
ОБЗОРЫ

УДК 577.354

ПРОЕКТ «РОДОПСИН»

© 2024 г. М. А. Островский^{a, b, *}

^aМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра молекулярной физиологии, Москва, 119234 Россия

^bИнститут биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, 119334 Россия

*e-mail: ostrovsky3535@mail.ru

Поступила в редакцию 27.04.2024

После доработки 14.05.2024

Принята к печати 15.05.2024

В обзоре рассматривается история возникновения, развитие и достижения Проекта «Родопсин», организованного Ю.А. Овчинниковым в 1973 г. Также представлено современное состояние некоторых вопросов, связанных со структурой и функцией ретиналь-содержащих белков — родопсинов I и II типов.

Ключевые слова: родопсин, бактериородопсин

DOI: 10.31857/S0233475524050018, **EDN:** ccbyml

ВВЕДЕНИЕ

Совпало два юбилейных события — 90-летие со дня рождения Ю.А. Овчинникова и 40-летие основанного им журнала «Биологические мембраны». Оба этих юбилея дают повод вспомнить о Проекте «Родопсин», ибо он стал яркой страницей в научной жизни как самого Юрия Анатольевича, так и многих участников этого, можно сказать, уникального проекта. А десятилетие спустя после начала Проекта его успех стал одним из веских оснований для создания в 1984 году специального журнала «Биологические мембраны».

У Ю.А. Овчинникова было счастливое сочетание ума и энергии. Отличное университетское образование и ранняя вовлеченность в науку и в жизнь научного сообщества позволили ему понимать и чувствовать ее «горячие точки». А его выдающиеся организаторские способности позволили этим «горячим точкам» разгореться. Родопсин как классический мембранный белок был именно такой «точкой». Для самого Овчинникова интерес к родопсину был логическим продолжением работ по ион-транспортным системам, которые давно и успешно велись в его лаборатории и к началу 70-х годов получили мировое признание.

К началу 70-х годов нарастал интерес к родопси-нам животного происхождения, в первую очередь, естественно, к зрительному родопсину. Связано

это было как с Нобелевской премией Дж. Уолда 1967 года и первыми успехами в понимании механизмов фототрансдукции, так и с тем, что зрительный родопсин представлял собой классический G-белок-связывающий рецептор. Конкретный механизм его участия в запуске ферментативного каскада усиления светового сигнала был в то время самой актуальной проблемой молекулярной физиологии зрения. И вот, в 1971 году появилась работа Уолтера Стокениуса и Дитера Остерхельда о существовании у галофильных бактерий *Halobacterium salinarum* (ранее *Halobacterium halobium*) белка — бактериородопсина, очень похожего на зрительный белок родопсин [1]. Первоначально авторы даже предположили, что новый ретиналь-содержащий белок, который они называли бактериородопсином, каким-то образом участвует в фоторецепции — фототаксисе галобактерий. Однако скоро выяснилось, что функция бактериородопсина — преобразование энергии солнечного света в электрохимический потенциал ионов водорода, используемый клеткой для синтеза АТФ в полном соответствии с гипотезой Митчелла. Об открытии бактериородопсина очень скоро стало известно, причем, насколько я знаю, независимо, и самому Ю.А. Овчинникову, и В.П. Скулачеву, и Л.П. Каюшину. Лично я впервые услышал о бактериородопсине от Каюшина. Становилось ясно, что сравнительное исследование светочувствительных мембранных белков — нового бактериального и классического

животного родопсинов — чрезвычайно интересная и важная задача.

В 1972 году состоялась Школа по биологическим мембранам, на которой подряд, одна за другой, были прочитаны лекции — В.П. Скулачевым по бактериородопсину и мною по зрительному родопсину. После Школы состоялась наша встреча с Овчинниковым. Юрий Анатольевич говорил, что ему нужно срочно заняться структурой родопсинов, а Скулачеву и мне — их функцией, и что нужно организовать Проект. Понадобился год, и Проект «Родопсин» Ю.А. Овчинниковым был создан. Первыми участниками Проекта были четыре лаборатории: лаборатория самого Ю.А. Овчинникова в Институте биоорганической химии АН СССР, В.П. Скулачева в Межфакультетской лаборатории молекулярной биологии и биоорганической химии Московского университета, Л.П. Каюшина в Институте биофизики АН СССР в Пушкино и М.А. Островского в Институте химической физики АН СССР. Цель Проекта состояла в определении первичной структуры светочувствительных ретиналь-содержащих мембранных белков — бактериального родопсина и зрительного пигмента родопсина — и в исследовании их функции. Что касается функции, то фактически речь шла механизмах фотосинтеза и фототаксиса у этих бактерий и о механизмах зрительной рецепции — фоторецепции.

Институт биоорганической химии АН СССР

В лаборатории Ю.А. Овчинникова ключевую роль в определении первичной структуры бактериородопсина и зрительного родопсина играл Н.Г. Абдулаев. Главная сложность в решении этой задачи заключалась в высокой гидрофобности этих мембранных белков. Поэтому определение их первичной структуры не могло основываться на известных методах, применяемых для определения первичной структуры гидрофильных белков. Именно разработка новых методов для структурного анализа интегральных мембранных белков позволила успешно решить эту очень непростую задачу. Получив в результате полную аминокислотную последовательность сначала бактериородопсина (1978 г.), а затем и зрительного родопсина (1982 г.), стало возможным установить их топографию, соответственно, в пурпурной и фоторецепторной мембранах. Эта классическая 7-альфа-спиральная картина микробных и животных родопсинов вошла теперь во все учебники.

Для определения структуры бактериородопсина и зрительного родопсина нужны были сами пурпурные и фоторецепторные мембраны. Задача

получения в препаративных количествах этих мембран была возложена на лабораторию Л.П. Каюшина в Пушкино и мою лабораторию в Москве. Если у нас процедура получения фоторецепторных мембран и самого родопсина из сетчаток бычьих глаз уже была налажена, то методику наработки пурпурных мембран из галобактерий *Halobacterium halobium* еще предстояло освоить. Благодаря огромным усилиям Л.П. Каюшина и самоотверженной работе его сотрудницы Л.Н. Чекулаевой задача эта была решена [2]. В результате Абдулаев получал пурпурные мембраны для определения первичной структуры бактериородопсина, а Скулачев — его функции. Вот, что Владимир Петрович сам пишет: «Мы занялись изучением бактериородопсина, используя препарат, полученный в Институте биофизики Л.Н. Чекулаевой, тогда сотрудницей лаборатории Л. Каюшина. Были приготовлены протеолипосомы с бактериородопсином в качестве белка. Затем методом проникающих ионов была доказана способность бактериородопсина превращать свет в разность электрических потенциалов». Вероятно, Владимир Петрович имеет при этом в виду работу, опубликованную им совместно с Л.П. Каюшиным в *FEBS Letters*, в которой впервые в протеолипосомах с инкорпорированным бактериородопсином был зарегистрирован электрический потенциал и градиент pH [3]. Рукопись этой статьи была получена журналом 13 ноября 1973 года. Иными словами, хронологически эта работа В.П. Скулачева и Л.П. Каюшина была, по-видимому, первой опубликованной работой Проекта «Родопсин».

Можно сказать, драматически складывалась «гонка» за структурой сначала бактериородопсина, а затем и зрительного родопсина. О том, что Гобинд Корана, получивший в 1968 году Нобелевскую премию «за расшифровку генетического кода и его роли в синтезе белков», занялся бактериородопсином, информации не было. Как потом выяснилось, Корана старался не пропускать докладов Ю.А. Овчинникова и даже, говорят, фотографировал его слайды. Как бы то ни было, но работа Ю.А. Овчинникова, Н.Г. Абдулаева и сотрудников о полной аминокислотной последовательности и топографии бактериородопсина в пурпурной мембране галобактерий была опубликована в международном журнале практически одновременно со статьей Корана — работа Овчинникова в *FEBS Letters* [4], а Кораны в *PNAS* [5].

История почти полностью повторилась и со зрительным родопсином. На этот раз конкурентами была команда Пола Харгрейва из Иллинойса. Хотя Корана в мире молекулярной биологии был известнее, чем Харгрейв в мире зрительных

наук (*Visual Sciences*), но он был тоже неслабым конкурентом. Результат «гонки» оказался таким же — статьи Ю.А. Овчинникова, Н.Г. Абдулаева и сотрудников о полной аминокислотной последовательности и топографии зрительного родопсина в фоторецепторной мембране наружного сегмента палочки сетчатки были опубликованы практически одновременно в 1983 году со статьей Харгрейва и его команды: Овчинникова — в «Биоорганической химии» [6], а Харгрейва — в «Biophysics of Structure and Mechanism» [7]. Что касается топографии зрительного родопсина в фоторецепторной мембране, то, как нами недавно было показано, молекулы родопсина расположены в мембране фоторецепторного диска диффузно, с исключительно высокой плотностью, явно без какой-либо регулярной упаковки и, скорее всего, находятся в мономерно-димерных формах [8].

Вслед за родопсином позвоночных Ю.А. Овчинниковым, Н.Г. Абдулаевым и сотрудниками совместно с известным японским исследователем зрительных пигментов беспозвоночных М. Тсуда была установлена первичная структура родопсина осьминога — классического представителя родопсинов беспозвоночных [9].

После работ по бактериородопсину и зрительному родопсину Ю.А. Овчинников обратился к белкам ферментативного каскада усиления фоторецепторного сигнала в зрительных клетках сетчатки — фактически к механизму фототрансдукции. Совместно с В.М. Липкиным и сотрудниками была опубликована чрезвычайно актуальная в то время работа, касавшаяся первичной структуры гамма-субъединицы трансдуцина [10], а уже после кончины Юрия Анатольевича была сделана не менее важная работа, касавшаяся структуры ингибиторной гамма-субъединицы фосфодиэстеразы цГМФ [11].

Работы группы Ю.А. Овчинникова, выполненные в первое десятилетие Проекта «Родопсин», и групп Корана и Харгрейва, касавшиеся первичной структуры и топографии в мембране бактериородопсина и зрительного родопсина, а затем последовавшие с начала 2000-х годов рентгеноструктурные работы, позволившие установить их трехмерную структуру, — открыли путь для по сей день активно продолжающихся подробнейших исследований семейств микробных и животных родопсинов — родопсинов I и II типов.

При дальнейших исследованиях довольно быстро выяснилось, что галофильная бактерия *H. salinarum* содержит не только бактериородопсин — протонный насос, ответственный за фотосинтез, но и галородопсин — управляемый светом насос,

качающий внутрь клетки ионы хлора, а также еще и сенсорные родопсины I и II — датчики положительного и отрицательного фототаксиса. Широко развернувшиеся в последние десятилетия поиски новых родопсинов I типа привели к обнаружению их во всех доменах живой природы — бактериях, археях и эукариотах, и даже в гигантских вирусах. Сравнительно недавно были обнаружены так называемые гелиородопсины, которые отнесли к III типу родопсинов. Интересно, что топология в мембране родопсина III типа отличается от классической топологии родопсинов I и II типов: если в родопсинах I и II типов N-конец обращен наружу клетки, а C-конец — внутрь, то в родопсинах III типа N-конец, наоборот, обращен внутрь клетки, а C-конец — наружу [12].

Все обнаруженные родопсины весьма разнообразны по выполняемым функциям. Основные для микробных родопсинов — фотоэнергетическая (ионные насосы) и фотоинформационная (сенсорные родопсины, катионные и анионные каналы), а для животных — фотоинформационная. Исследования животных родопсинов II типа как G-белок-связывающих рецепторов позволили существенно продвинуться в понимании механизмов фототрансдукции, понимании структуры и функции всего семейства G-белок-сопряженных рецепторов, а также продвинуться в понимании молекулярных механизмов дегенеративных заболеваний сетчатки глаза (см. обзоры [13–17]).

Несмотря на разнообразие функций, принципиальное сходство структуры — 7-альфа-спиральная трансмембранная топография белковой части и ретиналь, хоть и в разных изомерных формах, в качестве хромофора — встает вопрос об эволюционном происхождении родопсинов I, II и III типов. При всей противоречивости мнений по этому поводу чаша весов склоняется в пользу их конвергентной эволюции. Предполагается, что нет общего предка для всех трех типов родопсинов и что, скорее всего, давление внешних факторов (дарвиновский естественный отбор) и физиологическая потребность привели к столь удивительному сходству столь неродственных родопсинов (подробнее см. [15, 18–21]).

Довольно неожиданно каналные родопсины одноклеточных водорослей (родопсины I типа) дали начало новому, мощному методическому направлению — оптогенетике, позволившей в последнее десятилетие совершить подлинный прорыв в нейробиологии. Перспективным представляется использование в оптогенетике опсинов животного происхождения — родопсинов II типа, способных инициировать ферментативный каскад усиления

светового сигнала. В самое последнее время появилась реальная надежда оптогенетического протезирования с помощью родопсинов I типа дегенеративной, лишенной зрительных клеток («слепой») сетчатки, а в перспективе и с помощью родопсинов II типа (см. обзор [22]). В случае успеха это будет первый случай применения методов оптогенетики в медицине.

**Межфакультетская лаборатория молекулярной
биологии и биоорганической химии
Московского университета**

Что касается функции бактериородопсина, то В.П. Скулачевым с сотрудниками эти исследования, как уже было сказано, начались практически одновременно с началом Проекта «Родопсин». В большой мере этому способствовал как раз в это время разработанный Л.А. Драчевым в его лаборатории метод прямого электрометрического измерения генерации электрического потенциала на мембране с разрешением ~200 нс [23]. Следует подчеркнуть, что результаты работ, выполненных в лаборатории В.П. Скулачевым с помощью этого метода и касавшихся электрогенеза мембранных белков фотосинтетических и дыхательных электрон-транспортных цепей, включая, естественно, бактериородопсин, внесли значительный вклад в обоснование справедливости хемиосмотической концепции Питера Митчелла, получившего в результате Нобелевскую премию.

Основной результат обширных исследований электрогенной активности молекулы бактериородопсина в пурпурной мембране как светозависимого протонного насоса состоит в следующем: первая электрогенная фаза отражает перенос протона от протонированного основания Шиффа внутрь мембраны, вторая — перенос протона наружу, а третья — обратно к Шиффову основанию [24–26]. Важным достижением было сопоставление кинетики ранних и промежуточных стадий фотоцикла бактериородопсина и индуцируемого на этих стадиях фотоэлектрического потенциала с использованием оригинальной системы — протеолипосомы, ассоциированные с тонкими коллоидными пленками [25]. Ключевая роль в этих исследованиях принадлежала А.Д. Каулену.

Следует обратить внимание на работу, выполненную В.П. Скулачевым совместно с Д. Остерхельтом и сотрудниками, в которой было показано, что введение гена бактериородопсина в «слепой» мутант *H. salinarum*, у которого отсутствуют все четыре белка — бактериородопсин, галородопсин и сенсорные родопсины I и II — приводит к восстановлению реакции бактерии на свет [27]. Из этой

работы следовало, что у галобактерий не только сенсорные родопсины, но и бактериородопсин принимает участие в фоторецепции.

В те же годы совместно с В.П. Скулачевым и его сотрудниками, и используя те же методы регистрации электрического потенциала, мы проводили сравнение электрогенной активности двух ретиналь-содержащих белков — бактериородопсина и зрительного родопсина позвоночных [28–30]. В их фотоэлектрических реакциях проявились сходство ранних, фотохимических стадий и существенное различие поздних, связанных с замкнутым фотоциклом бактериородопсина и фотолизом зрительного родопсина. Как и следовало ожидать, переходы ретиналя *полностью-транс* → *13-цис*-форма в бактериородопсине и переход *11-цис* → *полностью-транс*-форма в зрительном родопсине сопровождалась возникновением быстрого фотоэлектрического ответа. Однако затем фотоэлектрические ответы вели себя совершенно по-разному. В случае бактериородопсина на пурпурной мембране в течение всего периода освещения сохранялся устойчивый электрический потенциал. Причина тому — его замкнутый фотоцикл. В случае же зрительного родопсина в силу фотолиза фотоэлектрический ответ быстро и необратимо падал. Генерация бактериородопсином электрического потенциала сопровождается переносом протона через пурпурную мембрану, что принципиально важно для его функции — фотосинтеза. В случае же зрительного родопсина перенос протона отсутствует. Отсутствие переноса протона через фоторецепторную мембрану диска наружного сегмента палочки было нами показано в прямом эксперименте [31]. Суть дела в том, что в зрительном родопсине одновременно с разделением зарядов происходят существенные конформационные изменения белковой части молекулы — опсина. В конечном счете, это приводит к обнажению мест связывания с G-белком (трансдуцином), т.е. к запуску процесса фототрансдукции [32] (см. также обзор [33]).

Быстрый компонент фотоэлектрического ответа зрительного родопсина по своим характерным временам и полярности является, по существу, не чем иным, как хорошо известным ранним рецепторным потенциалом, который регистрируется от сетчатки при обычном электрофизиологическом отведении [34].

Институт биофизики АН СССР в Пушкино

Важным участником Проекта «Родопсин» был Л.П. Каюшин и Институт биофизики в Пушкино. Благодаря усилиям Л.П. Каюшина Л.Н. Чекулаева,

как говорилось выше, смогла наладить препаративную наработку из галобактерий пурпурных мембран. Они были необходимы и передавались Н.Г. Абдулаеву для установления первичной структуры бактериородопсина, В.П. Скулачеву для исследования механизма его функционирования. Естественно, они были нужны и самому Институту биофизики.

В рамках Проекта «Родопсин» Н.Н. Всеволодовым в этом Институте было начато новое, оригинальное направление — создание на основе бактериородопсина новых светочувствительных регистрирующих сред. Речь шла об иммобилизации пурпурных мембран в полимерных матрицах. Созданная в результате пленка была названа «Биохромом» [35, 36]. Фактически это было биотехнологическое устройство, основанное на уникальных свойствах бактериородопсина. Действительно, молекулы бактериородопсина имеют квазикристаллическую упаковку, что придает всей структуре чрезвычайно высокую устойчивость к различным физическим и химическим воздействиям. Далее, количество фотоциклов бактериородопсина как природного фотохрома исключительно велико, намного больше, чем многих неорганических и синтетических материалов. И что еще очень важно, молекула бактериородопсина может быть подвергнута различным модификациям как ее белковой части, так и хромофора. Иными словами, бактериородопсин стал своеобразной платформой для целого класса новых фотохромных материалов. Работы в этом направлении были успешно развиты как самим Всеволодовым и его группой, так и многими зарубежными лабораториями. Большое внимание использованию бактериородопсина для создания светочувствительных носителей информации было уделено в США, в знаменитом NIST — National Institute of Standards and Technology. В 90-е годы в этот Институт был приглашен и некоторое время работал Н.Н. Всеволодов и его сотрудница А.Б. Дружко. В 2011 г. в США вышла монография Н.Н. Всеволодова как зачинателя целого направления, названного «биомолекулярной электроникой» [37]. Недавно опубликован подробный обзор А.Б. Дружко, посвященный современному состоянию проблемы светочувствительных систем на основе бактериородопсина [38].

В Институте биофизики велись активные исследования зрительного родопсина и механизмов фоторецепции. В середине 80-х годов там была сделана принципиально важная работа как для понимания механизма генерации фоторецепторного потенциала в зрительной клетке сетчатки позвоночных, так и вообще для понимания молекулярных механизмов регуляции проводимости

плазматической мембраны. Речь идет о работе Е.Е. Фесенко, С.С. Колесникова и А.Л. Любарского [39]. Ко времени появления этой работы уже было твердо установлено, что фоторецепторные клетки сетчатки позвоночных — палочки и колбочки — в ответ на свет гиперполяризуются и что эта гиперполяризация вызывается блокированием катион-селективных каналов в плазматической мембране их наружного сегмента. Однако механизм, контролирующий открытие и закрытие этих каналов, оставался неизвестным. Авторами работы впервые было показано, что увеличение проводимости плазматической мембраны наружного сегмента фоторецепторной клетки является результатом прямого действия на нее цГМФ. Результат этот был затем многократно подтвержден и в настоящее время вошел во все руководства по молекулярной физиологии зрения.

Институт химической физики АН СССР

Основным предметом исследований лаборатории М.А. Островского в Институте химической физики АН СССР был зрительный родопсин. Сотрудничая в этом Институте с физиками и химиками высочайшей квалификации, естественно было применить их подходы, методы и использовать уникальные экспериментальные установки. Работа лаборатории в те годы шла, в основном, в трех направлениях: фотохимия родопсина, его конформационные перестройки при действии света, а также связанные с родопсином механизмы фотоповреждения сетчатки и ретинального пигментного эпителия. Эти направления сохраняются и сейчас.

Что касается фотохимии родопсина, то большое внимание уделялось его фотообратимым реакциям. В последнее время интерес к ним существенно возрос, поскольку фотохромные реакции ретиналь-содержащих белков рассматриваются в качестве прообраза молекулярных фотоперехватчиков, обладающих исключительно высокой скоростью, высоким квантовым выходом и спектрально разнесенными исходной, темновой и светиндуцированной формами.

При сравнительно низких температурах, на стадии метародопсина I, вначале нами были исследованы фотохромные реакции родопсина позвоночных [40–42]. В этих работах, в частности, было обнаружено явление изохромии фоторегнерированного родопсина. Исследовались также фотохромные реакции родопсина беспозвоночных. В ситуации *in vitro* были продемонстрированы многократные фотопереходы родопсина осьминога в метародопсин и обратно [43]. Однако наиболее

интересными стали исследования прямой и обратной фотореакций родопсина позвоночных на стадиях фото- и батородопсина в области фемто- и пикосекундных времен [44–46]. Интересно, что сравнительный анализ динамики прямой и обратной фотохимической реакции бактериородопина и зрительного родопсина, проведенный в этих работах, показал, что у зрительного родопсина квантовый выход обратной фотореакции намного (примерно в 6 раз) ниже, чем у бактериородопсина, и это при том, что квантовые выходы прямой реакции у них практически одинаковы [15, 46]. Можно думать, что высокий квантовый выход прямой реакции и низкий квантовый выход обратной реакции повышает надежность работы зрительного родопсина как триггера процесса фототрансдукции.

Наши основные результаты, касавшиеся конформационных перестроек родопсина в фоторецепторной мембране при действии света, были получены с использованием метода спиновых меток и зондов, создателем которого, по существу, был Институт химической физики. В одной из первых работ с помощью спинового зонда нами были показаны вызванные светом конформационные изменения в фоторецепторной мембране [47]. Позже, используя метод ЭПР-спектроскопии с переносом насыщения и спиновые метки, ковалентно связанные с доступными гидрофильными SH-группами цистеиновых остатков родопсина (Cys140 и Cys316), нам впервые удалось показать увеличение конформационной подвижности цитоплазматических «петель» при светоиндуцированном переходе родопсина в метародопсин II [32]. При этом были показаны не только внутримолекулярные перестройки в гидрофильных «петлях», но и смещения трансмембранных «тяжей» на стадии образования метародопсина II [48]. Эти конформационные перестройки являются принципиально важными для передачи сигнала от родопсина как G-белок-сопряженного рецептора к G-белку (трансдукцию). ЭПР-исследования в этом направлении получили затем мощное развитие во многих лабораториях мира, поскольку появилась возможность наблюдать динамику конформационных перестроек в механизме функционирования G-белок-связывающих рецепторов (см. обзор [49]).

В рамках Проекта «Родопсин» начались и наши работы по механизмам светового повреждения сетчатки и ретинального пигментного эпителия. Речь шла о так называемом «фотобиологическом парадоксе зрения», когда свет выступает не только как носитель зрительной информации, но и как потенциально опасный повреждающий фактор. Фотосенсибилизаторами в механизме

повреждения выступают, в основном, свободный *полностью-транс*-родопсин, высвобождающийся в ходе фотолиза родопсина, и образующиеся из *полностью-транс*-родопсина бисретиноиды.

В одной из первых работ нами было показано, что в ходе фотоповреждения молекулы родопсина окисляются его SH-группы и что при этом спектр действия окисления находится в коротковолновой (фиолетово-синей) области спектра [50]. Эта работа послужила началом большой серии работ, практическим результатом которых стало создание и внедрение в офтальмологическую практику нового поколения интраокулярных линз, частично отсекающих от сетчатки коротковолновую часть видимого спектра и тем самым предохраняющих ее после удаления катарактального хрусталика от фотоповреждения (см. [51, 52]).

В механизме фотоповреждения сетчатки и особенно ретинального пигментного эпителия важную роль играют бисретиноиды как эффективные фотосенсибилизаторы. В основном бисретиноиды локализованы в липофусциновых гранулах клеток ретинального пигментного эпителия, которые считались инертным внутриклеточным «шлаком». Нами было впервые показано, что эти гранулы фотоактивны и что при действии видимого света они способны образовывать активные формы кислорода, при этом максимум спектра действия их образования находится в коротковолновой области спектра [53]. Эта работа дала начало целому направлению исследований, связанных с повреждающим действием света и ускорением развития дегенеративных заболеваний сетчатки. Как недавно нами было показано, генерация липофусциновыми гранулами активных форм кислорода приводит в том числе к исчезновению в клетках ретинального пигментного эпителия меланосом, усугубляя тем самым опасность их светового повреждения [54, 55].

Конференции и школы

Проект «Родопсин» быстро расширился и вовлек в свою орбиту все новых участников. Этому способствовали как сама тематика проекта, актуальность которой все более возрастала, так и периодически проводившиеся конференции и школы.

Созданный Ю.А. Овчинниковым Научный совет АН СССР по биологическим мембранам активно работал. Школы, которые этот Совет организовывал, в основном в Пушкино, привлекали огромное число участников. Тематика лекций была довольно широкая, а лекторы, которые приглашались, сами активно работали в своих областях науки.

Конференций же, связанных с мембранной тематикой, проводилось множество. Одной из таких, организуемых М.А. Островским, была «Механизмы сенсорной рецепции». В течение многих лет она проводилась в Пушкино. Конференция собирала почти всех специалистов, в то время активно работавших в этой области. Доклады по фоторецепции и зрительному родопсину были на ней доминирующими.

Что касается международных конференций, которых тоже было немало, то лично я помню две, в которых принимал участие.

Первая — это советско-американская конференция по биологическим мембранам в США, в Чикаго, в 1976 году. О ее организации Ю.А. Овчинников договорился с Даниэлем Тостесоном, в тот период он был деканом в Чикагском университете. Условие было такое: американская сторона принимает и оплачивает все расходы, включая перелеты и посещения советскими учеными ряда университетов и научных центров США после окончания конференции. Но при этом список советских ученых — участников конференции составляет Тостесон и присылает его затем Овчинникову. Всего договорились о 15 участниках с каждой стороны. После консультаций с коллегами, Тостесон прислал этот список. В нем были, действительно, самые известные, активно работавшие в то время в области биологических мембран ученые, например П.Г. Костюк. С немалыми трудностями Ю.А. Овчинников выполнил договоренность, и эти «самые известные советские специалисты» поехали в Америку. Их имена можно найти в книге, которая затем вышла по материалам этой конференции [56].

Второй конференцией — самой, пожалуй, яркой, важной и впечатляющей была международная конференция по ретинальсодержащим белкам в Иркутске, точнее в поселке Листвянка на Байкале. Проходила она с 22 по 28 июля 1986 года. Только Ю.А. Овчинников, будучи в то время вице-президентом АН СССР и обладая огромным авторитетом в международном научном сообществе, способен был ее организовать. Его приглашение приняли самые выдающиеся ученые. Не побоюсь сказать, это был пир родопсинового сообщества.

Конференция открывалась докладом Н.Г. Абдулаева «Антигенная структура родопсина». С докладами выступали и другие непосредственные участники Проекта «Родопсин»: В.П. Скулачев «Бактериородопсин в ряду $\Delta\mu\text{H}$ -генераторов: сравнительный анализ», М.А. Островский «Обратимые и необратимые изменения родопсина при действии света», В.М. Липкин «Белки зрительного каскада. Аминокислотная последовательность

субъединиц трансдуцина и цГМФ-фосфодиэстеразы», С.С. Колесников «Прямое действие цГМФ на плазматическую мембрану НСП». Из иностранных корифеев доклады делали первооткрыватели бактериородопсина Уолтер Стокениус (США) «Индукцированные катионами конформационные переходы в бактериородопсине» и Дитер Остерхелт (ФРГ) «Ген галоопсина», будущий лауреат Нобелевской премии Ричард Хендерсон (Великобритания) «Структурный анализ бактериородопсина». Довольно много докладов известных для меня по литературе людей было по зрительному родопсину и механизмам фоторецепции. Например, по зрительному родопсину особенно интересны были доклады классика фотохимии зрительного родопсина Тори Ешизава (Япония) «Механизм передачи световой информации в наружных сегментах палочек», известного физикохимика Юджина Хонига (США) «Структура, энергетика и функция ретинальсодержащих белков» и Мэри Апплебюри (США) «Эволюция зрительных пигментов». Из биохимиков и физиологов очень интересны были доклады М. Тсуда (Япония) «G-белок осьминога, передающий сигнал в фоторецепторе беспозвоночных», Марка Шабра (Франция) «Как выключается каскад ферментативных реакций, запускаемый родопсином?», Майкла Баундса (США) «Биохимические принципы возбуждения и адаптации палочек позвоночных».

Следствием успеха Проекта «Родопсин» (публикации, школы, конференции), как и следствием все возрастающего интереса к мембранным ретиналь-содержащим белкам микробного и животного происхождения (их структуре, функции и возможности биотехнологического использования) стало то, что все больше людей и лабораторий вовлекались в 70-е и 80-е годы в эту тематику. Поэтому, когда в начале 90-х годов началась «утечка мозгов», то многие российские специалисты получили приглашения работать в лабораториях США и Европы. В результате многие из них в «родопсиновом мире» стали в этих странах ведущими специалистами. Рассказывают, что в 90-е годы симпозиум по ретиналь-содержащим белкам на Биофизическом съезде США шел на русском языке. В России в настоящее время исследования по этой тематике продолжают, но, к сожалению, не столь интенсивно, как хотелось бы. Хотя в некоторых научных центрах работы по родопсинам микробного и вирусного происхождения (родопсины I типа) и зрительного родопсина (родопсин II типа) ведутся весьма и весьма успешно.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 122041400102-9).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Oesterhelt D., Stoerkenius W. 1971. Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nat. New. Biol.* **233**, 149–152. doi 10.1038/newbio233149a0
- Чекулаева Л.Н. 1977. Особенности развития культуры *Halobacterium halobium*. *Микробиология.* **46** (2), 288–294.
- Kayushin L.P., Skulachev V.P. 1974. Bacteriorhodopsin as an electrogenic proton pump: reconstitution of bacteriorhodopsin proteoliposomes generating delta psi and delta pH. *FEBS Lett.* **39** (1), 39–42. doi 10.1016/0014-5793(74)80011-6. PMID: 4850730
- Ovchinnikov Y.A., Abdulaev N.G., Feigina M.Y., Kiselev A.V., Lobanov N.A. 1979. The structural basis of the functioning of bacteriorhodopsin: an overview. *FEBS Lett.* **100** (2), 219–224. doi 10.1016/0014-5793(79)80338
- Khorana H.G., Gerber G.E., Herlihy W.C., Gray C.P., Anderegg R.J., Nihei K., Biemann K. 1979. Amino acid sequence of bacteriorhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76** (10), 5046–5050. doi 10.1073/pnas.76.10.5046
- Овчинников Ю.А., Абдулаев Н.Г., Фейгина М.Ю., Артамонов И.Д., Богачук А.С. 1983. Зрительный родопсин: Полная аминокислотная последовательность и топология в мембране. *Биоорганическая химия.* **10**, 1331–1340.
- Hargrave P.A., McDowell J.H., Curtis D.R., Wang J.K., Juszczak E., Fong S.L., Rao J.K., Argos P. 1983. The structure of bovine rhodopsin. *Biophys. Struct. Mech.* **9**, 235–244.
- Feldman T.B., Ivankov O.I., Kuklin A.I., Murugova T.N., Yakovleva M.A., Smitienko O.A., Kolchugina I.B., Round A., Gordeliy V.I., Belushkin A.V., Ostrovsky M.A. 2019. Small-angle neutron and X-ray scattering analysis of the supramolecular organization of rhodopsin in photoreceptor membrane. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1861** (10), 183000. doi 10.1016/j.bbamem.2019.05.022
- Ovchinnikov Yu.A., Abdulaev N.G., Zolotarev A.S., Artamonov I.D., Bepalov I.A., Dergachev A.E., Tsuda M. 1988. Octopus rhodopsin. Amino acid sequence deduced from cDNA. *FEBS Lett.* **232** (1), 69–72. doi 10.1016/0014-5793(88)80388-0
- Ovchinnikov Yu.A., Lipkin V.M., Shuvaeva T.M., Bogachuk A.P., Shemyakin V.V. 1985. Complete amino acid sequence of gamma-subunit of the GTP-binding protein from cattle retina. *FEBS Lett.* **179** (1), 107–110. doi 10.1016/0014-5793(85)80201-5
- Lipkin V.M., Udovichenko I.P., Bondarenko V.A., Yurovskaya A.A., Telnykh E.V., Skiba N.P. 1990. Site-directed mutagenesis of the inhibitory subunit of retinal rod cyclic GMP phosphodiesterase. *Biomed. Sci.* **1** (3), 305–308.
- Kovalev K., Volkov D., Astashkin R., Alekseev A., Gushchin I., Haro-Moreno J.M., Chizhov I., Siletsky S., Mamedov M., Rogachev A., Balandin T., Borshchevskiy V., Popov A., Bourenkov G., Bamberg E., Rodriguez-Valera F., Büldt G., Gordeliy V. 2020. High-resolution structural insights into the heliorhodopsin family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **117**, 4131–4141. doi 10.1073/pnas.1915888117
- Rozenberg A., Inoue K., Kandori H., Bèjà O. 2021. Microbial rhodopsins: The last two decades. *Annu. Rev. Microbiol.* **75**, 427–447. doi.org/10.1146/annurev-micro-031721-020452
- Gordeliy V., Kovalev K., Bamberg E., Rodriguez V., Zinovev E., Zabelskii D., Alekseev A., Rosselli R., Gushchin I., Okhrimenko I. 2022. Microbial rhodopsins, *Methods Mol. Biol.* **2501**, 1–52. doi 10.1007/978-1-0716-2329-9_1
- Островский М.А., Смитиенко О.А., Боченкова А.В., Фельдман Т.Б. 2023. Сходство и различия родопсинов фотохимии родопсинов I и II типов. *Биохимия.* **88** (10), 1847–1866.
- Hofmann K.P., Lamb T.D. 2023. Rhodopsin, light-sensor of vision. *Prog. Retin. Eye Res.* **93**, 101116. doi 10.1016/j.preteyeres.2022.101116
- Островский М.А. 2020. Молекулярная физиология зрительного пигмента родопсина: актуальные направления. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* **106** (4), 401–420. Doi 10.31857/S0869813920040056
- Островский М.А. 2017. Родопсин: эволюция и сравнительная физиология. *Палеонтол. журн.* **5**, 103–113.
- Feuda R., Menon A.K., Göpfert M.C. 2022. Rethinking opsins. *Mol Biol Evol.* **39** (3), msac033. doi 10.1093/molbev/msac033
- Bulzu P.-A., Kavagutti V.S., Andrei A.-S., Ghai R. 2022. The evolutionary kaleidoscope of rhodopsins. *mSystems.* **7**, e00405-22. doi 10.1128/mSystems.00405-22
- Kojima K., Sudo Y. 2023. Convergent evolution of animal and microbial rhodopsins, *RSC Adv.* **13**, 5367–5381. doi 10.1039/d2ra07073a
- Кирпичников М.П., Островский М.А. 2023. Оптогенетика: фундаментальные и прикладные аспекты. *Вестник РАН.* **93** (9), 798–805. doi 10.31857/S0869587323090086
- Drachev L.A., Jasaitis A.A., Kaulen A.D., Kondrashin A.A., Liberman E.A., Nemecek I.B., Ostroumov S.A., Semenov A.Yu., Skulachev V.P. 1974. Direct measurement of electric current generation by cytochrome oxidase, H⁺-ATPase and bacteriorhodopsin. *Nature.* **249**, (455), 321–324. doi 10.1038/249321a0
- Drachev L.A., Jasaitis A.A., Mikelsaar H., Nemecek I.B., Semenov A.Y., Semenova E.G., Severina I.I., Skulachev V.P. 1976. Reconstitution of biological molecular generators of electric current. H⁺-ATPase. *J. Biol. Chem.* **251** (22), 7077–7082.
- Drachev L.A., Kaulen A.D., Skulachev V.P. 1978. Time resolution of the intermediate steps in the bacteriorhodopsin-linked electrogenesis. *FEBS Lett.* **87** (1), 161–167. doi 10.1016/0014-5793(78)80157-4

26. Skulachev V.P. 1976. Conversion of light energy into electric energy by bacteriorhodopsin. *FEBS Lett.* **64** (1), 23–25. doi 10.1016/0014-5793(76)80239-6
27. Bibikov S.I., Grishanin R.N., Kaulen A.D., Marwan W., Oesterhelt D., Skulachev V.P. 1993. Bacteriorhodopsin is involved in halobacterial photoreception. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90** (20), 9446–9450. doi 10.1073/pnas.90.20.9446
28. Большаков В.И., Драчев Л.А., Каламкаров Г.Р., Каулен А.Д., Островский М.А., Скулачев В.П. 1979. Общность свойств бактериального и зрительного родопсина: превращение энергии света в разность электрических потенциалов. *ДАН СССР.* **249**, 1462–1466.
29. Drachev L.A., Kalamkarov G.R., Kaulen A.D., Ostrovsky M.A., Skulachev V.P. 1981. Fast stages of photoelectric processes in biological membranes. II. Visual rhodopsin. *Eur. J. Biochem.* **117**, 471–481. doi 10.1111/j.1432-1033.1981.tb06362.x
30. Drachev L.A., Kaulen A.D., Khitrina L.V., Skulachev V.P. 1981. Fast stages of photoelectric processes in biological membranes. I. Bacteriorhodopsin. *Eur. J. Biochem.* **117**, 461–470. doi 10.1111/j.1432-1033.1981.tb06361.x
31. Шевченко Т.Ф., Каламкаров Г.Р., Островский М.А. 1987. Отсутствие переноса H^+ через фоторецепторную мембрану в ходе фотолиза родопсина. *Сенсорные системы.* **1**, 117–126.
32. Погожева И.Д., Кузнецов В.А., Лившиц В.А., Федорович И.Б., Островский М.А. 1985. Фотоиндуцированные изменения в гидрофильной области молекулы родопсина. Исследование методом ЭПР-спектроскопии с переносом насыщения, *Биол. мембраны.* **2** (9), 880–896.
33. Hofmann K.P., Lamb T.D. 2023. Rhodopsin, light-sensor of vision. *Prog. Retin. Eye Res.* **93**, 101116. doi 10.1016/j.preteyeres.2022.101116
34. Brindley G.S., Gardner-Medwin A.R. 1966. The origin of the early receptor potential of the retina. *J. Physiol.* **182**, 185–194. doi 10.1113/jphysiol.1966.sp007817
35. Всеволодов Н.Н., Чекулаева Л.Н. 1978. Спектральные превращения фотопродуктов в клетках *Halobacterium halobium*. *Биофизика.* **23** (1), 99–104.
36. Всеволодов Н.Н., Иваницкий Г.Р. 1985. Биологические светочувствительные комплексы как фотоносители технической информации. *Биофизика.* **30** (5), 962–967.
37. Vsevolodov N. 2011. *Biomolecular Electronics: An Introduction via Photosensitive Proteins*. Boston: Birkhäuser, 296 p.
38. Druzhko A.B. 2023. Some aspects of using the fundamental properties of bacteriorhodopsin for recording, processing, and storage of optical information. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem.* **56**, 100620. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2023.100620>
39. Fesenko E.E., Kolesnikov S.S., Lyubarsky A.L. 1985. Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature.* **313** (6000), 310–313. doi 10.1038/313310a0
40. Кронгауз В.А., Шифрина Р.Р., Федорович И.Б., Островский М.А. 1975. Фотохромия зрительных пигментов. 1. Образование изохромных продуктов при обратимых превращениях родопсина лягушки. *Биофизика.* **20** (2), 219–224.
41. Кронгауз В.А., Шифрина Р.Р., Федорович И.Б., Островский М.А. 1975. Фотохромия зрительных пигментов. 2. Кинетика фотопревращений родопсина лягушки. *Биофизика.* **20** (3), 419–424.
42. Кронгауз В.А., Шифрина Р.Р., Федорович И.Б., Островский М.А. 1975. Фотохромия зрительных пигментов. 3. Сравнительное исследование фотопревращений родопсина быка и лягушки, *Биофизика.* **20** (3), 426–430.
43. Ostrovsky M.A., Weetall H.H. 1998. Octopus rhodopsin photoreversibility of a crude extract from whole retina over several weeks duration. *Biosens Bioelectron.* **13** (1), 61–65.
44. Smitienko O., Nadtochenko V., Feldman T., Balatskaya M., Shelaev I., Gostev F., Sarkisov O., Ostrovsky M. 2014. Femtosecond laser spectroscopy of the rhodopsin photochromic reaction: A concept for ultrafast optical molecular switch creation (ultrafast reversible photoreaction of rhodopsin). *Molecules.* **19**, 18351–18366. doi 10.3390/molecules191118351
45. Feldman T.B., Smitienko O.A., Shelaev I.V., Gostev F.E., Nekrasova O.V., Dolgikh D.A., Nadtochenko V.A., Kirpichnikov M.P., Ostrovsky M.A. 2016. Femtosecond spectroscopic study of photochromic reactions of bacteriorhodopsin and visual rhodopsin. *J. Photochem. Photobiol. B.* **164**, 296–305. doi 10.1016/j.jphotobiol.2016.09.041
46. Островский М.А., Надточенко В.А. 2021. Фемтохимия родопсина. *Химическая физика.* **40**, 76–84. doi 10.31857/S0207401X21040117
47. Гендель Л.Я., Шапиро А.Б., Федорович И.Б., Крылякова К.Е., Островский М.А. 1972. Исследование методом спиновых зондов фотоиндуцированных конформационных переходов в фоторецепторной мембране. *ДАН СССР.* **206** (6), 1469–1472.
48. Погожева И.Д., Кузнецов В.А., Лившиц В.А., Островский М.А. 1985. Конформационная подвижность и взаимодействие доменов родопсина. *Биол. мембраны.* **2** (9), 897–905.
49. Van Eps N., Caro L.N., Morizumi T. 2015. Characterizing rhodopsin signaling by EPR spectroscopy: From structure to dynamics. *Photochem. Photobiol. Sci.* **14** (9), 1586–1597. <https://doi.org/10.1039/c5pp00191a>
50. Погожева И.Д., Федорович И.Б., Островский М.А., Эмануэль Н.М. 1981. Фотоповреждение молекулы родопсина. Окисление SH-групп. *Биофизика.* **26** (3), 398–403.
51. Meyers S.M., Ostrovsky M.A., Bonner R.F. 2004. A model of spectral filtering to reduce photochemical

- damage in age-related macular degeneration. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* **102**, 83–93.
52. Зак П., Егорова Т., Розенблюм Ю., Островский М. 2005. *Спектральная коррекция зрения: научные основы и практические приложения*. М.: Научный мир. 192 с.
 53. Boulton M., Dontsov A., Jarvis-Evans J., Ostrovsky M. 1993. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator. *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.* **19**, 201–204.
 54. Dontsov A.E., Yakovleva M.A., Vasin A.A., Gulin A.A., Aybush A.V., Nadochenko V.A., Ostrovsky M.A. 2023. Understanding the mechanism of light-induced age-related decrease in melanin concentration in retinal pigment epithelium cells. *Int. J. Mol. Sci.* **24** (17), 13099. doi 10.3390/ijms241713099
 55. Dontsov A., Ostrovsky M. 2024. Retinal pigment epithelium pigment granules: Norms, age relations and pathology. *Int. J. Mol. Sci.* **25** (7), 3609. doi.org/10.3390/ijms25073609
 56. *Membrane transport processes*. 1978. Eds Ovchinnikov Yu.A., Tosteson D., Latorre R. New York: Raven Press. 243 p.

Rhodopsin Project

© 2024 г. М. А. Ostrovsky^{1, 2, *}

¹Department of Molecular Physiology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

²Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

*e-mail: ostrovsky3535@mail.ru

The review examines the history of the emergence, development, and achievements of the Rhodopsin project, organized by Yu.A. Ovchinnikov in 1973. The current state of some issues related to the structure and function of retinal-containing proteins – types I and II rhodopsins – is also presented.

Keywords: rhodopsin, bacteriorhodopsin