

ЗРЕНИЕ: ОТ КВАНТА СВЕТА ДО ЗРЕНИЯ

академик М. А. Островский

**Кафедра молекулярной физиологии
Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова**

**Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля
Российской Академии Наук**

**МФК - 2014 (осенний семестр)
СОВРЕМЕННАЯ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ:
ОТ МОЛЕКУЛ К СОЗНАНИЮ**

**Нет ничего проще,
чем взглянуть и увидеть!**

**И нет ничего сложнее,
чем взглянуть, увидеть и
осознать!**

Фототрансдукция

(От поглощения кванта света
до возникновения в зрительной клетке
физиологического сигнала)

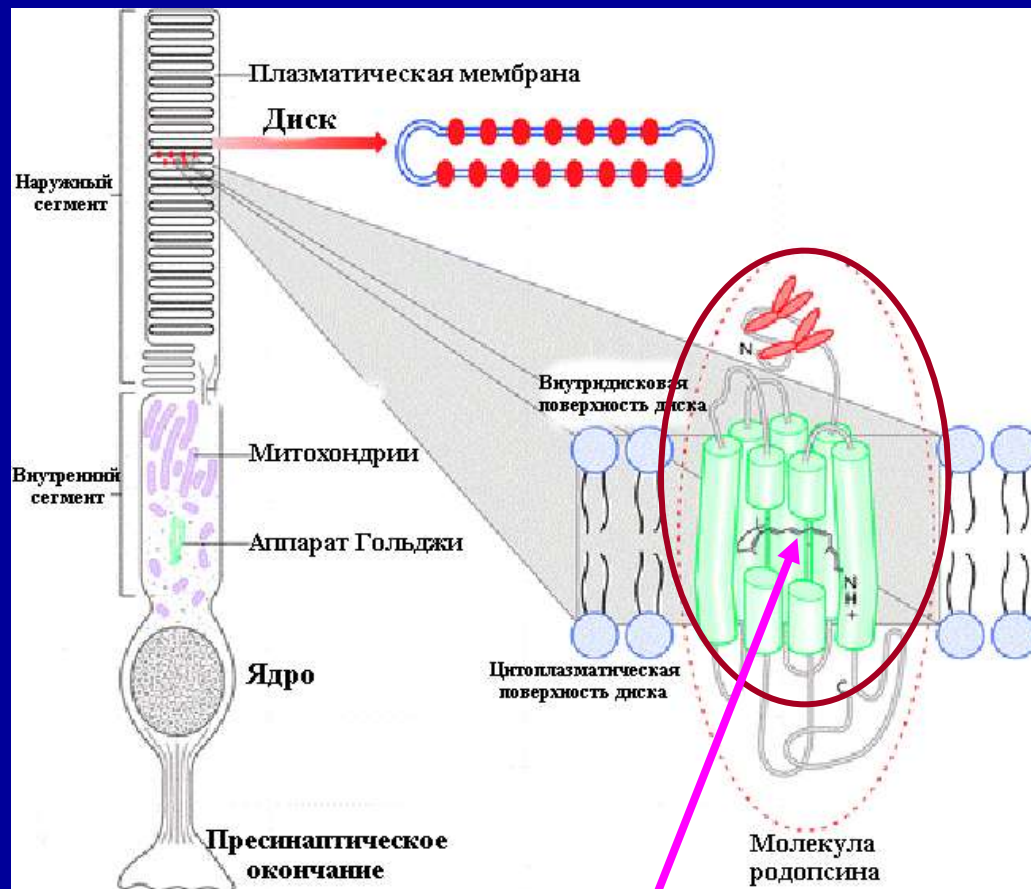
**Вопрос древних греков:
«Как свет превращается в зрение?»**

Свет превращается в зрение в зрительных клетках сетчатки глаза



сетчатка

палочки
и колбочки



палочка

родопсин

Хромофорная группа –
11-цис ретиналь

Квант
света

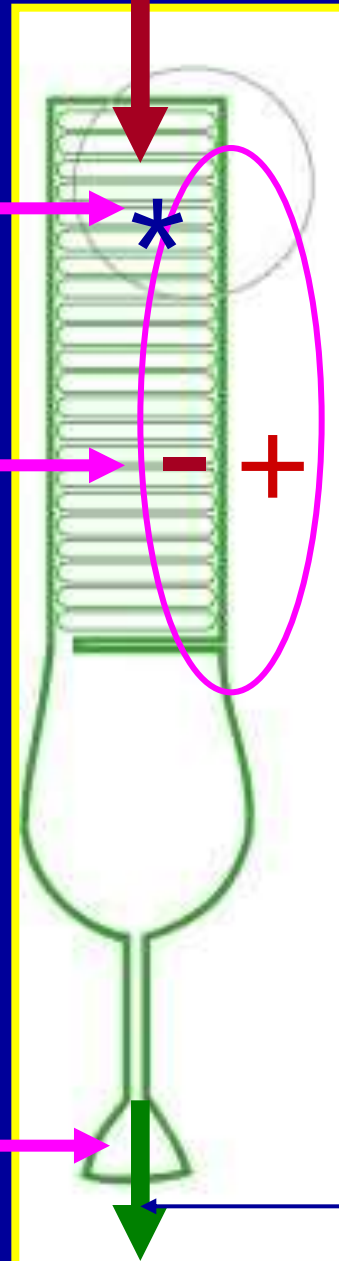
Молекула родопсина

Биоэлектрический
потенциал –
гиперполяризация

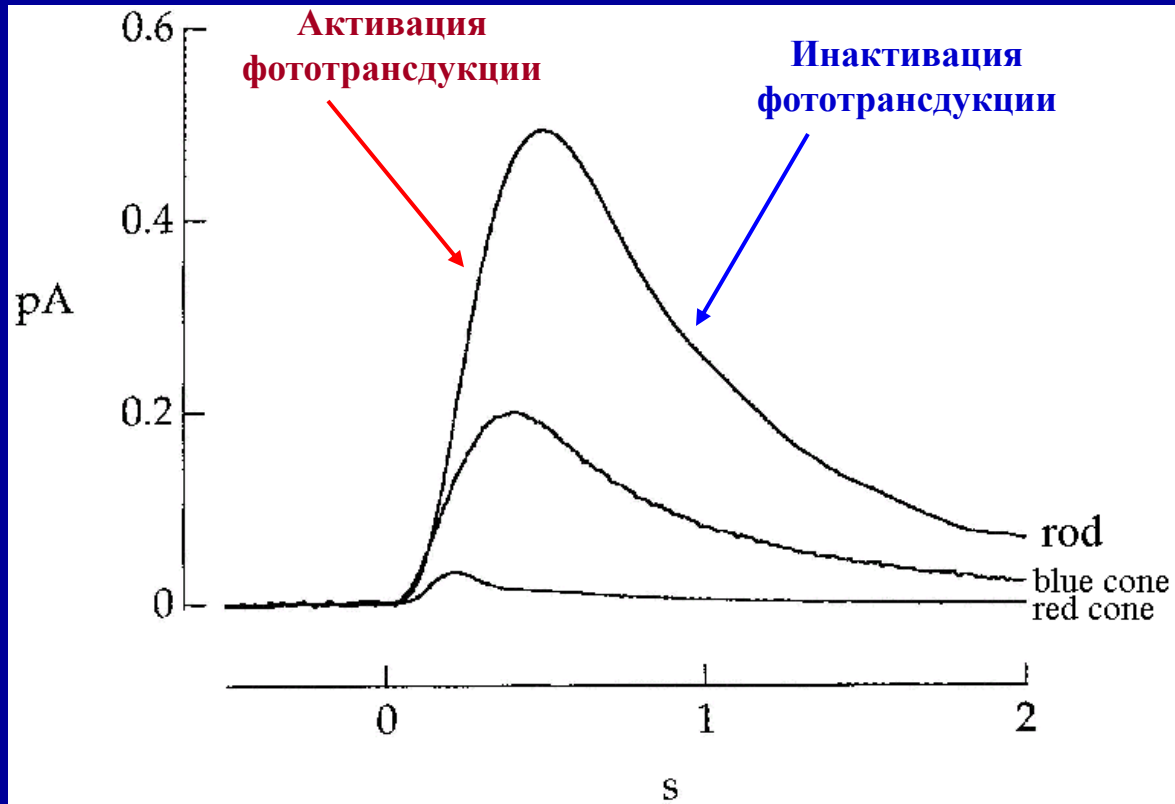
Уменьшение скорости
выделения
нейромедиатора

МЕХАНИЗМ ФОТОТРАНСДУКЦИИ

Нейромедиатор – глутамат



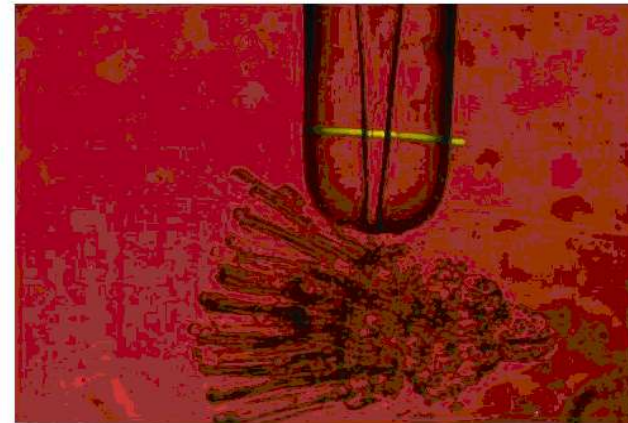
**Электрический ответ одиночной палочки
на поглощение одного кванта света
(одиночные клетки «всосаны» в электрод-пипетку)**



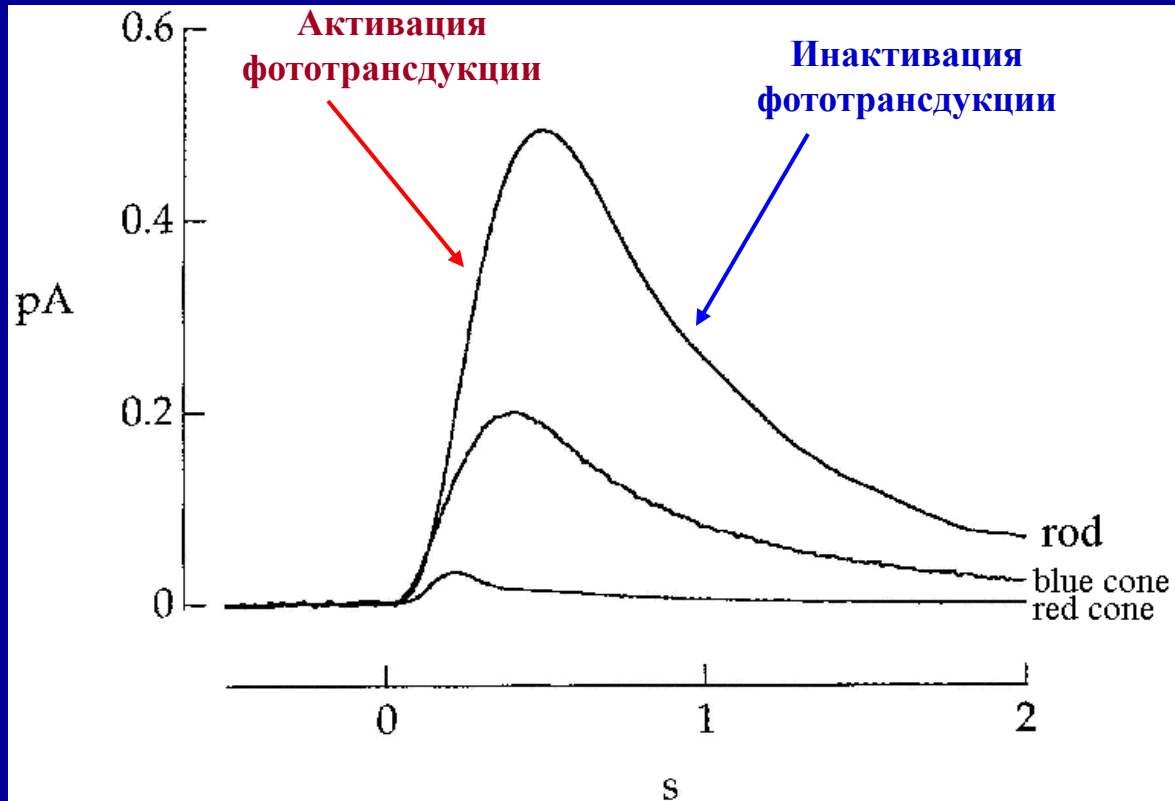
Как электрический ответ регистрируется?

"Всасывающий" электрод

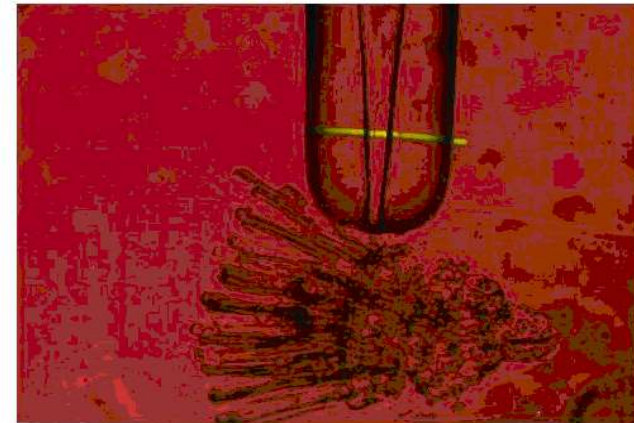
Палочка



**Электрический ответ одиночной палочки
на поглощение одного кванта света
(одиночные клетки «всосаны» в электрод-пипетку)**

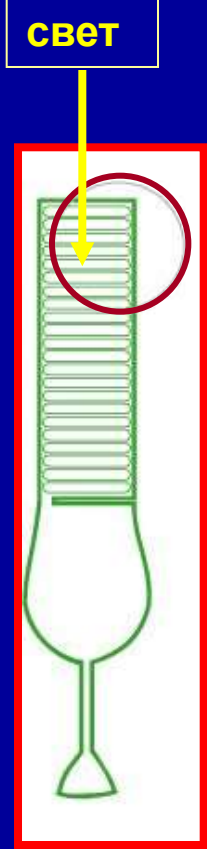


"Всасывающий" электрод



Молекулярный механизм фототрансдукции

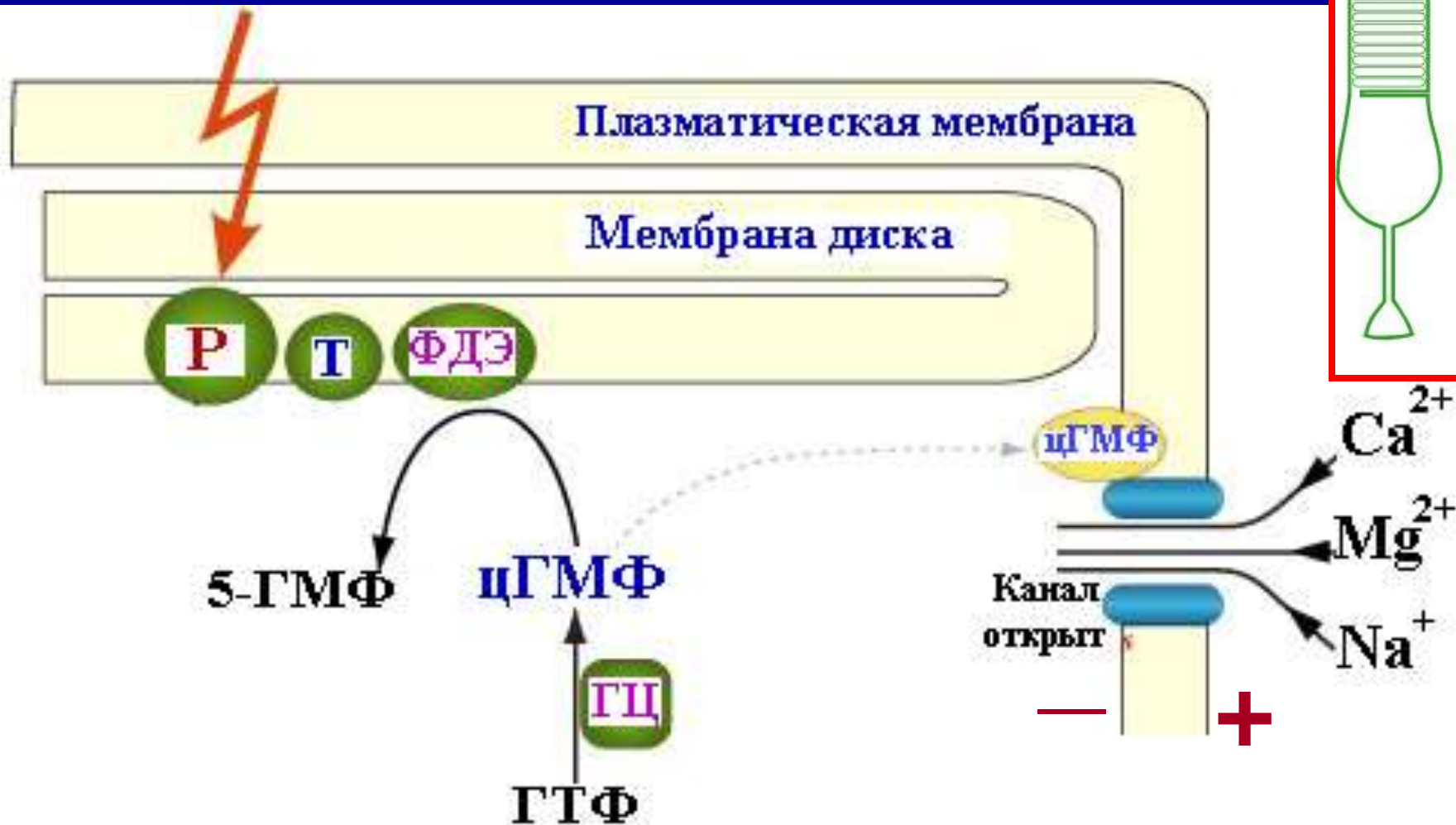
Схема фототрансдукции в наружном сегменте палочки



СВЕТ

Схема фототрансдукции в наружном сегменте палочки

СВЕТ



Активированный родопсин взаимодействует с трансдуцином (G-белком) и запускает ферментативный каскад фототрансдукции

Родопсин Активированный родопсин

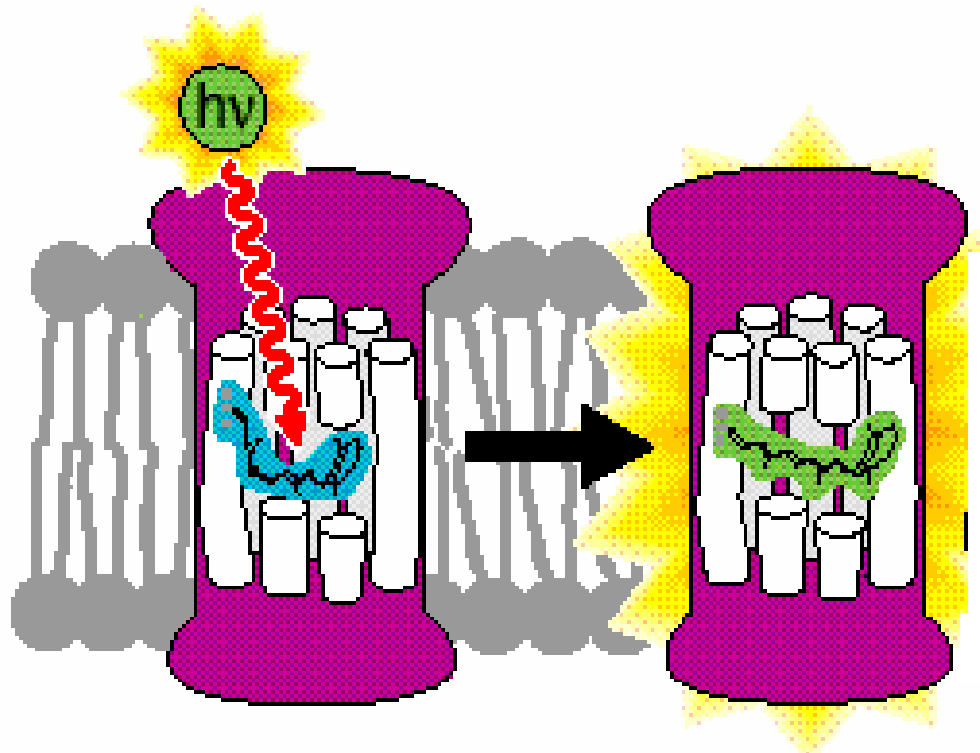


Схема внутримолекулярного процесса активации родопсина (по состоянию на 2014 г)

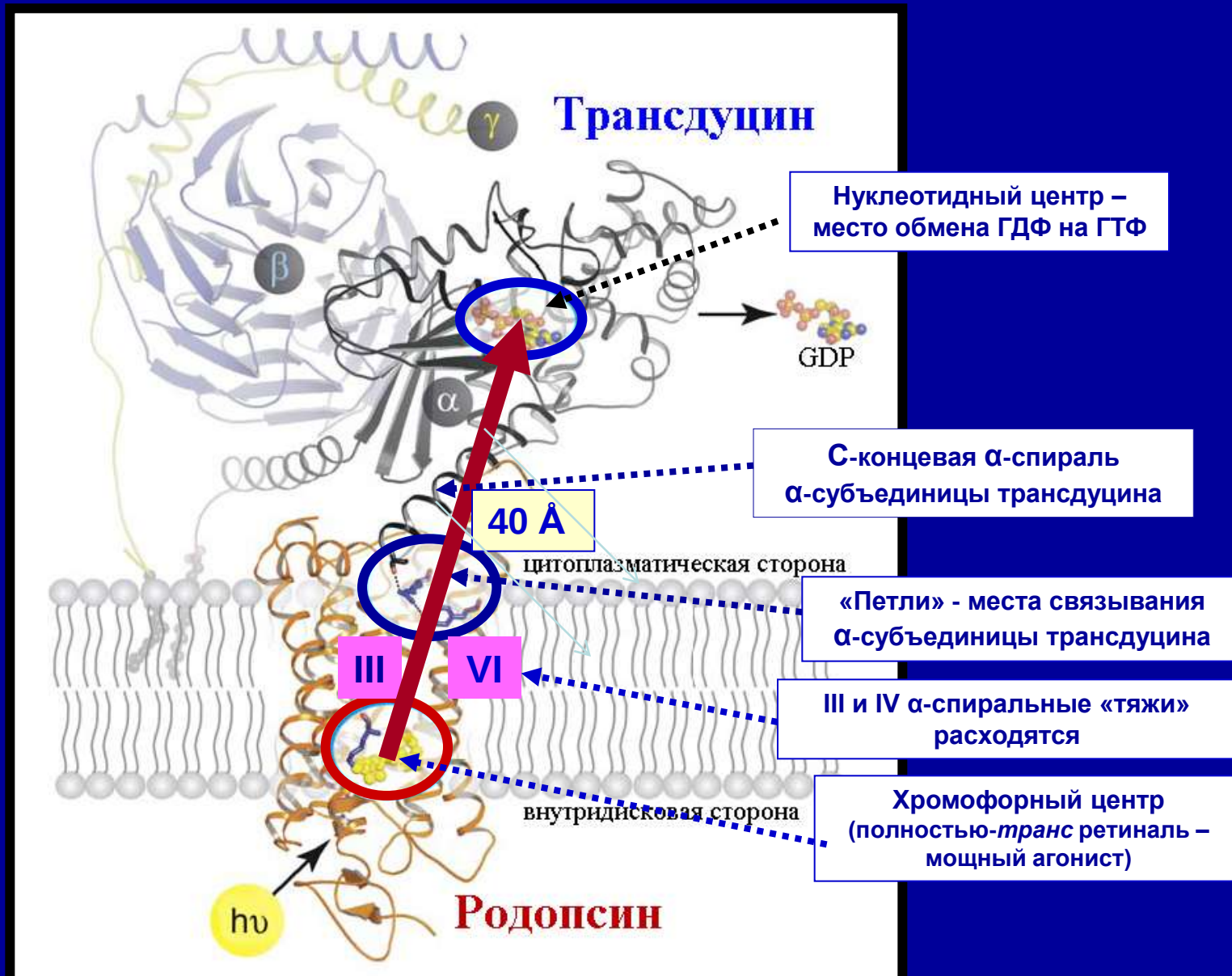
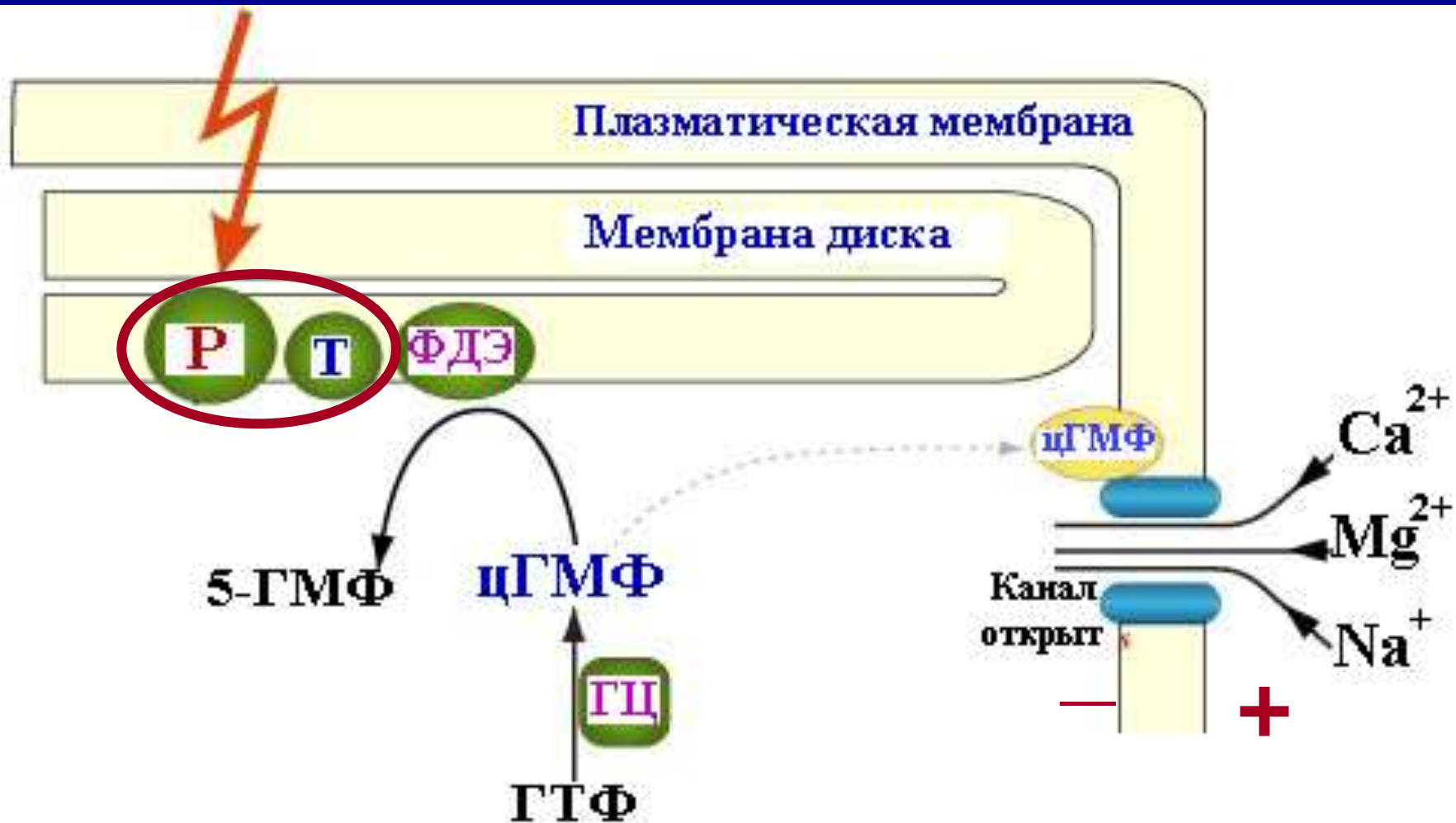
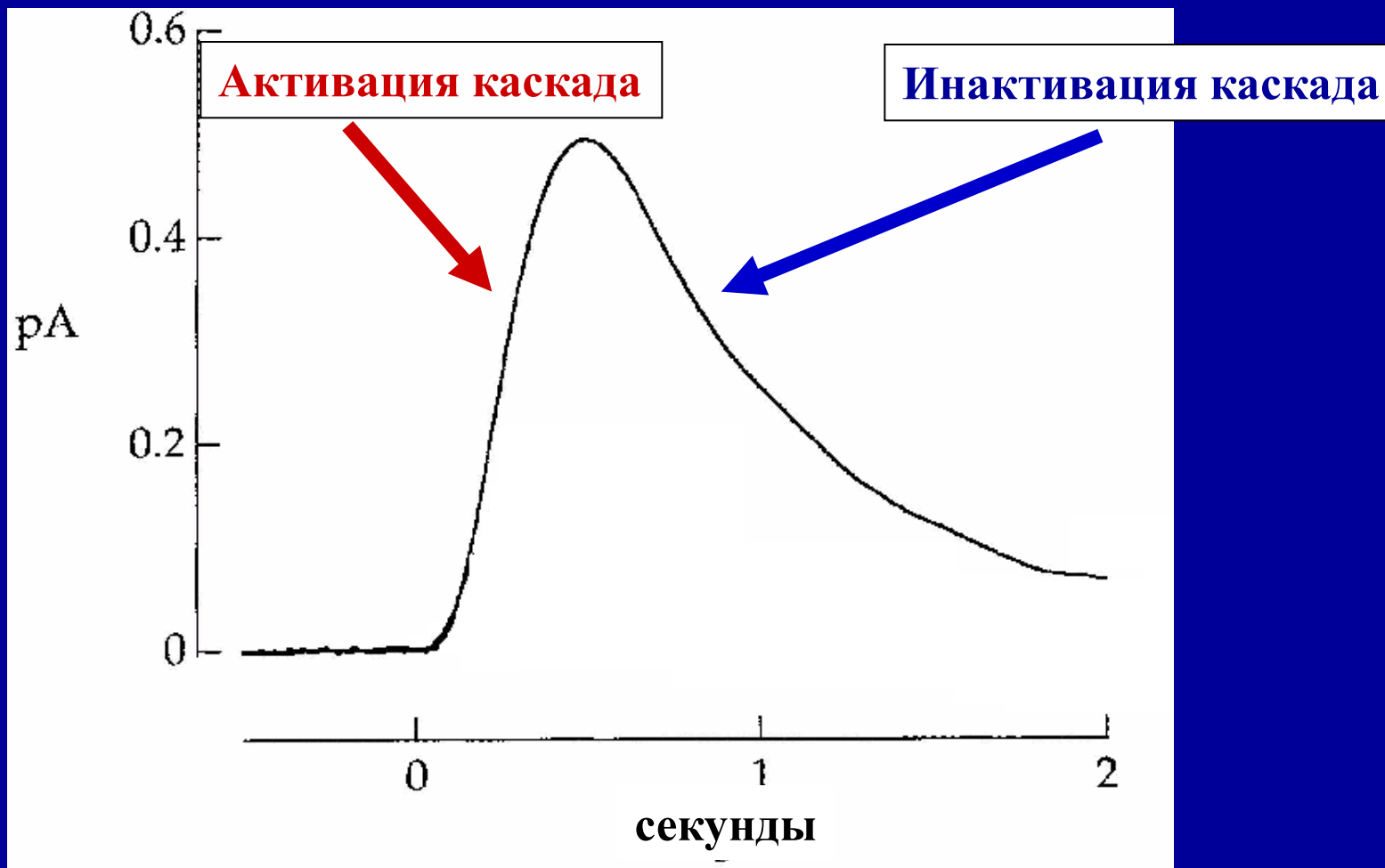


Схема фототрансдукции в наружном сегменте палочки

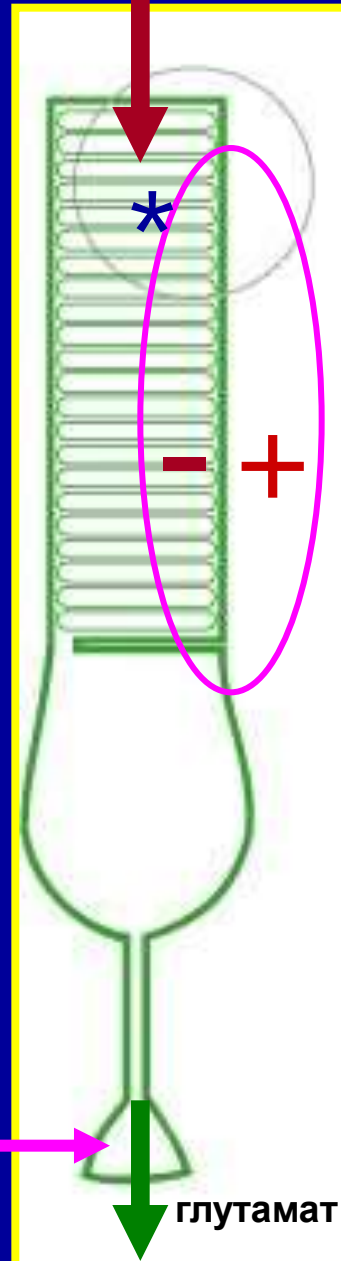
СВЕТ



Электрический ответ палочки на поглощение одного кванта света.



Квант
света

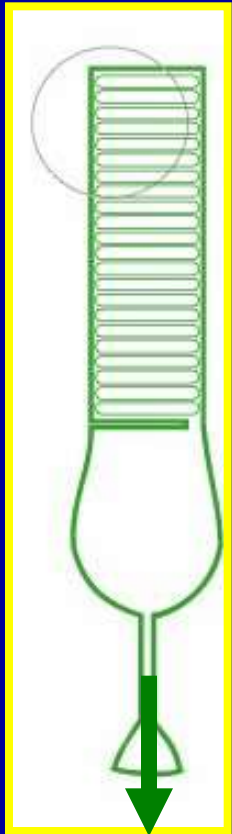


Уменьшение скорости
выделения
нейромедиатора
(глутамата)

Химическая передача сигнала
от зрительной к нервным
клеткам сетчатки

В темноте нейромедиатор постоянно выделяется из пресинаптического окончания зрительной клетки.

Освещение вызывает замедление или прекращение его выделения, что и служит информационным сигналом о свете для следующих нервных клеток сетчатки.



темнота



свет

Tsuneo Tomita
работы 1965 – 1969 г.



Ю. А. Трифонов
работы 1966-1968 г.

Фотобиологический парадокс зрения

Свет —

**не только носитель зрительной
информации,
но и потенциально опасный
повреждающий фактор**

Почему?

Зрительный цикл:

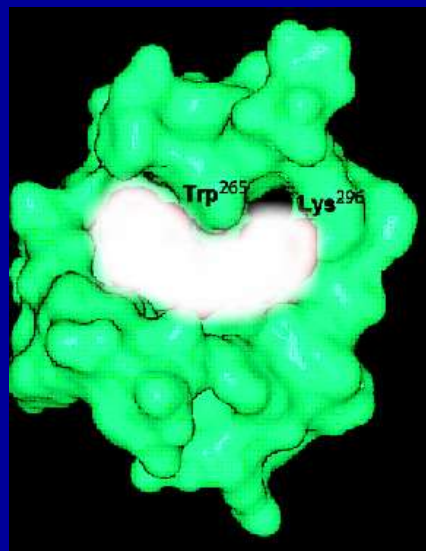
обесцвечивание и регенерация родопсина

Регенерация
(опсин + 11-цис ретиналь)

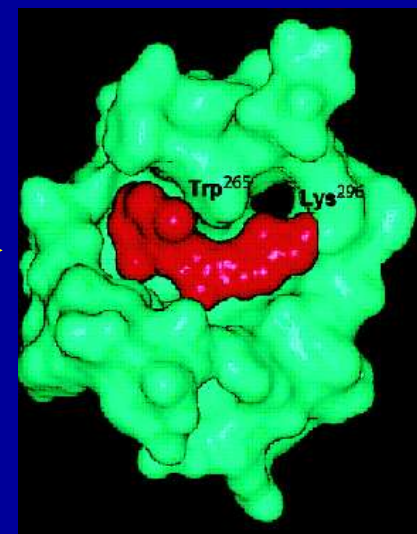


Регенерация родопсина:

**11-цис ретиналь «вставляется» в белок
(темновая адаптация)**



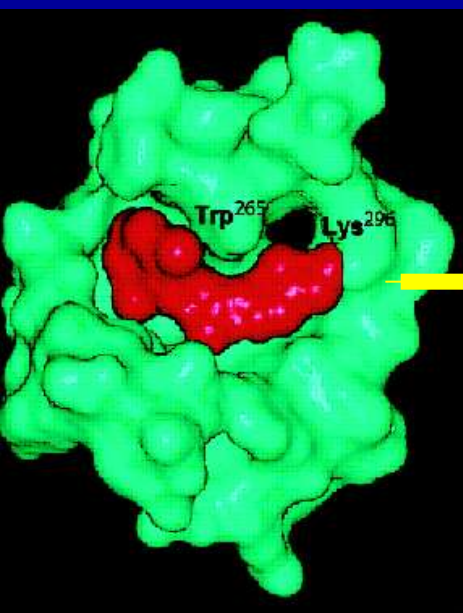
Белковая часть (опсин)



**Родопсин
(11-цис ретиналь)**

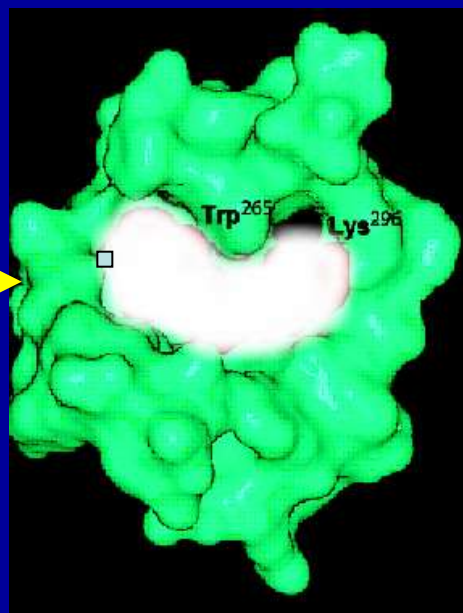
λ макс 500 нм

Обесцвечивание родопсина: высвобождение полностью-*транс* ретиналя

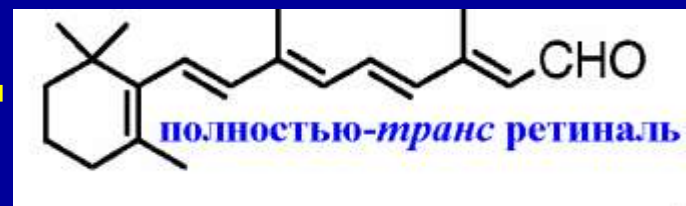


Родопсин
(11-*цис* ретиналь)

СВЕТ



Опсин

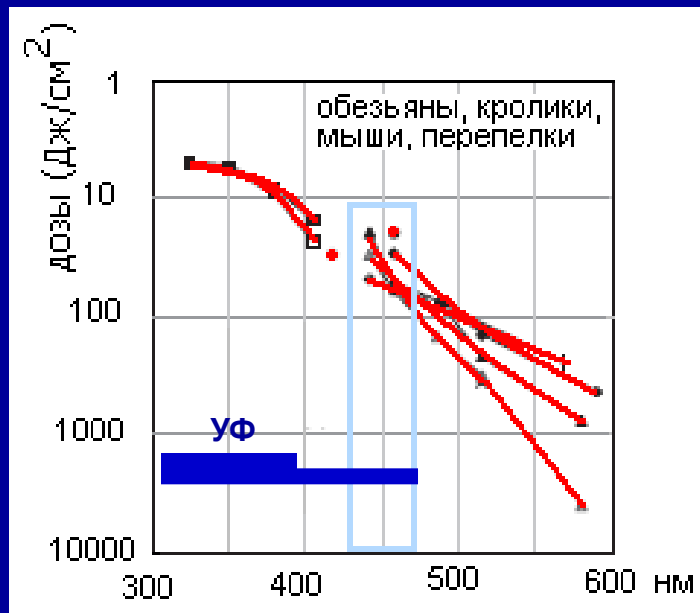


транс-ретиналь

Фототоксичен

**Предшественник
фототоксичных и
флуоресцирующих
бис-ретиноидов**

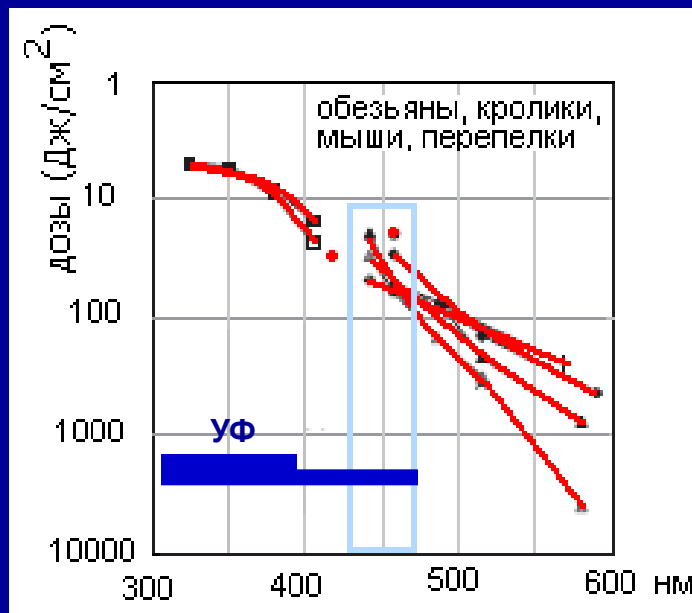
Зависимость фотоповреждения сетчатки и пигментного эпителия от длины волны (ультрафиолет опасен, фиолетово-синяя область потенциально опасна)



(Van Norren, Gorgels, 2011)

**Активные формы
кислорода,
морфология,
апоптоз,
электрическая
активность
сетчатки и мозга,
зрительное
поведение**

Зависимость фотоповреждения сетчатки и пигментного эпителия от длины волны (ультрафиолет опасен, фиолетово-синяя область потенциально опасна)

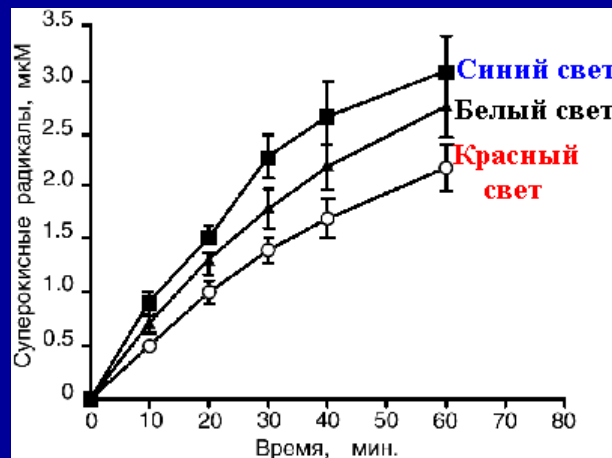


(Van Norren, Gorgels, 2011)

**Активные формы
кислорода,
морфология,
апоптоз,
электрическая
активность
сетчатки и мозга,
зрительное
поведение**

Фототоксичность липофусциновых гранул

(генерация активных форм кислорода) (Boulton, Dontsov, Ostrovsky., 1993)



Свет —

**не только носитель зрительной
информации,
но и потенциально опасный
повреждающий фактор**

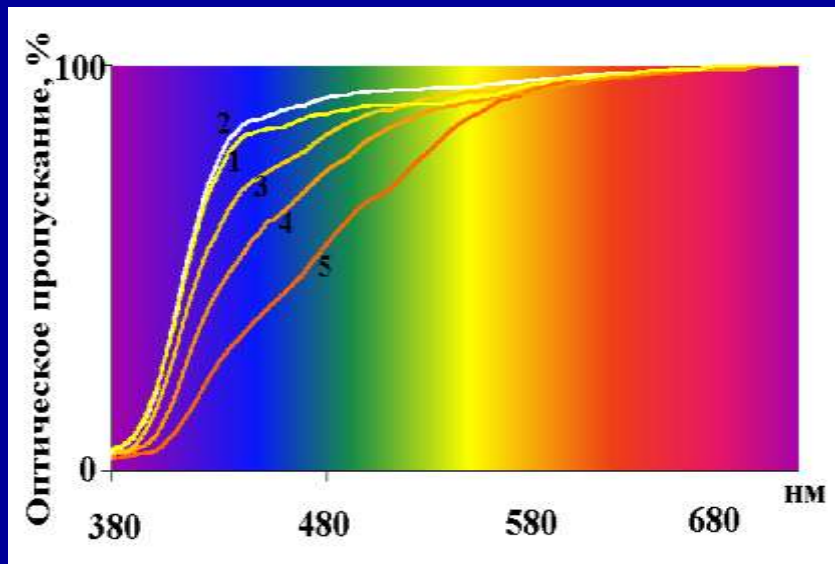
Система защиты сетчатки от опасности фотоповреждения:

- **постоянное обновление
наружных сегментов зрительных клеток**
- **мощный набор антиоксидантов**
- **светофильтрующая система глаза:**
Хрусталик! —
не только фокусирующая линза,
но и светофильтр

Естественный и искусственный хрусталики глаза как светофильтры

Возрастное пожелтение хрусталика

(Федорович, Зак, Островский, 1994)



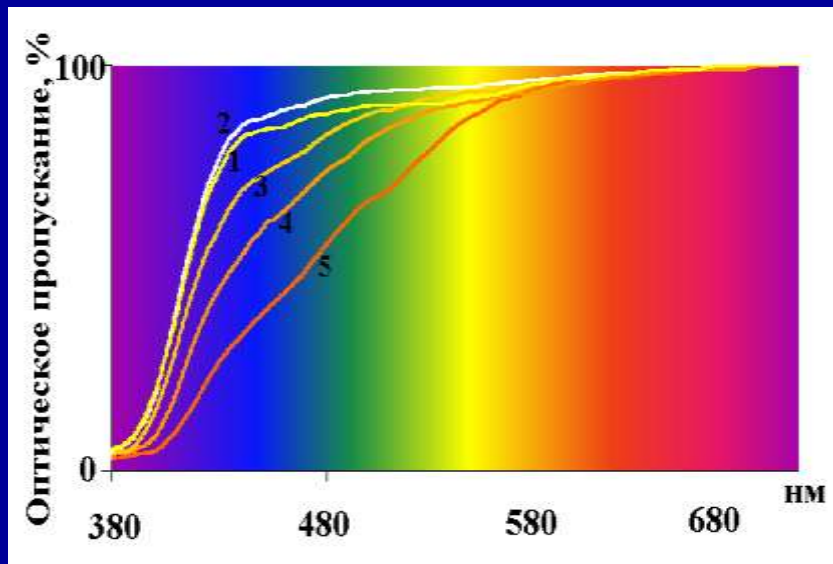
Спектры (слева направо):

- 1 – новорожденные,
- 2 – от 8 до 29 лет,
- 3 – от 31 до 49 лет,
- 4 – от 52 до 65 лет,
- 5 – старше 70 лет

Естественный и искусственный хрусталики глаза как светофильтры

Возрастное пожелтение хрусталика

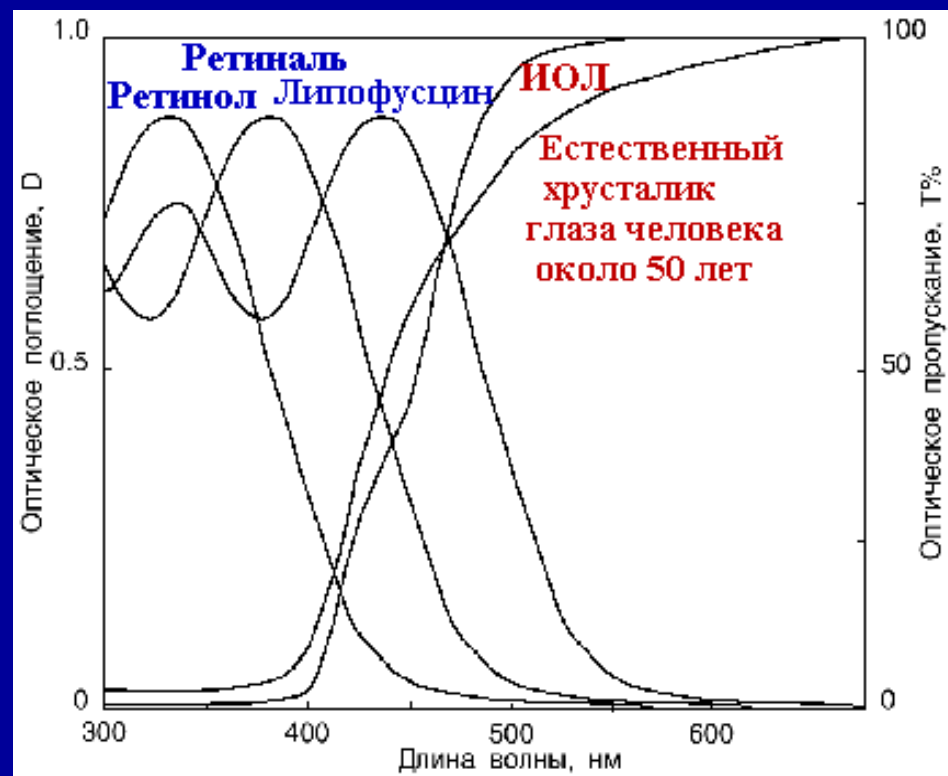
(Федорович, Зак, Островский, 1994)



Спектры (слева направо):

- 1 – новорожденные,
- 2 – от 8 до 29 лет,
- 3 – от 31 до 49 лет,
- 4 – от 52 до 65 лет,
- 5 – старше 70 лет

Спектры пропускания хрусталика глаза человека около 50 лет и искусственного хрусталика – интраокулярной линзы «Спектр»



Медицинские приложения

Офтальмология: спектральная коррекция зрения

Начиная с 1986 года, имплантировано более полутора миллионов искусственных хрусталиков «Спектр»

Опасность фотоповреждения сетчатки снизилась на порядок

**Фотографии глаза человека
и искусственного хрусталика «Спектр»**

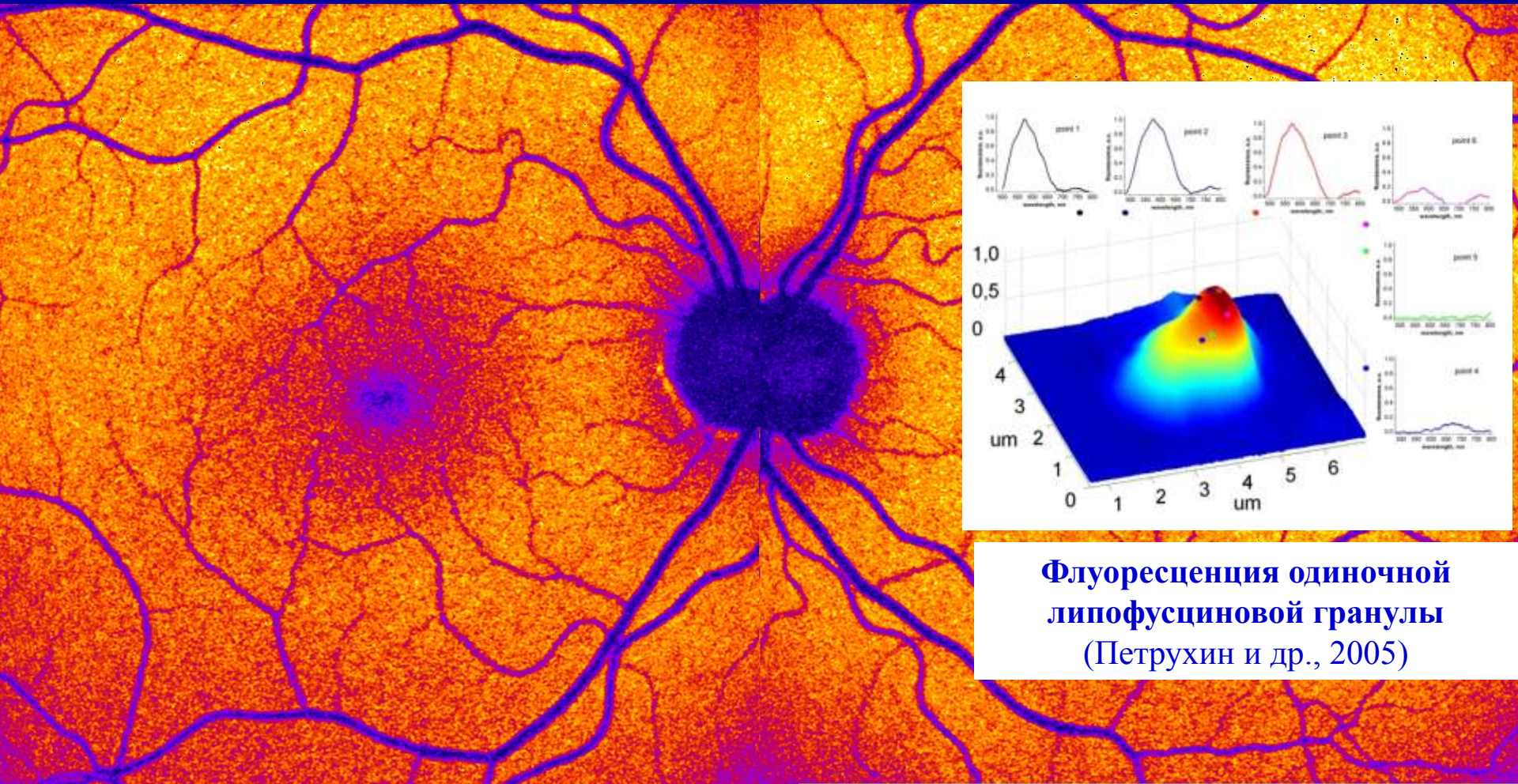


Офтальмология: диагностика

АУТОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ГЛАЗНОГО ДНА

Флуоресценция бис-ретиноидов липофусциновых гранул

(конфокальный сканирующий лазерный офтальмоскоп) (Bonner, Monasterio, Ostrovsky, 2003)



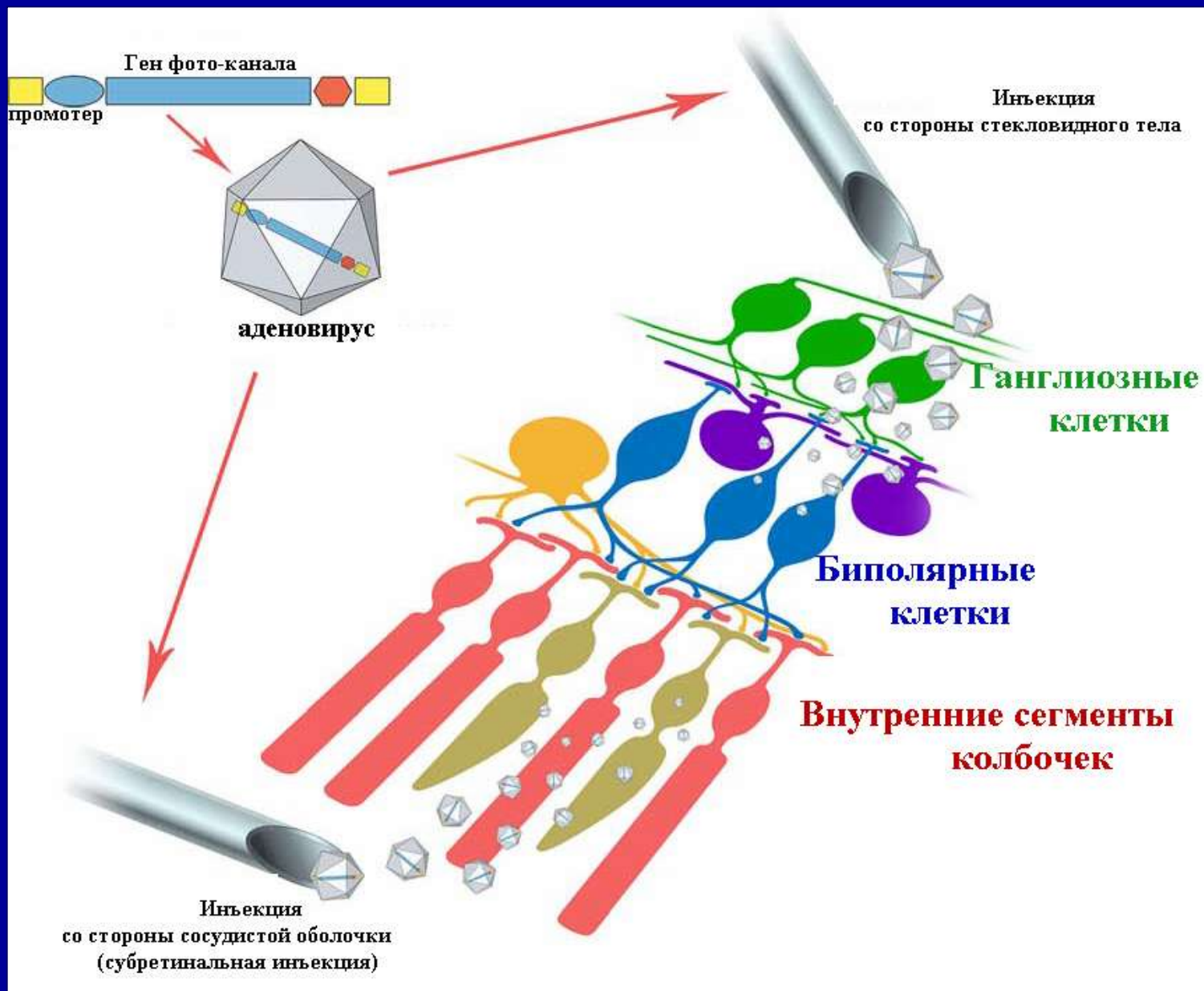
**Флуоресценция одиночной
липофусциновой гранулы**
(Петрухин и др., 2005)

Офтальмология: оптогенетика и зрение

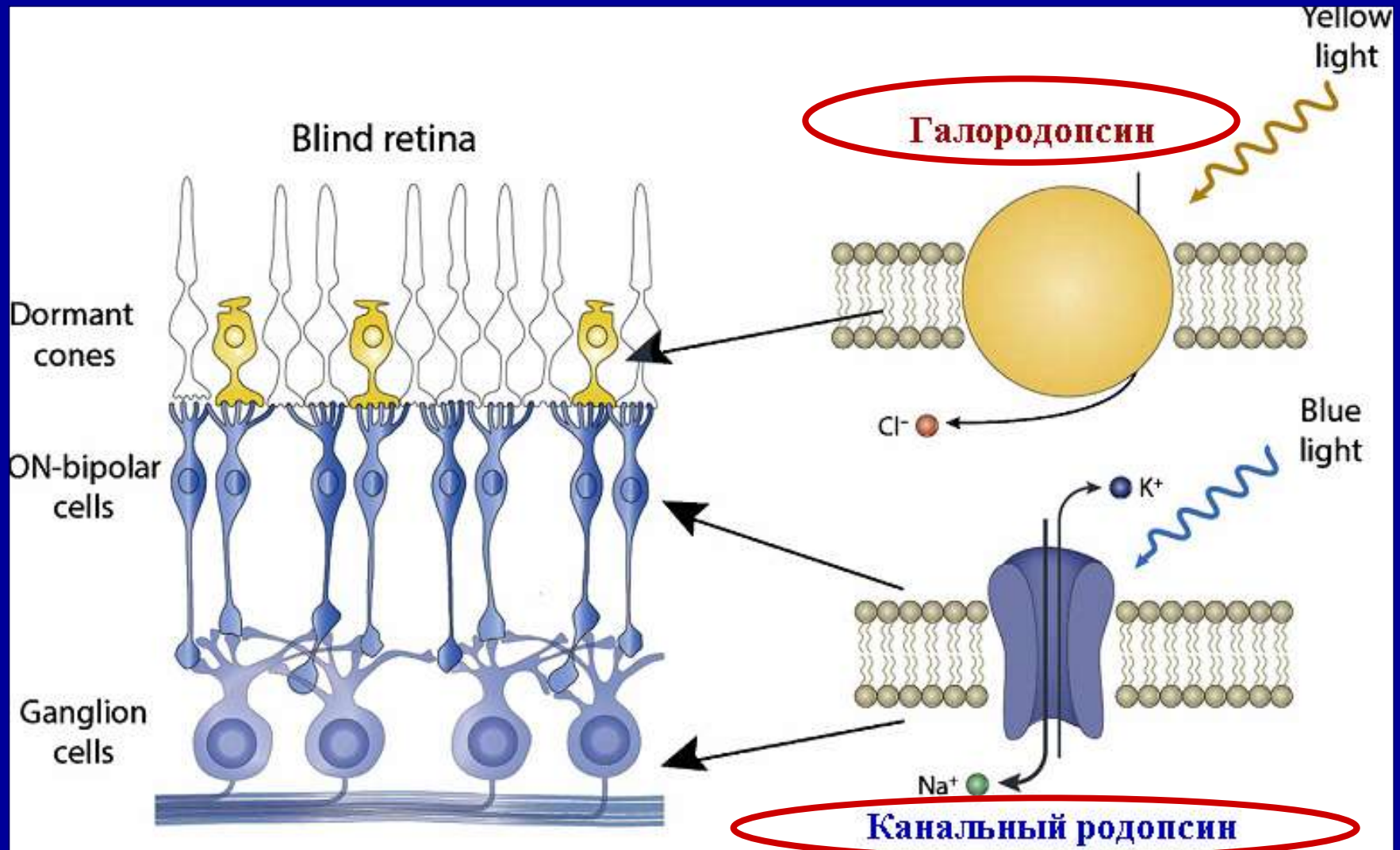
Оптогенетика и Зрение

- **Оптогенетика – «прорыв десятилетия»** (Nature,2010; Science,2010). **Оптогенетика позволяет светом управлять физиологической активностью клетки.**
- **Один из основных «инструментов» современной оптогенетики – родопсин зелёной водоросли, т.н. «канальный родопсин».**
- **Потеря фоторецепторных клеток сетчатки, как правило, не сопровождается потерей следующих за ними нервных клеток.**
- **Осуществлено оптогенетическое протезирование нервных (биполярных и ганглиозных) клеток дегенеративной сетчатки трансгенной мыши.**
- **Клинические испытания на пациентах, по всей видимости, начнутся в самое ближайшее время.**

Какие клетки дегенеративной сетчатки могут быть протезированы?

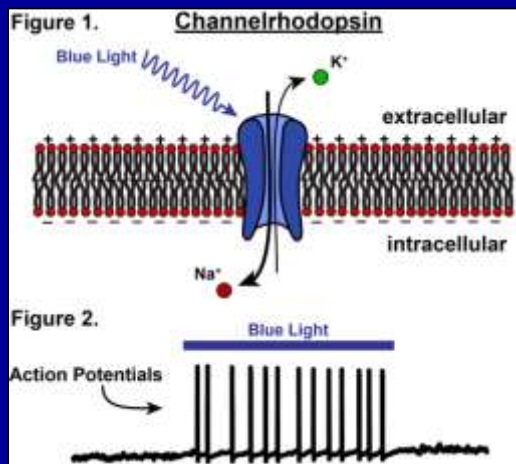
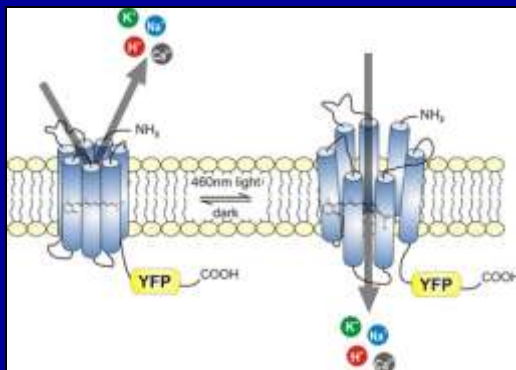


Светочувствительные ретиналь-содержащие белки – «инструменты» оптогенетики



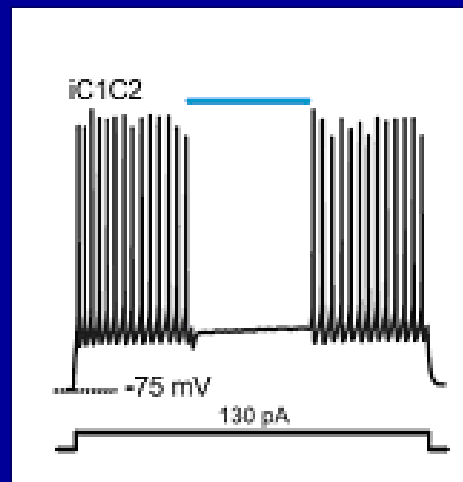
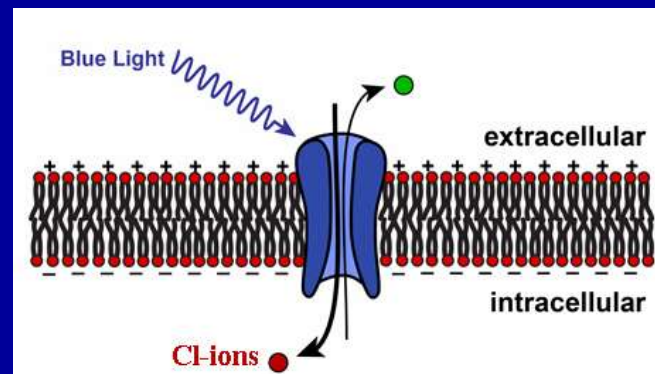
Возбуждение и торможение светом (де- и гиперполяризация) нервной клетки с помощью катион- и анион-переносящего канального родопсина (Wietek et al., 2014)

Катионы-переносящий канальный родопсин



Активация импульсной активности нервной клетки синим светом (475 нм)

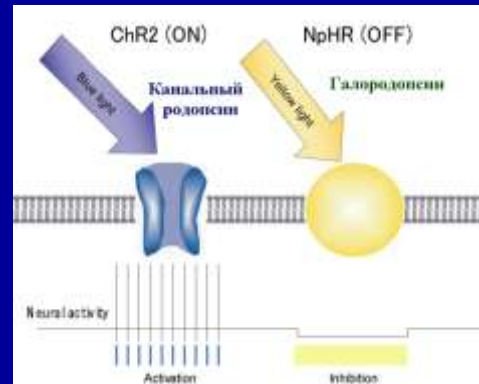
Анион (хлор)-переносящий канальный родопсин



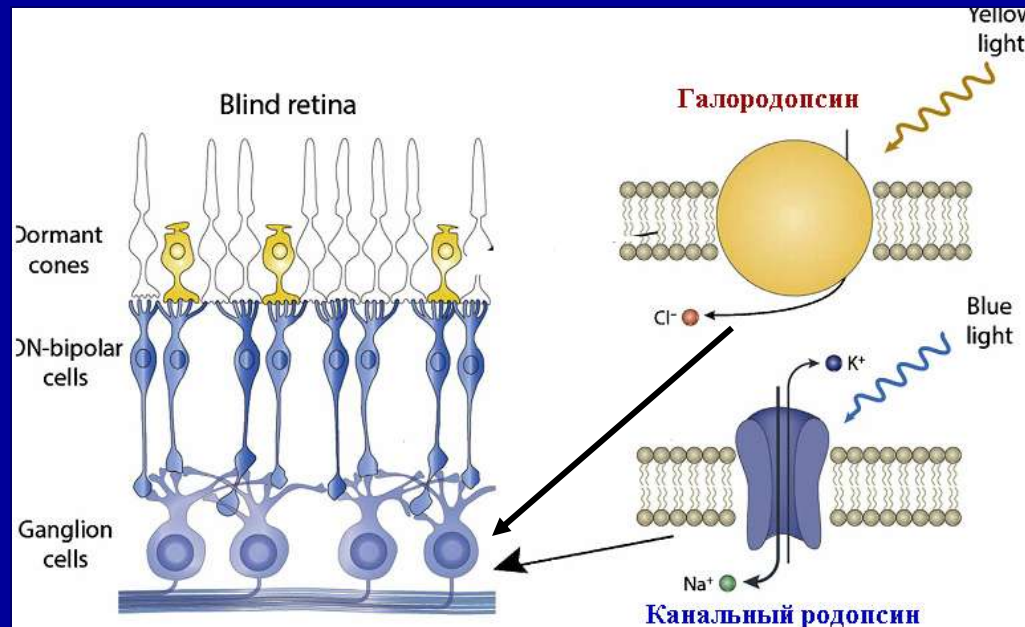
Торможение импульсной активности нервной клетки синим светом (475 нм)

**Оптогенетическое протезирование
ганглиозных и ON-биполярных
клеток дегенеративной сетчатки
трансгенной мыши
(пигментный ретинит)**

Оптогенетическое протезирование ганглиозных клеток: деполярирующий канальный и гиперполярирующий галородопсин [Wu et al., 2013]



Активация и подавление
импульсной активности с помощью
канального и галородопсинов



Экспрессия в дендритном поле ганглиозной клетки
деполярирующего канального и гиперполярирующего галородопсина

Восстановление рецептивного поля (ON-центр и OFF-периферия) ганглиозных клеток с помощью канального родопсина-2 и галородопсина (Wu et al., 2013)

Активация импульсной активности
(ON-ответ) ганглиозной клетке при
действии синего света
(канальный родопсин-2)

Канальный родопсин
On-ответ



синий свет

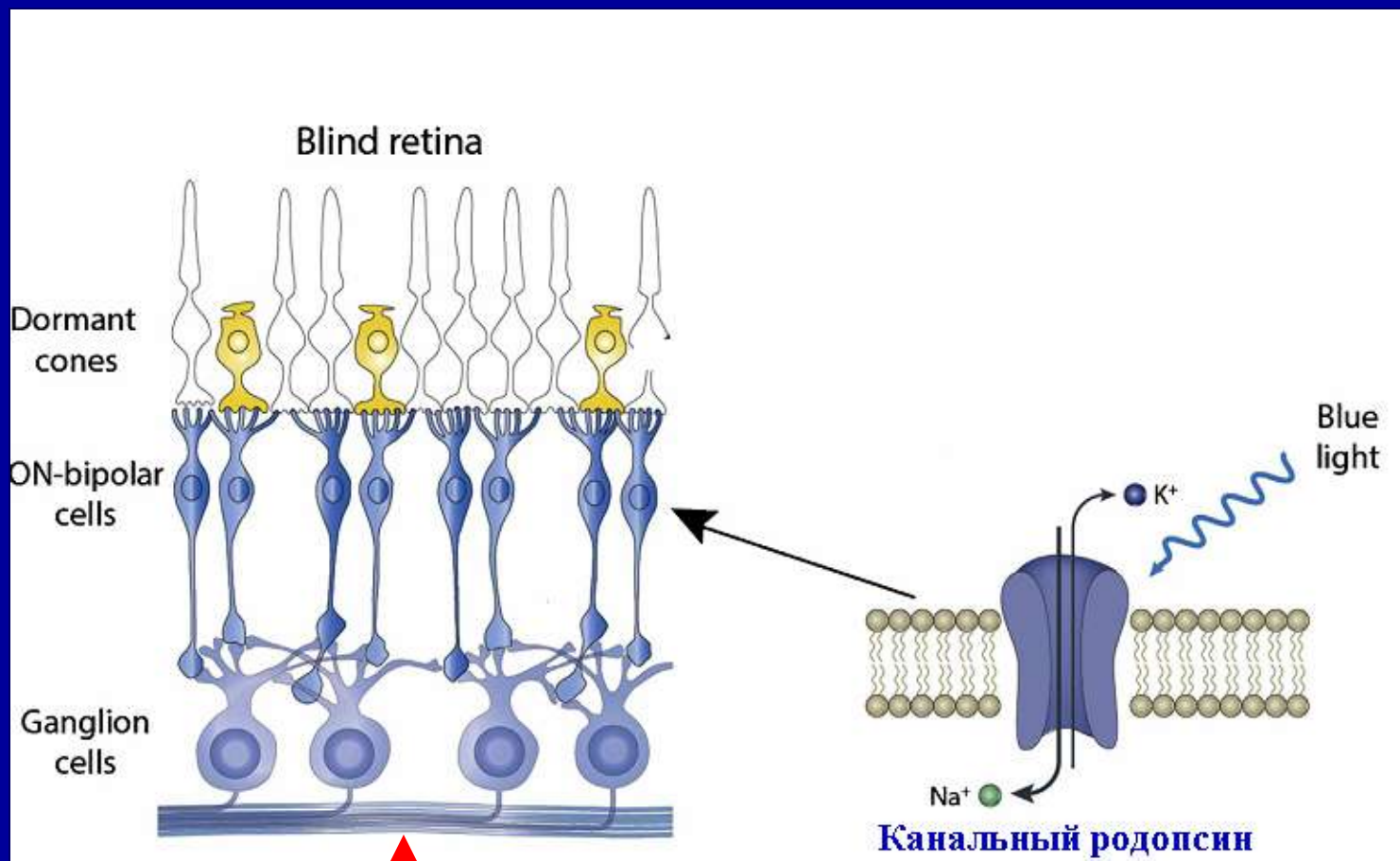
Подавление импульсной активности
(Off-ответ) ганглиозной клетке при действии
оранжевого света (галородопсин)

Галородопсин
Off-ответ



оранжевый свет

Оптогенетическое протезирование ON-биполярных клеток дегенеративной сетчатки мыши (пигментный ретинит) (Mace et al., 2014)

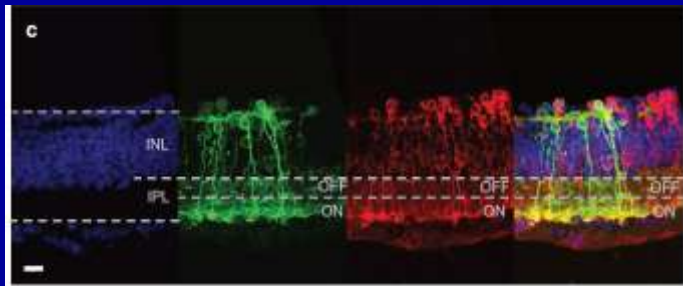


Инъекция в стекловидное тело

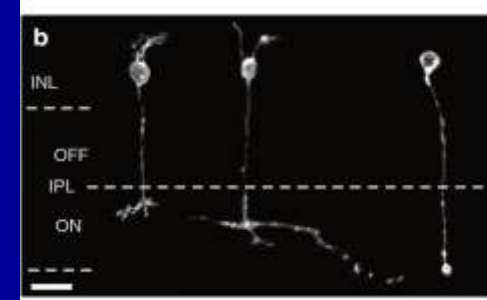
Оптогенетическое протезирование ON-биполярных клеток.

Восстановление зрительных функций (Mace et al., 2014)

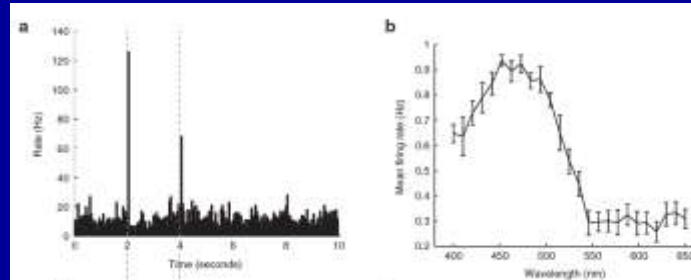
Меченые ON-биполярные клетки,
в которых экспрессирован канальный родопсин



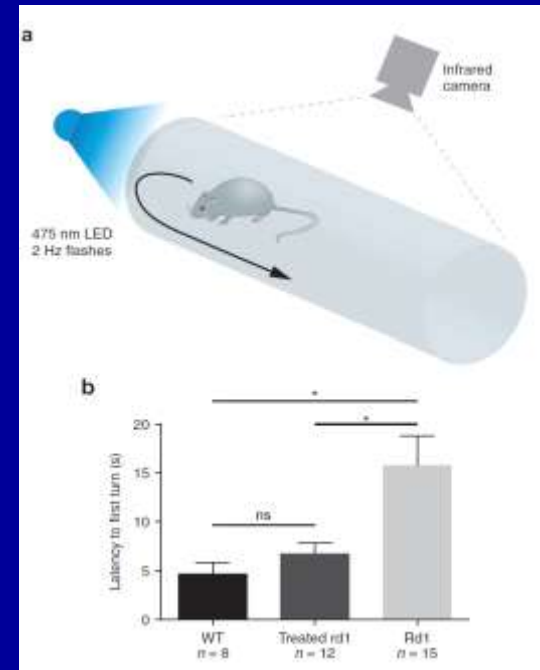
Три ON-биполярные клетки разных подтипов,
в которых экспрессирован канальный родопсин



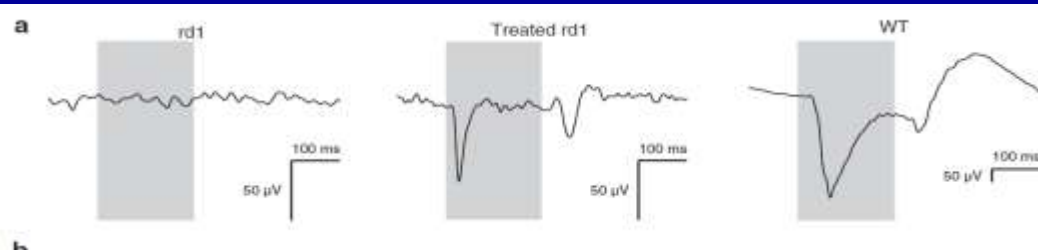
Восстановление ON и OFF импульсных
ответов ганглиозных клеток



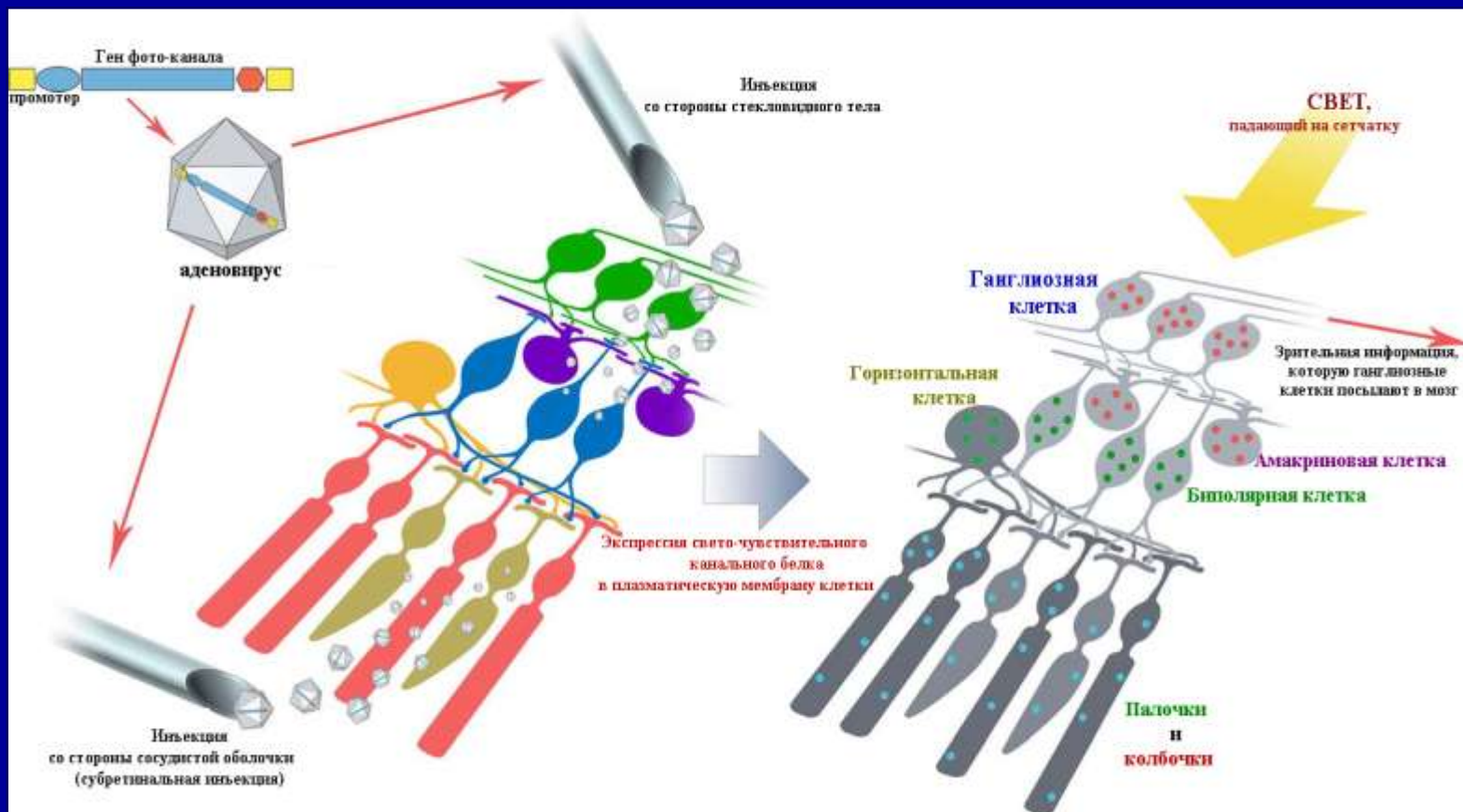
Восстановление зрительного поведения
(реакция избегания на свет)



Восстановление ON и OFF ответов зрительной коры
(вызванные светом потенциалы)



Оптогенетическое протезирование дегенеративной сетчатки – «горячая точка» современной генной инженерии, молекулярной физиологии зрения и офтальмологии



Конец цикла лекций и спасибо за внимание !

