


Optogenetik ve Kasların Işıkla Kontrolü

Defne Meriç ULUÇAM¹ 

¹NEVU, Dentistry Faculty, Department of Dentistry, Nevşehir Turkey

ORCID: 0009-0009-9734-9367

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

dfnemericalucam@gmail.com

Başvuru/Submitted: 5/06/2024

1. Revizyon/1st Revised: 11/06/2024

Kabul/Accepted: 15/06/2024

Yayın/Online Published: 28/06/2024

Atıf/Citation: Uluçam, D. M. (2024). Optogenetik ve Kasların Işıkla Kontrolü. Kafkasya Journal of Health Sciences, 1(1); 14-17.

Doi: [10.5281/zenodo.12510731](https://doi.org/10.5281/zenodo.12510731)

Öz

Optogenetik, genetik ve optik araçlar kullanarak canlı hücrelerin, özellikle de nöronların aktivitelerini ışıkla kontrol eden bir tekniktir. Bu yöntem, belirli hücre gruplarının elektriksel aktivitelerini hassas bir şekilde modüle etmeyi sağlar. Optogenetik sadece sinir hücrelerinin değil, kas hücrelerinin de kontrolü için kullanılabilir. Bu süreç, genetik olarak modifiye edilmiş kas hücrelerinin ışığa duyarlı proteinler (örneğin, kanalrhodopsin-2 veya halorhodopsin) eksprese etmesiyle gerçekleştirilir. Işığa duyarlı proteinleri kodlayan genler, kas hücrelerine taşınır. Bu işlem genellikle viral vektörler aracılığıyla yapılır.

Anahtar Kelimeler: Canlı hücreler, ışığa duyarlı proteinler, kas, kontrol, optogenetik.

Optogenetics and Light Control of Muscles

Abstract

Optogenetics is a technique that uses genetic and optical tools to control the activities of living cells, particularly neurons, with light. This method allows for precise modulation of the electrical activities of specific cell groups. Optogenetics can be used not only to control nerve cells but also to control muscle cells. This process involves genetically modifying muscle cells to express light-sensitive proteins (e.g., channelrhodopsin-2 or halorhodopsin). Genes encoding light-sensitive proteins are introduced into muscle cells. This is typically done using viral vectors.

Keywords: Control, light sensitive proteins, living cells, muscle, optogenetics.

GİRİŞ

Optogenetik, sinirsel aktiviteyi ışıkla kontrol etmeye veya izlemeye yönelik bir tekniktir. Işığa duyarlı proteinlerin genetik olarak hücrelere dahil edilmesiyle elde edilir (Govorunova, 2022; Adamantidis, 2007). Channelrhodopsin (ChR), halorhodopsin ve archaerhodopsin (Arch) gibi optogenetik aktivatörler nöronları kontrol etmek için kullanılırken nöronal aktivitenin izlenmesi, iyonlar (örn. kalsiyum) veya membran voltajı için genetik olarak kodlanmış sensörler ile gerçekleştirilebilir. Bu sistemdeki efektör, çoklu dalga boylarında ve konumlarda yüksek uzaysal ve zamansal çözünürlükle çalışma avantajına sahip olan ışıktır (Häusser, 2014). Optogenetik teknolojinin gelişimindeki ilk adımlardan biri, 1971 yılında Oesterhelt ve Stoeckenius tarafından Halobacterium halobium'un mor zarından gelen, aydınlatma altında proton pompalayan rodopsin benzeri bir protein olan bakteriorhodopsinin keşfedilmesiydi. Büyük bir atılım, başka hiçbir bileşen içermeyen bir mikrobiyal opsin geninin dahil edilmesi üzerine nöronların ışığa duyarlı hale geldiğinin keşfiydi. İlk kez sinir biliminde kullanılmaya başlanan optogenetik, biyolojik fonksiyona bağlı bir fotoreseptif alan içeren doğal veya tasarlanmış proteinlerin eklenmesi yoluyla çeşitli karmaşık dokular içindeki seçilmiş hücrelerin optik modülasyonunu mümkün kılan çığır açan bir teknolojiyi temsil eder (Han, 2009).

Optogenetik teknolojileri

Optogenetik teknolojisi, öncelikle tek hücreli organizmalardan (örneğin, belirli algler ve bakteriler) özel genlerin alınmasıyla başlar. Bu genler, mikrobiyal opsinerler olarak bilinen ve ışığa duyarlı iyon kanalları veya pompaları işlev gören proteinler üretir, böylece hücrelerde elektrik akımı üretimini etkinleştirir veya inhibe eder (Häusser, 2014).

İkinci aşamada, opsin genlerinin belirli hücreleri hedef alması için gelişmiş genetik araçlar kullanılır. Bu sayede, gen ürünlerinin (opsin proteinleri) yalnızca belirli hücre türlerinde üretilmesi sağlanır ve hedeflenmeyen hücreler doğrudan ışığa tepkisiz kalır (Kishi, 2022).

Son olarak, gelişmiş optikler kullanılarak belirli doku bölgelerine veya hücrelere hassas şekilde zamanlanmış ışık darbeleri gönderilir. Işık darbeleri, opsin genlerini uyararak hedeflenen hücrelerde elektrik akımı üretilmesine neden olur ve bu da hücreleri ya aktive eder ya da inhibe eder. Bu sayede araştırmacılar, hücrelerdeki spesifik elektriksel aktivitelerin davranışı nasıl etkilediğini belirleyebilirler (Schneider, 2015).

Opsinler

Opsinler önemli optogenetik araçlardır. Bunlar, opsin genleri tarafından kodlanan, retinaya bağlanan, yedi zardan geçen, ışığa duyarlı proteinlerden oluşan bir ailedir. Opsinler ışığa duyarlı iyon pompaları veya duyuşal reseptörler olarak işlev görür ve ökaryotlar ve bakteriler de dahil olmak üzere tüm organizmalarda her yerde bulunabilir (Häusser, 2014). Opsin genleri iki ayrı aileye ayrılır: mikrobiyal opsinerler ve hayvan opsinerleri.

Doğada birçok mikrobiyal opsin keşfedilmiştir ve bunlardan bazılarının laboratuvarında genetik mühendisliği yapılmıştır. Bilim adamları ayrıca yeni opsinerleri başarıyla sentezlediler. Tasarlanmış ve sentezlenmiş opsinerler, doğal olarak oluşan benzerlerinden daha hızlı veya daha yavaş olacak şekilde tasarlanmıştır ve farklı iyon iletkenlik özelliklerine veya farklı renk (ışık dalga boyu) duyarlılığına sahip olabilir. Doğal olarak oluşan bakteriorodopsinler (protonları hücrenin dışına taşıyan) ve doğal olarak oluşan halorhodopsinler (klorür iyonlarını hücrenin içine taşıyan) sinir sistemlerinde inhibitördür. Elektrik kontrolü yerine, biyokimyasal kontrol de mümkündür. 2009 yılından itibaren optogenetik, belirli biyokimyasal olayların kontrolünü kapsayacak şekilde genişletildi ve bu sayede her hücre tipinin optogenetik kontrolüne olanak sağlandı (Sineshchekov, 2017; Kuhne, 2019).

Bu opsinerlerin her ikisi de pompadır (iyonları kimyasal veya elektriksel değişimlere karşı hareket ettirmek için enerjiye ihtiyaç duyarlar) ve ürettikleri elektrik akımları nöronların ateşlenmesini zorlaştırır. Buna karşılık, doğal olarak oluşan kanalrodopsinler (adlarından da anlaşılacağı gibi, pozitif yüklü iyonların opsin gözeneklerinden serbestçe akmasına izin veren kanallardır) genellikle uyarıcıdır (Kishi, 2022).

Inhibitör opsin kanalları, ışık kontrolünün en hızlı ve en hassas yolu olduğundan, inhibitör bir kanalrodopsini bulmak veya yaratmak için yoğun çaba sarf edildi. Kanalrodopsinin yüksek çözünürlüklü kristal yapısının elde edilmesiyle 2012 yılında önemli bir atılım gerçekleşti; bu yapının bilgisi, bilim adamlarının opsin kanalı gözeneklerini, inhibitör klorür ileten bir kanal oluşturacak şekilde tasarlamalarına olanak sağladı (Kishi, 2022).

Optogenetik ile Kas Kontrolü

İşin aslına bakılırsa felç veya amputasyonu olan hastalar için elektrik akımı ile kas kasılmasını yapay olarak uyarayan nöroprotetik sistemler, uzuvlarının fonksiyonlarını kazanmalarına yardımcı olabiliyor.

Ancak uzun yıllar boyunca üzerinde çalışılmasına rağmen geleneksel yöntem olan elektrik akımını temel alan bu protezler kasları hızlı yoruyor ve kas üzerinde tam bir hakimiyet sağlayamıyor. Bu sebeplerden dolayı Hugh Herr liderliğindeki Massachusetts Teknoloji Enstitüsü (MIT) araştırmacıları farklı bir yöntem bulmak istediler ve optogenetik tekniklere başvurdular. Hugh Herr bu konudaki düşüncelerini şöyle dile getiriyor: "İnsanlar kasların doğal olarak görevlendirilmesiyle elde edilen inanılmaz bir kontrol doğruluğuna sahiptirler, burada önce küçük motor birimleri sonra orta büyüklükteki motor birimleri daha sonra büyük motor birimleri sinyal gücü arttıkça devreye girer ancak kasları yapay elektrikle çalıştırdığınızda önce en büyük birimler devreye girer. Yani sinyali arttırdıkça başlangıçta hiç kuvvet elde edemiyorken daha sonra birdenbire çok fazla kuvvet elde edilir. Bu büyük kuvvet kas kontrolünü zorlaştırmakla kalmaz aynı zamanda kasları beş on dakika içinde yorar. Bundan dolayı bu arayüzü tamamen değiştirmek üzerine yoğunlaştık." (Mahn, 2018)

Fareleri bir hayvan modeli olarak kullanan MIT ekibi ışığa duyarlı opsin proteini olan ChR2'yi (kanalrodopsin-2) fare hücrelerinde sentezlediler. Daha sonra alt bacağın sinirlerini kontrol eden tibial sinirin yakınlıklarına küçük bir mavi ışık kaynağı yerleştirildi. Araştırmacılar ışık uyarımı miktarını kademeli olarak arttırırken kas kuvvetini ölçtüler. Optogenetik kontrolün kas kasılmasında istikrarlı ve kademeli bir artış ürettiğini buldular (Ben-Ari, 2002).

Yorulma Direnci

Araştırmacılar, bu deneylerden elde edilen verileri kullanarak optogenetik kas kontrolünün matematiksel bir modelini oluşturdular. Bu model, sisteme giren ışık miktarını kas çıktısıyla (ne kadar kuvvet üretildiği) ilişkilendirir. Bu matematiksel model, araştırmacıların kapalı çevrim bir kontrolör tasarlamasına olanak sağladı. Bu tip bir sistemde kontrolör uyarıcı bir sinyal iletir ve kas kasıldıktan sonra bir sensör kasın ne kadar kuvvet uyguladığını algılayabilir. Bu bilgi, istenen güce ulaşmak için ışık uyarımının ayarlanması gerekirken gerekeceğini ve ne kadar ayarlanması gerektiğini hesaplayan kontrol cihazına geri gönderilir. Bu tür bir kontrolü kullanan araştırmacılar, kasların yorulmadan bir saatten fazla uyarılabileceğini, elektriksel uyarımı kullanılarak ise kasların yalnızca 15 dakika sonra yorulduğunu buldu. Ancak bu yöntem günümüzde insanlar üzerinde kullanılamamaktadır çünkü opsinlerin insan vücuduna güvenli bir şekilde aktarılması sorun teşkil etmektedir. Opsinlerin farelerde vücuttaki proteinleri etkisiz hale getiren bağışıklık tepkisini tetikleyebildiği, kas atrofisine ve hücre ölümüne yol açabildiği bildirildi.

Optogenetiğin Kullanım Alanları

Optogenetik yöntemler, davranış ve fizyoloji alanındaki çeşitli konular hakkında bilgi sağlar. Bu konular arasında hareket, yön bulma, öğrenme, hafıza, metabolizma, açlık, susuzluk, solunum, uyku, kan basıncı, ödül, motivasyon, korku ve duyuşal işleme yer almaktadır. Ayrıca, optogenetik araştırmaları, epilepsi, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, felç, kronik ağrı, obsesif kompulsif bozukluk, uyuşturucu bağımlılığı, depresyon, sosyal işlev bozukluğu ve anksiyete gibi çeşitli durumlarla ilişkili hücresel aktivitelere ışık tutmaktadır. Örneğin, optogenetik teknikler, beyinde hangi hücrelerin ve bağlantıların kaygının farklı özelliklerini belirlemeye ve farklı davranışsal durumlara dönüştürmeye yardımcı olabilir, solunum hızı değişiklikleri ve riskten kaçınma gibi (Deisseroth, 2006; Oesterheld, 1971).

Sonuç ve Gelecekteki Beklentiler

Optogenetikten gelecekte büyük beklentiler vardır ve bu beklentiler, çeşitli alanlarda önemli ilerlemeler kaydedileceği yönündedir:

1. Hassas Tedavi Yöntemleri:

- Nörolojik ve Psikiyatrik Bozukluklar: Optogenetik, belirli nöron gruplarını hedefleyerek Parkinson, Alzheimer, epilepsi ve depresyon gibi hastalıkların tedavisinde daha hassas ve etkili yöntemler sunabilir (Herlitze, 2007).

- Ağrı Yönetimi: Kronik ağrıların tedavisinde, ağrı yollarını spesifik olarak hedefleyerek daha etkili ve yan etkisiz ağrı kesici yöntemler geliştirilebilir (Herlitze, 2007).

2. Beyin Araştırmalarında İlerlemeler:

- Beyin Fonksiyonlarının Anlaşılması: Optogenetik, beyin aktivitelerinin anlık ve kesin kontrolünü sağlayarak, beynin nasıl çalıştığını ve çeşitli beyin fonksiyonlarının nasıl düzenlendiğini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir (Sineshchekov, 2017).

- Hafıza ve Öğrenme: Hafıza ve öğrenme süreçlerinin mekanizmalarını çözerek, bu süreçleri iyileştirmeye yönelik terapiler geliştirilebilir (Sineshchekov, 2017).

3. Görme ve İşitme Bozuklukları:

- Görme Rehabilitasyonu: Retina hücrelerinin ışığa duyarlı hale getirilmesiyle, görme yetisini kaybetmiş bireylerde görme fonksiyonu geri kazandırılabilir (Häusser, 2014).

- İşitme Bozuklukları: Benzer şekilde, işitme kaybı olan bireyler için işitme fonksiyonunu geri getirecek çözümler geliştirilebilir (Häusser, 2014).

4. Genetik Hastalıkların Tedavisi:

- Hedefe Yönelik Tedaviler: Genetik mutasyonların neden olduğu hastalıkların tedavisinde, belirli hücrelerin faaliyetlerini kontrol ederek semptomları hafifletmek veya hastalığın ilerlemesini durdurmak mümkün olabilir (Ben-Ari, 2002).

5. Kas ve Hareket Bozukluklar:

- Motor Fonksiyonların Geliştirilmesi: ALS, spinal kord yaralanmaları ve diğer motor nöron hastalıklarının tedavisinde kas aktivitesini kontrol ederek hareket fonksiyonlarını iyileştirmek mümkün olabilir (Govorunova, 2022).

6. Sentetik Biyoloji ve Biyomühendislik:

- Yeni Fonksiyonlar Tasarımı: Canlı organizmalarda yeni işlevler ve özellikler tasarlamak için kullanılabilir, örneğin biyoyakıt üretimi, ilaç sentezi veya çevre temizleme süreçlerinde etkili biyolojik sistemler oluşturulabilir (Mahn, 2018).

7. Hücresel Araştırmalar ve İmmünoloji:

- Bağışıklık Sistemi Kontrolü: Bağışıklık hücrelerinin aktivitesini kontrol ederek, otoimmün hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımlar geliştirmek mümkün olabilir.

Optogenetik, biyoteknoloji ve tıp alanında birçok yeniliğin kapısını aralayabilecek bir teknoloji olarak görülüyor (Sugiyama, 1984). Bu nedenle, gelecekte bu alandaki araştırmaların ve uygulamaların artması bekleniyor. Ne yazık ki şu an tek sorun opsin proteinlerinin insan vücudunda hasara yol açma ihtimali bulunmaktadır. Uzmanlar bu konu üzerine çalışmalarını sürdürüyorlar ve en kısa sürede çözüme kavuşturacaklarını umuyorlar.

Kaynaklar

- Adamantidis, A. R., Zhang, F., Aravanis, A. M., Deisseroth, K., & De Lecea, L. (2007). Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature*, 450(7168), 420-424.
- Ben-Ari, Y. (2002). Excitatory actions of gaba during development: the nature of the nurture. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(9), 728-739.
- Deisseroth, K., Feng, G., Majewska, A. K., Miesenböck, G., Ting, A., & Schnitzer, M. J. (2006). Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *Journal of Neuroscience*, 26(41), 10380-10386.
- Govorunova, E. G., Gou, Y., Sineshchekov, O. A., Li, H., Lu, X., Wang, Y., ... & Spudich, J. L. (2022). Kalium channelrhodopsins are natural light-gated potassium channels that mediate optogenetic inhibition. *Nature neuroscience*, 25(7), 967-974.
- Han, X., Qian, X., Bernstein, J. G., Zhou, H. H., Franzesi, G. T., Stern, P., ... & Boyden, E. S. (2009). Millisecond-timescale optical control of neural dynamics in the nonhuman primate brain. *Neuron*, 62(2), 191-198.

- Häusser, M. (2014). Optogenetics: the age of light. *Nature methods*, 11(10), 1012-1014.
- Herlitze, S., & Landmesser, L. T. (2007). New optical tools for controlling neuronal activity. *Current opinion in neurobiology*, 17(1), 87-94.
- Kishi, K. E., Kim, Y. S., Fukuda, M., Inoue, M., Kusakizako, T., Wang, P. Y., ... & Kato, H. E. (2022). Structural basis for channel conduction in the pump-like channelrhodopsin ChRmine. *Cell*, 185(4), 672-689.
- Kuhne, J., Vierock, J., Tennigkeit, S. A., Dreier, M. A., Wietek, J., Petersen, D., ... & Gerwert, K. (2019). Unifying photocycle model for light adaptation and temporal evolution of cation conductance in channelrhodopsin-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(19), 9380-9389.
- Mahn, M., Gibor, L., Patil, P., Cohen-Kashi Malina, K., Oring, S., Printz, Y., ... & Yizhar, O. (2018). High-efficiency optogenetic silencing with soma-targeted anion-conducting channelrhodopsins. *Nature communications*, 9(1), 4125.
- Oesterhelt, D., & Stoerkenius, W. (1971). Rhodopsin-like protein from the purple membrane of Halobacterium halobium. *Nature new biology*, 233(39), 149-152.
- Ronzitti, E., Ventalon, C., Canepari, M., Forget, B. C., Papagiakoumou, E., & Emiliani, V. (2017). Recent advances in patterned photostimulation for optogenetics. *Journal of Optics*, 19(11), 113001.
- Schneider, F., Grimm, C., & Hegemann, P. (2015). Biophysics of channelrhodopsin. *Annual review of biophysics*, 44, 167-186.
- Sineshchekov, O. A., Govorunova, E. G., Li, H., & Spudich, J. L. (2017). Bacteriorhodopsin-like channelrhodopsins: Alternative mechanism for control of cation conductance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(45), E9512-E9519.
- Sugiyama, Y., & Mukohata, Y. (1984). Isolation and characterization of halorhodopsin from Halobacterium halobium. *The Journal of Biochemistry*, 96(2), 413-420.