ISSN (Print) 1225-9918
ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science **2015** Vol. 25. No. 8. 953~959 DOI : http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2015.25.8.953

- Review -

Optogenetics: a New Frontier for Cell Physiology Study

Jonghoe Byun*

Department of Molecular Biology, Dankook University, Yongin 16890, Korea

Received August 18, 2015 / Revised August 24, 2015 / Accepted August 25, 2015

Optogenetics is the combination of optical and molecular strategies to control designated molecular and cellular activities in living tissues and cells using genetically encoded light-sensitive proteins. It involves the use of light to rapidly gate the membrane channels that allows for ion movement. Optogenetics began with the placing of light-sensitive proteins from green algae inside specific types of brain cells. The cells can then be turned on or off with pulses of blue and yellow light. Using the naturally occurring algal protein Channelrhodopsin-2 (ChR2), a rapidly gated light-sensitive cation channel, the number and frequency of action potentials can be controlled. The ChR2 provides a way to manipulate a single type of neuron while affecting no others, an unprecedented specificity. This technology allows the use of light to alter neural processing at the level of single spikes and synaptic events, yielding a widely applicable tool for neuroscientists and biomedical engineers. An improbable combination of green algae, lasers, gene therapy and fiber optics made it possible to map neural circuits deep inside the brain with a precision that has never been possible before. This will help identify the causes of disorders like depression, anxiety, schizophrenia, addiction, sleep disorder, and autism. Optogenetics could improve upon existing implanted devices that are used to treat Parkinson's disease, obsessive-compulsive disorder and other ailments with pulses of electricity. An optogenetics device could hit more specific subsets of brain cells than those devices can. Applications of optogenetic tools in nonneuronal cells are on the rise.

Key words : Algae, brain, channelrhodopsin, light, optogenetics

서 론

광유전학(optogenetics)은 빛(opto)과 유전학(genetics)을 결합한 용어로서 광반응성 단백질을 이용하여 세포의 생리를 연구하는 학문으로 정의될 수 있다. 이 학문은 막전위를 조절할 수 있는 광반응성 채널 단백질의 발견으로부터 시작되었는데, 빛과 유전공학 기술을 이용해 뇌 신경세포의 활동을 조절할 수 있는 신기술로서 현재 뇌연구에 새로운 서광을 비추고 있다. 신경세포는 전기 자극을 매개로 정보를 주고받는데, 전류가 흘러 신경세포막이 탈분극되어 활성화되면 축색돌기 말단에서 신경전달물질을 분비하고 시냅스를 형성한 이웃 신경세포의 수용체를 통해 새로운 막전위를 유발해 신호를 전달하게 된다. 그런데 전기가 아닌 빛을 이용하여 신경세포를 자극할 수 있는 방법을 찾으면 뇌 신경회로를 임의로 조정할 수 있게 되고 이는 신경생리학 연구 및 뇌/신경 질환의 치료에 새로운 전기를 마련해줄 수 있다. 2005년 이런 생각이 처음으로 현실화되어 광유전학 시대가 열리게 되었다. 미국의 Karl Deisseroth 등은 주광성(走光性)을 갖는 작고 둥근 단세포 녹조류에서 추출한 'Channelrhodopsin-2 (ChR2)' 단백질을 실험 배양한 포유류 신경세포에 심었고 이어 빛을 쬐여 주자 신경세포가 활성화됨을 보고하였다[5]. 거의 동시기의 많은 후속 연구들을 통해 광유전학 도구들을 사용하여 빛을 쪼여준 신경세포에서 전기신호를 유도할 수 있음이 확인되었고, 이 신호는 정확히 빛을 준 타이밍에 맞추어 발생하게 할 수 있음이 증명되었다. 또한 하나의 신경세포에 동일한 빛 자극을 여러 번 주었을 때 발생하는 전기 자극이 대단히 재현성이 높음이 확인되었고 빛의 자극을 주는 시간과 간격을 통제하면 거기에 맞춰서 신경세포의 전기 자극도 정확하게 통제될 수 있음이 밝혀졌다[5, 29]. 또한 신경세포가 아닌 심장 세포나 줄기세포에서도 이런 광유전학적 도구가 효과적으로 사용될 수 있음이 보고되었다[21, 27]. 바야흐로 신의 리모컨이라 불리는 광유전학 도구를 이용하여 이제 원하는 시점에, 원하는 곳에서 정교한 신경회로 조작이 가능해졌다.

Opsin 단백질들의 발견과 광유전학으로의 접목

자연계에는 빛에 반응할 수 있는 opsin 단백질이 존재하는데, 이들은 빛에 민감한 transmembrane 단백질로서 chromophore인 retinal이 공유결합으로 붙어 있다. Retinal은 빛 에너지를 흡수하여 *trans* 형태에서 *cis* 형태로 이성질화되고 단백질은 활성화된다[1]. *Halobacterium salinarum*은 운동성을 지닌 개

***Corresponding author**
Tel : +82-31-8005-3194, Fax : +82-31-8021-7201
E-mail : jonghoe@dankook.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

체로서 빛을 유일한 에너지원으로 하여 살 수 있는데, 4개의 retinal protein을 지니고 있다. Bacteriorhodopsin은 빛을 에너지로 바꾸는 proton pump로서 1970년대 초반에 발견되었고 곧 이어 halorhodopsin이 발견되었는데, 이는 chloride pump로서 salt 농도 조절에 중요한 역할을 담당한다. 또 sensory rhodopsin 1과 2는 각각 주광성에 중요한 단백질로서 orange light와 blue light에 반응하게 된다. 이런 중요성들에도 불구하고 이 세균이 고염 환경에서 자랐기 때문에 (halophile) 초기에는 신경세포로의 응용까지는 생각이 미치지 못했다. 그러나, 1999년 Okuno 등이 rhodopsin을 신경세포에 사용할 수 있는 가능성이 있음을 보고하였는데, *Halobacterium salinarum*에 비해 *Natronomonas pharaonis*의 rhodopsin은 신경조직에서 보이는 chloride 농도와 비슷한 조건에서 잘 기능함을 밝혔다[22]. 그러나, 여전히 이 단백질들이 신경조직에서 발현되고 기능할 지에 대해서는 추가적인 연구가 필요한 상황이었다. 2002년에는 Gero Miesenbock과 그 동료들이 세 개의 유전자를 이용한 phototransduction cascade를 초파리(*Drosophila melanogaster*)에서 실현하였는데, 이들의 실험에서는 arrestin-2, rhodopsin, 그리고 heterotrimeric G-protein의 alpha subunit을 조합한 chARGe를 사용하였고, 빛에 노출 시 chARGe를 발현하는 세포(chARGed hippocamal neurons)가 그렇지 않은 세포에 비해 훨씬 더 활동성이 좋음을 보고하였다[32]. 그러나 신경세포의 활성에 수초가 소요되는 등 즉각적이지 못한 단점이 있었고, 시간적으로 즉시 활성화를 유도할 수 있는 방법의 개발이 필요하게 되었다.

그 후 미생물을 연구하던 게오르그 나겔(Georg Nagel)과 페터 헤게만(Peter Hegemann)의 공동 연구팀에 의해 *Chlamydomonas reinhardtii* 라는 작고 둥근 단세포 녹조류의 주광성이 light-gated cation channel인 channelrhodopsin-2 (ChR2)에 기인함이 밝혀졌다[18]. ChR2는 seven transmembrane α helix protein이고, channelrhodopsin이 망가진 돌연변이인 H17에서는 그런 반응이 사라졌다[14]. ChR2는 주로 빛이 적은 환경에서 발현되며, *Chlamydomonas reinhardtii*의 어두운 환경 적응에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 그 이듬해엔 Nagel과 그 동료들이 ChR2를 *Xenopus laevis*의 oocyte와 human embryonic kidney 세포주에서 발현시켰고, 빛을 이용하여 이 세포들의 탈분극을 유도할 수 있음을 보고하였다[19]. 이를 통해 ChR2가 직접적으로 빛에 의해 조절될 수 있는 cation-selective ion channel로서 photon 흡수 후 재빨리 열리고 1가와 2가의 양이온을 통과시킴을 밝혔다. 2005년에는 배양한 mammalian hippocampal neurons에 ChR2를 발현시켜 제대로 기능함을 보였고, ChR2에 의해 생성된 전류는 활동전위를 유발시키기에 충분함도 밝혔다. 또 낮은 불활성화율과 빠른 회복시간도 확인하였다[4]. 2007년에는 Boyden 그룹이 *N. Pharaonis*의 halorhodopsin을 chloride ion channel로서 neural silencing에 사용하였고[12], Deisseroth 그룹도 동일한 관찰과 더불어 꼬마선충 (*C. elegans*)의 행동조절에 halorhodopsin을 사용하였다[33]. 그러나, halorhodopsin은 전류 크기가 작았고, 재활성화에 취약한 단점이 있었다. 2009년에는 Boyden 그룹이 nonhuman primate brain에서 millisecond-timescale optical control이 가능함을 보고했고[14], 이 연구를 통해 ChR2가 macaque monkey에서 발현되어 특정 신경세포들을 면역반응이나 사망 없이 잘 조절할 수 있음을 제시하였다. 2010년에는 Archaerhodopsin (Arch)이 halorhodopsin이 지니고 있던 문제점을 해결할 수 있음이 보고되었다[6]. 이 연구에서는 의식이 있는 mice의 cortical neuron들에서 Arch가 100% neural silencing을 가져올 수 있음을 관찰하였고, 장시간의 자극 후에도 Arch가 빨리 회복이 되며, 세포 밖으로 proton을 내보냄으로써 hyperpolarization을 유도함이 확인되었다. 최근에는 ChR2가 mice의 여러 조직에 도입되었는데, 신경회로의 활성화와 더불어 심장근육의 수축을 조절하였고, 척수 손상 후에 호흡을 회복시키기도 했다. 또 망막이 퇴화된 쥐의 retinal ganglion 세포에서 ChR2를 인위적으로 발현시켜 시각을 회복시키기도 하였다[11].

광유전학을 이용한 분자 간 상호작용 연구

빛을 흡수하는 단백질 영역과 분자간 상호작용하는 effector domain을 융합시킨 chimeric protein을 이용하여 세포 내 신호전달과 분자간 상호작용을 조절할 수 있는 방법도 개발되었다[2]. OptoXR은 bovine rhodopsin과 adrenergic G protein-coupled receptor의 intracellular component로 구성된 chimeric protein으로서 G protein이 매개하는 신호전달 과정을 조절할 수 있다[2]. 또, light, oxygen, voltage (LOV) domain 같은 비막성 광센서 단백질들은 세포 내 effector protein과 결합하여 conformation 변화에 따른 allosteric regulation으로 세포 반응을 조절하기도 한다[25]. 최근 스위스 연구팀은 광유전학을 통해 인슐린 생산을 조절하는 데 성공했다[30]. 이들은 인간의 망막에 위치한 melanopsin 단백질을 응용했는데, 이 단백질은 ChR2처럼 빛에 반응하는 단백질이다. 빛을 쏘아주면 melanopsin이 열리면서 세포 안으로 다량의 양이온이 들어오고, 이렇게 세포 안으로 유도된 양이온은 2번째 인자를 활성화한다. 2번째 인자는 인슐린 생산에 관여하는 인자로서 이번 연구는 특정 단백질 생산을 사람의 몸 안에서 빛을 통해 조절할 수 있는 가능성을 제시하였다. 최근에는 ChR2가 생쥐의 심장 세포 박동을 조절하는 데까지 응용되었고[21], 이런 신경세포 외적인 적용은 앞으로 계속 늘어날 것으로 예상된다.

막전위 조절 도구들

서로 다른 파장의 빛을 이용하면 여러 신경세포의 활동을 동시에 조정할 수도 있는데, 일 예로 파란빛으로 한 neuron을 활성화하고 오렌지 빛으로 다른 neuron의 활동을 억제하는 식이다(Fig. 1). 이런 neuronal switch의 첫 번째 케이스는 비선

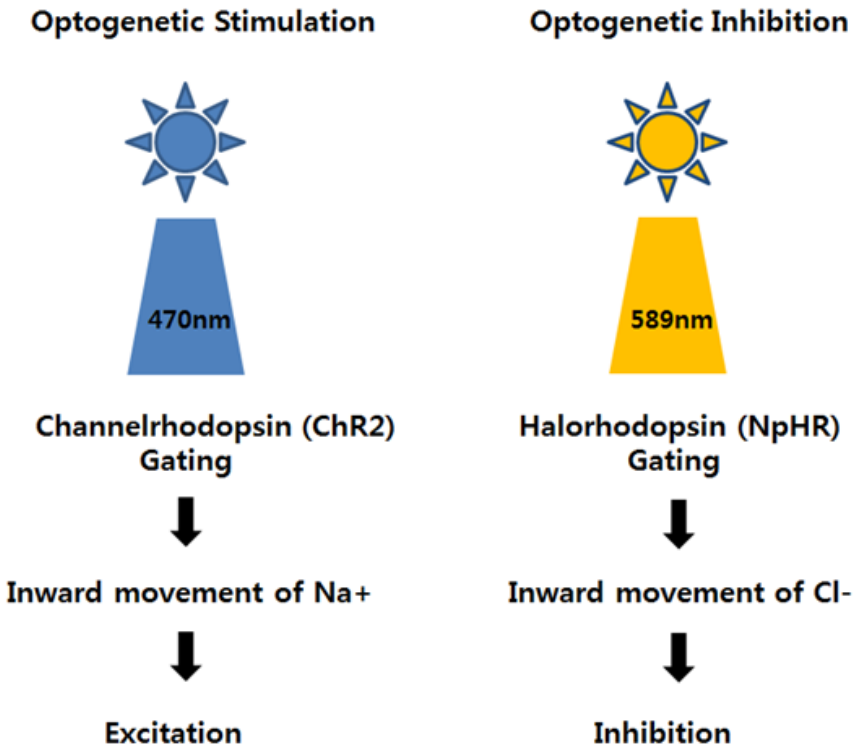

Fig. 1. Principles of optogenetics. The cells that harbor light-sensitive rhodopsin channels can be selectively stimulated or inhibited, giving cellular specificity. Channelrhodopsin (ChR2) is gated by the blue light (470 nm) to stimulate the neuron (Inward movement of Na^+ ion), whereas Halorhodopsin (NpHR) is gated by yellow light (589 nm) to inhibit the neuron (Inward movement of Cl^-). Halorhodopsin is a light-activated chloride pump from Archaebacterium *Natronomas pharaonis* that is inactivated after 1 sec. Optogenetic tools provide projection specificity, which is very difficult to obtain by conventional electric stimulation method, due mainly to the large size of electrodes.

택적 cation channel인 channelrhodopsin-2 (ChR2)인데 이를 신경세포에서 발현시키면 470 nm의 파란색 빛에 의해 탈분극되어 spike를 일으킨다. ChR2의 변형된 형태로 좀더 빠른 ChETA mutants가 개발되었는데, 이는 40 hertz 이상의 좀더 빠른 frequency에서 작동한다. 반면에 SFO variants는 ChR2의 느린 버전으로서 좀 더 오랜 시간동안 지속적인 여기 상태를 유지할 수 있고 green light에 의해 복귀될 수 있으며 470 nm 이외에 542 nm로도 작동될 수 있다. Channelrhodopsin-1 (VChR1)은 ChR2와 유사한 단백질로서 red-shifted light (535-589 nm)에 의해 작동한다[23]. 한편 신경신호전달을 억제할 수 있는 도구로는 *Natronomonas pharaonis*에서 얻어진 halorhodopsin (NpHR)이 대표적이다. Halorhodopsin은 589 nm의 빛에 의해 작동하는 chloride pump로서 신경세포의 과분극을 유도하여 신호전달을 억제한다. 이런 억제 용도로는 575 nm 빛에 반응하는 Archaerhodopsin-3 (Arch), 470-500 nm 빛에 반응하는 Mac (Leptosphaeria maculans opsin), 560 nm 빛에 반응하는 bacteriorhodopsin (eBR), 472 nm 빛에 반응하는 rhodopsin-3 (GtR3) 등의 광반응성 proton pump들이 있다. 이런 다양한 opsin 단백질을 이용하면 신경세포에서 서로 다른 파장의 빛으로 선택적인 silencing을 유도할 수 있다(Fig. 2).

광유전학 도구들의 *in vivo* 검증

2005년 포유류 신경세포에서 빛과 채널로돕신이 리모컨과 수신기로 사용된 연구 결과가 발표된 이후, 같은 해에 신경세포가 아닌 동물 '개체 수준'에서의 행동을 최초로 조작한 논문도 발표되었다[17]. 이를 기화로 초파리와 쥐를 비롯한 수많은 생명체에서 채널로돕신을 이용해 행동을 조작한 연구들이 뒤를 이었다. 다양한 opsin 단백질들을 이용한 신경세포의 활성화/비활성화 연구들과 더불어 생체에서 이런 광유전학 도구들의 유용성을 조사하는 연구들이 *C. elegans*, *Drosophila*, zebrafish, mouse, rat, nonhuman primate 등의 여러 모델개체들에서 진행되어 왔다.

초파리(*Drosophila melanogaster*)

*Drosophila*는 광유전학의 초창기에 시도된 모델로서 빛에 의해 개폐되는 이온 채널 단백질(phototrigger)을 *Drosophila*의 neuron에 발현시켰고, 그 이후에 초파리에 355 nm 레이저 빛을 쏘아 주었다. 그 결과 빛을 쪼여준 초파리는 엄청나게 활발하게 움직이기 시작하였는데, 그 이유는 빛이 초파리 중추 신경에 발현된 이온채널을 활성화시켜 초파리 자신이 통제할 수 없는 엄청난 전기 신호들이 몸 안에 발생했기 때문이다. 반

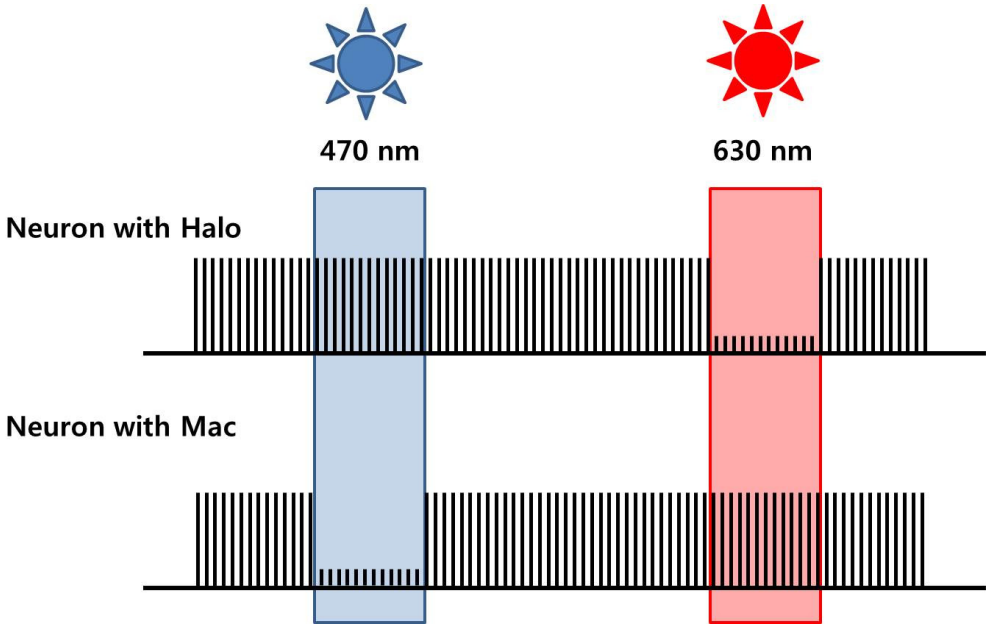

Fig. 2. Selective multicolor silencing using different opsin proteins in different neurons. The neuron expressing Halo (*Natronomonas pharaonis* halorhodopsin) is inhibited by red light (630 nm), whereas the one expressing Mac (*Leptosphaeria maculans* opsin) is inhibited by blue light (470 nm). Modified from Chow *et al*. (2010) & Boyden (2011).

면, 일반적인 초파리는 빛의 존재 유무에 상관없이 거의 움직이지 않았다[16].

꼬마선충(*C. elegans*)

채널로돕신 유전자를 투명한 꼬마선충의 촉각 신경세포들에서 발현시킨 다음 빛을 쬐어주면 놀랍게도 벌레들이 뒤로 물러나는 행동을 유발할 수 있다. 이와 동일한 실험을 머리를 두드려도 뒤로 도망가지 않는 '행동 장애'를 가진 꼬마선충에서도 수행하였는데, 흥미롭게도 센서가 망가진 돌연변이 벌레들이 촉각신경을 빛으로 켜주자 회피반응을 보이기 시작했다[28]. 이는 비록 센서가 망가져 있더라도 전체 회로는 정상이며, 센서가 물리적 자극을 받았을 때 일으키는 전기적 사건을 광유전학적으로 빛을 이용해 동일하게 인위적으로 일으킬 수 있음을 보여 준다. 또, 꼬마선충의 'Nictation (굶으면 춤추는 진기한 행동)' 돌연변이에서 빛으로 춤추는 행동의 신경회로를 인위적으로 켜줌으로써 다시 춤추는 행동을 유발한 결과도 발표되었다[15]. 이런 결과를 통해 광유전학이 인간의 신경정신 질환 치료에 기여할 수 있음을 보여주었고, 동일한 방식으로 인간의 각종 질환과 장애들의 치료에도 응용될 수 있음을 제시하였다. 광유전학 연구가 꼬마선충에서 활발히 이루어질 수 있었던 배경중의 하나는 300개 남짓한 신경세포로 이루어진 꼬마선충의 전체 신경네트워크가 비교적 잘 밝혀졌기 때문이다.

Mouse & rat

꼬마선충이나 초파리에서의 실험에서 더 나아가 지금은 엄청나게 발달한 기술들이 많은 실험쥐에서 진행되고 있다. 그리고 또 파킨슨 병과 같이 실제 질환이 있는 쥐 모델을 사용해서 실험하기도 하는데, 이 경우 원래는 잘 움직이지 못하던 쥐가 빛을 받게 되면 운동 능력이 향상되는 결과들이 속속 보고 되고 있다. 또한 동시에 여러 종류의 신경을 자극하기도 하고, 전기 신호를 활성화/비활성화 하는 단백질들을 동시에 사용해서 좀 더 복잡한 시스템을 만드는 연구들도 함께 진행되고 있다. 2007년에는 채널로돕신 유전자를 가진 생쥐가 제작되어 실제 살아 움직이는 생명체의 신경회로를 조작할 수 있는 길이 열렸고, 이를 이용하여 생쥐 뇌에 광섬유를 꽂아 특정 기억을 담당하는 뉴런을 자극해 기억을 조작하는 연구들도 진행되고 있다[3]. 최근 생쥐를 대상으로 한 동물실험에서 편도체의 특정 신경망이 쥐의 불안감을 조절한다는 사실이 규명되었다[8]. 이들은 광유전학 기술을 적용해 쥐의 편도체에 빛을 쪼여주어 불안감을 제거하였고, 이는 광유전학 기술이 불안장애와 같은 정신질환 치료제 개발에 새로운 도구가 될 수 있음을 시사한다. 또한 파킨슨병에 걸린 쥐를 모델로 광유전학 기술을 적용해 쥐들의 병세가 호전될 수 있음도 보고되었다[31]. 또, 최근의 시력회복 연구들도 두드러지는데, 광유전학 기술을 적용한 장님 생쥐의 인공망막개발이 성공하였다[20]. 이는 눈 속 깊숙한 곳에 일련의 전극을 이식해야 하는 현재의 인공 망막 기술에 비해 외부의 배터리를 필요로 하지 않으며 외과 수술도 필요로 하지 않는 장점이 있다. 한편, 미국에서는 광유전학 기술을 적용해 망막세포를 흥분시키고 시신경망을 활성화시켜 생쥐의 시력을 기초적인 수준까지 회복시킨 연구가 보고되었다[9].

광유전학 기술의 한계

뇌는 레이저 등의 빛이 그대로 투과해 들어가기 어렵기 때문에 반드시 외과적 수술을 통해 부위를 절제하고 빛을 뇌의 특정 부위까지 갖다 대야 하는 불편함이 있다. 또, 광유전학 도구를 이용한 특정 신경세포의 자극은 정확한 신경세포 연결망, 즉 정밀한 회로도가 파악된 후에야 가능하고, 그래야만 원치 않는 회로로부터의 부작용도 줄일 수 있다. 현재 기능성 자기공명장치(fMRI)는 해상도가 떨어져 광유전학 목적에 부합하지 못하고, 고해상도 뇌 지도를 구축하는 프로젝트도 '살아 있는 뇌'를 대상으로 하지 않기 때문에, 이런 한계들을 극복할 수 있는 소위 '미래 뇌지도'의 완성이 앞으로 신경과학 분야에서 광유전학의 성공에 중요한 관건이 될 것이다. 이런 측면에서의 최근의 진보는 뇌 연결망을 3차원적으로 정확하게 보여주는 'CLARITY'지도이다[7]. 한편, 2012년 녹색형광단백질(GFP)을 이용한 신경망 지도 제작 기술(mGRASP)이 개발되었는데, 이는 반으로 쪼갠 GFP 둘이 서로 가까워지면 다시 빛을 내는 특성을 이용하여 형광빛을 기준으로 시냅스로 연결된 신경세포들을 찾아낼 수 있는 기술이다[10]. 또한 전압 변화에 따라 빛이 달라지는 형광단백질인 '봉우리(Bongwoori)'를 신경세포에 붙이면 세포막 전압 변화에 따른 신경신호전달 과정을 실시간으로 추적할 수 있다[24].

신경과학 분야에서 극복해야 할 또 다른 문제는 '광센서' 유전자의 생체 이식에 사용되는 바이러스 벡터이다. 독성이 있을 수 있는 부분을 상당히 제거했다지만 인체에 쓰이기에는 아직도 위험한 요소들이 있으므로 보다 면밀한 안전성 연구가 진행되어야만 한다. 뇌에 빛을 보내는데 쓰이는 광섬유를 대체할 신기술의 개발도 필요하다. 물론 파킨슨병 등의 뇌질환 치료에 아직도 광섬유보다 훨씬 큰 전극이 사용되고 있고 전극은 불특정 다수의 신경세포를 자극할 수도 있는 바, 비교적 광섬유로 인한 단점이 상대적으로 미미하다지만, 여전히 감염의 위험이 있고 무거운 배터리를 소지해야 하는 불편이 있어 궁극적으로는 절개 없이 무선으로 원하는 부위에만 빛을 보낼 수 있는 새로운 기술이 필요하다. 특히 빛을 단위 세포 수준에서 원하는 세포에 정확하게 구별하여 전달하는 기술은 완성될 미래의 뇌지도와 더불어 아주 중요한 임상 가이드라인이 될 것이다. 광유전학의 놀라운 발전 속도로 볼 때 향후 몇 십년 내에 완벽한 뇌 인지기능 지도가 출시되고 이를 임상치료에 적용할 수 있을 것으로 예상한다. 광유전학을 통해 현재 치료가 불가능한 많은 뇌질환들이 치료될 수 있는 날이 조만간 도래할 것이다.

결 론

신경회로로부터 행동으로까지 이어지는 정보전달 과정을 이해하는 것은 신경과학의 아주 중요한 목표중의 하나이다. 이 의문을 푸는데 가장 어려운 장애물은 실시간으로 생체 내 신경회로를 조절하는 기술인데, 최근 개발된 대부분의 뇌영상 분석법들은 진행되는 상황을 그대로 기록할 수밖에 없는 수동적 기술인 반면에, 광유전학은 능동적으로 원하는 세포에 원하는 시간에 원하는 자극을 줄 수 있고 그에 따른 행동까지 분석할 수 있는 획기적 방법이다. 광유전학 기술은 2010년 올해의 기술로 선정된 바 있고, 그 동안의 신경세포를 대상으로 한 놀라운 발전과 더불어 앞으로는 다른 세포들로의 많은 적용도 예상된다. 새로운 광센서 단백질들을 발굴하고 기존 것들을 변형시키는 연구들도 많이 진행될 것이고, 이들은 최근 적용이 늘고 있는 신호전달 조절 및 대사 조절 연구에도 널리 응용이 될 수 있을 것이다.

References

1. Adamantidis, A. R., Zhang, F., de Lecea, L. and Deisseroth, K. 2014. Optogenetics: opsins and optical interfaces in neuroscience. *Cold Spring Harb Protoc.* **8**, 815-822.
2. Airan, R. D., Thompson, K. R., Fenno, L. E., Bernstein, H. and Deisseroth, K. 2009. Temporally precise *in vivo* control of intracellular signalling. *Nature* **458**, 1025-1029.
3. Arenkiel, B. R., Peca, J., Davison, I. G., Feliciano, C., Deisseroth, K., Augustine, G. J., Ehlers, M. D. and Feng, G. 2007. *In vivo* light-induced activation of neural circuitry in transgenic mice expressing channelrhodopsin-2. *Neuron* **54**, 205-218.
4. Boyden, E. S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G. and Deisseroth, K. 2005. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat. Neurosci.* **8**, 1263-1268.
5. Boyden, E. S. 2011. A history of optogenetics: the development of tools for controlling brain circuits with light. *F1000 Biol. Rep.* **3**, 11.
6. Chow, B. Y., Han, X., Dobry, A. S., Qian, X., Chuong, A. S., Li, M., Henninger, M. A., Belfort, G. M., Lin, Y., Monahan, P. E. and Boyden, E. S. 2010. High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. *Nature* **463**, 98-102.
7. Chung, K. and Deisseroth, K. 2013. CLARITY for mapping the nervous system. *Nat. Methods.* **10**, 508-513.
8. Ciocchi, S., Herry, C., Grenier, F., Wolff, S. B., Letzkus, J. J., Vlachos, I., Ehrlich, I., Sprengel, R., Deisseroth, K., Stadler, M. B., Müller, C. and Lüthi, A. 2010. Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature* **468**, 277-282.
9. Doroudchi, M. M., Greenberg, K. P., Liu, J., Silka, K. A., Boyden, E. S., Lockridge, J. A., Arman, A. C., Janani, R., Boye, S. E., Boye, S. L., Gordon, G. M., Matteo, B. C., Sampath, A. P., Hauswirth, W. W. and Horsager, A. 2011. Virally delivered channelrhodopsin-2 safely and effectively restores visual function in multiple mouse models of blindness. *Mol. Ther.* **19**, 1220-1229.
10. Feng, L., Kwon, O., Lee, B., Oh, W. C. and Kim, J. 2014. Using mammalian GFP reconstitution across synaptic partners (mGRASP) to map synaptic connectivity in the mouse brain. *Nat. Protoc.* **9**, 2425-2437.

11. G, N., Tan, A., Farhatnia, Y., Rajadas, J., Hamblin, M. R., Khaw, P. T. and Seifalian, A. M. 2013. Channelrhodopsins: visual regeneration and neural activation by a light switch. *Nat. Biotechnol.* **30**, 461-474.
12. Han, X. and Boyden, E. S. 2007. Multiple-color optical activation, silencing, and desynchronization of neural activity, with single-spike temporal resolution. *PLoS One* **2**, e299.
13. Han, X., Qian, X., Bernstein, J. G., Zhou, H. H., Franzesi, G. T., Stern, P., Bronson, R. T., Graybiel, A. M., Desimone, R. and Boyden, E. S. 2009. Millisecond-timescale optical control of neural dynamics in the nonhuman primate brain. *Neuron* **62**, 191-198.
14. Hegemann, P. and Nagel, G. 2013. From channelrhodopsins to optogenetics. *EMBO Mol. Med.* **5**, 173-176.
15. Lee, H., Choi, M. K., Lee, D., Kim, H. S., Hwang, H., Kim, H., Park, S., Paik, Y. K. and Lee, J. 2011. Nictation, a dispersal behavior of the nematode Caenorhabditis elegans, is regulated by IL2 neurons. *Nat. Neurosci.* **15**, 107-112.
16. Lima, S. Q. and Miesenbock, G. **2005.** Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons. *Cell* **121**, 141-152.
17. Nagel, G., Brauner, M., Liewald, J. F., Adeishvili, N., Bamberg, E. and Gottschalk, A. 2005. Light activation of channelrhodopsin-2 in excitable cells of Caenorhabditis elegans triggers rapid behavioral responses. *Curr. Biol.* **15**, 2279-2284.
18. Nagel, G., Ollig. D., Fuhrmann, M., Kateriya, S., Musti, A. M., Bamberg, E. and Hegemann, P. 2002. Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science* **296**, 2395-2398.
19. Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D., Hegemann, P. and Bamberg, E. 2003. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 13940-13945.
20. Nirenberg, S. and Pandarinath, C. 2012. Retinal prosthetic strategy with the capacity to restore normal vision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 15012-15017.
21. Nussinovitch, U. and Gepstein, L. 2015. Optogenetics for in vivo cardiac pacing and resynchronization therapies. *Nat. Biotechnol.* **33**, 750-754.
22. Okuno, D., Asaumi, M. and Muneyuki, E. 1999. Chloride concentration dependency of the electrogenic activity of halorhodopsin. *Biochemistry* **38**, 5422-5429.
23. Pastrana, E. 2011. Optogenetics: controlling cell function with light. *Nat. Methods* **8**, 24-25
24. Piao, H. H., Rajakumar, D., Kang, B. E., Kim, E. H. and Baker, B. J. 2015. Combinatorial mutagenesis of the voltage-sensing domain enables the optical resolution of action potentials firing at 60 Hz by a genetically encoded fluorescent sensor of membrane potential. *J. Neurosci.* **35**, 372-385.
25. Pudasaini, A., El-Arab, K. K. and Zoltowski, B. D. 2015. LOV-based optogenetic devices: light-driven modules to impart photoregulated control of cellular signaling. *Front. Mol. Biosci.* **2**, 18.
26. Sineshchekov, O. A., Jung, K. H. and Spudich, J. L. 2002. Two rhodopsins mediate phototaxis to low- and high-intensity light in Chlamydomonas reinhardtii. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 8689-8694.
27. Steinbeck, J. A., Choi, S. J., Mrejeru, A., Ganat, Y., Deisseroth, K., Sulzer, D., Mosharov, E. V. and Studer, L. 2015. Optogenetics enables functional analysis of human embryonic stem cell-derived grafts in a Parkinson's disease model. *Nat. Biotechnol.* **33**, 204-209.
28. Stirman, J. N., Crane, M. M., Husson, S. J., Wabnig, S., Schultheis, C., Gottschalk, A. and Lu, H. 2011. Real-time multimodal optical control of neurons and muscles in freely behaving Caenorhabditis elegans. *Nat. Methods.* **8**, 153-158.
29. Wang, H., Peca, J., Matsuzaki, M., Matsuzaki, K., Noguchi, J., Qiu, L., Wang, D., Zhang, F., Boyden, E., Deisseroth, K., Kasai, H., Hall, W. C., Feng, G. and Augustine, G. J. 2007. High-speed mapping of synaptic connectivity using photostimulation in Channelrhodopsin-2 transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 8143-8148.
30. Ye, H., Daoud-El Baba, M., Peng, R. W. and Fussenegger, M. 2011. A synthetic optogenetic transcription device enhances blood-glucose homeostasis in mice. *Science* **332**, 1565-1568.
31. Yoon, H. H., Park, J. H., Kim, Y. H., Min, J., Hwang, E., Lee, C. J., Suh, J. K., Hwang, O. and Jeon, S. R. 2014. Optogenetic inactivation of the subthalamic nucleus improves forelimb akinesia in a rat model of Parkinson disease. *Neurosurgery* **74**, 533-540.
32. Zemelman, B. V., Lee, G. A., Ng, M. and Miesenböck, G. 2002. Selective photostimulation of genetically chARGed neurons. *Neuron* **33**, 15-22.
33. Zhang, F., Wang, L. P., Brauner, M., Liewald, J. F., Kay, K., Watzke, N., Wood, P. G., Bamberg, E., Nagel, G., Gottschalk, A. and Deisseroth, K. 2007. Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature* **446**, 633-639.

초록 : 광유전학: 세포 생리 연구를 위한 새로운 frontier

변종회*
(단국대학교 분자생물학과)

광유전학은 생체 조직 및 세포에서 유전공학적으로 발현된 광민감성 단백질을 이용하여 목표로 하는 분자/세포 활동을 조절하기 위한 광학 및 분자적 전략들의 조합이다. 광유전학은 빛을 이용하여 신경세포의 발화 여부를 결정하는 세포막 채널을 빨리 열고 닫는 방법을 포함한다. 이 기술은 녹조류의 광민감성 단백질들을 특정 뇌세포에 넣는데서 시작되었다. 이렇게 하면 세포들은 파랑이나 노락색의 펄스로 켜지거나 꺼질 수 있다. 빨리 개폐되는 광민감성 양이온 채널인 자연계에 존재하는 조류 단백질인 channelrhodopsin-2 (ChR2)를 이용하여 활동전위의 숫자와 빈번도를 조절할 수 있다. ChR2는 다른 세포들은 영향을 주지 않으면서 한 유형의 신경세포만 조작할 수 있는 길을 제시하는데, 이는 전례가 없는 특이성이다. 이 기술은 빛을 이용하여 단일 발화와 시냅스 사건 수준에서 신경신호전달을 변경시킬 수 있도록 하여 신경과학자와 의생명공학자들에게 널리 적용될 수 있는 도구를 제공한다. 녹조류와 레이저, 유전자 치료, 광섬유의 희한한 조합은 이전에 결코 불가능했던 정밀도로 뇌 속 깊은 곳의 신경 회로 지도를 그릴 수 있도록 해주었다. 이것은 우울증, 불안, 정신분열, 중독, 수면병, 그리고 자폐증 같은 질환의 원인을 밝히는데 도움을 줄 것이다. 광유전학은 파킨슨병, 강박장애, 그리고 전기 펄스가 있는 다른 질환들을 치료하는데 사용되는 기존 이식 도구들을 개선시킬 수 있다. 광유전학 장치는 상기 장치들이 할 수 있는 것보다 더 많이 뇌세포의 특정 세포들을 대상으로 할 수 있다. 신경세포 이외의 일반 세포들에도 광유전학 도구들을 적용하는 연구들이 증가하고 있다.