لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۵، دورهٔ ۱۳، شمارهٔ ۴، صفحات: ۳۵-۲۹ .

مقاله مروری

اپتوژنتیک: مفاهیم و کاربردها

سید مهدی میرمحمدی [۱]
غلامرضا اسماعیلی جاوید [۲]

خلاصه

مقدمه: اپتوژنتیک فناوری جدیدی است که با کمک آن می‌توان به‌صورت دقیق، سریع و هدفمند حوادث سیستم‌های بیولوژیکی را به‌عنوان یک مجموعهٔ پیچیده مورد بررسی قرار داد. مفاهیم اولیهٔ اپتوژنتیک به اواخر دههٔ هفتاد میلادی برمی‌گردد زمانی‌که به‌دلیل چالش‌های موجود در رشتهٔ عصب‌شناسی نیاز بود تا یک سلول خاص بدون تأثیرگذاری برروی سلول‌های دیگر تحت کنترل قرار گیرد و پیشنهاد شد که از نور می‌توان به‌عنوان ابزار مناسبی برای این منظور استفاده کرد. با کشف اُپسین و آنالوگ‌های مشابه آن به‌عنوان مولکول‌های فعال به نور تحولی مهم در این زمینه روی داد. با کشف اُپسین‌های میکروبی (باکتریایی یا قارچی) غشایی ازجمله هالورودوپسین به‌عنوان نوعی کانال یونی وابسته به نور و انتقال ژن بیان‌کنندهٔ این نوع پروتئین به سلول‌های پستانداران، امکان کنترل اُپتیکی سلول‌های پستانداران بخصوص سلول‌های عصبی ایجاد شد. همچنین به‌دلیل وجود رتینوئید به مقادیر فراوان در بافت‌هایی چون شبکیه مشخص شد که بافت‌های عصبی مرکزی دارای میزان کافی از ژن‌های میکروبی اُپسینی برای القاء اپتوژنتیک و کنترل اُپتیکی سلولی هستند.

بحث و نتیجه‌گیری: اپتوژنتیک به‌معنای برانگیختگی نوری یا بازداری نوری سلول‌های هدف نیست بلکه با این روش امکان کنترل انجام فعالیت-های خاص وجود دارد. علامت ویژهٔ اپتوژنتیک، ایجاد کانال‌ها یا آنزیم‌های فعال‌شونده با نور است که امکان دستکاری‌های دقیق زمانی را برروی وقایع بیوشیمیایی و الکتریکی با رزولوشن درحد سلول فراهم می‌سازد. اپتوژنتیک به‌معنای ایجاد راهبردهای هدفمند ژنتیکی همچون پروموتورهای اختصاصی سلولی یا ویروسی است. این تکنولوژی امکان انتقال پروب‌های حساس‌به‌نور برای جمعیت‌های خاص سلولی در بافت زنده و سخت‌افزار شامل فیبر نوری و منابع نوری را فراهم می‌سازد. با این روش بررسی اختصاصی سلول‌ها حتی در عمق بافت به‌منظور کنترل عملکرد سلول امکان پذیر می‌شود.

این مقالهٔ مروری ضمن معرفی مفاهیم اولیهٔ اپتوژنیک، به بررسی دقیق روش‌های اجرای آن و مکانیسم فعالیت‌های کانال یا آنزیم‌های دخیل و درنهایت اهمیت کاربردهای بالینی آن می‌پردازد.

واژه‌های کلیدی: باریکهٔ لیزر، لیزر CO_2، اپیدرم، برهمکنش حرارتی، آسیب حرارتی، پوست

۱. *مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران*

۲. *استادیار پژوهش، گروه پژوهشی ترمیم نوری مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران*

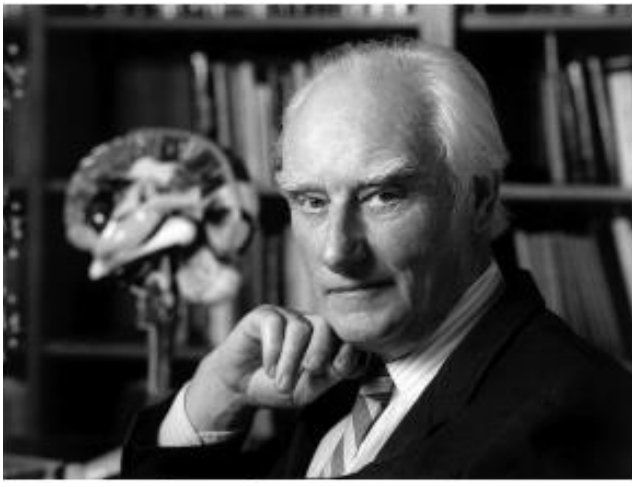
نویسندهٔ مسئول: غلامرضا اسماعیلی جاوید، تلفن: ۰۲۱۶۶۹۸۹۱۱۰
پست الکترونیک: **e_djavid@yahoo.com**

مقدمه

با پیشـرفت‌هایی که در حوزهٔ سـلامت و علوم پزشکی صورت گرفته است هرچند خبری از شیوع گستردهٔ بیماری‌های عفونی و مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری‌ها نیست و امیدبه‌زندگی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است، ولی در مقابـل بیماری‌های تحلیل‌برندهٔ ناشـی‌از روند پیری و مزمن افزایش قابل ملاحظه‌ای یافته است. درحال‌حاضر بیشترین علت مرگ‌ومیر در کشورهای توسـعه‌یافته مربوط به حوادث عروقی قلبی و مغزی است هرچندکه سوانح و تصادفـات نیز از علل شـایع مرگ‌ومیر در جهان به‌شـمار مـی‌رود[۱]. از میان بافت‌هایی که در معرض آسـیب هستند، همواره درمان و بازتوانبخشی بافت‌های آسـیب‌دیدهٔ عصبی به‌دلیل پیچیدگی‌های سیستم عصبی مرکزی و عدم ترمیم‌پذیری مناسـب آن در آسـیب بافت‌های عصبی، از چالش‌های اساسـی قرن بیست‌ویکم اسـت. مغز با وزن تقریبی ۱۳۰۰ گرم از بیلیون‌ها سلول عصبی و شبکه‌ای بسیار پیچیده تشکیل شده است. محققان بسیاری سعی بر مطالعهٔ عملکرد بافت مغز داشته‌اند ولی به‌دلیل همین پیچیدگی‌های سلول‌ها و شبکه‌های عصبی همواره مشکلات متعددی در روند دقیق شناخت شـبکه‌های عصبی و عملکـرد آن‌ها و درنهایت نقش هریک از شـبکه-های عصبی در رفتار و هویت انسـانی وجود داشته است. از روش‌های متداولی که به‌منظور مطالعهٔ in-vivo شبکه‌های عصبی و عملکرد آن‌ها مورد استفاده قرار گرفته است، می‌توان به روش‌های تحریک الکتریکی، روش‌های مغناطیسی و دارویی اشاره کرد.

در سال ۱۹۷۱ فرانسیس کریگ[۱] کاشف ساختار مولکول DNA اعلام کرد که روش‌های موجود تا آن زمان قادر به مطالعهٔ دقیق سـاختارهای شبکه‌ای مغز و نقش آن‌ها در رفتار و عملکرد موجود نیسـتند و این روش‌ها نیازمند ایجاد فناوری‌های جدیدی برای این منظور می‌باشد (شکل ۱)[۲]. وی در این مقاله به‌صورت تلویحی به نقش نور و استفاده از این پدیده فیزیکی تاکید کرد. در سـال ۱۹۷۳، در مطالعهٔ جداگانه‌ای خصوصیات یک پروتئین غشایی در باکتری‌ها در باکتری هالوباکتریوم[۲] انتشار یافت[۳]. در سال‌های بعد مشخص شد که این گروه از پروتئین‌های غشای میکروبی به‌نام اُپسین[۳] به‌دلیل وجود ساختار رتینا در درون خود و تأثیرپذیری این موکلول در مقابل نور، ساختار مولکول پروتئینی آن‌ها تغییر شکل می‌دهد و درنهایت منجر به عبور برخی از یون ها از کانال شکل‌گرفته در این نوع پروتئین‌های غشایی می‌شود[۴].

تا سال ۲۰۰۵، اُپسین‌های مختلفی در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها کشف و حساسیت نوری آن‌ها شناسایی شد. به‌طوری‌که در این سال برای اولین‌بار با وارد کردن ژن بیان‌کنندهٔ اُپسـین‌های میکروبی به درون سلول‌های عصبی و بیان آن در این سـلول‌ها، انقلاب بزرگی در عرصهٔ علوم اعصاب رخ داد[۵]. از این سال به بعد مطالعات بسیاری برای شناسایی نقش و عملکرد شبکه‌های عصبی با وارد کردن ژن انواع مختلف پروتئین‌های غشـای اُپسین میکروبی به سلول‌ها و شبکه‌های عصبی انجام شـده است(شکل ۲). ازاین‌رو براساس انتخاب نشریهٔ nature، اپتوژنیک به‌عنوان روش منتخب سال ۲۰۱۰ معرفی گردید[۶].



شـکل۱: فرانسیس کریک در سـال ۱۹۷۱ اعلام کرد برای مطالعه شبکه‌های پیچیده عصبی نیازمند فن‌آوری جدید اسـت و فن‌آوری‌های موجود هیچگاه قادر به شناسایی دقیق نقش و عملکرد این شبکه‌های عصبی نخواهد شد.

تعریف

اپتوژنتیک ترکیبی از علم ژنتیک و روش‌های نوری می‌باشد تا به کمک آن عملکردهای مشـخص در سلول‌های تخصصی بافت‌های زنده ایجاد یا حذف شـوند[۴]. به‌عبارت‌دیگر اپتوژنتیـک ترکیبی از دانش‌های اپتیک، ژنتیک و مهندسـی زیستی است که به‌کمک آن می‌توان فعالیت سلول‌ها را ازطریق پروتئین‌های حسـاس‌به‌نور، مهار یا تحریک کرد. در این روش، تحریک یا مهار فعالیت سلول‌ها به‌کمک بیان پروتئین‌های غشایی حساس به‌نور به روش‌های مهندسی ژنتیک و زیستی بسته به خصوصیات هر یک از پروتئین‌های مورد نظر با پلاریزاسیون یا هیپرپلاریزاسیون انجام می‌شود. ازآنجاکه بیان این پروتئین‌ها در سـلول‌های تخصص‌یافتهٔ بافت‌های زنده ازجمله سلول‌های عصبی انجام می‌شـود، بیشترین مطالعات انجام‌گرفته در زمینهٔ اپتوژنتیک در سیسـتم عصبی مرکزی و سـلول‌های قلبی بوده است[۷و۸].

به‌منظـور معرفی دقیق فناوری اپتوژنتیک می‌توان آن را در سـه بخش مختلف مـورد مطالعه قـرار دارد. در بخش اول پروتئین‌های فعال‌شـده توسط نور[۴] مورد بررسی قرار می‌گیرند. در بخش دوم به‌طور خلاصه روش انتقال ژن پروتئین‌های یادشـده به سـلول‌های یوکاریوت یا سـلول‌های تخصصـی نهایی معرفـی و درنهایت در بخش سـوم روش‌های انتقال نور مرور خواهدشد.

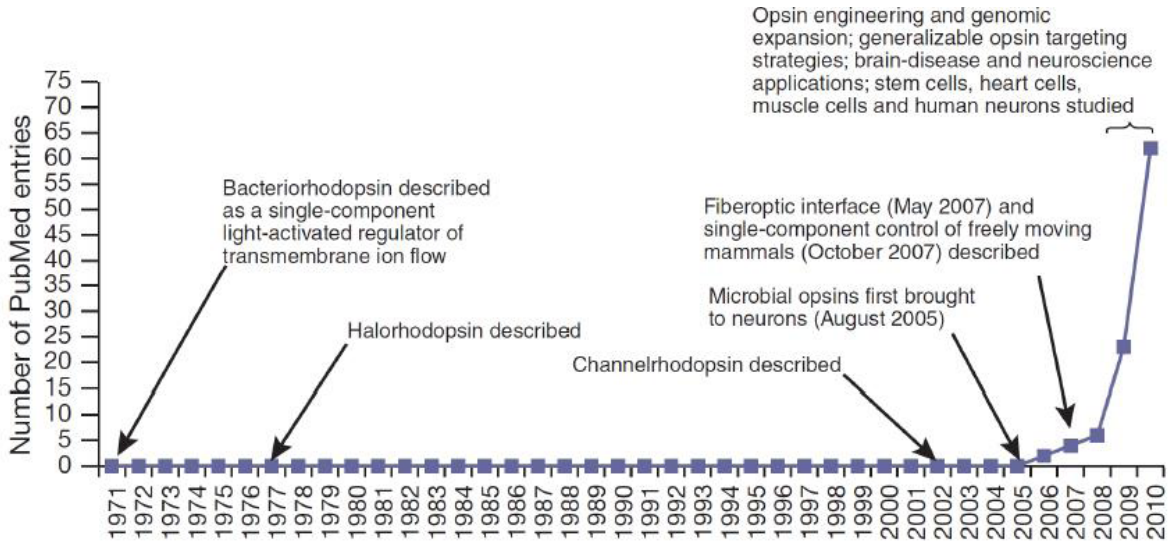
---

۱. Francis Crick

۲. bacteriorhodopsin

۳. bacteriorhodopsin

۴. light-activated proteins



شکل۲: تعداد مقالات منتشرشده در پایگاه اطلاع‌رسانی مجلات پزشکی Pub Med به‌صورت سالیانه. همانگونه که مشاهده می‌شود در سال‌های پس از ۲۰۰۵ افزایش چشمگیری داشته است.

بخش اول: جعبهٔ ابزار اپتوژنتیک

به‌طورکلی ابزار مورد استفاده در اپتوژنتیک برای تحریک یا مهار سلولی براســاس پروتئین‌های فعال‌شده توسط نور تعریف می‌شود. به این معناکه براســاس نیاز محققان به نوع تغییر عملکرد ســلول‌ها و همچنین سرعت عمــل مــورد نیاز، می‌تــوان پروتئین‌هــای مختلفی را از خانوادهٔ اُپســین میکروبی مورد اســتفاده قرار داد[۶]. .همچنین براســاس عملکرد هریک از پروتئین‌ها در ســطح غشــاء و یا در سیتوپلاسم، این ابزارها به دو گروه دســتکاری در پتانسیل غشــایی[۵] و تنظیم‌کننده‌های سیگنال‌های داخل سیتوپلاسمی طبقه‌بندی می‌شوند.

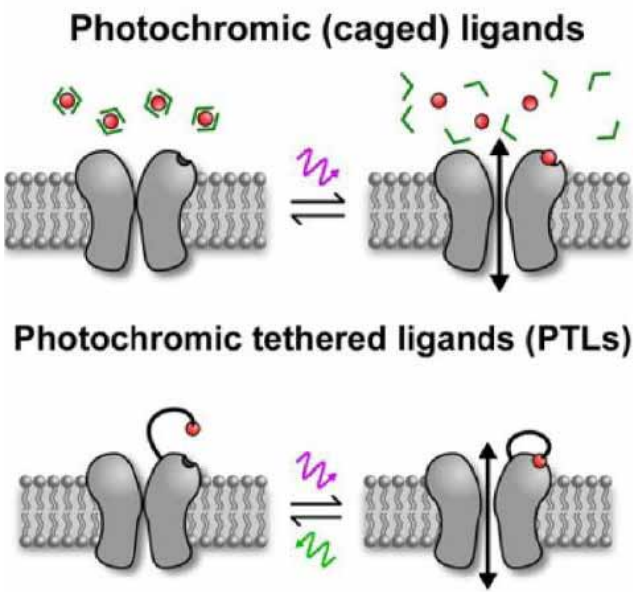
دستکاری در پتانسیل غشاء

در اپتوژنتیک گروهی از پروتئین‌های غشایی مورد استفاده قرار می‌گیرد که به‌دنبال تابش پرتوی نور با طول‌موج مشــخص موجب تغییر ســاختار پروتئین می‌شود و عبور برخی از یون‌ها را تسهیل می‌کند. این پروتئین‌ها براساس مکانیسم اثر نور در تغییر ساختار به دو گروه مشخص طبقه‌بندی می‌شوند.گروه اول پروتئین‌هایی هســتند که به‌دنبال مدیفیکاسیون‌های شــیمیایی در آن‌هــا تغییر ســاختار روی می‌دهند(شــکل ۳) [۶]. از این گروه می‌توان به لیگاندهای محصور شــده[۶]، حلال‌های حســاس‌به‌نور[۷] و لیگاندهای افسار شده[۸] اشاره کرد.

در این گروه پروتئین‌های غشــایی با واســطه‌های شــیمیایی که به نور حساس هستند و انجام پاره‌ای از واکنش‌های شیمیایی آن‌ها با پروتئین‌های غشــایی موجب بروز تغییرات ساختاری در پروتئین‌های غشاء می‌گردد و انتقال یون‌ها از ورای غشاء تسهیل می‌شود.

پروتئین‌های فعال‌شده توسط نور

این گروه از پروتئین‌ها به‌دلیل قرارگرفتن مولکول رتینا و ایزومراســیون نوری آن به‌دنبال تابش برخی از طول موج‌های مشــخص، دچار تغییرات ســاختاری می‌شوند و درنهایت امکان عبور یون‌ها را می‌دهند(شکل ۴). از مهم‌ترین و شناخته‌شده‌ترین پروتئین‌های این گروه می‌توان به اُپسین‌ها اشــاره کــرد. اُپســین‌ها پروتئین‌های غشــایی بــا وزن مولکولی ۵۰-۳۰



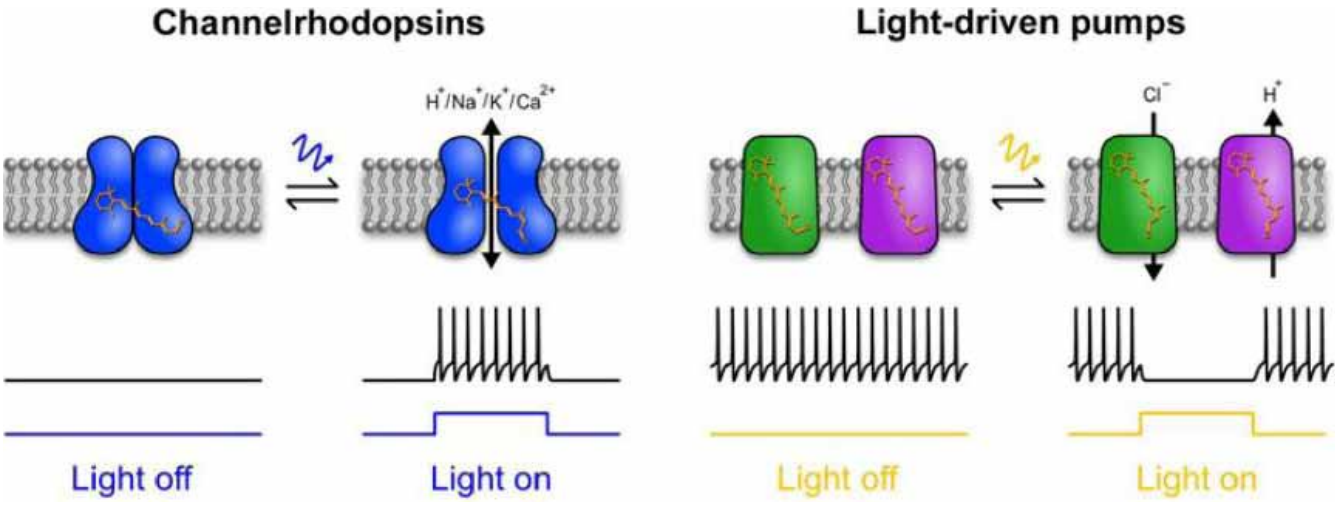
شــکل۳: روش های دستکاری شــیمیایی پروتئین های غشای به دنبال تابش توری با طول موج مشخص در دو روش لیگاندهای محصورشده (بالا) و لیگاندهای افسارشده (پایین)

۵. modulating the membrane potential

۶. caged ligands

۷. light-sensitive soluble

۸. tethered ligands

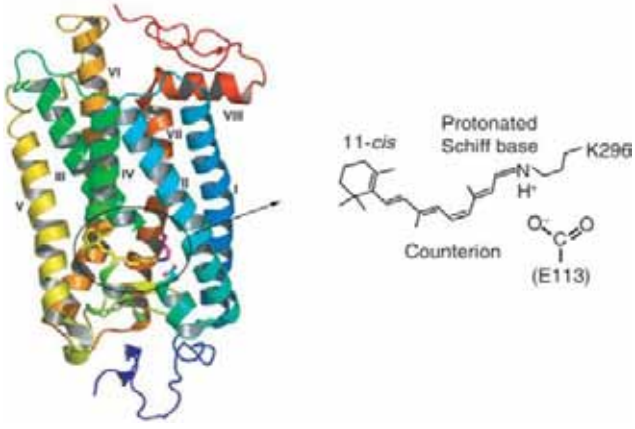


شکل۴: دو گروه از پروندین‌های غشایی از خانواده اپسین‌های میکروبی. کانال رودوپسین‌ها که براثر برهمکنش با نور باعث عبور کاتیون‌ها به داخل سیتوپلاسم و درنتیجه پلاریزاسیون پتانسیل غشای سلول می‌گردد (شکل چپ). در برخی از پروتئین‌های خانواده اپسین‌ها با برهمکنش نور باعث ورود آنیون‌ها و یا خروج پروتون از سیتوپلاسم می‌شود که درنهایت منجربه هیپرپلاریزاسیون و مهار پتانسیل عمل در غشای سلول می‌گردد (شکل راست)

کیلودالتون هستند که جزء پروتئینی مولکول رودوپسین در مهره‌داران نیز می‌باشند و به‌عنوان گیرندهٔ نوری عمل می‌کنند[۹]. پروتئین-های پذیرندهٔ نور مشابه به اُپسین‌های مهره‌داران در ساختار سه‌بعدی مشابه به اُپسین‌های میکروبی می‌باشند ولی به‌لحاظ توالی اسیدهای آمینه متفاوت هستند. اُپسین‌های میکروبی به‌عنوان پمپ‌های یونی وابسته‌به‌نور یا حساسگرهای نوری عمل می‌نمایند ولی شواهد کافی برای ارتباط آن‌ها با اُپسین‌های جانوری وجود ندارند. ازنظر ساختمان فضایی، پروتئین‌های اُپسین به‌دلیل قرارگیری در غشاء از ساختار آلفاهلیکس تشکیل شده‌اند.

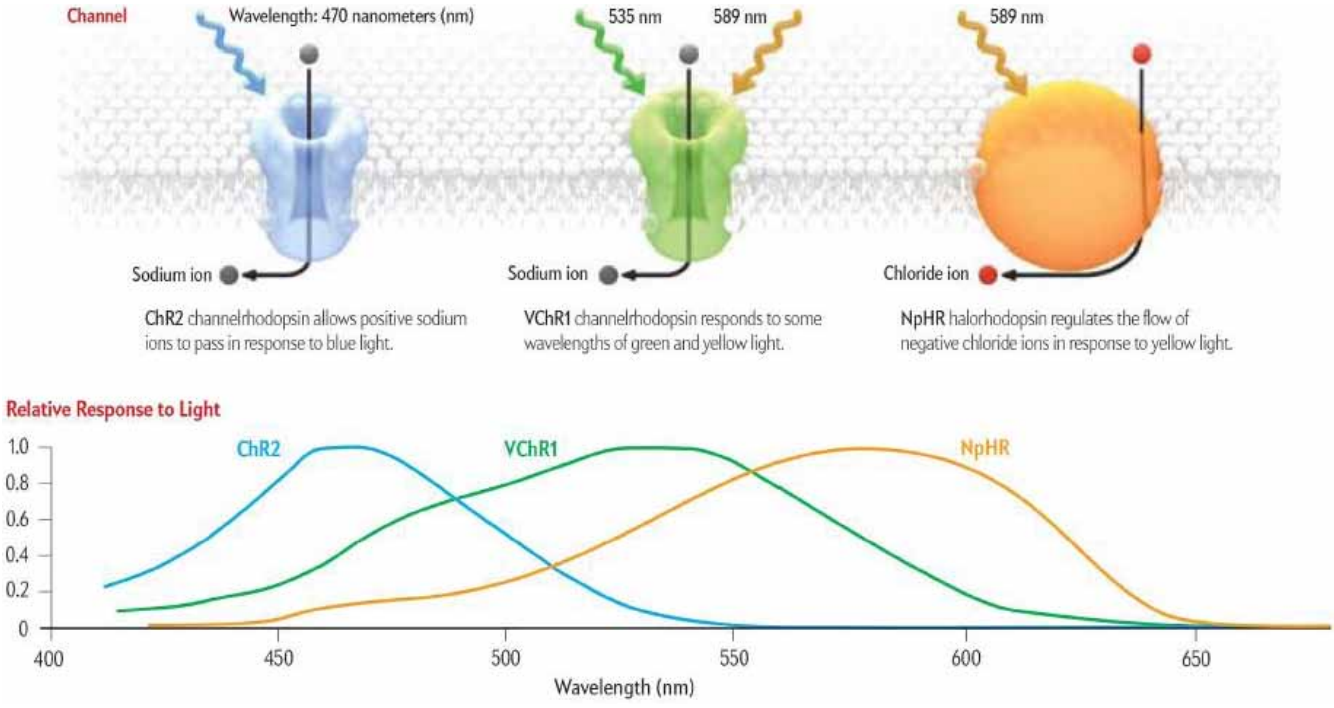
در شکل ۵ که ساختار فضایی پروتئین رودپسین گاوی براساس اطلاعات کریستالوگرافی تعیین شده است، مشاهده می‌شود که این پروتئین از هفت زنجیرهٔ آلفاهلیکس در داخل غشاء و یک زنجیرهٔ آلفا هلیکس به موازات غشای سیتوپلاسمی تشکیل شده است[۹].

به‌طورکلی پروتئین‌هایی را که ساختار فضایی مشابه به اُپسین دارند در دو گروه اُپسین گروه یک یا اُپسین‌های میکروبی و اُپسین گروه دو یا اُپسین‌های مهره‌داران طبقه‌بندی می‌کنند. از معروف‌ترین پروتئین‌های اُپسین گروه یک می‌توان به هالورودوپسین[۹]، باکتریورودپسین[۱۰] و آرچیرورودپسین[۱۱] اشاره‌کرد[۱۰]. همان‌گونه‌که در شکل۶ مشاهده می‌شود، کانالورودپسین (ChR2)[۱۲] در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر (نور آبی) ۴ ایزومریزاسیون نوری موکلول رتینا انجام می‌شود و اجازهٔ ورود یون سدیم را به داخل سلول می‌دهد. پروتئین غشای هالورودوپسین نیز در طول‌موج ۵۸۹ نانومتر (نور نارنجی) ایزومریزاسیون نوری خود را انجام می‌دهد و درنتیجه باعث تغییر ساختار پروتئین می‌گردد ولی در مقابل، باعث ورود آنیون-های کلر و ایجاد هیپرپلاریزاسیون و درنتیجه مهار پتانسیل عمل در غشای سلول خواهد شد. مکانیسم تغییر ساختار پروتئین‌های اُپسین وابسته به ایزمریزاسیون نوری موکلول رتینا در داخل این پروتئین است. مولکول رتینا در اُپسین‌های نوع یک یا اُپسین‌های میکروبی درحال‌طبیعی و غیرتحریک‌شده به‌صورت ترانس قرار دارند. این حالت ترانس رتینا می‌تواند با دریافت مقدار اندکی انرژی در محدودهٔ امواج نور مرئی به حالت ۱۴ سیس‌رتینا ایزومره گردد. عدم تبدیل حالت ترانس به حالت سیس به‌دلیل وجود سدی از انرژی می‌باشد که این امکان درحالت عادی و بدون دادن انرژی خارجی ایجاد نمی-شود[۱۰].



شکل ۵: ساختار سه بعدی رودوپسین گاو (Protein Data Bank ID:۱U۱۹[PDB:۱U۱۹]) و مولکول رتینا که ایزومراسیون نوری آن باعث تغییر در ساختار سه بعدی رودپسین می‌گردد.

۹. halorhodopsin
۱۰. bacteriorhodopsin
۱۱. ۳-archaerhodopsin
۱۲. channelrhodopsins



شـکل۶: سـه‌گروه از اپسین‌های میکروبی که در طول‌موج‌های مختلف موجب تغییر در سـاختار و در نهایت اجازه ورود یون‌ها را به درون سلول می‌دهد. براساس نوع یون واردشده به پتانسیل عمل غشای سلول فعال یا مهار می‌گردد.

بااین‌حال پس از دریافت انرژی نور در محدودهٔ مرئی و عبور از سد انرژی سـاختار فضایی پروتئین اُپسـین تغییر می‌کند و درپی آن و عبور یون‌ها و یا فعال شـدن یک‌سری از سیگنال‌های درون‌سلولی میسر می‌شود. این مسـیر در اُپسین‌های نوع دو یا اُپسـین‌های جانوری معکوس می‌باشد به طوری‌که در حالت پایه (تاریکی) مولکول رتینا به‌صورت[۱۱] سیس‌رتینا می‌باشـد و با دریافت انـرژی در محدودهٔ نور مرئی با عبور از سـد انرژی بـه حالت ترانس‌رتینا درمی‌آید و درنهایت موجب تغییر در شـکل فضایی پروتئین خواهد شد[۱۰].

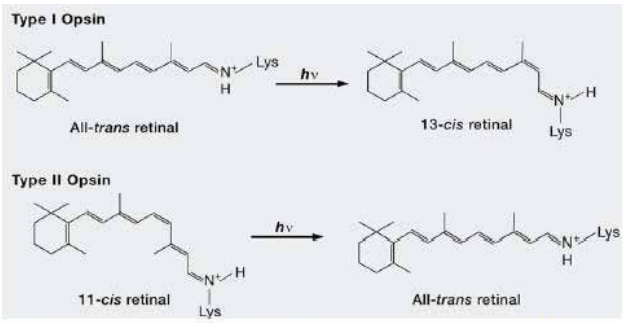
یکی از مهم‌ترین مسـائل در تغییر سـاختار فضایی اُپسین‌ها و برگشت آن‌ها به‌حالت پایه(تاریکی)، سرعت این تغییرات ساختاری می‌باشد[۱۲]. محققـان با انجـام جهش‌های مختلف در اسـیدهای آمینه اُپسـین‌های میکروبی، توانسـتند سرعت تغییرات ساختاری و فعالیت یا مهار پتانسیل غشـاء را کنترل کنند. زمان برگشـت‌پذیری پروتئین و آماده شدن جهت تحریک دوباره براساس نوع توالی اسیدهای آمینه در بازه‌های زمانی میلی ثانیه تا بیش از هزار ثانیه متفاوت است.

تاکنون پروتئین‌های جهش‌یافتهٔ بسـیاری از گروه اُپسین‌های میکروبی بدین‌منظور مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و به‌طور خلاصه در شکل ۸ آورده شده است.

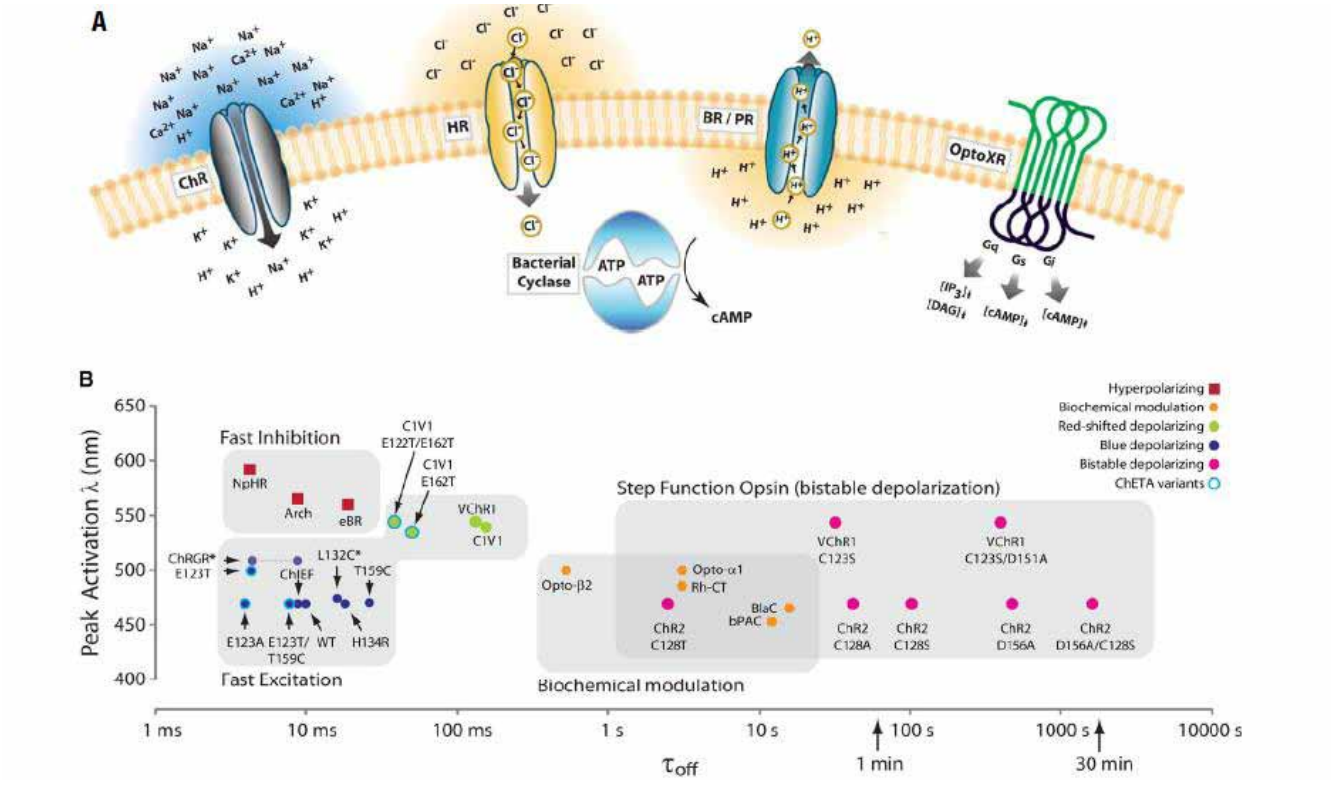
بخش دوم: نحوهٔ انتقال به سلول یوکاریوت

پس از انتخاب یک ابزار مناسـب (پروتئین مناسـب از خانوادهٔ اُپسـین هـای میکروبی) در قدم بعد می‌باید با اسـتفاده از فناوری ژنتیک، امکان بیان این پروتئین در سـلول صورت گیرد .به‌طورمثال بیشترین مطالعه در سال‌های اخیر با استفاده از فناوری اپتوژنتیک در حوزهٔ مطالعهٔ شبکه‌های عصبی برروی مدل‌های تجربی(in-vivo) انجام شـده است. برای ورود اختصاصی ژن پروتئین مذکور از سـه روش استفاده می‌شود. این روش‌ها به‌ترتیب عبارت از ترانسفکشـن، انتقال از طریق وکتورهای ویروسی و در نهایت تولید حیوانات ترانس ژنیک می‌باشد[۶].

مرحلهٔ ورود ژن به سلول‌های هدف به‌صورت اختصاصی می‌باشد. به‌طور کلی برای این منظور از دو نوع پروموتور اختصاصی و غیر اختصاصی استفاده می‌شـود. درخصوص پروموتورهـای اختصاصی می‌توان به سیسـتم‌های



شـکل۷: ایزومریزاسـیون نوری مولکول رتینا اسـاس تغییر سـاختار پروتئین‌های اپسین میکروبی (اپسین نوع یک) و اپسین جانوری (اپسین نوع دو) می‌باشد.



شکل ۸: پروتئین‌های مختلف از خانواده اپسین‌های میکروبی که زمان متفاوتی جهت برگشت به حالت پایه (تاریکی) و فعالیت دوباره درمقابل نور دارند.

مبتنی‌بر سیستم Cre اشاره کرد که با استفاده از ریکامبینازهای اختصاصی عمل می‌کنند. روش بعدی استفاده از پروموتورهای غیراختصاصی است. دراین‌حالت وارد کردن وکتور به یک منطقهٔ جغرافیایی (توپولوژی) از بافت، سبب می‌شود تا بیان ژن در سلول‌های آن منطقه صورت گیرد و بدین‌وسیله عملکرد آن منطقه درخصوص فعال شدن یا مهار شدن سلول‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد[۶].

بخش سوم: تابش نور کنترل‌شده

کنترل دقیق فعالیت سلولی ازطریق اپتوژنتیک وابسته به کنترل فضایی و زمانی مناسب و دقیق تابش نور می‌باشد[۴و۶]. استفاده از منابع نوری با تابش زمینهٔ وسیع می‌تواند موجب کنترل زمانی بسیار دقیق در سرعت‌های بالا با یک منبع نوری ثابت گردد. تمام سلول‌هایی‌که پروتئین‌های حساس به‌نور در آن‌ها بیان شده است تحت تابش قرار می‌گیرند و تحریک می‌شوند. در کاربردهای in-vivo منبع نوری به یک فیبر نوری اتصال می‌یابد و یا از سیستم‌های LED مینیاتوری استفاده می‌شود.

امروزه، با استفاده از فناوری اپتوژنتیک می‌توان سیستم عصبی مرکزی و شبکه‌های عصبی را تا سطح پریمات‌ها مورد بررسی قرار داد[۱۲-۱۴]. یکی از مهم‌ترین کاربردهای اخیر اپتوژنتیک در مدل‌های تجربی مرتبط با بیماری پارکسینون می‌باشد.

دریچهٔ وسیعی از کاربرد فناوری اپتوژنتیک با ورود اُپسین‌های مختلف، با توجه به سرعت عملکرد آن‌ها، برگشت به حالت پایه و مهار یا تحریک پتانسیل عمل پیش روی درمان بیماری‌های دژنراتیو مغزی و ضایعات تروماتیک باز شد. استفاده از اپتوژنتیک به‌طورکلی در دو بخش شناسایی عملکرد و رفتاری مرتبط به شبکه‌های عصبی و یا درمان ضایعات دژنراتیو مغزی صورت می‌گیرد.

هرچندکه عمر فناوری اپتوژنیک کمتر از ۵ سال می‌باشد ولی شواهد بیانگر آن است که این فناوری گامی بسیار جدی در حل مشکلات مرتبط به مطالعهٔ سیستم‌های عصبی در مدل‌های تجربی و انسانی و درمان ضایعات عصبی تحلیل‌برنده خواهد داشت.

References:

1. http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease

2. Crick FH. Thinking about the brain. Sci Am. 1979; 241(3): 219-32.

3. Oesterhelt D, Stoeckenius W. Functions of a new photoreceptor membrane. Proc Natl Acad Sci U S A. 1973; 70(10): 2853-7.

4. Deisseroth K. Optogenetics. Nat Methods. 2011; 8(1): 26-9.

5. Gradinaru V. Targeting and readout strategies for fast optical neural control in vitro and in vivo. J Neurosci. 2007; 27(52): 14231- 8.

6. Pastrana E. Optogenetics: controlling cell function with light. Nature Methods 2011; 8: 24-5.

7. Fenno L, Yizhar O, Deisseroth K. The development and application of optogenetics. Annu Rev Neurosci. 2011; 34: 389-412.

8. Miller G. Optogenetics. Shining new light on neural circuits. Science. 2006; 314(5806): 1674- 6.

9. Terakita A. The opsins. Genome Biol. 2005; 6(3): 213.

10. Zhang F. The microbial opsin family of optogenetic tools. Cell. 2011; 147(7): 1446-57.

11. Cronin T, Bennett J. Switching on the lights: the use of optogenetics to advance retinal gene therapy. Mol Ther. 2011; 19(7): 1190-2.

12. Mahoney TR. Intestinal signaling to GABAergic neurons regulates a rhythmic behavior in Caenorhabditis elegans. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105(42): 16350-5.

13. Boyden ES. A history of optogenetics: The development of tools for controlling brain circuits with light. F1000 Biol Rep. 2011; 3: 11. 8

14. Yao JP, Hou WS, Yin ZQ. Optogenetics: a novel optical manipulation tool for medical investigation. Int J Ophthalmol. 2012; 5(4): 517-22.