

Оптогенетика и фотофармакология — эффективные инструменты управления активностью клеток с помощью света

Пётр Дмитриевич Брежестовский^{1,2*}, Андрей Львович Зефиров¹

¹Институт нейронаук, Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

²Институт системных нейронаук, Университет Экс-Марсель, г. Марсель, Франция

Реферат

Современные исследования обогатились перспективными научно-технологическими направлениями, в которых свет играет ключевую роль как инструмент модуляции клеточной активности и инвазивного мониторинга внутриклеточных ионов и других компонентов. Основное преимущество этих подходов — возможность точного управления интенсивностью, спектральными характеристиками и длительностью световых сигналов в пространстве и времени. В обзоре кратко представлены основные направления — оптогенетика и фотофармакология, обеспечивающие управление активностью клеток с помощью света. Оптогенетика — использование светочувствительных трансмембранных белков, способных вызывать возбуждение или ингибирование клеточной активности при освещении различными длинами волн. В 2003 г. был выделен и клонирован светочувствительный белок каналородопсин, который при встраивании в нейроны или другие типы клеток способен под действием голубого света индуцировать ионные токи и изменять потенциал покоя клеток, вызывая их возбуждение. Торможение клеточной активности обеспечивается встраиванием других светочувствительных белков — хлорных или водородных насосов, или анион-избирательных ионных каналов. Эти принципы оказались плодотворными для изучения функций одиночных клеток и нейрональных сетей, а также контроля поведения живых организмов, однако их использование в медицине пока затруднено из-за необходимости генетических манипуляций. Фотофармакология основана на создании и использовании химических соединений, изменяющих конформации и/или активность под действием света. Фотохромные соединения с помощью светочувствительных переключателей способны избирательно активировать или угнетать активность функционально важных белковых молекул — рецепторов, ионных каналов, ферментов и др. В работе освещены принципы и потенциальные возможности использования оптогенетики и фотофармакологии в анализе функций нервных клеток и перспективы в поиске новых путей лечения некоторых заболеваний нервной системы.

Ключевые слова: фотофармакология, оптогенетика, синтетические светууправляемые соединения, азобензен, фотохромные лиганды, рецепторы и ионные каналы.

Для цитирования: Брежестовский П.Д., Зефиров А.Л. Оптогенетика и фотофармакология — эффективные инструменты управления активностью клеток с помощью света. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (1): 158–169. DOI: 10.17816/KMJ2019-158.

Optogenetics and photopharmacology — effective tools for managing cell activity using light

P.D. Bregestovski^{1,2}, A.L. Zefirov¹

¹Institute of Neurosciences, Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Institut de Neurosciences des Systèmes, Aix-Marseille University, Marseille, France

Abstract

Contemporary research has been enriched by the new directions in which the light plays a key role as a tool for modulation of cellular activity and invasive monitoring of intracellular ions and other components. The main advantages of these approaches are the possibilities to precisely control the intensity, spectral characteristics and durations of light signals in space and time. This review summarizes the key areas, optogenetics and

photopharmacology, — directions that allow to control cellular activity with light. Optogenetics is the use of light-sensitive transmembrane proteins capable of exciting or inhibiting cellular activity under illumination by different wavelengths. In 2003 a light-sensitive protein canalorhodopsin was isolated and cloned which is capable of inducing ion currents and changing cellular rest potential with its excitation under the blue light when embedded into the neurons or other cell types. Inhibition of cellular activity is caused by expression of other light-sensitive proteins — chloride or hydrogen pumps, or anion-selective ion channels. These principles turn out to be efficacious for the study of the functions of solitary cells and neural nets as well as for the control of living organisms behavior but their use in medicine is complicated because of necessary genetic manipulations. Photopharmacology is based on creating and using of chemical compounds changing conformations and/or activity under the light. Photochromic compounds with the use of photosensitive switches are capable of selective activation or inhibition of the activity of functionally important proteins — receptors, ion channels, enzymes, etc. The principles and the potential use of optogenetics and photopharmacology in the analysis of the neuronal functions and the perspectives for new approaches to treat some diseases of the nervous system are discussed.

Keywords: photopharmacology, optogenetics, synthetic light-controlled compounds, azobenzene, photochromic ligands, receptors and ion channels.

For citation: Bregestovski P.D., Zefirov A.L. Optogenetics and photopharmacology — effective tools for managing cell activity using light. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (1): 158–169. DOI: 10.17816/KMJ2019-158.

Нервная система человека и животных состоит из огромного количества разнообразных типов клеток, прежде всего нейронов и глии. Нервные клетки соединены между собой синаптическими участками и щелевыми контактами, образуя в конечном счёте функциональные нейрональные сети, которые как мощный суперкомпьютер контролируют приём, обработку и запоминание сенсорной информации, а также поведение живых организмов. Нейрофизиологи заняты поисками расшифровки принципов функционирования нейрональных сетей, обеспечивающих специфические поведенческие реакции на внешние стимулы, регуляцию внутреннего состояния организмов, процессы запоминания и другие жизненно важные функции.

Эти задачи чрезвычайно трудны, потому что нейроны специализированы по функциям, локализации и распространению синаптических связей. По этой причине, чтобы разгадать механизмы функционирования нейрональных сетей, исследователи стремятся создать условия, позволяющие не только контролировать активность клеток, но и иметь возможность высокоизбирательно манипулировать их активностью и наблюдать влияние стимуляции определённых нейронов на поведение.

Нынешнее тысячелетие обогатилось перспективными научно-технологическими направлениями в исследовании мозга и нервной системы, в которых ключевым фактором служит свет.

Почему свет?

Анализ функций мозга в норме и при патологии проводится на многих уровнях — от молекулярного и клеточного до поведенческого. Для того чтобы успешно исследовать принципы

организации и функционирования нервной системы, эффективно воздействовать на молекулярные и клеточные структуры, избирательно управлять активностью нейронов и регистрировать изменения концентраций ионов и многих важных внутриклеточных компонент, необходимы методы, обеспечивающие неинвазивный, дистанционный и быстрый контроль биологических молекул.

Оказалось, что электромагнитное излучение, близкое к диапазону длин волн видимого света, служит идеальным инструментом для управления биологическими системами благодаря ряду важных качеств:

- обеспечивает высокое временное и пространственное разрешение;
- позволяет вести дистанционное, неинвазивное управление молекулами;
- даёт возможность с высокой точностью регулировать интенсивность и длину световых воздействий;
- не изменяет свойств белков и мембран биологических организмов при умеренных интенсивностях и длительностях световых сигналов.

Эти уникальные свойства, а также успехи молекулярной биологии и современных технологий обеспечили появление трёх основных направлений, в которых главным инструментом является свет, — *оптогенетика*, *оптофармакология* и *оптосенсорика*. Оказалось, что с помощью света можно исследовать функции клеток и клеточных ансамблей [1–6], регулировать функции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [7–8], модулировать проводимость и кинетику ионных каналов [9–11], измерять концентрации ионов [12–14] и других клеточных компонент [15–19], контролировать

поведение организмов [10, 20–21], а также искать новые пути лечения некоторых заболеваний [22–23].

Представим краткие определения этих направлений.

Оптогенетика — отрасль биотехнологии, которая объединяет генную инженерию с оптикой для наблюдения и контроля с помощью света функций генетически детерминированных групп клеток [10]. Оптогенетика использует свет для передачи информации и модуляции сигналов в биологических системах посредством целенаправленного управления функциями белков с точным пространственным и временным разрешением. Основными инструментами служат *светочувствительные белки*, которые при встраивании в мембраны способны вызывать возбуждение или торможение клеток [2, 24].

Фотофармакология — направление, в котором используются химически синтезируемые фотохромные соединения, способные избирательно активировать или угнетать определённые молекулы (рецепторы, ионные каналы, ферменты) клеток биологических организмов при действии света.

Оптосенсорика — регистрация и анализ изменений концентраций ионов и других клеточных компонентов с помощью специфических генетически кодируемых биосенсоров. Основными инструментами служат генетически кодируемые сенсоры — белковые макромолекулярные комплексы, имеющие флюороформные группы, способные избирательно изменять флюоресценцию при взаимодействии с определёнными ионами, специфическими молекулярными группами или белками и таким образом обеспечивать возможность регистрации изменений и концентраций интересующих ионов и молекул.

Оптогенетика и фотофармакология позволяют с помощью света *управлять* активностью клеток, а оптосенсорика — *измерять* неинвазивно активность клеток, концентрации ионов и других внутриклеточных компонент.

В данной работе мы кратко представим два первых направления.

Оптогенетика

Основные принципы и инструменты оптогенетики. Для анализа функционирования возбудимых клеток используют преимущественно электрофизиологические методы. Исторически эти подходы позволили получить огромное количество информации о принципах функционирования возбудимых тканей.

Электрофизиологический анализ позволяет регистрировать работу клеток с высоким временным разрешением, однако не обеспечивает необходимой точности управления клеточными ансамблями и неинвазивной регистрации. Обнаружение светочувствительных трансмембранных белков, способных с высоким временным разрешением изменять проводимость и мембранный потенциал клеток, привело к революционным изменениям в исследовании биологических организмов и возникновению оптогенетики. Базовые принципы оптогенетики представлены на рис. 1.

Начало современной оптогенетике положили пионерские работы Мизенбока и соавт., в которых была впервые достигнута специфическая активация нейронов гиппокампа с помощью света, воздействующего на генетически встроенные белки [25, 26]. В нейроны был коэкспрессирован родопсин беспозвоночных (дрозофилы) с генами, кодирующими G-белки, активирующие ионные каналы и вызывающие деполяризацию клеток. При действии света происходило резкое повышение частоты генерации потенциалов действия в этих клетках [10, 25].

Термин «*оптогенетика*» был предложен в 2006 г. [27] после того, как были клонированы первые светочувствительные трансмембранные белки и показано, что при их экспрессии клетки приобретают способность активироваться светом, то есть генерировать трансмембранный ионный ток [28, 29].

Пионерское открытие, положившее начало этому направлению, было сделано в Германии в 2003 г., когда был клонирован белок из зелёной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, представляющий собой светочувствительный катион-избирательный ионный канал, пропускающий одновалентные катионы, а также ионы кальция [28]. Этот белок, который назвали ChR2, относится к огромному суперсемейству семидоменных трансмембранных белков — опсинов, широко распространённых в биологических организмах. Для его функционирования необходим органический хромофор — ретиналь, который служит антенной для фотонов и является светочувствительным переключателем. Оказалось, что при экспрессии ChR2 в нейроны при освещении голубым светом (450–500 нм) можно вызывать генерацию потенциалов действия с частотой 5–30 Гц [29], а при более слабых интенсивностях света — индуцировать возбуждающие потенциалы, подобно постсинаптическим потенциалам, наблюдаемым при выделении нейромедиаторов из пресинаптических окончаний [29, 30]. Позднее были получены мутантные

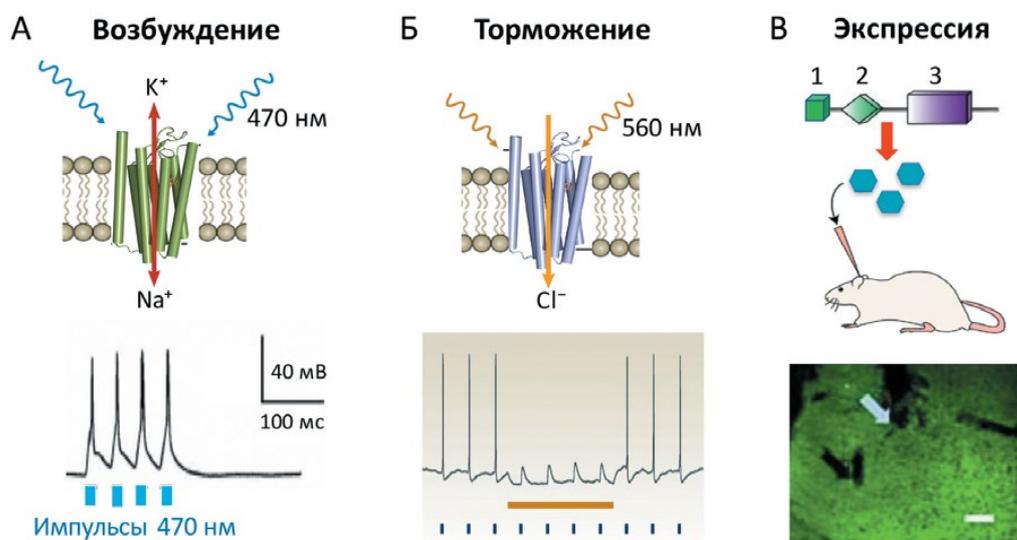


Рис. 1. Основы оптогенетики. *А.* Возбуждение клеток обеспечивается благодаря встраиванию в мембрану каналородопсина-2, бактериального белка, который при освещении синим светом (470–480 нм) изменяет конформацию, открывая катион-избирательный канал. При отрицательном потенциале (около -70 мВ) ионы натрия входят в клетку, вызывая деполяризацию и генерацию потенциалов действия. Внизу показан пример генерации потенциалов действия нейроном, кратковременно освещаемым синим светом. *Б.* Торможение клеток обеспечивается благодаря встраиванию в мембрану клетки хлорного насоса (галородопсина), или светочувствительного бактериального белка, который при освещении открывает анионный канал. При этом ионы хлора входят в клетку по ионному градиенту, вызывают гиперполяризацию и торможение активности клетки. Внизу показан пример регистрации сигнала от клетки, экспрессирующей каналородопсин-2 и галородопсин. Короткие импульсы синего света (470 нм) вызывают генерацию потенциалов действия, подача длительного импульса жёлтого света (560 нм) приводит к угнетению вызванной спайковой активности. *В.* Одним из наиболее популярных способов доставки светочувствительных белков в нейроны или другие типы клеток служит использование вирусов. Для этого создают генетические конструкции, объединяющие промотор (1) — для направленной экспрессии, ген флюоресцентного белка (2) — для визуализации экспрессии, а также ген каналородопсина, галородопсина или другого светочувствительного белка (3), который встраивается в вирусы (лентивирусы или часто используемые конструкции адено-ассоциированных вирусов). Затем вирусную конструкцию инъецируют в определённые зоны мозга. Через 2–3 нед наблюдают мощную экспрессию, которая сохраняется несколько месяцев. Внизу показана экспрессия каналородопсина-2, визуализированная с помощью зелёного флюоресцентного белка. Стрелкой указано место инъекции вируса

варианты ChR2 с быстрой кинетикой фотоцикла, позволяющие генерировать в нейронах потенциалы действия с частотой до 200 Гц [31].

Было показано, что ChR2 прекрасно встраивается в клетки многоклеточных организмов, не вызывая повреждений или сильной токсичности. Более того, с помощью специализированных промоторов эти катион-избирательные каналородопсины можно встраивать в определённые субпопуляции клеток тканей и изучать их физиологические функции при активации в миллисекундном временном диапазоне, характерном для млекопитающих [32].

В дальнейшем были выделены каналородопсины из других видов светочувствительных организмов (*Volvox carteri*, *Mesostigma viride*), а также путём создания химер и мутагенеза получены новые варианты светоуправляемых катионных каналов. Это позволило значительно расширить экспериментальный арсенал возбуждаемых светом белков [33, 34].

В поисках инструмента, способного обеспечивать торможение клеточной активности, исследователи обратили внимание на бактерии *Halobacterium halobium*. Эти бактерии экспрессируют трансмембранный белок галородопсин, поглощающий видимый свет в жёлтом диапазоне (568–588 нм). Было показано, что это ионный насос, закачивающий при освещении анион хлора и таким образом увеличивающий отрицательный потенциал внутри бактерий [35]. Этот белок (галородопсин NpHR) был клонирован и экспрессирован в нейроны. При освещении клеток жёлтым светом в диапазоне длин волн ~ 580 нм происходило угнетение спонтанной или вызванной активности нейронов [36].

Позднее в археобактериях были найдены новые протонные насосы — Arch и ArchT, позволяющие более эффективно вызывать торможение клеток [37, 38]. Однако кинетика торможения, обеспечиваемая этими ионными насосами, недостаточно высока, к тому же их

активация требует высоких интенсивностей света. Недавно было описано семейство светочувствительных анионных каналов из водорослей, которые при встраивании в нейроны под действием света вызывают эффективную гиперполяризацию, обеспечивая быстрое торможение [39].

Светочувствительные белки присутствуют во всех царствах живых организмов и покрывают спектральный диапазон от ультрафиолета (360 нм) до около-инфракрасного (700 нм) [40, 41]. Многие из них клонированы, а также получены мутантные производные, расширяющие экспериментальные возможности. В настоящее время в распоряжении исследователей есть разнообразные светочувствительные бактериальные белки, с помощью которых можно создавать функциональные системы для быстрого и высокоизбирательного управления возбудимостью клеток и нейрональных сетей. Светочувствительные белки встраиваются в клетки разных видов животных — от червей и насекомых до обезьян [3, 38, 42, 43] и даже в клетки сетчатки человека [44–46].

Это направление бурно развивается и совершенствуется. Открытие и конструирование широкого спектра опсинов, основных инструментов оптогенетики, в сочетании со специфичностью, бимодальностью и широтой применения методических подходов открыли возможности для использования оптогенетики при изучении принципов функционирования организмов — от одиночных клеток до поведения и сознания. Созданы новые варианты каналородопсинов с возбуждением в красном диапазоне, что позволяет активировать нейроны в глубоких слоях мозга без хирургического вмешательства или имплантации оптических волокон [45, 47, 48].

Для контроля внутриклеточной биохимической сигнализации с использованием света были созданы химерные конструкции между родопсинами позвоночных и некоторыми G-белок-связанными рецепторами [49, 50]. Для этого внутриклеточные петли родопсина были заменены петлями G-белок-связанных рецепторов. Эти химеры были названы орто-XRs, где X — конкретный рецептор (например, орто-AR — светочувствительный адреналиновый рецептор). Они позволяют *in vivo* и *in vitro* осуществить оптическую модуляцию сигнальных путей метаболических рецепторов [32], а также обеспечивают высокую временную точность и клеточную специфичность стимуляции, которых невозможно достичь с помощью фармакологических методов [51].

Также получены варианты опсинов, например Chronos, позволяющих производить высокочастотную стимуляцию нейронов [52] и являющихся перспективными инструментами для слуховой оптогенетики [53, 54]. Основные инструменты этого направления изложены в недавних обзорах [6, 55, 56].

Перспективы оптогенетики в медицине. С использованием микробиологических опсинов, экспрессируемых в специфические типы клеток, а также эффективных способов доставки света в мозг исследователи выясняют проекционные пути, вносящие вклад в патологию и поиски новых способов борьбы с болезнью Паркинсона [57–61], эпилепсией [62–64], формированием боли [65] и другими неврологическими заболеваниями [66, 67].

Технические нововведения развиваются быстро, в то время как применение их для медицины — процесс намного более трудоёмкий и долговременный. Объём данного мини-обзора не позволяет подробно останавливаться на конкретных исследованиях. По этой причине кратко выделим только основные тенденции, отметив некоторые статьи и обзоры, касающиеся медицинских аспектов оптогенетики.

При нарушениях функций центральной или периферической нервной системы в современной медицине используют разные методы нейростимуляции периферических нервов или спинного мозга. Приборы для электрической стимуляции применяют при болезни Паркинсона и других нарушениях движения [68, 69], при эпилепсии, психиатрических заболеваниях, для облегчения боли и пр. [70]. Однако часто использование электрической стимуляции не только не приводит к намеченной цели, но и вызывает нежелательные эффекты. К примеру, высокочастотная стимуляция мозга может приводить к экстремальной изменчивости результатов, вызывая нейропсихологические и другие нарушения у пациентов с болезнью Паркинсона [71–73]. Это связано, прежде всего, с неспецифической стимуляцией всего объёма ткани, окружающей электрод. Оптогенетические методы позволили бы избежать этих проблем. Действительно, исследования, проводимые на оптогенетических моделях животных, включая приматов, показывают высокую специфичность управления нейрональными сетями и функциями мозга [74].

Выявлено, что оптогенетическая стимуляция уменьшает депрессию в модели этой патологии у грызунов. У линий мышей с выраженным депрессивным фенотипом оптогенетическая стимуляция участков медиальной префронтальной

коры оказывала мощные антидепрессивные эффекты, сходные с действием соответствующих препаратов, не затрагивая общей двигательной активности, социальной памяти или других форм поведения [20].

Также установлено, что оптогенетическая реактивация нейронов гиппокампа, которые ранее активировались при искусственном вызывании реакции страха, приводит к поведенческой реакции замирания [75, 76]. В этих опытах авторы целенаправленно встраивали каналородопсин-2 в популяцию тех нейронов зубчатой фасции гиппокампа, которые активировались во время выработки реакции страха. Такие мыши начинали проявлять реакцию замирания, то есть реакцию страха, при освещении голубым светом.

Результаты этих и других исследований [21, 77, 78] позволяют предположить, что оптогенетическая нейромодуляция с её потенциалом высокой специфичности может быть перспективным инструментом при лечении психомоторных расстройств [23] и нейродегенеративных заболеваний [79]. На это указывают также работы, представленные в недавних обзорах [61, 80–82].

Оптогенетические методы предоставляют большие перспективы для восстановления зрения при дегенеративных заболеваниях сетчатки. Микробальные опсины можно встраивать в различные субпопуляции клеток сетчатки, используя вирусные векторы со специализированными промоторами. Это может преобразовать нечувствительные к свету клетки в искусственные фоторецепторы.

Было показано, что экспрессия галородопсина eNpHR в нечувствительных к свету палочках позволяет восстановить естественные каскады фототрансдукции и поведенческие реакции животных на свет. Более того, экспрессия eNpHR в эксплантатах человеческой сетчатки позволила восстановить ответы на свет в фоторецепторных клетках [44].

Другое направление основано на встраивании каналородопсина в биполярные клетки или, минуя эти слои, в ганглионарные клетки, что делает их искусственными фоторецепторами [83]. После полной дегенерации фоторецепторов у мышей и крыс можно восстановить способность сетчатки воспринимать свет и передавать сигналы в зрительную зону коры [84, 85]. Более того, избирательная экспрессия ChR2 с помощью аденовирусных векторов в биполярных клетках позволила восстановить ON- и OFF-компоненты визуальных откликов, а также светоиндуцируемое локомоторное

поведение у слепых мышей [86]. Аналогичные подходы позволили восстановить светоиндуцируемые сигналы в зрительной коре животных *in vivo*, а также сформировать у мышей поведенческие реакции на свет [87].

Трудности и проблемы. За годы интенсивного развития оптогенетики выявились некоторые критические моменты и ограничения, которые необходимо учитывать в экспериментальной работе. К ним относятся следующие:

- высокая интенсивность света, необходимая для эффективной стимуляции каналородопсинами, что может вызывать повреждение клеток, а также создавать артефактные пластические изменения в функционировании нейрональных сетей и приводить к ошибочным заключениям [88];

- неравномерность интенсивности освещения и резкое уменьшение по мере удаления от световода;

- массивированная синхронизация с точностью до миллисекунд, которая редко встречается в нейрональных сетях млекопитающих и может больше соответствовать патофизиологическим ситуациям;

- экспрессия оптогенетических молекул может вызывать изменения в реакциях как отдельных клеток, так и их ансамблей, изменяя свойства экспериментальных моделей [89];

- важным лимитирующим фактором при рассмотрении перспектив использования светочувствительных белков в медицине становится необходимость генетического вмешательства в генетические программы клеток человека.

Несмотря на эти проблемы, оптогенетика всё шире охватывает многие области науки — от микробиологии и ботаники до биофизики и клеточной биологии. Оптогенетика стала важным инструментом не только для решения нейробиологических задач, но также для использования разных типов тканей и клеток, от кардиомиоцитов до эмбриональных стволовых клеток, предоставляя таким образом потенциально мощный инструмент для лечения ряда болезней, прежде всего зрения, слуха и некоторых неврологических патологий.

Фотофармакология

В последние годы параллельно оптогенетике бурно развивается другое направление — фотофармакология, или оптофармакология. Это направление основано на создании и использовании химических соединений, способных управлять функциями биологических молекул с помощью светочувствительных переключателей [90].

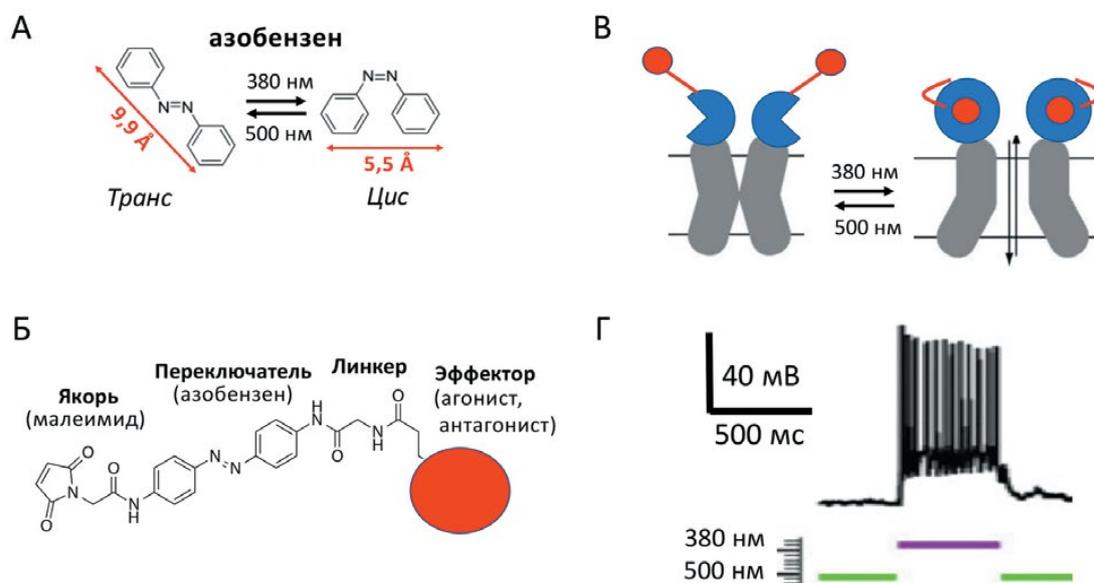


Рис. 2. Основы фотофармакологии. А. Азобен-фотохромный переключатель — соединение, находящееся в темноте или при освещении видимым светом в *транс*-конформации. При облучении светом в ультрафиолетовом спектре (340–380 нм) двойная связь между атомами азота разрывается, и молекула переходит в *цис*-конформацию. При этом длина фотохрома уменьшается почти в 2 раза (указана длина молекулы в *цис*- и *транс*-конформациях). Б. Общий принцип модульной организации фотоуправляемых химических соединений. Прикрепляющиеся фотохромные лиганды состоят, как правило, из трёх основных компонентов: фотопереключателя (показан азобензен), эффектора (агониста или антагониста), связанных с помощью линкера, длина которого важна для эффективной модуляции, а также якоря, обеспечивающего прикрепление молекулярного комплекса к определённому месту белка-мишени (представлен малеимид). Создаются также растворимые фотохромные лиганды, в которых якорь отсутствует. В. Общий принцип фотоуправляемой модуляции активности клеток. *Сверху* — схема, показывающая ионный канал с прикреплённым к рецептору, содержащим лиганд фотохромом в *транс*-конформации (слева, канал закрыт). При освещении ультрафиолетом (380 нм) прикреплённый фотохром переходит в *цис*-конформацию, лиганд взаимодействует с рецепторным сайтом и вызывает открытие ионного канала. *Внизу* — пример регистрации сигнала от нейрона при подаче в раствор фотохромного соединения, содержащего агонист. Освещение ультрафиолетом (380 нм) вызывает взаимодействие агониста с рецептором, открытие катионных каналов, деполяризацию нейрона и генерацию потенциалов действия. При освещении видимым светом (500 нм) активация рецепторов прекращается, тормозя нейрональную активность

Несколько классов фотохромных фармакологических соединений успешно используют для избирательной модуляции активности различных белков, включая ферменты [91], рецептор-управляемые [92, 93] и потенциал-управляемые ионные каналы [94–97].

Основу химических светууправляемых модуляторов биологических процессов составляют фотохромы — молекулы, способные под действием света осуществлять конформационные изменения, сопровождающиеся изменением спектральных свойств молекул (рис. 2).

В фотохромных молекулах фотоизомеризация основана на *цис-транс*-переходах (например, в азобензене) или открытии/циклизации связи (например, в спиропиране или диарилэтенах) [11]. В разных конформационных состояниях фотохромные молекулы имеют разные геометрические формы и полярность, что может быть идеальным для управления активностью биологических молекул. Для создания

избирательно действующего фотохромного соединения лиганд подсоединяется ковалентно к фотохрому. В результате создаётся химическая молекула, способная изменять конфигурацию и положение агониста под действием света.

В качестве фотохромного переключателя для модуляции функций рецепторов нейромедиаторов и ионных каналов наиболее широко используется азобензен — молекула, способная к быстрой *цис-транс*-изомеризации вокруг центральной N–N-связи (см. рис. 2, А). В темноте или при воздействии видимого света азобензен находится в вытянутой *транс*-конфигурации длиной 9,9 Å. При действии света в ультрафиолетовом диапазоне длин волн (360–380 нм) молекула переходит в *цис*-конфигурацию, укорачиваясь приблизительно на 5,5 Å. Индуцируемая ультрафиолетом изомеризация происходит в течение пикосекунд, в то время как спонтанная релаксация занимает время от миллисекунд до дней — в зависимости от

химической конструкции молекулы-фотопереклювателя [98].

На основе фотохромных молекул разработаны фоточувствительные модуляторы ионных каналов и рецепторных белков. Они представляют собой, как правило, модульные лиганды, способные переключаться между активной и неактивной формами с помощью света.

В целом фотоуправляемые соединения можно разделить на два основных класса: (1) *растворимые фотохромные лиганды*; (2) соединения, ковалентно связывающиеся с белком-мишенью, или *прикрепляющиеся фотохромные лиганды* [99].

Каждый класс имеет свои преимущества и ограничения.

Растворимые фотохромные лиганды удобны и просты для работы с эндогенными рецепторами, поскольку не требуют молекулярной модификации белков-мишеней (например, мутагенеза).

Прикрепляющиеся фотохромные лиганды позволяют контролировать активность молекул-мишеней с очень высокой избирательностью благодаря необратимому ковалентному связыванию молекулы в участке, расположенном близко к сайту действия агонистов. Ковалентное связывание фотохромных лигандов, содержащих малеимид, как правило, осуществляется с остатками цистеина. Иногда в естественной молекуле белка-мишени цистеины могут быть расположены на удобном расстоянии от активной зоны действия агониста. В большинстве случаев для эффективного действия прикрепляющихся фотохромных лигандов необходимы генетические модификации.

Таким образом, фотохромные лиганды — многокомпонентные химические соединения, состоящие из двух или нескольких модулей (см. рис. 2, Б). В их состав входят: (1) специфический лиганд, обеспечивающий высокоизбирательное взаимодействие с белком-мишенью; (2) фотохромный переключатель, обеспечивающий изменение положения лиганда при воздействии светом определённой длины волны. Кроме того, может добавляться линкер, необходимый для создания молекулярного комплекса удобной длины, а в прикрепляющихся фотохромных лигандах — также молекула, обеспечивающая ковалентное связывание с белком-мишенью (см. рис. 2, Б).

В последние годы созданы фотоуправляемые химические соединения, обеспечивающие модуляцию нескольких видов потенциал-зависимых и рецептор-управляемых ионных каналов [99, 100]. Были созданы модуляторы активности

рецепторов, вовлечённых в функционирование синаптической передачи, таких как ионотропные рецепторы ацетилхолина [93, 101], глутамата [102, 103] и γ -аминомасляной кислоты [104, 105]. Также получены семейства химических переключателей, регулирующих активность K^+ -каналов и функционирующих как с экстраклеточной, так и с внутриклеточной сторон плазматических мембран клеток [96].

Фотофармакология в целом представляет чрезвычайно перспективным направлением, открывающим уникальные возможности для дистанционной стимуляции нейронов, модуляции активности различных ионных каналов [106, 107]. При этом, как правило, не нужны генетические манипуляции для создания высокоизбирательных управляемых светом фармакологических препаратов, воздействующих на определённые участки мозга. Использование света в качестве регулятора активности биологических молекул открывает возможности для точного пространственного и временного контроля активностью клеток, органов и целых организмов. Эти особенности важны для обеспечения мощных и избирательных терапевтических воздействий.

Заключение

Благодаря оптогенетике и фотофармакологии, возникшим на стыке генетики, молекулярной биологии, химического синтеза и оптики, появилась возможность контролировать неинвазивно и высокоизбирательно функциональную активность разных типов клеток, органов и целых организмов. Развитие этих направлений (способности изменять с помощью света активность идентифицированных клеток и определённых клеточных популяций с высокой точностью и временным разрешением в диапазоне миллисекунд, то есть в диапазоне физиологического функционирования многоклеточных биологических организмов, включая человека [54, 107–111]) создаёт важный фундамент как для углублённого выяснения механизмов функционирования биологических систем, прежде всего нервной системы, так и для поисков новых путей борьбы с некоторыми заболеваниями.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 18-15-00313).

Авторы выражают благодарность Н.В. Михайловой за техническую помощь при оформлении работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deisseroth K. Optogenetics. *Nature methods*. 2011; 8 (1): 26–29. DOI: 10.1038/nmeth.f.324.
2. Deisseroth K. Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience. *Nat. Neurosci.* 2015; 18 (9): 1213–1225. DOI: 10.1038/nn.4091.
3. Fenno L., Yizhar O., Deisseroth K. The development and application of optogenetics. *Ann. Rev. Neurosci.* 2011; 34: 389–412. DOI: 10.1146/annurev-neuro-061010-113817.
4. Tye K.M., Deisseroth K. Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models. *Nature Rev. Neurosci.* 2012; 13 (4): 251–266. DOI: 10.1038/nrn3171.
5. Kim C.K., Adhikari A., Deisseroth K. Integration of optogenetics with complementary methodologies in systems neuroscience. *Nature Rev. Neurosci.* 2017; 18 (4): 222–235. DOI: 10.1038/nrn.2017.15.
6. Rost B.R., Schneider-Warme F., Schmitz D., Hegemann P. Optogenetic tools for subcellular applications in neuroscience. *Neuron*. 2017; 96 (3): 572–603. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.09.047.
7. Liang X.G., Asanuma H., Kashida H. et al. NMR study on the photoresponsive DNA tethering an azobenzene. Assignment of the absolute configuration of two diastereomers and structure determination of their duplexes in the trans-form. *J. Am. Chem. Soc.* 2003; 125 (52): 16 408–16 415. DOI: 10.1021/ja037248j.
8. Kashida H., Liang X., Asanuma H. Rational design of functional DNA with a non-ribose acyclic scaffold. *Curr. Organ. Chem.* 2009; 13 (11): 1065–1084. DOI: 10.2174/138527209788680736.
9. Gorostiza P., Isacoff E.Y. Optical switches for remote and noninvasive control of cell signaling. *Science*. 2008; 322 (5900): 395–399. DOI: 10.1126/science.1166022.
10. Miesenböck G. Optogenetic control of cells and circuits. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2011; 27: 731–758. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-100109-104051.
11. Szymański W., Beierle J.M., Kistemaker H.A. et al. Reversible photocontrol of biological systems by the incorporation of molecular photoswitches. *Chem. Rev.* 2013; 113 (8): 6114–6178. DOI: 10.1021/cr300179f.
12. Bregestovski P., Waseem T., Mukhtarov M. Genetically encoded optical sensors for monitoring of intracellular chloride and chloride-selective channel activity. *Front. Mol. Neurosci.* 2009; 2: 15. DOI: 10.3389/neuro.02.015.2009.
13. Garaschuk O., Griesbeck O. Monitoring calcium levels with genetically encoded indicators. In: *Calcium measurement methods*. Humana Press. 2010; 43: 101–117.
14. Suzuki J., Kanemaru K., Iino M. Genetically encoded fluorescent indicators for organellar calcium imaging. *Biophys. J.* 2016; 111 (6): 1119–1131. DOI: 10.1016/j.bpj.2016.04.054.
15. Imamura H., Nhat K.P.H., Togawa H. et al. Visualization of ATP levels inside single living cells with fluorescence resonance energy transfer-based genetically encoded indicators. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009; 106 (37): 15 651–15 656. DOI: 10.1073/pnas.0904764106.
16. Berg J., Hung Y.P., Yellen G. A genetically encoded fluorescent reporter of ATP: ADP ratio. *Nat. Methods*. 2009; 6 (2): 161–166. DOI: 10.1038/nmeth.1288.
17. Bilan D.S., Pase L., Joosen L. et al. HyPer-3: a genetically encoded H₂O₂ probe with improved performance for ratiometric and fluorescence lifetime imaging. *ACS Chem. Biol.* 2013; 8 (3): 535–542. DOI: 10.1021/cb300625g.
18. Wojtovich A.P., Foster T.H. Optogenetic control of ROS production. *Redox Biol.* 2014; 2: 368–376. DOI: 10.1016/j.redox.2014.01.019.
19. Schumacher C.H., Körschen H.G., Nicol C. et al. A fluorometric activity assay for light-regulated cyclic-nucleotide-monophosphate actuators. *Methods Mol. Biol.* 2016; 1408: 93–105. DOI: 10.1007/978-1-4939-3512-3_7.
20. Covington H.E., Lobo M.K., Maze I. et al. Antidepressant effect of optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 2010; 30 (48): 16082–16090. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1731-10.2010.
21. Haubensak W., Kunwar P.S., Cai H. et al. Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature*. 2010; 468 (7321): 270–276. DOI: 10.1038/nature09553.
22. Laprell L., Hüll K., Stawski P. et al. Restoring light sensitivity in blind retinæ using a photochromic AMPA receptor agonist. *ACS Chem. Neurosci.* 2016; 7 (1): 15–20. DOI: 10.1021/acscchemneuro.5b00234.
23. Rossi M.A., Calakos N., Yin H.H. Spotlight on movement disorders: what optogenetics has to offer. *Mov. Disord.* 2015; 30 (5): 624–631. DOI: 10.1002/mds.26184.
24. Schmidt D., Cho Y.K. Natural photoreceptors and their application to synthetic biology. *Trends Biotechnol.* 2015; 33 (2): 80–91. DOI: 10.1016/j.tibtech.2014.10.007.
25. Zemelman B.V., Lee G.A., Ng M., Miesenböck G. Selective photostimulation of genetically chARGed neurons. *Neuron*. 2002; 33 (1): 15–22.
26. Lima S.Q., Miesenböck G. Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons. *Cell*. 2005; 121 (1): 141–152. DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.004.
27. Deisseroth K., Feng G., Majewska A.K. et al. Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *J. Neurosci.* 2006; 26 (41): 10 380–10 386. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3863-06.2006.
28. Nagel G., Szellas T., Huhn W. et al. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100 (24): 13 940–13 945. DOI: 10.1073/pnas.1936192100.
29. Boyden E.S., Zhang F., Bamberg E. et al. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nature Neurosci.* 2005; 8 (9): 1263–1268. DOI: 10.1038/nn1525.
30. Li X., Gutierrez D.V., Hanson M.G. et al. Fast noninvasive activation and inhibition of neural and network activity by vertebrate rhodopsin and green algae channelrhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005; 102 (49): 17 816–17 821. DOI: 10.1073/pnas.0509030102.
31. Gunaydin L.A., Yizhar O., Berndt A. et al. Ultrafast optogenetic control. *Nat. Neurosci.* 2010; 13 (3): 387–392. DOI: 10.1038/nn.2495.
32. Airan R.D., Thompson K.R., Fenno L.E. et al. Temporally precise *in vivo* control of intracellular signalling. *Nature*. 2009; 458: 1025–1029. DOI: 10.1038/nature07926.
33. Lin J.Y., Lin M.Z., Steinbach P., Tsien R.Y. Characterization of engineered channelrhodopsin variants with improved properties and kinetics. *Biophys. J.* 2009; 96 (5): 1803–1814. DOI: 10.1016/j.bpj.2008.11.034.
34. Lin J.Y. A user's guide to channelrhodopsin variants: features, limitations and future developments. *Exp. Physiol.* 2011; 96 (1): 19–25. DOI: 10.1113/expphysiol.2009.051961.
35. Schobert B., Lanyi J.K. Halorhodopsin is a light-driven chloride pump. *J. Biol. Chem.* 1982; 257 (17): 10306–10313.
36. Zhang F., Wang L.P., Brauner M. et al. Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature*. 2007; 446 (7136): 633–639. DOI: 10.1038/nature05744.

37. Chow B.Y., Han X., Dobry A.S. et al. High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. *Nature*. 2010; 463 (7277): 98–102. DOI: 10.1038/nature08652.
38. Han X., Chow B.Y., Zhou H. et al. A high-light sensitivity optical neural silencer: development and application to optogenetic control of non-human primate cortex. *Front. Sys. Neurosci.* 2011; 5 (18): 1–8. DOI: 10.3389/fnsys.2011.00018.
39. Govorunova E.G., Sineshchekov O.A., Janz R. et al. Natural light-gated anion channels: A family of microbial rhodopsins for advanced optogenetics. *Science*. 2015; 349 (6248): 647–650. DOI: 10.1126/science.aaa7484.
40. Hauser F.E., van Hazel I., Chang B.S.W. Spectral tuning in vertebrate short wavelength-sensitive 1 (SWS1) visual pigments: can wavelength sensitivity be inferred from sequence data? *J. Exp. Zool B Mol. Dev. Evol.* 2014; 322 (7): 529–539. DOI: 10.1002/jez.b.22576.
41. Thoen H.H., How M.J., Chiou T.H., Marshall J. A different form of color vision in mantis shrimp. *Science*. 2014; 343 (6169): 411–413. DOI: 10.1126/science.1245824.
42. Diester I., Kaufman M.T., Mogri M. et al. An optogenetic toolbox designed for primates. *Nat. Neurosci.* 2011; 14 (3): 387–397. DOI: 10.1038/nn.2749.
43. Gerits A., Farivar R., Rosen B.R. et al. Optogenetically-induced behavioral and functional network changes in primates. *Curr. Biol.* 2012; 22 (18): 1722–1726. DOI: 10.1016/j.cub.2012.07.023.
44. Busskamp V., Duebel J., Balya D. et al. Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in retinitis pigmentosa. *Science*. 2010; 329 (5990): 413–417. DOI: 10.1126/science.1190897.
45. Sengupta A., Chaffiol A., Macé E. et al. Red-shifted channelrhodopsin stimulation restores light responses in blind mice, macaque retina, and human retina. *EMBO Mol. Med.* 2016; 8 (11): 1248–1264. DOI: 10.15252/emmm.201505699.
46. Benfenati F., Lanzani G. New technologies for developing second generation retinal prostheses. *Lab. Animal.* 2018; 47: 71–75. DOI: 10.1038/s41684-018-0003-1.
47. Yizhar O., Fenno L.E., Davidson T.J. et al. Optogenetics in neural systems. *Neuron*. 2011; 71 (1): 9–34. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.06.004.
48. Lin J.Y., Knutsen P.M., Muller A. et al. ReaChR: a red-shifted variant of channelrhodopsin enables deep transcranial optogenetic excitation. *Nature Neurosci.* 2013; 16 (10): 1499–1508. DOI: 10.1038/nn.3502.
49. Oh E., Maejima T., Liu C. et al. Substitution of 5-HT1A receptor signaling by a light-activated G protein-coupled receptor. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (40): 30 825–30 836. DOI: 10.1074/jbc.M110.147298.
50. Carter M.E., de Lecea L. Optogenetic investigation of neural circuits *in vivo*. *Trends Mol. Med.* 2011; 17 (4): 197–206. DOI: 10.1016/j.molmed.2010.12.005.
51. Belzung C., Turiault M., Griebel G. Optogenetics to study the circuits of fear-and depression-like behaviors: a critical analysis. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2014; 122: 144–157. DOI: 10.1016/j.pbb.2014.04.002.
52. Hight A.E., Kozin E.D., Darrow K. et al. Superior temporal resolution of Chronos versus channelrhodopsin-2 in an optogenetic model of the auditory brainstem implant. *Hear Res.* 2015; 322: 235–241. DOI: 10.1016/j.heares.2015.01.004.
53. Keppeler D., Merino R.M., de la Morena D.L. et al. Ultrafast optogenetic stimulation of the auditory pathway by targeting-optimized Chronos. *EMBO J.* 2018; pii: e99649. DOI: 10.15252/embj.201899649.
54. Dombrowski T., Rankovic V., Moser T. Toward the optical cochlear implant. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2018; pii: a033225. DOI: 10.1101/CSHPERSPECT.A033225.
55. Govorunova E.G., Sineshchekov O.A., Li H., Spudich J.L. Microbial rhodopsins: diversity, mechanisms, and optogenetic applications. *Ann. Rev. Biochem.* 2017; 86: 845–872. DOI: 10.1146/annurev-biochem-101910-144233.
56. Gushchin I., Gordeliy V. Microbial rhodopsins. Membrane protein complexes: Structure and function. *Subcell. Biochem.* 2018; 87: 19–56. DOI: 10.1007/978-981-10-7757-9_2.
57. Gradinaru V., Mogri M., Thompson K.R. et al. Optical deconstruction of parkinsonian neural circuitry. *Science*. 2009; 324 (5925): 354–359. DOI: 10.1126/science.1167093.
58. Chen Y., Xiong M., Zhang S.C. Illuminating Parkinson's therapy with optogenetics. *Nature Biotechnol.* 2015; 33 (2): 149–150. DOI: 10.1038/nbt.3140.
59. Seeger-Armbruster S., Bosch-Bouju C., Little S.T. et al. Patterned, but not tonic, optogenetic stimulation in motor thalamus improves reaching in acute drug-induced parkinsonian rats. *J. Neurosci.* 2015; 35 (3): 1211–1216. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3277-14.2015.
60. Bordia T., Perez X.A., Heiss J.E. et al. Optogenetic activation of striatal cholinergic interneurons regulates L-dopa-induced dyskinesias. *Neurobiol. Dis.* 2016; 91: 47–58. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.02.019.
61. Parker K.L., Kim Y., Alberico S.L. et al. Optogenetic approaches to evaluate striatal function in animal models of Parkinson disease. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2016; 18 (1): 99–107. PMID: 27069384.
62. Wykes R.C., Heeroma J.H., Mantoan L. et al. Optogenetic and potassium channel gene therapy in a rodent model of focal neocortical epilepsy. *Sci. Transl. Med.* 2012; 4 (161): 161ra152. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004190.
63. Paz J.T., Huguenard J.R. Optogenetics and epilepsy: past, present and future. *Epilepsy Curr.* 2015; 15 (1): 34–38. DOI: 10.5698/1535-7597-15.1.34.
64. Zhao M., Alleva R., Ma H. et al. Optogenetic tools for modulating and probing the epileptic network. *Epilepsy Res.* 2015; 116: 15–26. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2015.06.010.
65. Iyer S.M., Montgomery K.L., Towne C. et al. Virally mediated optogenetic excitation and inhibition of pain in freely moving nontransgenic mice. *Nature Biotechnol.* 2014; 32 (3): 274–278. DOI: 10.1038/nbt.2834.
66. Kalanithi P.S., Henderson J.M. Optogenetic neuromodulation. *Intern. Rev. Neurobiol.* 2012; 107: 185–205. DOI: 10.1016/B978-0-12-404706-8.00010-3.
67. Chow B.Y., Boyden E.S. Optogenetics and translational medicine. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5 (177): 177ps5. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003101.
68. Capelle H.H., Krauss J.K. Neuromodulation in dystonia: current aspects of deep brain stimulation. *Neuromodulation.* 2009; 12 (1): 8–21. DOI: 10.1111/j.1525-1403.2009.00183.x.
69. Sorar M., Hanalioglu S., Kocer B. et al. Experience reduces surgical and hardware-related complications of deep brain stimulation surgery: A single-center study of 181 patients operated in six years. *Parkinson's Dis.* 2018; 2018: 3056018. DOI: 10.1155/2018/3056018.
70. Deer T.R., Krames E., Mekhail N. et al. Neuromodulation Appropriateness Consensus Committee. The appropriate use of neurostimulation: New and evolving neurostimulation therapies and applicable treatment for chronic pain and selected disease states. *Neuromodulation.* 2014; 17 (6): 599–615. DOI: 10.1111/ner.12204.

71. Collomb-Clerc A., Welter M.L. Effects of deep brain stimulation on balance and gait in patients with Parkinson's disease: a systematic neurophysiological review. *Neurophysiol. Clin.* 2015; 45 (4–5): 371–388. DOI: 10.1016/j.neucli.2015.07.001.
72. Stefani A., Cerroni R., Mazzone P. et al. Mechanisms of action underlying the efficacy of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease: central role of disease severity. *Eur. J. Neurosci.* 2018. DOI: 10.1111/ejn.14088.
73. Muthuraman M., Koirala N., Ciolac D. et al. Deep brain stimulation and L-DOPA therapy: Concepts of action and clinical applications in Parkinson's disease. *Frontiers Neurol.* 2018; 9: 711. DOI: 10.3389/fneur.2018.00711.
74. Welberg L. Techniques: optogenetic control in monkey brains. *Nat. Rev. Neurosci.* 2012; 13 (9): 603. DOI: 10.1038/nrn3331.
75. Liu X., Ramirez S., Pang P.T. et al. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature.* 2012; 484 (7394): 381–385. DOI: 10.1038/nature11028.
76. Ramirez S., Liu X., Lin P.A. et al. Creating a false memory in the hippocampus. *Science.* 2013; 341 (6144): 387–391. DOI: 10.1126/science.1239073.
77. Williams J.C., Denison T. From optogenetic technologies to neuromodulation therapies. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5 (177): 177ps6. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003100.
78. Luchkina N.V., Bolshakov V.Y. Diminishing fear: Optogenetic approach toward understanding neural circuits of fear control. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2018; 174: 64–79. DOI: 10.1016/j.pbb.2017.05.005.
79. Yamamoto K., Tanei Z.I., Hashimoto T. et al. Chronic optogenetic activation augments A β pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Cell Reports.* 2015; 11 (6): 859–865. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.04.017.
80. Ordaz J.D., Wu W., Xu X.M. Optogenetics and its application in neural degeneration and regeneration. *Neur. Regeneration Res.* 2017; 12 (8): 1197–1209. DOI: 10.4103/1673-5374.213532.
81. Galvan A., Stauffer W.R., Acker L. et al. Nonhuman primate optogenetics: recent advances and future directions. *J. Neurosci.* 2017; 37 (45): 10 894–10 903. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1839-17.2017.
82. Imbriani P., Sciamanna G., Santoro M. et al. Promising rodent models in Parkinson's disease. *Parkinsonism Related Dis.* 2018; 46 (1): S10–S14. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2017.07.027.
83. Sahel J.A., Roska B. Gene therapy for blindness. *Annu. Rev. Neurosci.* 2013; 36: 467–488. DOI: 10.1146/annurev-neuro-062012-170304.
84. Bi A., Cui J., Ma Y.P. et al. Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration. *Neuron.* 2006; 50: 23–33. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.02.026.
85. Tomita H., Sugano E., Isago H. et al. Channel-rhodopsin-2 gene transduced into retinal ganglion cells restores functional vision in genetically blind rats. *Exp. Eye Res.* 2010; 90 (3): 429–436. DOI: 10.1016/j.exer.2009.12.006.
86. Mace E., Caplette R., Marre O. et al. Targeting channelrhodopsin-2 to ON-bipolar cells with vitreally administered AAV restores ON and OFF visual responses in blind mice. *Mol. Ther.* 2015; 23 (1): 7–16. DOI: 10.1038/mt.2014.154.
87. Gaub B.M., Berry M.H., Holt A.E. et al. Optogenetic vision restoration using rhodopsin for enhanced sensitivity. *Molecular Therapy.* 2015; 23 (10): 1562–1571. DOI: 10.1038/mt.2015.121.
88. Kravitz A.V., Bonci A. Optogenetics, physiology, and emotions. *Front. Behav. Neurosci.* 2013; 7: 169. DOI: 10.3389/fnbeh.2013.00169.
89. Packer A.M., Roska B., Häusser M. Targeting neurons and photons for optogenetics. *Nat. Neurosci.* 2013; 16 (7): 805–815. DOI: 10.1038/nn.3427.
90. Kramer R.H., Mourou A., Adesnik H. Optogenetic pharmacology for control of native neuronal signaling proteins. *Nat. Neurosci.* 2013; 16 (7): 816–823. DOI: 10.1038/nn.3424.
91. Harvey A.J., Abell A.D. α -Ketoester-based photobiological switches: synthesis, peptide chain extension and assay against α -chymotrypsin. *Bioorganic Med. Chem. Letters.* 2001; 11 (18): 2441–2444. DOI: 10.1016/S0960-894X(01)00464-4.
92. Szobota S., Gorostiza P., Del Bene F. et al. Remote control of neuronal activity with a light-gated glutamate receptor. *Neuron.* 2007; 54 (4): 535–545. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.05.010.
93. Tochitsky I., Banghart M.R., Mourou A. et al. Optochemical control of genetically engineered neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Nat. Chem.* 2012; 4 (2): 105–111. DOI: 10.1038/nchem.1234.
94. Banghart M., Borges K., Isacoff E. et al. Light-activated ion channels for remote control of neuronal firing. *Nat. Neurosci.* 2004; 7 (12): 1381–1386. DOI: 10.1038/nn1356.
95. Banghart M.R., Mourou A., Fortin D.L. et al. Photochromic blockers of voltage-gated potassium channels. *Angewandte Chemie International Edition.* 2009; 48 (48): 9097–9101. DOI: 10.1002/anie.200904504.
96. Fortin D.L., Banghart M.R., Dunn T.W. et al. Photochemical control of endogenous ion channels and cellular excitability. *Nature Methods.* 2008; 5 (4): 331–338. DOI: 10.1038/nmeth.1187.
97. Fortin D.L., Dunn T.W., Kramer R.H. Engineering light-regulated ion channels. *Cold Spring Harbor Protocols.* 2011; 2011 (6): 579–585. DOI: 10.1101/pdb.top112.
98. Velema W.A., Szymanski W., Feringa B.L. Photopharmacology: beyond proof of principle. *J. Am. Chem. Soc.* 2014; 136 (6): 2178–2191. DOI: 10.1021/ja413063e.
99. Bregestovski P., Maleeva G., Gorostiza P. Light-induced regulation of ligand-gated channel activity. *Brit. J. Pharmacol.* 2018; 175 (11): 1892–1902. DOI: 10.1111/bph.14022.
100. Брежестовский П.Д., Малеева Г.В. Фотофармакология: краткий обзор на примере управления калиевыми каналами. *Ж. высшей нервной деятельности.* 2017; 67 (5): 41–52. [Brezhestovskiy P.D., Maleeva G.V. Photopharmacology: mini review by example of potassium channels modulation by light. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti.* 2017; 67 (5): 41–52. (In Russ.)] DOI: 10.7868/S0044467717050057.
101. Damijonaitis A., Broichhagen J., Laprell L. et al. Cholinergic photopharmacology — controlling nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors with photoswitchable molecules. *FASEB J.* 2015; 29 (1): 933–935.
102. Volgraf M., Gorostiza P., Numano R. et al. Allosteric control of an ionotropic glutamate receptor with an optical switch. *Nature Chem. Biol.* 2006; 2 (1): 47–52. DOI: 10.1038/nchembio756.
103. Gorostiza P., Volgraf M., Numano R. et al. Mechanisms of photoswitch conjugation and light activation of an ionotropic glutamate receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (26): 10 865–10 870. DOI: 10.1073/pnas.0701274104.
104. Yue L., Pawlowski M., Dellal S.S. et al. Robust photoregulation of GABA(A) receptors by allosteric

modulation with a propofol analogue. *Nat. Commun.* 2012; 3: 1095. DOI: 10.1038/ncomms2094.

105. Lin W.C., Davenport C.M., Mourot A. et al. Engineering a light-regulated GABAA receptor for optical control of neural inhibition. *ACS Chem. Biol.* 2014; 9 (7): 1414–1419. DOI: 10.1021/cb500167u.

106. Mehta Z.B., Johnston N.R., Nguyen-Tu M.S. et al. Remote control of glucose homeostasis *in vivo* using photopharmacology. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 291. DOI: 10.1038/s41598-017-00397-0.

107. Hüll K., Morstein J., Trauner D. *In vivo* photopharmacology. *Chem. Rev.* 2018; 118 (21): 10 710–10 747. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00037.

108. Hausser M. Optogenetics: the age of light. *Nat. Methods.* 2014; 11 (10): 1012–1014. DOI: 10.1038/nmeth.3111.

109. Брежестовский П.Д. Оптогенетика в неврологии: обзор направлений и перспективы. Неврология XXI века: диагностические, лечебные и исследовательские технологии. В 3 т. Под ред. М.А. Пирадова, С.Н. Иллариошкина, М.М. Танашян.

Т. III. *Современные исследовательские технологии в экспериментальной неврологии.* М.: АТМО. 2015; 315–349. [Bregestovski P.D. Optogenetics in neurology: Directions and prospects (review). *Nevrologiya XXI veka: diagnosticheskie, lechebnye i issledovatel'skie tekhnologii.* (Neurology in the 21st Century: Diagnostic, Medical and Research Technologies.) In 3 vol. Ed. by M.A. Piradov, S.N. Illarionov, M.M. Tanashyan. Т. III. *Sovremennye issledovatel'skie tekhnologii v ehksperimental'noy nevrologii.* (Modern research technologies in experimental neurology.) Moscow: АТМО. 2015; 315–349. (In Russ.)]

110. Bregestovski P., Mukhtarov M. Optogenetics: perspectives in biomedical research (review). *Sovremennye tekhnologii v medicine.* 2016; 8 (4): 212–221. DOI: 10.17691/stm2016.8.4.26.

111. Han S.Y., Clarkson J., Piet R., Herbison A.E. Optical approaches for interrogating neural circuits controlling hormone secretion. *Endocrinology.* 2018; 159 (11): 3822–3833. DOI: 10.1210/en.2018-00594.