
**ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ**

**НЕЙРОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИССЛЕДОВАНИЯ
МЕХАНИЗМОВ ХРАНЕНИЯ ПАМЯТИ**

© 2019 г. П. М. Балабан¹*, А. А. Бородинова¹

¹*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

**E-mail: pmbalaban@gmail.com*

Поступила в редакцию 03.07.2019 г.

После доработки 12.07.2019 г.

Принята к публикации 12.07.2019 г.

Статья посвящена анализу возможных подходов к исследованию механизмов хранения памяти на уровне долговременных перестроек уровня экспрессии генов, специфически вовлеченных в формирование и хранение памяти. В настоящее время известно всего несколько генов кандидатов хранения памяти. Разработки последних двух–трех лет с использованием генетических конструкций, направленно меняющих работу некоторых генов, демонстрируют возможность управления работой нервной сети в физиологических и патологических условиях. Комплексные локус-специфические перестройки хроматина в регуляторных областях генов пластичности в ответ на различные внешние стимулы (обучение), в конечном итоге, могут предопределять длительные изменения экспрессии этих генов и, возможно, представляют собой один из путей регуляции материальных субстратов памяти. Тонкая модуляция работы генома при формировании памяти достигается, в том числе, посредством локус-специфических изменений эпигенома (посттрансляционные модификации гистонов и метилирование ДНК). Дальнейшая разработка подходов для селективной эпигенетической регуляции работы некоторых генов пластичности (редактирование эпигенома) может представлять большой интерес для исследования физиологических функций в нервной системе и коррекции поведенческих реакций, памяти и различных патологических состояний.

Ключевые слова: нейрон, память, синаптическая пластичность, эпигенетика, экспрессия генов, редактирование эпигенома

DOI: 10.1134/S0869813919110025

Одной из основных задач современной нейробиологии является изучение механизмов, лежащих в основе долговременного хранения информации клетками нервной системы. Несмотря на имеющиеся в изобилии данные литературы о вовлеченности самых разных молекулярных систем и сопряженных с ними сигнальных каскадов в формирование памятного следа, их участие в хранении памяти ставится под сомнение на основании того факта, что блокада этих молекулярных систем вызывает неспецифические для памяти изменения в работе нервной системы. При блокаде большинства изученных молекулярных каскадов кроме нарушений памяти всегда есть и другие изменения функционирования нервных клеток. До настоящего времени единое мнение о **ключевом** специфическом механизме, обеспечивающем длительное поддержание памяти, отсутствует, и в качестве основы хранения памяти в мозге рассматриваются долговременные изменения активности киназ, повышение

уровня и изменение субъединичного состава рецепторов в синаптических мембранах, локальное действие прионоподобных белков, эпигенетические изменения хроматина или же сочетание этих факторов.

СИНАПТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ VERSUS ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ – ЕСТЬ ЛИ ПРОТИВОРЕЧИЕ?

На протяжении долгих лет считалось и считается до сих пор, что кодирование информации в нейронных сетях и формирование долговременной памяти происходит на уровне синаптических контактов. Однако в последние годы появляются данные, противоречащие этой точке зрения. S. Chen с соавт. [1] экспериментально удалось показать, что при формировании долговременных изменений между двумя нейронами в культуре главным показателем модификации пластичности является эффективность связи между нейронами (амплитуда ВПСП), а какие именно синапсы из имеющихся между этими нейронами (существовавшие до внешнего потенцирующего воздействия или вновь образованные после этого воздействия) будут участвовать в поддержании модифицированной эффективности синаптической связи, не имеет значения. Фактически в этом простом эксперименте продемонстрировано, что конкретный одиночный синапс (бутон) не является ключевым в изменении эффективности связи между нейронами в сети при пластических изменениях, что позволяет предположить наличие возможности **общей регуляции из тела (ядра) клетки сразу всех синапсов** при пластических модификациях в нервной сети. Такое рассмотрение места нейрона в сети не отрицает возможности локальных синаптических долговременных изменений, убедительно показанных на примере “соревнования синапсов”, когда значительные изменения в нескольких синапсах вызывают достоверные изменения в соседних синапсах, но с другим знаком, отражая некое гомеостатическое равновесие [2].

Достаточно “туманный”, вызывавший в 70-е годы жаркие дискуссии, феномен – перенос навыков от обученных животных необученным с помощью так называемых “факторов переноса”, был заново продемонстрирован совсем недавно на морском брюхоногом моллюске *Aplysia californica* [3]. В этом эксперименте гемолимфа обученного животного, очищенная от белковой фракции (целью экспериментаторов были микроРНК – эпигенетические факторы), была инъецирована необученным животным, которые после этого при анализе поведения оказались “обученными”. Более того, в этой работе показана возможность изменения эффективности синаптических связей между идентифицированными нейронами *in vitro* при внесении в среду фракции гемолимфы, причем наблюдаемые изменения сходны с наблюдаемыми при выработке долговременной пластичности. Из этих работ напрашиваются выводы о том, что когда память формируется, происходит изменение активности определенных генов и именно из генома отправляются управляющие сигналы на периферию к синапсам. А результатом этих процессов являются структурные изменения синаптических контактов между нейронами, участвовавшими в обучении, причем неравнозначность синапсов, в зависимости от их предистории (метапластичность) сохраняется [3, 4]. В самых последних работах показана возможность влияния микроРНК на эпигенетический статус следующих поколений, отражающийся в поведении *Caenorhabditis elegans* [5]. Безусловно, это является особенностью развития организмов, живущих около 3 недель, но, вне всяких сомнений, говорит о возможности влияния эпигенетических регуляторов на работу нервной системы в процессе обучения. Запуск адаптационных изменений (пластичности) в нервной системе у этого животного происходит с участием сенсорных нейронов, равно как и запуск защитной системной стрессорной реакции, приводящей к эпигенетическим изменениям [6, 7].

Перед нейробиологами стоит довольно важный вопрос о специфичности изменений работы генов, происходящих в нейронах и опосредующих функциональную реорганизацию определенной сети нейронов животного в поведенческих парадигмах. Не совсем понятно, каким образом в сети нейронов в ответ на строго определенный набор внешних стимулов одновременно происходит активация некоторых генов пластичности и подавление отдельных генов-репрессоров памяти [8]. Некое преимущество в этом смысле дает понимание тонких механизмов эпигенетической регуляции транскрипции различных генов. Особенностью эпигенетических изменений является кажущееся необходимым изменение экспрессии для всех генов (неспецифическое ингибирование гистондеацетилаз, например) и во всех компартаментах нейрона одновременно, с одинаковой эффективностью. На самом деле это совсем не так. Для многих эпигенетических регуляторов, в том числе для бутирата натрия, установлено, что они влияют не более, чем на 2% всех генов, которые иногда даже называют генами пластичности [9]. Именно эти гены пластичности и являются объектом для физиологического исследования, а поиск специфических механизмов тонкой эпигенетической регуляции работы этих генов представляет самую актуальную задачу нейробиологии.

Исследования эпигенетических изменений, связанных с процессом памяти, все еще находятся на ранней стадии. Ранее эпигенетические модификации рассматривались в основном в аспекте развития и дифференциации [10]. Позднее было показано, что во взрослой нервной системе эти же механизмы вовлекаются в процессы формирования и поддержания долговременной памяти [11–13]. Система эпигенетического контроля экспрессии генов пластичности представляет собой довольно сложную комбинацию временных посттрансляционных модификаций гистонов (ацетилирование, метилирование и т.д.), сочетание которых может предопределять изменение профиля метилирования ДНК, и соответственно обеспечивать долговременную локус-специфичную модуляцию работы некоторых генов пластичности.

Ацетилирование гистонов является одним из критических факторов в регуляции процессов синаптической пластичности и памяти [12, 13]. Определенный уровень ацетилирования гистонов в клетке поддерживается благодаря работе двух групп ферментов с низкой селективностью в отношении мишеней – гистондеацетилаз (HDAC) и гистонацетилтрансфераз (НАТ). Изменение ацетилирования гистонов напрямую влияет на степень доступности ДНК для разных транскрипционных факторов и может коррелировать с уровнем транскрипции некоторых генов. Было неоднократно показано, что в норме процесс обучения сопровождается локальными и специфичными перестройками хроматина в различных областях мозга [14–17]. Применение различных неселективных ингибиторов HDAC сдвигает существующий баланс в сторону увеличения ацетилирования гистонов и приводит к улучшению обучаемости животных [14, 18–21]. Напротив, снижение ацетилирования гистонов, похоже, приводит к ухудшению долговременной памяти или ее угашению [22–24].

Одним из факторов, влияющих на структуру хроматина в определенных локусах, является уровень метилирования гистонов, который зависит от работы различных, довольно избирательных по своему действию представителей гистонметилтрансфераз (HMT) и гистондеметилаз (HDM). Изменение количества незаряженных метильных групп на гистонах не способно вызывать конформационные изменения хроматина напрямую, как это происходит при добавлении больших отрицательно заряженных ацетильных групп. Однако метилирование гистонов создает условия для рекрутирования различных метил-связывающих белков, участвующих в реорганизации хроматина [25]. Взаимодействие метил-связывающих регуляторных белков с участками хроматина довольно избирательно и зависит от положения и количества метильных меток, поэтому сайт-специфичное метилирование гистонов

может быть сопряжено как с репрессией, так и активацией транскрипции [11, 13]. Было убедительно показано, что различные поведенческие парадигмы сопровождаются динамическими изменениями метилирования гистонов в различных областях мозга [11, 13, 15, 26, 27]. В нескольких работах было показано, что блокирование НМТ приводит к улучшению обучаемости животных [26–28]. Напротив, подавление активности НДМ сопряжено с нарушениями памяти [29, 30].

В физиологических условиях изменения статуса ацетилирования и метилирования гистонов происходят параллельно и могут быть функционально взаимосвязаны. При обучении различные посттрансляционные модификации гистонов могут быть вовлечены в реорганизацию хроматина, фактически создавая основу для долговременных локус-специфических изменений статуса метилирования ДНК. В некоторых работах было описано, что присутствие определенных меток метилирования гистонов может быть сопряжено с характером метилирования ДНК в этих участках, и даже наоборот, характер метилирования ДНК влияет на уровень ацетилирования и метилирования гистонов в соответствующих регионах [13, 31]. Таким образом, комплексные локус-специфические перестройки хроматина в регуляторных областях генов пластичности в ответ на различные внешние стимулы (обучение), в конечном итоге, могут предопределять длительные изменения экспрессии этих генов и, возможно, представляют собой один из путей регуляции материальных субстратов памяти.

ГЕНЫ ПЛАСТИЧНОСТИ – МИШЕНИ ДЛЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Выяснение молекулярных механизмов памяти остается одним из главных вопросов современной нейробиологии. Формирование долговременной памяти подразумевает целый комплекс молекулярных событий в строго определенных компартментах нервной сети и нервной клетки. Имеющиеся в литературе данные позволяют считать, что формирование и хранение памяти проходит несколько стадий на молекулярном, клеточном и системном уровнях. После приобретения опыта и адаптации организма к новым условиям в течение десятков минут (кратковременная память), новые ассоциации и опыт могут быть зафиксированы в форме долговременной памяти с помощью механизма консолидации памяти [4]. В разные годы ключевую роль в механизмах формирования и хранения памяти приписывали различным белковым молекулам – регуляторам синаптической пластичности, таким как протеинкиназа А, CREB, САМКИ, MAPK, BDNF и некоторые другие [32, 33]. При исследовании механизмов памяти большое внимание уделялось изучению представителей семейства немедленных ранних генов, многие из которых выполняют функцию транскрипционных факторов [33]. Одно время интерес исследователей был прикован к некоторым фосфатазам, как негативным регуляторам памяти [34–36]. В 2000-х годах были описаны представители семейства атипичных протеинкиназ С (аPKC), которые играют важнейшую роль в долговременных пластических изменениях в нервной системе [32, 37–40]. Оказалось, что аPKC довольно селективны, поскольку подавление их активности в определенной структуре мозга избирательно нарушало тот памятный след, формирование которого в норме происходит с участием именно этой области мозга [41–43]. При этом стирание памятного следа не сопровождалось нарушениями других процессов жизнедеятельности, и, более того, никак не влияло на формирование нового памятного следа или повторную выработку той же самой памяти [44, 45]. Кроме того, вновь сформированный памятный след можно было повторно стереть с помощью блокатора аPKC [46]. Полученные данные обусловили большой интерес исследователей к атипичным протеинкиназам С, в частности, протеинкиназе С λ (PKC λ), вовлеченной в форми-

рование кратковременной (ранней) памяти, и, в особенности, к нейрон-специфичной протеинкиназе М ζ (РКМ ζ) которая обеспечивает формирование и хранение долговременной памяти [38, 47–50]. На сегодняшний день РКМ ζ является единственной молекулой, необходимость и достаточность активности которой для поддержания долговременных пластических изменений в мозге подтверждена экспериментально.

Безусловно, упомянутые выше белковые регуляторы в большей или меньшей степени необходимы для модуляции эффективности связей нейронов и реализации процесса обучения. Однако короткая продолжительность жизни любой белковой молекулы ставит под сомнение факт ее участия в длительном хранении информации. По всей видимости, хранение памятного следа сопряжено с продолжительным изменением работы некоторых генов, кодирующих белки пластичности. Изменение профиля экспрессии генов может контролироваться эпигенетически посредством перестроек хроматина (посттрансляционные модификации гистонов) и метилирования ДНК [11–13]. В какой-то мере, эпигенетические изменения являются интерфейсом между синаптической активностью нейронов и геномом, реагируя на функциональную активность нервной системы и изменяя работу генома путем регуляции экспрессии. Однако при всей очевидности роли эпигенетических факторов в регуляции памяти, описание специфических генов-мишеней и молекулярных механизмов их эпигенетического контроля очень разрозненно и не позволяет выстроить целостную картину. По имеющимся данным мишенями для эпигенетической регуляции могут служить некоторые ранние гены (*Fos*, *Egr1*), поздние гены *Bdnf* и *Reln*, продукты которых участвуют в регуляции синаптической пластичности [8, 26, 27, 51]. Особый интерес могут представлять гены атипичных протеинкиназ (*Prkcz*, *Prkci*) и фосфатаз (*Ppp1*, *Ppp3*), поскольку кодируемые ими белки являются одними из ключевых регуляторов пластичности и памяти [34–36, 44, 45, 50, 52]. В литературе существуют разрозненные данные о регуляции транскрипции аРКС [43]. В одной из последних работ нам удалось обнаружить, что гены, кодирующие атипичные протеинкиназы, являются потенциальными молекулярными мишенями для эпигенетической регуляции [53].

Продолжение исследования возможных молекулярных мишеней, избирательно вовлеченных в формирование и хранение специфичного памятного следа, а также поиск новых подходов для специфичного управления активностью этих молекулярных мишеней представляются перспективным направлением современной нейробиологии. Полученные данные помогут расширить наши представления о базовых физиологических механизмах обучения и памяти, а также найти решения для коррекции некоторых патологий.

СОВРЕМЕННЫЕ НЕЙРОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ УПРАВЛЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Таргетная регуляция транскрипционной активности генов

Активация клеток *in vitro* и различные физиологические нагрузки *in vivo* (обучение, визуальные стимулы) могут запускать различные транскрипционные программы как часть адаптивного ответа на внешние стимулы [54–56]. В ответ на стимулы разной длительности (нерелевантные или релевантные) в клетке могут быть запущены одна (немедленные ранние гены) или несколько волн транскрипции (гены раннего и позднего ответа), отличающихся по временной динамике [57]. Таким образом, динамические изменения экспрессии генов могут быть одним из ключевых факторов для коррекции поведенческих реакций, памяти и различных патологических состояний.

В последние годы в биологии на основе системы редактирования генома CRISPR был разработан достаточно специфичный способ управления активностью строго определенных генов. Метод заключается в направленном изменении транскрипционной активности генов-мишеней за счет высокоспецифичного таргетирования комплексов мутантного белка dCas9 (dead Cas9) с активаторными (VP64, VPR) или репрессорными белками (KRAB) в регуляторные области выбранных генов. В отличие от стандартного метода CRISPR-Cas9, позволяющего редактировать отдельные гены, система на основе CRISPR-dCas9 содержит каталитически неактивный белок (dead Cas9), неспособный разрезать ДНК, но достаточный для распознавания участков ДНК и связывания с ними в составе различных активаторных/репрессорных комплексов (рис. 1). Управление транскрипционной активностью генов напрямую с помощью системы CRISPR-dCas9, соединенной с транскрипционным активатором/репрессором (рис. 1А), начинают активно использовать в нейробиологических исследованиях. К примеру, оптимизация протокола активации некоторых генов пластичности с помощью системы dCas9-VPR позволила увеличивать экспрессию индивидуальных транскриптов мультипромоторного гена *Bdnf in vitro*, что сопровождалось модуляцией экспрессии некоторых других генов пластичности и функциональными перестройкам нейрональной сети [58]. Применение данной методики *in vivo* позволило управлять экспрессией генов пластичности в отдельных регионах мозга крыс и модулировать работу всей сети [58, 59]. Разработка комплексов dCas9-KRAB для репрессии целой группы генов, продукты которых обеспечивают эффективную секрецию нейромедиаторов, позволила модулировать эффективность синаптической передачи в популяциях глутаматергических и ГАМКергических нейронов гиппокампа [59]. Авторы показали, что dCas9-KRAB-опосредованное изменение баланса возбуждения/торможения в гиппокампе мышей может влиять на их способность к обучению и на формирование у животных пространственной и контекстной памяти.

Таргетирование конструкций с dCas9 может быть применено для исследования и коррекции нейropsychиатрических расстройств (шизофрения) и некоторых патологий (синдром ломкой X хромосомы, FXS (Fragile X Mental Retardation)). Первые результаты на культурах эмбриональных стволовых клеток пациентов с FXS показали, что активность гена *FMR1*, экспрессия которого нарушена при данной патологии, может быть восстановлена с помощью системы dCas9-VP192 [60]. Надо заметить, что изменение активности гена *FMR1* не сопровождалось увеличением количества белковых продуктов этого гена, что требует комплексного рассмотрения проблемы. В одной из работ была показана возможность использования комплексов dCas9 с VP64, VPR или KRAB для модуляции эндогенной экспрессии некоторых потенциальных генов из группы риска развития шизофрении [61]. Стоит заметить, что авторы наблюдали большую вариабельность эффектов, а в некоторых случаях и отсутствие эффектов, в клеточных линиях от разных пациентов и при использовании разных направляющих/гидовых РНК (guide RNA) [61]. Вариабельность эффектов при использовании комплексов dCas9 с VP64 была описана в работе V. Baumann и соавторов при попытке модулировать экспрессию гена *Sox1*, одного из важнейших факторов нейрональной дифференцировки [62]. Оказалось, что эффективность применяемых dCas9-VP64 конструкций низка в клетках с высоким уровнем метилирования ДНК в регуляторных областях *Sox1*. Однако направленное изменение архитектуры хроматина с помощью белков p300 и Tet1 (ацетилирование гистонов и деметилирование ДНК соответственно) позволяет преодолеть барьер активации *Sox1* и запускает перепрограммирование клеток по нейрональному пути [62].

Таким образом, выбор стратегии регуляции транскрипционной активности отдельных генов напрямую (рис. 1А) зависит от архитектуры хроматина в целевой области гена, поскольку присутствие репрессорных меток существенно ограничивает

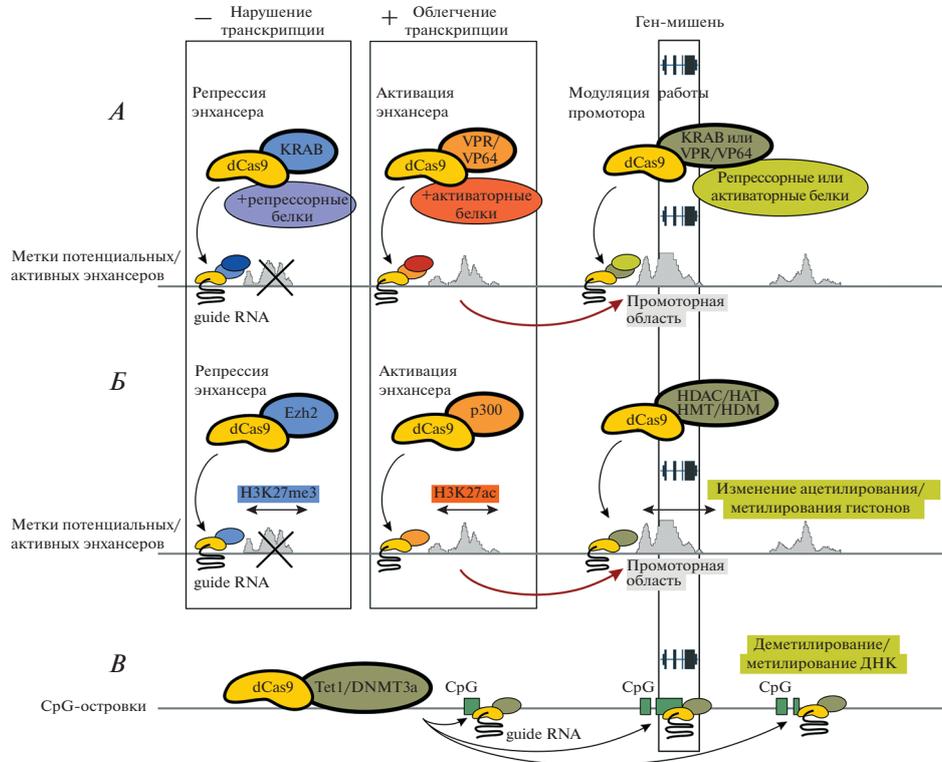


Рис. 1. Способы регуляции транскрипционной активности генов с помощью генетических конструкций. Схематическое изображение целевого гена с участками потенциальных/активных энхансеров и активной промоторной областью. *А.* Таргетирование комплексов мутантного белка dCas9 (dead Cas9) с репрессорными (KRAB) или активаторными (VP64, VPR) элементами в регуляторные области целевых генов (энхансеры, промоторы). Связывание dCas9-KRAB (слева) или dCas9-VP64/VPR (в середине) с **энхансерными** областями может привлекать дополнительные активаторные или репрессорные белки, которые определяют уровень активности энхансера. Выключение энхансера может привести к нарушению/подавлению транскрипции гена, тогда как активация энхансера может приводить к запуску/увеличению транскрипции гена. Связывание dCas9-KRAB или dCas9-VP64/VPR с **промоторными** участками гена (справа) также может привлекать дополнительные репрессорные или активаторные белки и напрямую влиять на транскрипционную активность гена. *Б.* Таргетирование комплексов dCas9 с ферментами-модуляторами архитектуры хроматина. Комплексы dCas9 с гистонметилтрансферазами (HMT, например Ezh2) или гистондеацетилазами (HDAC) могут связываться с **энхансерными** участками (слева), вызывать локальные модификации хроматина, переводя энхансер в неактивное состояние. Напротив, комплексы dCas9 с гистонацетилазами (HAT, например, p300) (в середине), вызывают локальное ацетилирование гистонов и могут приводить к активации энхансера и, возможно, активации транскрипции гена. Связывание комплексов dCas9 с HAT/HDAC или HMT/HDM (гистондеметилазами) с **промотором** целевого гена (справа) приводит к локальным изменениям уровня ацетилирования или метилирования гистонов, соответственно, и может повлиять на транскрипционную активность гена. *В.* Таргетирование комплексов dCas9 с ферментами-модуляторами структуры ДНК (ДНК-метилтрансферазы, например DNMT3a; ДНК-деметилазы, например Tet1) в регуляторные GC-богатые области влияет на уровень метилирования ДНК и надолго изменяет экспрессию целевых генов.

эффективность проводимых манипуляций. Поэтому все большей популярностью пользуются другие, более тонкие способы управления активностью генов, в частности точечное редактирование эпигенома в регуляторных областях генов-мишеней.

Регуляция транскрипционной активности генов посредством редактирования эпигенома

Изменения, происходящие на молекулярном уровне, тесно сопряжены с эпигенетическими перестройками хроматина. Было показано, что динамические изменения представленности определенных модификаций гистонов зависят от характеристик (силы и длительности) приходящих стимулов [15, 26, 63]. Модуляция эпигенетического статуса с помощью селективных блокаторов тех или иных эпигенетических регуляторов может приводить к изменению реакции на подпороговые стимулы и появлению нормального физиологического ответа [19, 23, 64]. В ранних работах было хорошо изучено, что искусственное изменение работы различных эпигенетических регуляторов способно повлиять на динамику активности различных генов пластичности и характер поведенческого ответа на определенные стимулы [11–13].

До недавнего времени единственным способом управления состоянием эпигенома было использование трансгенных животных, применение ингибиторов различных эпигенетических агентов либо изменение их активности с помощью генетических конструкций (РНК-интерференция, оверэкспрессия). Минусом таких манипуляций являлось вмешательство в базовые физиологические процессы, не всегда специфичные для обучения и памяти, а также достаточно низкая селективность по отношению к определенным, вполне конкретным генам-мишеням. Стоит заметить, что применение данных методик может затруднять сопоставление последствий активации/репрессии генов в покое и при физиологических нагрузках и интерпретировать полученные результаты с позиции нормальной физиологии клетки.

Однако существуют гораздо более тонкие системы управления транскрипцией, позволяющие редактировать эпигеном в регуляторных областях целевых генов с помощью той же системы CRISPR-dCas9, но ассоциированной с важнейшими эпигенетическими регуляторами (HDAC, HAT, HMT, HDM) (рис. 1Б). Использование систем dCas9 в комбинации с гистонацетилтрансферазами (HAT) или гистонметилтрансферазами (HMT) представляет большой интерес при изучении роли энхансеров (удаленных регуляторных элементов) в тонкой модуляции работы генов [65, 66]. Существенным отличием такой системы является специфичность, поскольку модуляция эпигенетического ландшафта в рамках какого-то определенного гена не обязательно гарантирует изменение его активности, однако может повышать/снижать вероятность транскрипции при определенных физиологических нагрузках [66, 67]. К примеру, было показано, что экспрессия *Fos*, одного из генов пластичности, в ответ на различные стимулы (апликация *Vdnf*, химическая активация клеток с помощью KCl) возможна благодаря избирательной стимул-специфичной активации разных энхансеров и в разных комбинациях [66]. Направленное подавление активности какого-либо конкретного энхансера с помощью систем dCas9-KRAB или dCas9-HDAC8 препятствует стимул-специфичной индукции транскрипции *Fos* [66, 67]. С другой стороны, аккумулярование дополнительных активных меток H3K27ac в энхансерных областях *Fos* с помощью комплекса dCas9-p300 увеличивает продолжительность экспрессии гена в ответ на стимуляцию, что, в конечном итоге, выражается в изменении некоторых мембранных характеристик нейронов [67]. Управление работой энхансеров активно разрабатывается и на *in vivo* уровне. Таргетирование комплексов dCas9-HDAC8 в энхансеры гена *Fos* и локальное деацетилирование гистонов нарушало индукцию транскрипции *Fos* в гиппокампе в ответ на сенсорные стимулы [67]. На модели эмбрионов рыбы *Oryzias latipes* был применен подход таргетного редактирования эпигенома с помощью dCas9-Ezh2 и увеличения количества репрессорных меток H3K27me3 в регуляторных (энхансерных) участках генов *in vivo* [68], что может быть использовано для избирательного выключения отдельных энхансеров и исследования их роли в различных клеточ-

ных процессах. Стоит обратить особое внимание на работу, в которой на не-нейрональных клетках показали преимущества метода редактирования эпигенома (с помощью dCas9-p300) для перепрограммирования удаленных участков генома, не несущих специальных функций, в функционально активные энхансер-подобные элементы, взаимодействующие с промоторной областью генов и контролируемые их экспрессию *in vitro* [69].

Таким образом, изменение архитектуры хроматина может не только влиять на кинетику транскрипции генов, связанных с пластичностью, но и создавать новые регуляторные элементы в геноме, что и открывает интересные возможности для исследования механизмов базовых физиологических процессов и развития некоторых патологий.

*Долговременный контроль экспрессии генов.
Редактирование профиля метилирования ДНК*

Точечное редактирование эпигенома с помощью белка dCas9, ассоциированного с различными эпигенетическими модуляторами, может носить временный характер и через некоторое время система контроля транскрипции возвращается к базовому состоянию. При этом в физиологических условиях перестройки хроматина могут быть долговременными и опосредовать продолжительную репрессию/активацию некоторых генов. В качестве одного из подходов для устойчивого, долговременного контроля активности генов можно рассмотреть редактирование эпигенома посредством метилирования/деметиления ДНК (рис. 1B). В одной из последних работ удалось показать, что одновременное избирательное метилирование гистонов (H3K27me3 с помощью dCas9-Ezh2) и ДНК (с помощью dCas9-DNMT3a) в линиях клеток позволяет запрограммировать систему на длительное, локус-специфичное подавление активности отдельных генов, что представляет, своего рода, эпигенетическую память клетки [70]. Направленное метилирование ДНК может быть использовано для коррекции патологий путем подавления активности отдельных генов, вовлеченных в патогенез различных заболеваний. Так, например, ген *SNCA*, кодирующий альфа-синуклеин, считается одним из генетических факторов риска для развития болезни Паркинсона и в норме имеет высокий уровень метилирования. Было показано, что направленное метилирование *SNCA* с помощью dCas9-DNMT3a в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (iPSC, induced pluripotent stem cells) пациентов с болезнью Паркинсона “выключает” нежелательный ген и восстанавливает нормальный фенотип развивающихся из iPSC нейронов [71].

Избирательное деметилирование ДНК (гидроксиметилирование) с помощью системы dCas9-Tet1 позволяет добиться обратного, продолжительного увеличения активности отдельных генов (*FMRI*, *Dchs1*), необходимых для развития и нормальной работы мозга [72, 73]. Было показано, что активное деметилирование ДНК играет роль в регуляции экспрессии нейрональных генов и установлении нейронального фенотипа в мозге мышей в ходе кортикогенеза [73]. Использование системы dCas9-Tet1 для локус-специфичного гидроксиметилирования регуляторной области гена *Dchs1*, вовлеченного в регуляцию развития мозга, было достаточным для модуляции активности этого гена и влияния на миграцию нейронов и формирование кортикальных отделов мозга мышей [73]. Известно, что при патологических состояниях, таких как синдром ломкой X хромосомы (FXS), происходит смещение баланса в сторону метилирования ДНК в регуляторных областях некоторых генов, что приводит к снижению их экспрессии [72]. Однако редактирование эпигенома в регуляторных областях искомым генов (*FMRI*) с помощью системы dCas9-Tet1 позволяет восстановить нор-

мальную активность искомым генов в iPSC клетках пациентов и восстанавливает нормальный фенотип нейронов, развивающихся из этих iPSC клеток [72].

Таким образом, системы для устойчивого редактирования эпигенома имеют большой потенциал в рамках исследования развития мозга и разработки подходов для коррекции патологических состояний.

Современные подходы регуляции транскрипции генов с привлечением оптогенетики

Сочетание методов оптогенетики с системой CRISPR-dCas9 для малоинвазивного точечного редактирования эпигенома имеет большой потенциал в нейробиологических и медицинских исследованиях. Идея оптогенетического контроля транскрипции была реализована посредством создания белков dCas9 со встроенным светочувствительным доменом, реагирующим на свет определенного спектра (синий свет) [74]. Однако, полученные конструкции показали ряд недостатков, таких как высокая токсичность и небольшая рабочая область (вследствие ограничения зоны распространения света). Сравнительно недавно был сконструирован принципиально новый белок dCas9, соединенный с бактериальным фитохромом с функцией активации в дальнем красном свете, позволяющий эффективно стимулировать транскрипционную активность генов-мишеней с помощью оптогенетических методов [75]. Первые данные с использованием различных фотоактивируемых элементов оказались весьма интересными и показали, что светочувствительные конструкции CRISPR-dCas9 (в синем и дальнем красном свете) позволяют одновременно стимулировать экспрессию нескольких заданных генов и оптогенетически контролировать нейрональную дифференцировку iPSC клеток мыши [74, 75]. Кроме того, в одной из работ авторы продемонстрировали возможности использования данных конструкций *in vivo*, в частности, для фотоактивации генов, необходимых для регенерации мышц при мышечной дистрофии и миопатиях [75].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре были приведены некоторые аргументы в пользу пересмотра устоявшегося мнения об исключительно синаптической природе механизмов хранения памяти. Экспериментальные данные последних лет подчеркивают важность процессов, протекающих в ядре клетки, для реорганизации нейрональной сети и развития адекватного поведенческого ответа на внешние стимулы. Обучение сопровождается градуальным, стимул-специфичным изменением активности определенных генов-регуляторов памяти в определенных регионах мозга, что может приводить к локальным изменениям функциональных синаптических характеристик нейронов и изменению роли отдельных нейронов в сети. Разработки последних двух–трех лет с использованием генетических конструкций, направленно меняющих работу некоторых генов, демонстрируют возможность управления работой нервной сети в физиологических и патологических условиях. Тонкая модуляция работы генома при реализации механизмов памяти достигается, в том числе, посредством локус-специфических изменений эпигенома (посттрансляционные модификации гистонов и метилирование ДНК). Дальнейшая разработка подходов для тонкой, селективной эпигенетической регуляции работы некоторых генов пластичности может представлять большой интерес для исследования физиологических функций в нервной системе и коррекции поведенческих реакций, памяти и различных патологических состояний.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФ № 19-75-10067.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Chen S., Cai D., Pearce K., Sun P.Y., Roberts A.C., Glanzman D.L.* Reinstatement of long-term memory following erasure of its behavioral and synaptic expression in *Aplysia*. *Elife*. 3: e03896. 2014.
2. *Triesch J., Vo A.D., Hafner A.S.* Competition for synaptic building blocks shapes synaptic plasticity. *Elife*. 7. pii: e37836. 2018.
3. *Bédécarrats A., Chen S., Pearce K., Cai D., Glanzman D.L.* RNA from trained *Aplysia* can induce an epigenetic engram for long-term sensitization in untrained *Aplysia*. *eNeuro*. 5(3). pii: ENEURO.0038-18.2018. 2018.
4. *McGaugh J.L.* Memory—a century of consolidation. *Science*. 287(5451): 248–251. 2000.
5. *Weiser N.E., Kim J.K.* Multigenerational regulation of the *Caenorhabditis elegans* chromatin landscape by germline small RNAs. *Annu. Rev. Genet.* Vol. 53: (Volume publication date November 2019) Review in Advance first posted online on May 31, 2019. 2019 <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043505>
6. *Eliezer Y., Deshe N., Hoch L., Iwanir S., Pritz C.O., Zaslaver A.* A Memory circuit for coping with impending adversity. *Curr. Biol.* 29(10): 1573–1583.e4. 2019.
7. *Katz M., Shaham S.* Learning and Memory: Mind over Matter in *C. elegans*. *Curr. Biol.* 29(10): R365–R367. 2019.
8. *Miller C.A., Sweatt J.D.* Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron*. 53(6):857–869. 2007.
9. *Van Lint C., Emiliani S., Verdin E.* The expression of a small fraction of cellular genes is changed in response to histone hyperacetylation. *Gene Expr.* 5(4–5): 245–253. 1996.
10. *Goodman R.H., Smolik S.* CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. *Genes Dev.* 14(13): 1553–1577. 2000.
11. *Jarome T.J., Lubin F.D.* Epigenetic mechanisms of memory formation and reconsolidation. *Neurobiol. Learn. Mem.* 115: 116–127. 2014.
12. *Penney J., Tsai L.H.* Histone deacetylases in memory and cognition. *Sci. Signal.* 7(355): re12. 2014.
13. *Kim S., Kaang B.K.* Epigenetic regulation and chromatin remodeling in learning and memory. *Exp. Mol. Med.* 49(1): e281. 2017.
14. *Levenson J.M., O’Riordan K.J., Brown K.D., Trinh M.A., Molfese D.L., Sweatt J.D.* Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *J. Biol. Chem.* 279(39): 40545–40559. 2004.
15. *Gräff J., Woldemichael B.T., Berchtold D., Dewarrat G., Mansuy I.M.* Dynamic histone marks in the hippocampus and cortex facilitate memory consolidation. *Nat. Commun.* 3: 991. 2012.
16. *Ranjan V., Singh S., Siddiqui S.A., Tripathi S., Khan M.Y., Prakash A.* Differential histone acetylation in sub-regions of bed nucleus of the stria terminalis underlies fear consolidation and extinction. *Psychiatry Investig.* 14(3): 350–359. 2017.
17. *Siddiqui S.A., Singh S., Ranjan V., Ugale R., Saha S., Prakash A.* Enhanced histone acetylation in the infralimbic prefrontal cortex is associated with fear extinction. *Cell Mol. Neurobiol.* 37(7): 1287–1301. 2017.
18. *Vecsey C.G., Hawk J.D., Lattal K.M., Stein J.M., Fabian S.A., Attner M.A., Cabrera S.M., McDonough C.B., Brindle P.K., Abel T., Wood M.A.* Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB:CBP-dependent transcriptional activation. *J. Neurosci.* 27(23): 6128–6140. 2007.
19. *Stefanko D.P., Barrett R.M., Ly A.R., Reolon G.K., Wood M.A.* Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106 (23): 9447–9452. 2009.
20. *Hawk J.D., Florian C., Abel T.* Post-training intrahippocampal inhibition of class I histone deacetylases enhances long-term object-location memory. *Learn Mem.* 18(6): 367–370. 2011.
21. *Villain H., Florian C., Roussel P.* HDAC inhibition promotes both initial consolidation and reconsolidation of spatial memory in mice. *Sci. Rep.* 6: 27015. 2016.
22. *Korzus E., Rosenfeld M.G., Mayford M.* CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron*. 42(6): 961–972. 2004.
23. *Guan J.S., Haggarty S.J., Giacometti E., Dannenberg J.H., Joseph N., Gao J., Nieland T.J., Zhou Y., Wang X., Mazitschek R., Bradner J.E., DePinho R.A., Jaenisch R., Tsai L.H.* HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*. 459 (7243): 55–60. 2009.
24. *Bahari-Javan S., Maddalena A., Kerimoglu C., Wittnam J., Held T., Bähr M., Burkhardt S., Delalle I., Kügler S., Fischer A., Sananbenesi F.* HDAC1 regulates fear extinction in mice. *J. Neurosci.* 32(15): 5062–5073. 2012.
25. *Bannister A.J., Kouzarides T.* Reversing histone methylation. *Nature*. 436(7054): 1103–1106. 2005.
26. *Gupta S., Kim S.Y., Artis S., Molfese D.L., Schumacher A., Sweatt J.D., Paylor R.E., Lubin F.D.* Histone methylation regulates memory formation. *J. Neurosci.* 30(10): 3589–3599. 2010.
27. *Gupta-Agarwal S., Franklin A.V., Deramus T., Wheelock M., Davis R.L., McMahon L.L., Lubin F.D.* G9a/GLP histone lysine dimethyltransferase complex activity in the hippocampus and the en-

- torhinal cortex is required for gene activation and silencing during memory consolidation. *J. Neurosci.* 32(16): 5440–5453. 2012.
28. *Snigdha S., Prieto G.A., Petrosyan A., Loertscher B.M., Dieskau A.P., Overman L.E., Cotman C.W.* H3K9me3 Inhibition Improves Memory, Promotes Spine Formation, and Increases BDNF Levels in the Aged Hippocampus. *J. Neurosci.* 36(12): 3611–3622. 2016.
 29. *Neelamegam R., Ricq E.L., Malvaez M., Patnaik D., Norton S., Carlin S.M., Hill I.T., Wood M.A., Haggarty S.J., Hooker J.M.* Brain-penetrant LSD1 inhibitors can block memory consolidation. *ACS Chem. Neurosci.* 3(2): 120–128. 2012.
 30. *Wang J., Telese F., Tan Y., Li W., Jin C., He X., Basnet H., Ma Q., Merkurjev D., Zhu X., Liu Z., Zhang J., Ohgi K., Taylor H., White R.R., Tazearslan C., Suh Y., Macfarlan T.S., Pfaff S.L., Rosenfeld M.G.* LSD1n is an H4K20 demethylase regulating memory formation via transcriptional elongation control. *Nat. Neurosci.* 18(9): 1256–1264. 2015.
 31. *Castillo-Aguilera O., Depreux P., Halby L., Arimondo P.B., Goossens L.* DNA Methylation Targeting: The DNMT/HMT Crosstalk Challenge. *Biomolecules.* 7(1). pii: E3. 2017.
 32. *Sacktor T.C.* Memory maintenance by PKM ζ —an evolutionary perspective. *Mol. Brain.* 5: 31. 2012.
 33. *Alberini C.M., Kandel E.R.* The regulation of transcription in memory consolidation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7(1): a021741. 2014.
 34. *Mansuy I.M., Winder D.G., Moallem T.M., Osman M., Mayford M., Hawkins R.D., Kandel E.R.* Inducible and reversible gene expression with the rtTA system for the study of memory. *Neuron.* 21(2): 257–265. 1998.
 35. *Winder D.G., Mansuy I.M., Osman M., Moallem T.M., Kandel E.R.* Genetic and pharmacological evidence for a novel, intermediate phase of long-term potentiation suppressed by calcineurin. *Cell.* 92(1): 25–37. 1998.
 36. *Genoux D., Haditsch U., Knobloch M., Michalon A., Storm D., Mansuy I.M.* Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory. *Nature.* 418(6901): 970–975. 2002.
 37. *Sacktor T.C.* How does PKM ζ maintain long-term memory? *Nat. Rev. Neurosci.* 12(1): 9–15. 2011.
 38. *Wang S., Sheng T., Ren S., Tian T., Lu W.* Distinct Roles of PKC δ / λ and PKM ζ in the Initiation and Maintenance of Hippocampal Long-Term Potentiation and Memory. *Cell Rep.* 16(7): 1954–1961. 2016.
 39. *Balaban P.M.* Molecular mechanisms of memory modification. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova.* 67(2): 131–140. 2017.
 40. *Borodinova A.A., Zuzina A.B., Balaban P.M.* Role of Atypical Protein Kinases in Maintenance of Long-Term Memory and Synaptic Plasticity. *Biochemistry (Mosc).* 82(3): 243–256. 2017.
 41. *Pastalkova E., Serrano P., Pinkhasova D., Wallace E., Fenton A.A., Sacktor T.C.* Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science.* 313(5790): 1141–1144. 2006.
 42. *Serrano P., Friedman E.L., Kenney J., Taubenfeld S.M., Zimmerman J.M., Hanna J., Alberini C., Kelley A.E., Maren S., Rudy J.W., Yin J.C., Sacktor T.C., Fenton A.A.* PKMzeta maintains spatial, instrumental, and classically conditioned long-term memories. *PLoS Biol.* 6(12): 2698–2706. 2008.
 43. *Chen C., Meng S.Q., Xue Y.X., Han Y., Sun C.Y., Deng J.H., Chen N., Bao Y.P., Zhang F.L., Cao L.L., Zhu W.G., Shi J., Song W.H., Lu L.* Epigenetic modification of PKM ζ rescues aging-related cognitive impairment. *Sci. Rep.* 6: 22096. 2016.
 44. *Shema R., Sacktor T.C., Dudai Y.* Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science.* 317(5840): 951–953. 2007.
 45. *Shema R., Hazvi S., Sacktor T.C., Dudai Y.* Boundary conditions for the maintenance of memory by PKMzeta in neocortex. *Learn Mem.* 16(2): 122–128. 2009.
 46. *Shema R., Haramati S., Ron S., Hazvi S., Chen A., Sacktor T.C., Dudai Y.* Enhancement of consolidated long-term memory by overexpression of protein kinase Mzeta in the neocortex. *Science.* 331(6021): 1207–1210. 2011.
 47. *Ling D.S., Bernardo L.S., Serrano P.A., Blace N., Kelly M.T., Crary J.F., Sacktor T.C.* Protein kinase Mzeta is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat. Neurosci.* 5(4): 295–296. 2002.
 48. *Hernandez A.I., Blace N., Crary J.F., Serrano P.A., Leitges M., Libien J.M., Weinstein G., Tcherapanov A., Sacktor T.C.* Protein kinase M zeta synthesis from a brain mRNA encoding an independent protein kinase C zeta catalytic domain. Implications for the molecular mechanism of memory. *J. Biol. Chem.* 278(41): 40305–40316. 2003.
 49. *Serrano P., Yao Y., Sacktor T.C.* Persistent phosphorylation by protein kinase Mzeta maintains late-phase long-term potentiation. *J. Neurosci.* 25 (8):1979–1984. 2005.
 50. *Tsokas P., Hsieh C., Yao Y., Lesburguères E., Wallace E.J.C., Tcherapanov A., Jothianandan D., Hartley B.R., Pan L., Rivard B., Farese R.V., Sajan M.P., Bergold P.J., Hernández A.I., Cottrell J.E., Shouval H.Z., Fenton A.A., Sacktor T.C.* Compensation for PKM ζ in long-term potentiation and spatial long-term memory in mutant mice. *Elife.* 5. pii: e14846. 2016.
 51. *Borodinova A.A., Salozhin S.V.* Diversity of proBDNF and mBDNF functions in the central nervous system. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I.P. Pavlova.* 66(1): 3–23. 2016.

52. *Koshibu K., Gräff J., Mansuy I.M.* Nuclear protein phosphatase-1: An epigenetic regulator of fear memory and amygdala long-term potentiation. *Neuroscience*. 173: 30–6. 2011.
53. *Borodinova A.A., Kuznetsova M.A., Alekseeva V.S., Balaban P.M.* Histone acetylation determines transcription of atypical protein kinases in rat neurons. *Sci. Rep.* 9(1): 4332. 2019.
54. *Nguyen P.V., Abel T., Kandel E.R.* Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science*. 265(5175): 1104–1107. 1994.
55. *Igaz L.M., Vianna M.R., Medina J.H., Izquierdo I.* Two time periods of hippocampal mRNA synthesis are required for memory consolidation of fear-motivated learning. *J. Neurosci.* 22(15): 6781–6789. 2002.
56. *Lefer D., Perisse E., Hourcade B., Sandoz J., Devaud J.M.* Two waves of transcription are required for long-term memory in the honeybee. *Learn Mem.* 20(1): 29–33. 2012.
57. *Tyssowski K.M., DeStefino N.R., Cho J.H., Dunn C.J., Poston R.G., Carty C.E., Jones R.D., Chang S.M., Romeo P., Wurzelmann M.K., Ward J.M., Andermann M.L., Saha R.N., Dudek S.M., Gray J.M.* Different Neuronal Activity Patterns Induce Different Gene Expression Programs. *Neuron*. 98(3): 530–546.e11. 2018.
58. *Savell K.E., Bach S.V., Zipperly M.E., Revanna J.S., Goska N.A., Tuscher J.J., Duke C.G., Sultan F.A., Burke J.N., Williams D., Ianov L., Day J.J.* A Neuron-Optimized CRISPR/dCas9 Activation System for Robust and Specific Gene Regulation. *eNeuro*. 6(1). pii: ENEURO.0495-18. 2019. 2019.
59. *Zheng Y., Shen W., Zhang J., Yang B., Liu Y.N., Qi H., Yu X., Lu S.Y., Chen Y., Xu Y.Z., Li Y., Gage F.H., Mi S., Yao J.* CRISPR interference-based specific and efficient gene inactivation in the brain. *Nat. Neurosci.* 21(3): 447–454. 2018.
60. *Haenfler J.M., Skariah G., Rodriguez C.M., Monteiro da Rocha A., Parent J.M., Smith G.D., Todd P.K.* Targeted Reactivation of FMR1 Transcription in Fragile X Syndrome Embryonic Stem Cells. *Front Mol. Neurosci.* 11: 282. 2018.
61. *Ho S.M., Hartley B.J., Flaherty E., Rajarajan P., Abdelaal R., Obiorah I., Barretto N., Muhammad H., Phatnani H.P., Akbarian S., Brennan K.J.* Evaluating Synthetic Activation and Repression of Neuropsychiatric-Related Genes in hiPSC-Derived NPCs, Neurons, and Astrocytes. *Stem Cell Reports*. 9(2): 615–628. 2017.
62. *Baumann V., Wiesbeck M., Breunig C.T., Braun J.M., Köferle A., Ninkovic J., Götz M., Stricker S.H.* Targeted removal of epigenetic barriers during transcriptional reprogramming. *Nat. Commun.* 10(1): 2119. 2019.
63. *Merschbaecher K., Haettig J., Mueller U.* Acetylation-mediated suppression of transcription-independent memory: Bidirectional modulation of memory by acetylation. *PLoS One*. 7(9): e45131. 2012.
64. *Beldjoud H., Barsegyan A., Roozendaal B.* Noradrenergic activation of the basolateral amygdala enhances object recognition memory and induces chromatin remodeling in the insular cortex. *Front. Behav. Neurosci.* 9: 108. 2015.
65. *Hilton I.B., D'Ippolito A.M., Vockley C.M., Thakore P.I., Crawford G.E., Reddy T.E., Gersbach C.A.* Epigenome editing by a CRISPR-Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers. *Nat. Biotechnol.* 33(5): 510–517. 2015.
66. *Joo J.Y., Schaukowitch K., Farbiak L., Kilaru G., Kim T.K.* Stimulus-specific combinatorial functionality of neuronal c-fos enhancers. *Nat. Neurosci.* 19(1): 75–83. 2016.
67. *Chen L.F., Lin Y.T., Gallegos D.A., Hazlett M.F., Gómez-Schiavon M., Yang M.G., Kalmeta B., Zhou A.S., Holtzman L., Gersbach C.A., Grandl J., Buchler N.E., West A.E.* Enhancer Histone Acetylation Modulates Transcriptional Bursting Dynamics of Neuronal Activity-Inducible Genes. *Cell Rep.* 26(5): 1174–1188.e5. 2019.
68. *Fukushima H.S., Takeda H., Nakamura R.* Targeted in vivo epigenome editing of H3K27me3. *Epigenetics Chromatin*. 12 (1): 17. 2019.
69. *Kusec C., Mammadov R., Czizora A., Unlu H., Tufan T., Fischer N.L., Arslan S., Bekiranov S., Kanemaki M., Adli M.* Temporal and Spatial Epigenome Editing Allows Precise Gene Regulation in Mammalian Cells. *J. Mol. Biol.* 431(1): 111–121. 2019.
70. *O'Geen H., Bates S.L., Carter S.S., Nisson K.A., Halmaj J., Fink K.D., Rhie S.K., Farnham P.J., Segal D.J.* Ezh2-dCas9 and KRAB-dCas9 enable engineering of epigenetic memory in a context-dependent manner. *Epigenetics Chromatin*. 12(1): 26. 2019.
71. *Kantor B., Tagliafierro L., Gu J., Zamora M.E., Ilich E., Grenier C., Huang Z.Y., Murphy S., Chiba-Falek O.* Downregulation of SNCA Expression by Targeted Editing of DNA Methylation: A Potential Strategy for Precision Therapy in PD. *Mol. Ther.* 26 (11): 2638–2649. 2018.
72. *Liu X.S., Wu H., Krzisch M., Wu X., Graef J., Muffat J., Hnisz D., Li C.H., Yuan B., Xu C., Li Y., Vershkov D., Cacace A., Young R.A., Jaenisch R.* Rescue of Fragile X Syndrome Neurons by DNA Methylation Editing of the FMR1 Gene. *Cell*. 172(5): 979–992.e6. 2018.
73. *Noack F., Pataskar A., Schneider M., Buchholz F., Tiwari V.K., Calegari F.* Assessment and site-specific manipulation of DNA (hydroxy-)methylation during mouse corticogenesis. *Life Sci. Alliance*. 2(2). pii: e201900331. 2019.

74. Nihongaki Y., Furuhata Y., Otabe T., Hasegawa S., Yoshimoto K., Sato M. CRISPR-Cas9-based photoactivatable transcription systems to induce neuronal differentiation. *Nat. Methods*. 14(10): 963–966. 2017.
75. Shao J., Wang M., Yu G., Zhu S., Yu Y., Heng B.C., Wu J., Ye H. Synthetic far-red light-mediated CRISPR-dCas9 device for inducing functional neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 115(29): E6722–E6730. 2018.

Neurogenetic Technologies of Memory Maintenance Investigation

P. M. Balaban^{a,*}, A. A. Borodina^a

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia*

**e-mail pmbalaban@gmail.com*

Abstract—The paper is devoted to analysis of potential approaches for investigation of memory mechanisms based on long-term changes in the expression patterns of genes, specifically involved in memory formation and maintenance. At present, just a few genes-candidates involved in memory maintenance are known. Recent investigations demonstrate a possibility to control neural network activity in physiological and pathological conditions using specific genetic constructs that were designed to change the expression of certain genes. Complex locus-specific chromatin rearrangements in regulatory regions of the plasticity genes, triggered by different external stimuli (such as learning), can eventually induce long-term changes in the expression of these genes, and potentially represent one of the instruments for regulation of memory substrates. Precise modulation of the genome functioning can be achieved through site-specific epigenetic changes, such as posttranslational histone modifications and DNA methylation. The development of new approaches for selective epigenetic modulation of the plasticity genes (e.g. epigenome editing) can be a powerful instrument for investigation of neural network physiology, changes in behavior, memory and pathologies of the nervous system.

Keywords: neuron, memory, synaptic plasticity, epigenetics, gene expression, epigenome editing

ЦИТИРОВАТЬ:

Балабан П.М., Бородинова А.А. Нейрогенетические технологии исследования механизмов хранения памяти. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 105(11): 1392–1405.
DOI: 10.1134/S0869813919110025

TO CITE THIS ARTICLE:

Balaban P.M., Borodina A.A. Neurogenetic Technologies of Memory Maintenance Investigation. *Russian Journal of Physiology*. 105(11): 1392–1405.
DOI: 10.1134/S0869813919110025