

Optogenetik

Seda Beyaz, Abdullah Aslan*

Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, Elazığ-
Türkiye

*Email: aaslan@firat.edu.tr

Özet: Optogenetik, genetik olarak ışığa duyarlı araçlar kullanılarak canlı doku ve hücrelerde hücresel aktiviteleri izlemek için optik ve moleküler stratejilerin bütünüdür. Optogenetik; parkinson, epilepsi ve görme kaybı da dâhil olmak üzere çeşitli nörolojik bozuklukların altında yatan mekanizmalar ve optogenetik terapiler için yeni stratejilerin gelişimine katkı sağlamaktadır. Özellikle optogenetik çalışmalar, yakın gelecekte insanlarda gerçek görsel yenilenme sağlayabilir ve rejeneratif tıp alanında yeni sınırlara ulaşabilir.

Anahtar Kelimeler: Optogenetik, Nörostimülasyon, Alzaymır, Parkinson

Optogenetics

Abstract: Optogenetics is the whole of optical and molecular strategies to monitor cellular activities in living tissue and cells using genetically light-sensitive tools. It contributes to the development of new strategies for mechanisms and optogenetic therapies underlying various neurological disorders, including optogenetics, parkinsonism, epilepsy and loss of vision. In particular, optogenetic studies can be transformed into real visual renewal in humans in the near future and reach new limits in regenerative medicine.

Keywords: Optogenetics, Neurostimulation, Alzheimer's disease, Parkinson's disease

Giriş

Optik ve genetik yöntemler birlikte kullanılarak “optogenetik” denilen yeni bir kavramı ortaya çıkarmıştır. Optogenetik terimi literatüre girdikten sonra Nature dergisi tarafından yılın metodu seçilmiştir. Çok yeni bir metot olmasına rağmen bugün dünyada 800’ün üzerinde yeni optogenetik çalışma merkezleri bulunmaktadır ve gün geçtikçe bunlara yenileri eklenmektedir. Optogenetik çalışmalar sayesinde sinirbilimi alanında kabul edilen her konunun tekrar çalışılarak doğrulanmasındaki önemini daha da artırmaktadır (Alp, 2017).

Optogenetik

Optogenetik terimi; optik ve genetik teknikleri birleştirerek oluşturulan önemli bir alanı yansıtmaktadır. Genetik olarak ışığa duyarlı araçlar kullanılarak canlı doku ve hücrelerde belirlenmiş hücresel

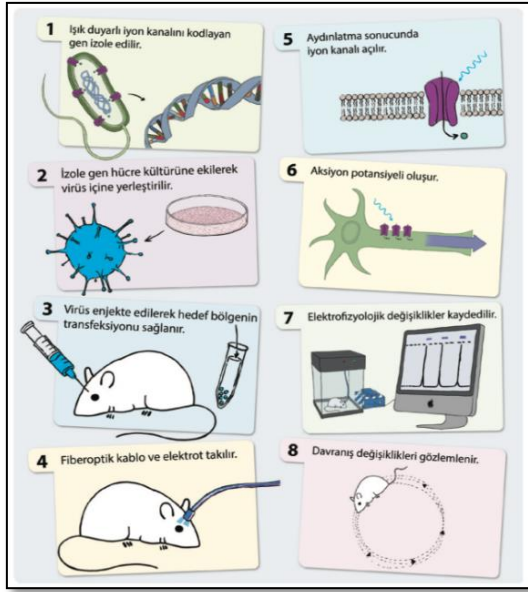
aktiviteleri izlemek için optik ve moleküler stratejilerin bütünüdür. Bu terim belirli nöronların veya proteinlerin, sinir hücrelerindeki fonksiyonların belirlenmesinde optik teknoloji ile birleştirilmesi sayesinde oluşmuştur. Son yıllarda önemli bir hız kazanmıştır (Dugué ve ark. 2012). Beynin otonomik alanları üzerinde yapılan araştırmalarda kullanılan optogenetik çalışmalar, fenotipik olarak belirlenmiş nöron grupları ve astrositler üzerinde özgül kontrol araçları sağlamaktadır. Eftörleri kullanarak nöronların ve astrositlerin (nöronları destekleyen hücre) aktivitesini kontrol ederek, sınırlamaları ortadan kaldırmak amacıyla kullanılan yeni bir teknolojidir (Kasparov, 2012). Optogenetik çalışmalar, tek bir hastalık sürecini belirlemek için çeşitli tahlillerin farklı patofizyolojik mekanizmalarını gerçekten etkilediğini ve farklı yapıları ölçtüğü fikirlerin doğrulanmasını sağlamaktadır. Optogenetik, depresyon

sendromuna katkıda bulunan ve nörolojik bozukluklarda sinir yollarının belirlenmesini hızlandırmıştır (Marton ve Sohal, 2016). Genetik olarak ışığa duyarlı araçlar kullanılarak canlı doku ve hücrelerde belirlenmiş hücrel aktiviteri izlemek için optik ve moleküler stratejilerin bütünüdür. Gen ifadesinin düzenlenmesi, belirli bir genin üretimini arttırmak veya azaltmak için hücreler tarafından kullanılan birçok mekanizmayı içermektedir. Gen ekspresyonunu ve protein aktivitesini düzenlemek için farklı araçlar bulunmaktadır. Bu araçlar, canlı hücrelerdeki bazı olayları düzenlemek için kimyasal veya fiziksel ajanları kullanmaktadır. Kimyasal temelli gen düzenleyici sistemlerde, kontrol edilebilir bir transkripsiyon faktörü, kimyasal varlığında promotor bölgelere bağlanarak, hedef gen ekspresyonunu kontrol eden memeli hücrelerinde eksprese edilmektedir. Bir diğer yaklaşım, proteinin işlevini düzenlemek için oligomerleşmesini düzenlemektir (Özçelik, 2016). Optogenetik araçlar, nörolojik bozukluklarda patofizyolojik sinyal mekanizmalarını anlamayı ve bunları düzeltmek için terapötik stratejiler geliştirmeyi amaçlamaktadır. Parkinson hastalığı, epilepsi ve görme kaybı da dâhil olmak üzere çeşitli nörolojik bozuklukların altında yatan mekanizmalar ve optogenetik terapiler için düzeltici stratejilerin gelişimine katkı sağlamaktadır (Tonnesen, 2013). Son on yılda ortaya çıkan bir optogenetik sinyal iletimi, gen ifadesi, hücre göçü, protein ve organellerle alakalı olayların ışıkla çeşitli moleküler ve hücrel süreçlerin manipüle edilmesine imkan sağlamıştır (Liu ve Tucker, 2017). Optogenetik teknikler beynin çeşitli bölgelerindeki nöronal devrelerin çalışması için uygulanmıştır. Nöromodülasyon (hedeflenen hücreye elektrik veya kimyasal maddeler verilerek

sinir aktivitesinin değiştirilmesi) çeşitli nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde potansiyel olarak kullanılmaktadır (Wykes ve ark. 2016).

Optogenetikte Transfeksiyon

Fototetikler ve etki mekanizması ile uygulanan ışığın frekansı gibi faktörler optogenetiğin çeşitliliğini oluşturmaktadır. Tespit edilen bir opsine ait genin istenilen dokuya transfeksiyon aşaması şöyle devam etmektedir (Şekil 1): Öncelikle hedeflenen gen belirlenir. Daha sonra belirlenen bu gen izole edilir. Şayet bir protein izole edilebiliyorsa mRNA dizisini okuyabilmelidir. Bu diziyi kodlamış olabilecek DNA bölgelerinin bir kümesi çıkarılabilir. Tespit edilen genin çoğaltılması için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) en çok tercih edilen yöntemdir. Bu yöntem için hedeflenen genin birkaç nükleik asitlik bölümünün bilinmesi gerekmektedir. Bu nedenle klonlanması amaçlanan genin transkripsiyon ürünü olarak bilinen mRNA izole edilmektedir. Bu mRNA'dan ters transkriptaz enzimi sayesinde elde edilen cDNA izolasyonu yapılmakta ve PCR ile çoğaltılma işlemi gerçekleştirilmektedir. Genin vektöre aktarılma işlemi için elektroporasyon tekniği kullanılmakta ve izole edilen genin hücre kültür ortamına ekimi yapılmaktadır. Hücre kültür ortamında bulunan hücrelerin zarlarında oluşan geçici zarlar sayesinde genetik materyalin hücre içine alınması gerçekleşmektedir (Alp, 2017).



Şekil 1. Optogenetik Transfeksiyon Aşamaları (Alp, 2017)

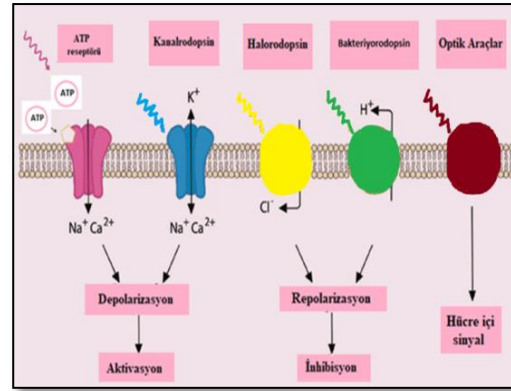
Optogenetikte Fototetikler

a) Bakteriyorodopsin: Yeşil alglerden keşfedilen ışığa duyarlı ilk protein olarak bilinir (Şekil 2). Hücre içine katyon girişi yeşil ışık ile uyarıldığında gerçekleşir ve transfekte edildiği nöronda aksiyon potansiyelini oluşturur (Alp, 2017).

b) Halorodopsin (NpHR) : Sarı ışığa duyarlı olan ve *Halobacterium salinarum*'da tespit edilen iyon kanalıdır (Şekil 2). Cl^- iyonlarının hücre içine taşınmasını sağlayarak hücre membran potansiyelini azaltmaktadır. Böylece aksiyon potansiyelinin inhibe olmasına neden olmaktadır (Alp, 2017).

c) Kanalrodopsin (ChR) : Kanalrodopsinler, yeşil yosunlarda keşfedilen iyon kanallarıdır (Şekil 2). Mavi ışık ile membran depolarizasyonu uyarılarak aksiyon potansiyeline aracılık etmektedir. Mavi ışığa duyarlı bir Na^+ iyon kanalı olup *Chlamydomonas reinhardtii*'de keşfedilmiştir. Işıkla uyarıldığında hücre içine Na^+ girişini sağlayarak aksiyon potansiyelinin oluşmasına yardımcı olmaktadır (Alp, 2017).

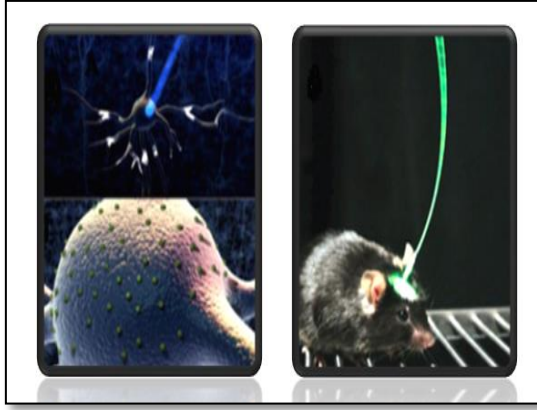
d) Genetik Olarak Kodlanmış Optik Araçlar (OptoXR) : OptoXR geni, rodopsini (gözde bulunan ve karanlıkta görmeyi sağlayan protein) aktifleştirerek, görmede etkili olan reseptörlerin geliştirilmesini sağlamaktadır (Şekil 2). Hücre içi sinyal yollarının mekanizmasını kontrol edebilecek optogenetik bir yöntem geliştirilmiştir. Aynı zamanda çok farklı bölgelerdeki hücre tiplerinden bazıları uyarırken diğerlerinin inhibe edilmesini sağlayabilecek faydalı bir yöntemdir (Alp, 2017).



Şekil 2. Fototetik Mekanizmalar (Alp, 2017)

Optogenetikte Işık Sistemler

Son zamanlarda optogenetik metotlarda kullanılan yüksek doku çözünürlüğüne sahip bir ışık olan LED (Light-emitting diode) teknolojisi optogenetikte yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Gradinaru ve ark. 2007). Bu LED sistemleri, üzerinden akım geçen bir silikon maddenin ışık vermesi prensibine dayanmaktadır. LED teknolojisi ile ışık doğrudan *in vivo* ortamda, beyin dokusu içerisindeki hedeflenen hücrelere özgü uygulanmaktadır (Şekil 3). Optogenetik çalışmalarda kullanılan ışığın mahiyeti ve hedef bölgeye aktarılma şekli optogenetiğin kontrol edilmesini sağlayan önemli faktörler arasındadır (Alp ve ark. 2014).



Şekil 3. LED Işığın Fiber Optik Kablolar Vasıtasıyla Hedef Beyin Dokusuna Yönlendirilmesi (G ve ark. 2013)

Sinirbiliminde Optogenetik Yaklaşımlar

Sinirbilimi keşfinde optogenetik etki önemli bir yere sahiptir. Bir yandan genetik çalışmalar bir yandan psikiyatrik hastalığa ilişkin yaygın bireysel zayıf mutasyonlara kadar değişen mutasyon dizilimini genişleten etkileri içermektedir (Zhang ve Cohen, 2017). Optogenetik, ışığı kullanarak sinirsel aktiviteyi kontrol eden bir nöromodülasyon yaklaşımıdır. Son zamanlarda, optik stimülasyon yöntemleri, sinir sistemi işlevini tanımda önemli yetenekler sergilemektedir. Bu nedenle, beyin stimülasyon modelleri ışık modülasyon yöntemlerine dayanan optik stimülasyon teknikleriyle üretilebilir. Bu amaçla, genetik araçları kullanarak spesifik hücreleri hedef alan ve keşfedilebilir bazı yeni moleküller saptanmıştır.

Optik ve moleküler genetiğin geliştirilmesi, merkezi sinir sisteminin çalışma düzeylerinde, çoğunlukla nöronal aktivitenin saptanması ve manipülasyonu için fizibilite ve dolayısıyla beyin operasyonunun anlaşılmasında temel gelişmeler sağlamıştır. Bir optik uyarım tekniği olarak optogenetik, ışık ile nöronal aktivitenin modülasyonuna izin vermektedir. Bu şekilde ışıkla kaplı, opsin proteinleri ışıkla uyarılmaktadırlar. Genetik olarak hedeflenen nöronlarda ifade edilmektedir.

Bu nöronları ortaya çıkarmak için uygun dalga boylu ışıklara ihtiyaç duyulmaktadır. Sinirsel fonksiyonun iki yönlü yönetimi ve spesifik hücre tiplerinin genetik olarak hedeflenmesi optogenetik olarak mümkündür. Bu nedenle, farklı bozukluklarla ilgili beyin devrelerinin deneysel araştırmaları için güçlü bir yöntemdir. Sinirsel devreler sorgulaması bir sonraki önemli uygulamadır. Akıl hastalığı devrelerinin analizi ve hastalığı etkilerinin algılanışı, nöronların farklı spesifik hücre türünün aktivite modülasyonu ile sağlanmaktadır. Bu nedenle yeni tedavileri bulmak için incelenebilen yeni nörolojik bozukluk modelleri üretilir. Genellikle, nöronal hücreler seçici olarak kontrol edilebildiğinden minimum yan etkilere sahip etkin zihinsel tedavi elde edilebilir (Mahmoudi ve ark. 2017).

Optogenetik Çalışmaların Hastalıklarla İlişkisi

Psikiyatrik Hastalıklarda Optogenetik

Son yıllarda optogenetik uygulamalar, nöropsikiyatrik hastalığa yönelik sorulara bir çözüm odağı haline gelmiştir. Optogenetik teknolojinin, psikiyatri ile özel bir ilişkisi vardır. Özellikle, psikiyatride sinirsel iletişim yollarının işlevsel hale gelmesinde etkilidir. Optogenetik teknolojiler davranış, psikoloji, görüntüleme, elektrofizyoloji ve farmakoloji alanları ile bütünleşmiştir (Deisseroth, 2012). Optogenetik, sadece sağlıklı beynin nöronal bağlantılarını ve işlevini değil aynı zamanda psikiyatrik bozukluklara yol açan nöronal değişiklikleri anlamamızı sağlamıştır. Uyku-uyarılma, korku, kaygı, depresyon, şizofreni, sosyal ve agresif davranışlarla ilgili psikolojik bozuklukların temelindeki farklı beyin devrelerini araştıran optogenetik çalışmalar ele alınmıştır. Bu devrelerdeki değişikliklerin bağımlılık, kaygı,

depresyon veya şizofreni gibi psikiyatrik bozukluklara yol açtığı belirtilmektedir. Optogenetik, nöronal aktivitenin optik okunmasını sağlamaktadır. İnsan hastalıklarında terapötik müdahale için bir aşama oluşturabilmektedir (Tourino ve ark. 2013). Lorincz ve Adamantidis, 2017, optogenetik araçların uygulanması benzeri görülmemiş zamansal hassasiyet ile nörokimyasal çalışmaların izlenmesine ve kontrol edilmesine olanak sağlamışlardır. Beyin hücrelerinde monoaminlerin katılımını ve optogenetik yaklaşımları kullanarak duyuşsal bilgi işleme üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda; monoaminergik sistemlerin modülatör etkileri aydınlatılmış ve kaydedilen hücrelerin nörokimyasal kimliklerini belirlemede etkili olduğu görülmüştür.

Korku ve Depresyonun Optogenetik ile İlişkisi

Optogenetik araştırmalar, korku ile ilişkili davranış süreçlerinin temel mekanizmalarını ortaya koyma kapasitesine sahiptir. Yeni geliştirilmiş teknikler kullanılarak doğuştan gelen korkuların altında yatan sinirsel devrelerin çalışmalarına ve bunların etkileşimlerinin tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Korku, anormal şekilde ifade edildiğinde modüle edilebilmekte veya bastırılabilir (Luchkina ve ark. 2017).

Farmakogenetikte Optogenetik Uygulamalar

Optogenetik ve farmakogenetik sinirbilimi çalışmalarında uygulama bulan ve önemli özellikleri paylaşan güçlü metotlardır. Her iki yaklaşımın da büyük bir gücü, doğal genetik olmayan proteinleri nöronlara sokmak için, kanallar, pompalar ya da reseptörler olarak işlev gören modern genetik ve viral vektör tekniklerinin kullanılmasıdır. Her iki durumda da, bu

yeni proteinler endojen bileşikler için hassas değildir ve aksi takdirde sinir dokusu üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmayan uyaranlara duyarlıdır. Bu nedenle, her iki yaklaşım da seçicidir ve sinirsel devrelerin tanımlanan fonksiyonlardaki rollerinin analizlerine izin vermektedir (Aston ve Deisseroth, 2013). Agus ve Janovjak, 2017, optogenetik uygulamalar ile sinyal ileten ağların ve sinirsel devrelerin, protein fonksiyonunun ve sinyal yolağı aktivasyonunun kontrolünü sağlamışlardır. Kanseri, metabolik enfeksiyöz, hematolojik veya sinir sistemi hastalıklarının tanımlanmasını, tedavi edilmesini ve hastalıkla ilgili hedeflerin çözülmesine katkı sağlamışlardır. Hedef tanımlamada tedavi edici yaklaşımlar ile birlikte ilaç keşfinde optogenetik uygulamaların önemli bir yeri olduğunu vurgulamışlardır.

Görme Tedavisinde Optogenetik

Optogenetik yöntemler, nörolojik hastalıkların özellikle de retinal dejeneratif hastalıkların tedavisi için terapötik araçlar olarak hızla geliştirilmektedir. Uyarılma, hedef retinal hücrelerde sinirsel tepkiler üretmek için yeterli olmalı ve aynı zamanda göz hasarına neden olduğu bilinen fotokimyasal ve fototermal sınırların altında olması gerekmektedir (Yan ve ark. 2016). Tonnesen, 2013, retinal dejenerasyon ile körleştirilen farelerde, kanalrodopsin-2'yi ifade etmek için mavi ışık ile aydınlatmanın gangliyon hücrelerini aktive ettiği ve görme merkezinde elektrofizyolojik tepki uyandırdığını tespit etmiştir. Retinaları dejenere olan *Retinis pigmentosa* hastalarının görüş alanları optogenetik yöntemlerle tekrar duyarlı hale getirilebileceği vurgulanmıştır (Şekil 4). Optogenetik, hücreleri ışığa duyarlı hale getirmekte ve ışığa duyarlı iyon kanalları veya pompalar oluşturarak yeni ışığı algılayabilme yeteneği kazandırmaktadır.

Optogenetik proteinler, hem fotoreseptörlerin ışık tepkilerini arttırmak hem de ganglion (sinir düğümü) hücrelerinde yeni ışığa duyarlı tepkiler oluşturmak için kullanılmıştır. Hastalığın erken dönemlerinde retinal fotoreseptör işlev bozukluğunu önlemektedir (Fine ve ark. 2015).



Şekil 4. Retinis pigmentosa Hastasına Ait Görüş Alanı (Fine vd., 2015)

Epilepsi'nin Optogenetik ile İlişkisi

Son zamanlarda optogenetik, epilepsi hastalarında nöronal aktiviteyi kontrol eden mekanizmalar üzerine odaklanılmış ve bu hastalıkların tedavisinde büyük umutlar vaat etmiştir (Kambli ve ark. 2017). Zhao ve ark. 2015, epilepside büyük ve yaygın olan nöbet odağını doğrudan modüle etmek yerine, optogenetik uygulamalar kullanarak nöbet ağıyla etkileşime girebilecek beyin diğer alanlarını hedefleyerek nöbetleri modüle etmişlerdir. Cerebellumun (beyincik) aydınlatılması, nöbetlerin geciktirmesinde etkili olmuş ve nöbet süresinde olumlu azalmaların olduğunu tespit etmişlerdir. Cunningham ve ark. 2014, araştırmalarında insan kök hücrelerinden türetilen GABA'erjik (Gama Amino Bütirik Asit) internöronların epilepsi modeli fare

beyninde fonksiyonel bozukluğa sebep olan bölgeye göç ettiklerini ve o bölgede bulunan diğer hücrelerle etkileşime girdiklerini gözlemlemişlerdir. Ardından optogenetik yöntemi kullanarak hipokampus bölgesine enjekte ettikleri GABA'erjik internöronların postsinaptik yanıtlar oluşturduğu sonucuna varmışlardır. Araştırma sonucunda nakledilen nöronların olgunlaşmadan da epileptik nöbetleri baskılama özelliğine sahip olması dikkat çekmiştir.

Alzheimer'in Optogenetik ile İlişkisi

Önemli bir nörodejeneratif bozukluk olan Alzheimer, sinirsel faaliyetleri birçok düzeyde etkilemektedir. Optogenetik araçlar, normal beyin işlevini ve Alzheimer modellerindeki yapısal bozulmaları ortaya çıkarmak amacıyla sinaptik molekülleri uyarmak için benzeri görülmemiş bir özgüllük sağlar. Ayrıca, nöronları uyarmak için optogenetik kullanımı Alzheimer'ın neden olduğu öğrenmeyi ve hafıza kaybını kurtarabilmektedir (Yang ve ark. 2017).

Parkinson'un Optogenetik ile İlişkisi

Optogenetik, araştırmacıların belirli bir promotör tarafından tanımlanan beyin hücrelerini uyarmasına veya inhibe etmesine ve belirli bir beyin bölgesini spesifik olarak hedeflemesine olanak tanımaktadır (Parker ve ark. 2016). Geçici olarak hassas ve geri dönüşümlü nöral kontrol için ışığa duyarlı, membrana bağlı proteinlerin kullanımı optogenetik ile mümkündür. Nöronları ışıkla uzaktan düzenlemek, nöral aktivitenin regülasyonlarını tek aksiyon potansiyel seviyesine kadar sağlamaktadır. Parkinson için optogenetik, kas sistemi ve semptomlarına neden olan işlevlerin seçici olarak incelemesi için yeni yetenekler sunmaktadır. Bu yeni anlayış mekanizmaları, sinirsel fonksiyon

bozukluklarına yönelik tedavi edici olanaklar sağlamaktadır (Vazey ve Aston-Jones, 2013).

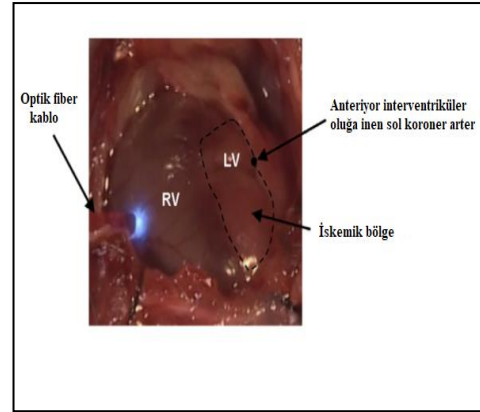
Şizofrenide Optogenetik Nöronal Kontrol

Şizofreni, klinik bulgular ile karakterize olan ciddi zihinsel bir bozukluktur. Optogenetik beyindeki bireysel nöronları hedefleyebilen ve farklı nöronal popülasyonları açıp kapatarak nöronal aktiviteyi kontrol eden yeni bir teknolojidir (Peled, 2011). Young ve Wimmer, 2017, talamik retiküler çekirdeğin (TRN) dikkat ve uykuda rol oynadığını belirtmişlerdir. TRN çeşitli beyin bölgelerini birbirine bağlar ve böylece devam eden korteks işlevinin düzenlenmesi ve desteklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. TRN'deki bozulmalardan kaynaklanan dikkat ve uyku bozuklukları şizofrenide gözlenen klinik bulgularla çarpıcı bir şekilde benzer olduğu kanısına varmışlardır. Talamik fonksiyonlardaki eksiklikler, şizofreni hastalarında görülen belirgin sayıda belirtiyi açıklamak için uzun zamandan beri önerilmektedir.

Kalp Fizyolojisinde Optogenetik Çalışmalar

Bilim adamları kardiyovasküler fizyolojinin karanlıkta kaldığı bazı sorulara cevap bulmak için optogenetik alanında araştırmalar yapmışlardır. Kardiyolojide, optogenetik yöntemlerin en belirgin kullanımı kalp aktivasyon dizisini düzeltmek ve ani kalp ölümünü önlemek amacıyla elektronik cihazların (kalp pili, elektro şok cihazı) kullanımına dayanan aritmilerin tedavisine yönelik olmuştur (Pianca ve ark. 2017). Bu alandaki en son başarılarından birini temsil eden ışık temelli defibrilasyon (elektro şok cihazı) stratejilerine odaklanılmıştır. Defibrilasyon stratejilerini optimize etmek için elektriksel aktiviteyi

saptamaya ve uyarılmaya yönelik gelişmiş optik yöntemlerin ve yeni anlayışların önemi vurgulanmıştır (Crocini ve ark. 2017). Optik elektrofizyoloji yöntemi nöronun kendine özgü uyarılabilirliği ve sinaptik iletim üzerindeki etkilerini değerlendirmek için nörotoksisite araştırmaları için de kullanılabilir (Şekil 5). Optogenetik kalp pilleri ve kalsiyum ile kombine edildiğinde, insan kalp aktivitesi üzerindeki ilaç etkilerini araştırmak için zengin bir fonksiyonel fenotip sağlamaktadır (Zhang ve Cohen, 2017).



Şekil 5. Fare Kalbinin Optik Fiber Kablo Vasıtasıyla Uyarılması (Pianca vd., 2017)

Alışkanlıkları Öğrenmek İçin Optogenetik Uygulamalar

Smith ve Graybiel, 2013, optogenetik yöntemlerle, beynin ön kısmında küçük bir alanın, önceki alışkanlıklar ile kıyaslandığında yeni alışkanlıkları kontrol edebildiğini tespit etmişlerdir. Refleksif davranışların anlık olarak izlenmesine yönelik bir mekanizmanın varlığını ortaya koymuşlardır.

Hafıza Araştırmalarında Optogenetik Uygulamalar

Son yıllarda optogenetik uygulamaların bellek çalışmalarına dahil edilmesi ile bilişsel süreçlerin altında yatan ağları anlama konusunda bir devrim başlatarak bu alanda mükemmel

bir ilerleme sağlanmıştır. Yapılan araştırmalar, beyinde bilgi yolları, algı, hayal, düşünme, hatırlama vb. fonksiyonlara katkısının yanı sıra, hafızanın gelişimine büyük katkı sağlamıştır (Goshen, 2014).

Optogenetik Alanında Yapılan Güncel Çalışmalar

Kielbus ve ark. 2018, optogenetik hücre sinyal yollarını, spesifik hücresel olayları aktive edebildiğini veya engelleyebildiğini göstermiştir. Genom ve epigenomun spesifik kontrolüne izin verebildiğini, hücre kaderini ve dönüşümü modüle edebilmektedir. Ordaz ve ark. 2017, fare modellerinde premotor korteksin kanalrodopsin optogenetik uyarımını kullanarak, akson miyelin kalınlığını ve oligodendrosit çoğalmasını arttırdığını tespit etmişlerdir. Alp, 2017, açlığın bilişsel fonksiyonlara olan katkı mekanizmasını hücresel düzeyde incelemiştir. Araştırmacı açlık-tokluk ve besin alınımında önemli bir merkez olan hipotalamusun arkuat çekirdeğindeki AgRP nöronlarını (açlık hissinin oluşmasından sorumlu hücreler), optogenetik metotla uyararak öğrenme ve bellek üzerindeki davranışsal etkilerini kayıt altına almıştır. Bunun için optogenetik uyarı grubu ve kontrol grubuna serbest beslenme uygulanmış, açlık grubu ise 18 saat aç bırakılmıştır. Gruplar, su labirentinde öğrenme kapasiteleri ve hafıza performansları açısından karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak optogenetik uyarı grubunun platforma ulaşma zamanının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı gözlemlenmiş AgRP hücrelerinin spesifik uyarılmasının öğrenme kapasitesini geliştirdiği ortaya konulmuştur. Ueda ve Sato, 2017, optogenetik araçların aktin düzenleyici sinyal molekülleri kullanarak hücre zarı dinamiklerini *in vivo* olarak manipüle etme potansiyeline sahip olduğunu ortaya

koymuşlardır. Towne ve ark., 2013, periferik sinir sistemi alanında yaptıkları çalışmalarda motor kontrol, ağrı ve somatosensöriyel transdüksiyon (duyusal dönüşümler) durumlarında optogenetiğin üstünlük oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Sonuç

Optogenetiğin ortaya çıkışı, nöro bilim ve biyoteknoloji alanı için hem rafine bir araştırma aracı hem de genetik araştırmalarla birçok tıbbi koşul için potansiyel bir tedavi olarak hizmet etme yoluna yeni bir yön vermektedir. Optogenetik, tedavi edici yöntemlere dönüştürülebilmesi için henüz başlangıç aşamasındadır. Aynı zamanda sinir bilimindeki cevaplanmamış birçok soruya çözüm bulabilir (G ve ark. 2013). Optogenetik sadece biyolojik çalışmaların konusu olmasının dışında klinik yöntemler açısından da önemli vaatleri bulunan bir metottur. Sadece sinirbilimi alanına bağlı kalmayıp diğer alanlarda da (kalp fizyolojisi, görme tedavisi, motor kontrol, ağrı ve somatosensöriyel transdüksiyon, hücre zarı, akson miyelin kalınlığı ve oligodendrosit çoğalması, hücre sinyal yolları, spesifik hücresel olayların aktivasyonu, genom ve epigenom kontrolü,) büyük umutlar vaat etmektedir.

Bilgi

Bu derleme Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bünyesinde Biyoloji Bölümünde doktora semineri kapsamında sözlü olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

- Agus, V. and Janovjak, H., 2017. Optogenetic methods in drug screening: Technologies and applications, *Current Opinion in Biotechnology*, 48, 8–14.
- Alp, M.İ., 2014. Optogenetiğin temelleri, *European Journal of Basic Medical Science*, 4 (2), 37-4.

- Alp, M.İ., 2017. Açlık kuramına yeni bir bakış: Arkuat çekirdeğin optogenetik olarak uyarılmasının kognitif davranış üzerine etkisi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Aston-Jones, G. and Deisseroth, K., 2013. Recent advances in optogenetics and pharmacogenetics, *Brain Research*, 1511, 1–5.
- Crocini, C., Ferrantini, C., Pavone, F.S. and Sacconi, L., 2017. Optogenetics gets to the heart: a guiding light beyond defibrillation, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 130, 132-139.
- Cunningham, M., Cho, J.H., Leung, A., Savvidis, G., Ahn, S., Moon, M., Lee, P.K.J., Han, J.J., Azimi, N., Kim, K.S., Bolshakov, V.Y. and Chung, S., 2014. Hpsc-derived maturing gabaergic interneurons ameliorate seizures and abnormal behavior in epileptic mice, *Cell Stem Cell*, 15 (5), 559–73.
- Deisseroth, K., 2012. Optogenetics and psychiatry: applications, challenges, and opportunities, *Biological Psychiatry*, 71, 1030–1032.
- Fine, I., Cepko, C.L. and Landy, M.S., 2015. Vision research special issue: sight restoration: Prosthetics, optogenetics and gene therapy, *Vision Research*, 111, 115–123.
- 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, *New Biotechnology*, 30 (5), 1-14.
- Goshen, I., 2014. The optogenetic revolution in memory research, *Trends in Neurosciences*, 37 (9), 511-522.
- Gradinaru, V., Thompson, K.R., Zhang, F., Mogri, M., Kay, K., Schneider, M.B. and Deisseroth, K., 2007. Targeting and readout strategies for fast optical neural control in vitro and in vivo, *The Journal of Neuroscience*, 27 (52), 14231–14238.
- Kambli, L., Bhatt, L.K., Oza, M. and Prabhavalkar, K., 2017. Novel therapeutic targets for epilepsy intervention, *Seizure*, 51, 27–34.
- Kasparov, S., 2012. Optogenetics, Primer on the Autonomic Nervous System, 3, 689–691.
- Kielbus, M., Czapinski, J., Odrzywolski, A., Stasiak, K., Kalafut, J., Kos, M., Giannopoulos, K., Stepulak, A., and Rivero-Müller, A., 2018. Optogenetics in cancer drug discovery, *Expert Opin Drug Discov*, 13 (5), 459-472.
- Liu, Q. and Tucker, Q.C., 2017. engineering genetically-encoded tools for optogenetic control of protein activity, *Current Opinion in Chemical Biology*, 40, 17–23.
- Lőrincz, M.L. and Adamantidis, A.R., 2017. Monoaminergic control of brain states and sensory processing: existing knowledge and recent insights obtained with optogenetics, *Progress in Neurobiology*, 151, 237–253.
- Luchkina, N.V. and Bolshakov, V.Y., 2017. Diminishing Fear: Optogenetic approach toward understanding neural circuits of fear control, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, xxx (xxxx), xxx–xxx.
- Mahmoudi, P., Veladi, H. and Pakdel, P.G., 2017. Optogenetics, tools and applications in neurobiology, *Journal of Medical Signals in Sensors*, 7 (2), 71-79.
- Marton, T.F and Sohal, V.S., 2016. Of mice, men, and microbial opsins:

- how optogenetics can help hone mouse models of mental illness, *Society of Biological Psychiatry*, 79, 47-52.
- Ordaz, J.D., Wu, W. and Xu, X.M., 2017. Optogenetics and its application in neural degeneration and regeneration, *Neural Regeneration Research*, 12 (8), 1197-1209.
- Özçelik, G., 2016. A thesis submitted for the degree of master of science department of molecular biology and genetics, Doktora Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze.
- Parker, K.L., Kim, Y., Alberico, S.L., Emmons, E.B. and Narayanan, N.S., 2016. Optogenetic approaches to evaluate striatal function in animal models of parkinson disease, *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 18 (1), 99-107.
- Peled, A., 2011. Optogenetic neuronal control in schizophrenia, *Medical Hypotheses*, 76, 914–921.
- Pianca, N., Zaglia, T. and Mongillo, M., 2017. Will cardiac optogenetics find the way through the obscure angles of heart physiology?, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482, 515-523.
- Smith, K.S. and Graybiel, A.M., 2013. Using optogenetics to study habits, *Brain Research*, 1511, 102-114.
- Tønnesen, J., 2013. Optogenetic cell control in experimental models of neurological disorders, *Behavioural Brain Research*, 255, 35– 43.
- Touriño, C., Eban-Rothschild, A. and Lecea, L., 2013. Optogenetics in psychiatric diseases, *Current Opinion in Neurobiology*, 23, 430–435.
- Towne, C., Montgomery, K.L., Iyer, S.M., Deisseroth, K. and Delp, S.L., 2013. Optogenetic control of targeted peripheral axons in freely moving animals, *Plos One*, 8 (8), 1-10.
- Uedo, Y. and Sato, M., 2017. Cell membrane dynamics induction using optogenetic tools, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, xxx, 1-7.
- Vazey, E.M. and Aston-Jones, G., 2013. New tricks for old dogmas: optogenetic and designer receptor insights for parkinson's disease, *Brain Research*, 1511, 153-163.
- Wykes, R.C., Kullmann, D.M., Pavlov, I. and Magloire, V., 2016. Optogenetic approaches to treat epilepsy, *Journal of Neuroscience Methods*, 260, 215–220.
- Yan, B., Vakulenko, M., Min, S.H., Hauswirth, W.W and Nirenberg, S., 2016. Maintaining ocular safety with light exposure, focusing on devices for optogenetic stimulation, *Vision Research*, 121, 57–71.
- Yang, Q., Song, D. and Qing, H., 2017. Neural changes in alzheimer's disease from circuit to molecule: perspective of optogenetics, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 79, 110–118.
- Young, A. and Wimmer, R.D., 2017. Implications for the thalamic reticular nucleus in impaired attention and sleep in schizophrenia, *Schizophrenia Research*, 180, 44–47.
- Zhang, H. and Cohen, A.E., 2017. Optogenetic approaches to drug discovery in neuroscience and beyond, *Trends in Biotechnology*, 35 (7), 625-639.
- Zhao, M., Alleva, R., Ma, H., Daniel, A.G.S. and Schwartz, T.H., 2015. Optogenetic tools for modulating and probing the epileptic network, *Epilepsy Research*, 116, 15–26.