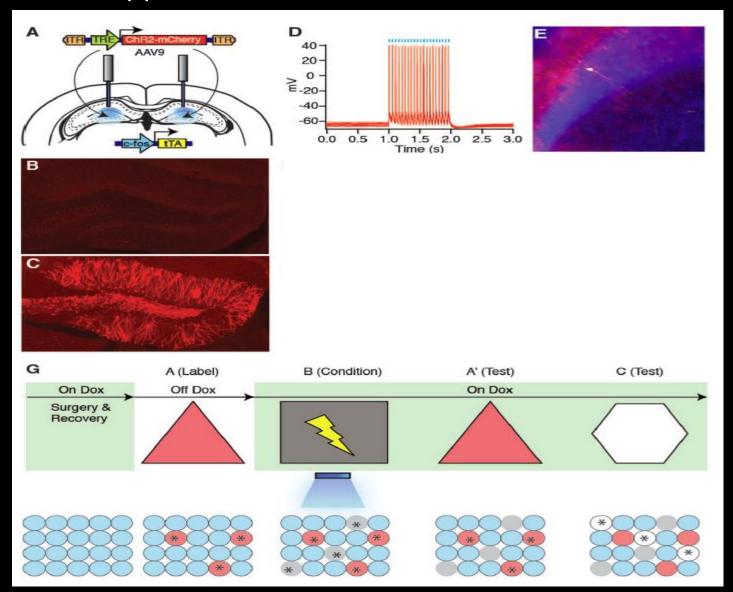
Xu Liu<sup>1</sup>\*, Steve Ramirez<sup>1</sup>\*, Petti T. Pang<sup>1</sup>, Corey B. Puryear<sup>1</sup>, Arvind Govindarajan<sup>1</sup>, Karl Deisseroth<sup>2</sup> & Susumu Tonegawa<sup>1</sup>



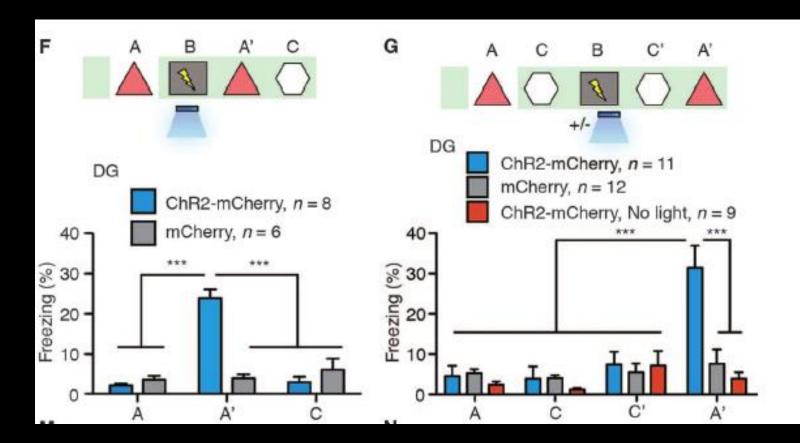
Xu Liu, Nature 484,2012



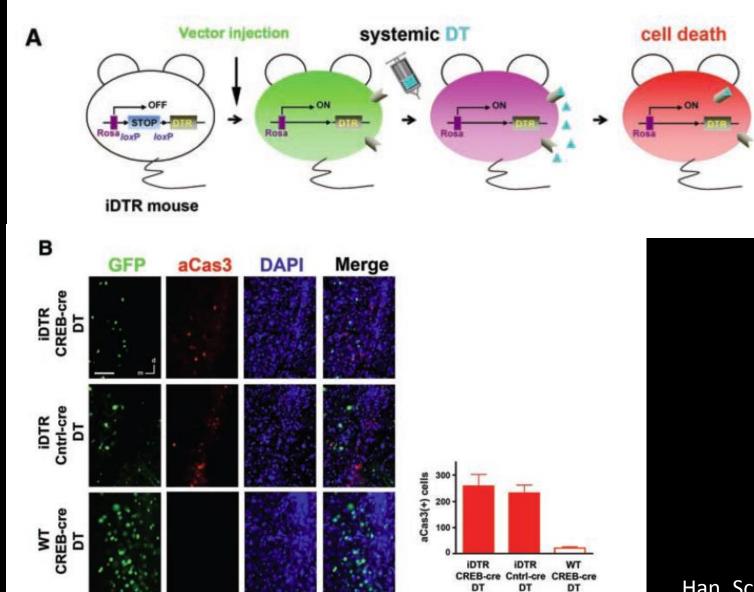
### Создание ошибочных воспоминаний в гиппокампе

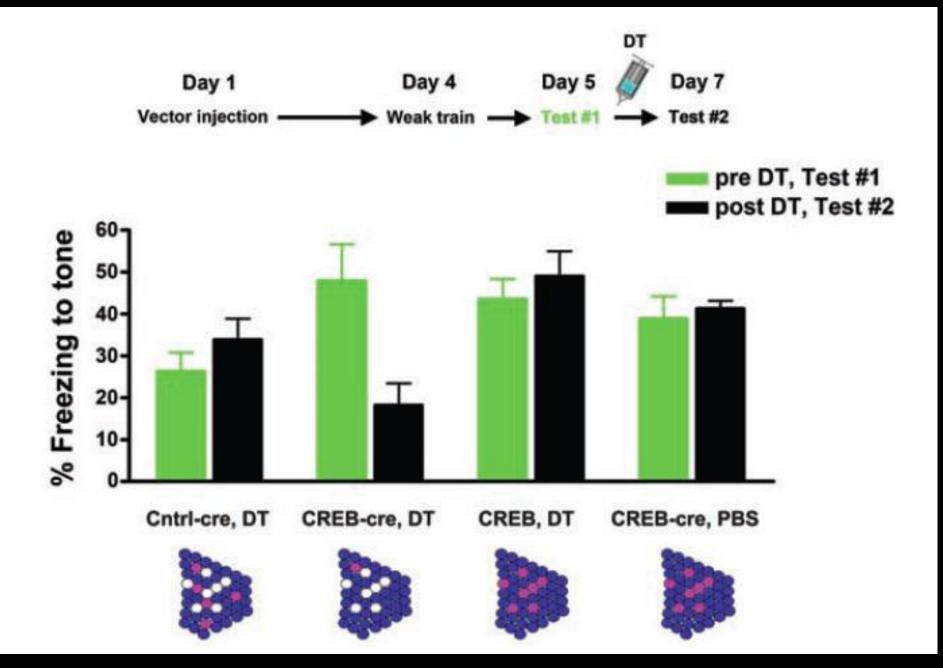


Ramirez Science **341**, 2013



# Стереть след памяти путем смерти активированных прежде нейронов





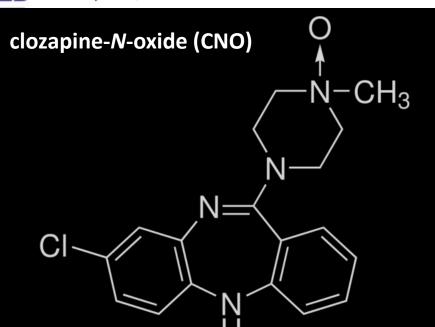
# Fiberoptic Control of Locomotion in ChR2 Mouse

#### Другой подход с использованием DREADD рецепторов

# Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand

Blaine N. Armbruster\*, Xiang Li<sup>†</sup>, Mark H. Pausch<sup>‡</sup>, Stefan Herlitze<sup>†</sup>, and Bryan L. Roth\*<sup>†§¶</sup>

Departments of \*Biochemistry, †Neurosciences, and §Psychiatry, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, OH 44106; †Discovery Neuroscience, Wyeth Research, Princeton, NJ 08543-8000; and ¶Department of Pharmacology, University of North Carolina Medical School, Chapel Hill, NC 27705



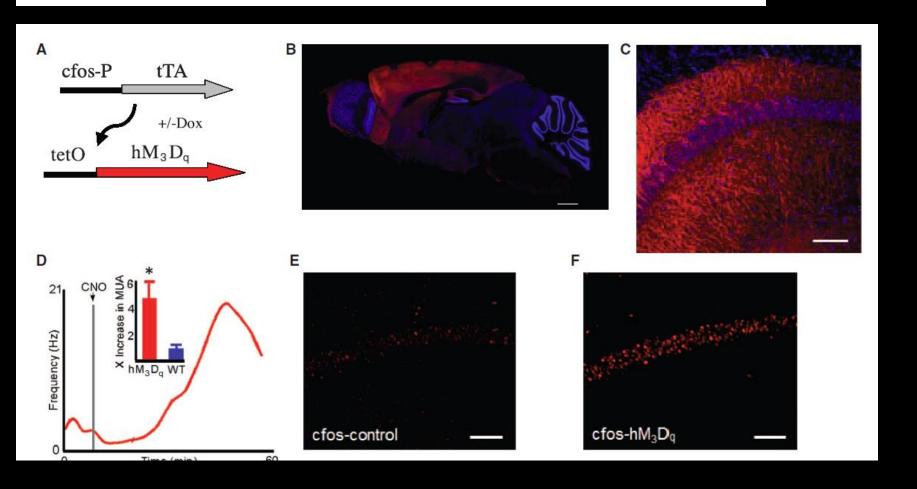
**Gq-DREADD = hM3Dq = D-q**; CNO активирует Gq-опостредованный сигналинг. В нейронах вызывает спайковую активность.

**Gi-DREADD=hM4Di= D-i**; CNO индуцирует Gi активацию. В нейронах вызывает гиперполяризацию.

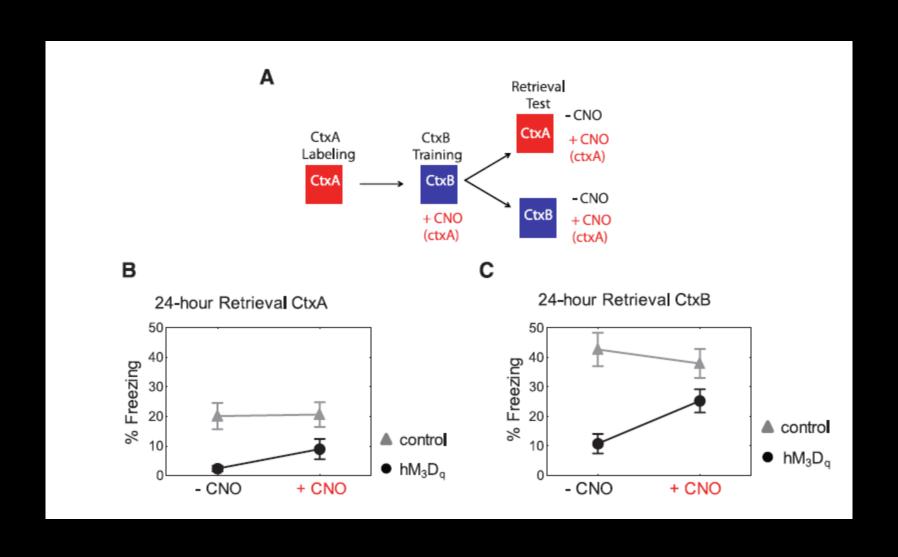
**Gs-DREADD = Gs-D = D-s**; CNO вызывает Gs активацию. Поднимает уровень сАМР.

# **Generation of a Synthetic Memory Trace**

Aleena R. Garner, <sup>1,2</sup> David C. Rowland, <sup>3</sup> Sang Youl Hwang, <sup>1</sup> Karsten Baumgaertel, <sup>1</sup> Bryan L. Roth, <sup>4</sup> Cliff Kentros, <sup>3</sup> Mark Mayford <sup>1,2</sup>\*



# Нарушение воспроизведения памяти искуственной активацией нейронов

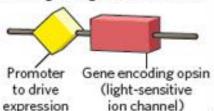




With optogenetic techniques, researchers can modulate the activity of targeted neurons using light.

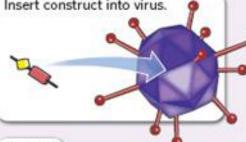


Piece together genetic construct.



#### STEP 2

Insert construct into virus.

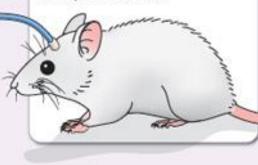


#### STEP 3

Inject virus into animal brain; opsin is expressed in targeted neurons.



Insert 'optrode', fibre-optic cable plus electrode.



#### STEP 5

Laser light of specific wavelength opens ion channel in neurons.

