

## 非人灵长类的光遗传学研究进展\*

戴辑\*\* 张 攸

(脑与认知科学国家重点实验室, 中国科学院心理研究所, 北京 100101)

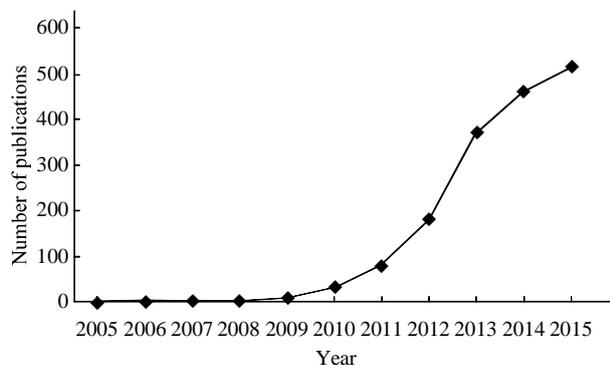
**摘要** 光遗传学是近十年来神经科学领域最受关注的一种神经调控技术. 本文首先简要介绍了光遗传技术的工作原理, 归纳了该技术在神经调控上的优势, 并列出了一些可能的应用方向. 随后指出, 将光遗传技术与非人灵长类结合是推动该技术转化到临床治疗等领域的必要环节. 本文系统回顾了光遗传技术在非人灵长类动物上取得的研究进展, 并重点介绍了 Dai 等的工作. 在总结这些工作的基础上, 还分析了光遗传技术应用到灵长类研究所面临的一些挑战. 最后, 本文对筹划中的“中国脑计划”提出一些关于光遗传技术, 尤其是在非人灵长类的立项建议.

**关键词** 光遗传学, 非人灵长类, 神经调控, 脑功能  
**学科分类号** Q189

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2016.0113

### 1 光遗传技术介绍

在 2005 年, Boyden 及其合作者在 *Nature Neuroscience* 上发表文章, 介绍了一种可用光来控制特定神经元活动的方法, 并在后来将这种方法命名为光遗传学(optogenetics)<sup>[1-2]</sup>. 该方法随即受到业界的推崇, 并在随后几年陆续有基于该方法的重要成果发表<sup>[3-20]</sup>. 5 年之后, 光遗传学被 *Nature Methods* 选为 2010 年年度方法<sup>[21]</sup>. 随后的几年, 光遗传技术相关研究更是呈井喷式发展(图 1). 可以



**Fig. 1 Publications of optogenetics-related studies**

**图 1 光遗传学相关研究历年发表文章数量**

数据来源: Pubmed 搜索关键词“Optogenetics”返回的文章数按年度划分.

说, 该技术是近十年来神经科学领域最受关注的新技术之一.

那么, 光遗传技术到底是什么样的一种技术呢? 简单来说, 光遗传技术是一项结合了光学和遗传学的神经元调控技术<sup>[22]</sup>. 它利用遗传学方法在细胞膜上表达特定的视蛋白(opsin, 一种光敏蛋白), 然后这些视蛋白会在特定波长光照下开放, 将质子泵出胞外, 或者将阴离子(如  $\text{Cl}^-$ ) / 阳离子(如  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) 泵入胞内, 使细胞超极化(hyperpolarization)或去极化(depolarization), 从而可以抑制或兴奋细胞发放<sup>[23-24]</sup>. 图 2 简略地展示了光遗传学中常用的几种视蛋白, 并示意了它们的工作原理.

我们也可以用更通俗的语言将光遗传技术归纳为以下两个过程: a. 基因表达. 光敏基因在特定启动子(promoter)的驱动下, 表达在特定类型的细胞膜上. b. 光控离子通道开启. 视蛋白在一定波长光照下开启离子通道, 形成动作电位或抑制动作电位的发生. 简言之, 光遗传学通过遗传工程手段和光学技术实现对神经细胞活动的灵活调控.

\* 中国科学院心理研究所科研启动经费资助项目(Y5CX112005).

\*\* 通讯联系人.

Tel: 010-64830652, E-mail: daij@psych.ac.cn

收稿日期: 2016-03-01, 接受日期: 2016-04-06

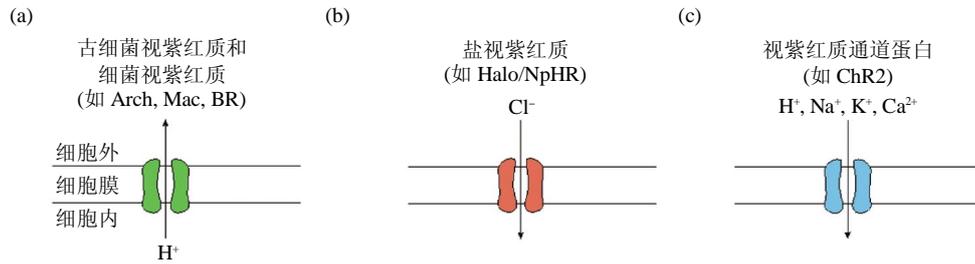


Fig. 2 Common opsins and their working principles<sup>[24]</sup>

图 2 常见的视蛋白及其工作原理<sup>[24]</sup>

(a) 古细菌视紫红质(archaerhodopsins)和细菌视紫红质(bacteriorhodopsins)是受光照驱动的外流型质子泵。(b) 盐视紫红质(halorhodopsins)是光控的内流型氯离子泵。(c) 视紫红质通道蛋白(channelrhodopsins)则是光控的内流型阳离子泵。

作为一种新型的神经元调控技术，光遗传方法可特异性地靶定离体 / 在体脑组织中某一类型神经元，并通过光照实现对该类型神经元活动的特异性调控。与传统的神经调控方法(如药理学法(pharmacological methods)或微电流刺激(electrical microstimulation)法)相比，光遗传学具有如下优势：  
 a. 高空间特异性。即通过光遗传技术可选择性地调控某一类型神经元，而不影响其他神经元。这是广谱的微电流刺激所不具备的。  
 b. 高时间精度。表达视蛋白的神经元能响应光照刺激的频率进行发

放，因此具有很高的时间精度(毫秒级)。这也克服了起效缓慢的药理学方法的缺陷。  
 c. 能实现对神经元活动的双向调节(激活或者失活，图 3)。传统的微电流刺激通常只能兴奋，而注射药物通常是抑制性的。  
 d. 在光照刺激时能同时记录神经元的反馈。与之相比，微电流刺激通常在刺激时是无法有效记录的。这些优势使得光遗传技术成为更先进的神经调控技术，并有着广阔的应用前景。

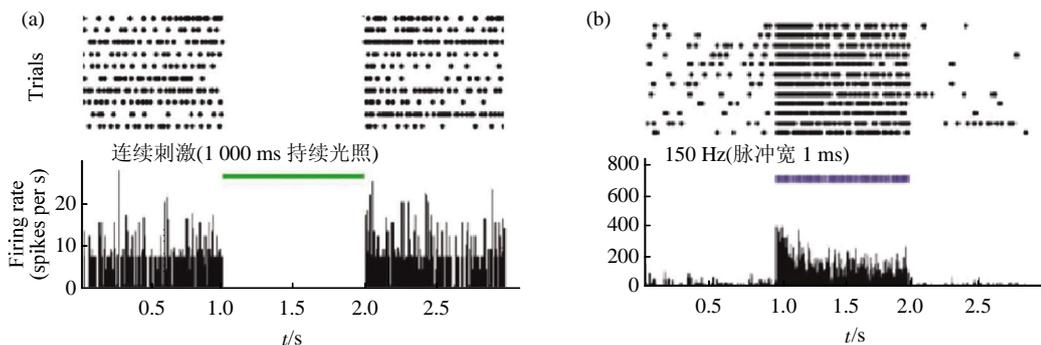


Fig. 3 Examples of optogenetic modulation<sup>[25]</sup>

图 3 光遗传技术调控神经元活动示例<sup>[25]</sup>

(a) 表达 Halorhodopsin 的神经元在受黄光照射时发放被抑制。(b) 表达 Channelrhodopsin 的神经元在蓝光照射时被激活。

## 2 光遗传技术的应用方向

在神经科学研究中，神经元是一个基本的功能单元，而神经元活动则是各种复杂功能的基础。如果我们能够精准地控制神经元的活动，便相当于我

们具有了对神经元进行重新编码的能力，这将会给我们带来无限的可能性。光遗传学技术的出现正在为我们开启这扇门。本节将简要列出几个可能的应用方向：

a. 研究特定神经元及神经网络的功能。由于

光遗传技术的细胞类型特异性, 我们可以通过控制单一一种类神经细胞在整体动物中的活动来了解这一类神经细胞的特异性功能. 同时, 我们还可以通过监测周围细胞的活动来了解神经回路的工作机制<sup>[7,9]</sup>.

b. 确定与行为对应的神经网络. 传统的电生理技术可被动地记录到与行为相关的神经活动, 而光遗传技术则可通过主动控制神经元活动的方式诱发出相应的行为, 因而可以更确凿地理解与行为相关的神经网络. 目前已经进行的探讨包括恐惧情绪、学习记忆等方面<sup>[13, 26-27]</sup>.

c. 临床治疗. 光遗传技术有着让人兴奋的临床应用前景, 它至少可以用于:

(A) 视力恢复. 已有研究表明, 对视网膜缺陷致盲的小鼠, 光遗传技术可有效地使之恢复感光能力<sup>[28-29]</sup>.

(B) 治疗神经系统紊乱, 如帕金森病、癫痫. 目前帕金森病的治疗可用到的是深部脑电刺激(deep brain stimulation, DBS), 但是该方法成本高, 定位不准, 副作用较大. 光遗传技术有望提供更精准、更高效的治疗. 一些以帕金森小鼠为模型的研究已经表明, 光遗传调控可有效降低动物的相应症状<sup>[12, 16]</sup>.

(C) 干预抑郁症、成瘾等. 通过对多巴胺神经元的调控, 可以实现对抑郁、成瘾等精神问题的干预<sup>[30-31]</sup>.

d. 人工智能. 这里面有两个主要方向, 一是在自然脑上, 利用对神经元的编码能力, 将信息写入, 从而可以上载记忆或者知识等, 二是在人造设备方面, 通过脑机接口(brain machine interface, BMI)等方式, 对设备进行智能化的控制.

在这些方向中, a、b 属于神经基础研究, 在不同的模式动物中都可以进行. c、d 则是与人类的健康和文明进步相关的应用, 也是光遗传技术最吸引人的地方, 只是目前在这两个方向都只在小动物模型上取得一些探索性的成果, 还需要在高等的非人灵长类上进一步验证才能转化到人类.

### 3 光遗传技术在非人灵长类上的研究进展

#### 3.1 非人灵长类研究的必要性

在神经科学研究领域, 啮齿类的小鼠/大鼠是常用的模式动物, 前述的利用光遗传技术获得的成果多数是在鼠类上进行的. 但是仅仅依靠从啮齿类获得的结果并不能很好地帮助我们理解人类的大脑, 而将光遗传技术应用到人类的临床治疗更是遥

远. 非人灵长类(nonhuman primate, 如猕猴)是人类的近亲, 在解剖和功能上都与人类具有很多相似性, 因此非人灵长类是研究大脑的更好模型. 同时, 对于新的治疗方法或药物, 通常也需要在非人灵长类上先验证安全性和有效性之后再转化到人类. 因此, 前述关于光遗传技术用于临床治疗的设想也需要在非人灵长类上作充分论证.

#### 3.2 非人灵长类的光遗传研究进展

在灵长类上进行光遗传研究要比在小鼠上困难得多, 其成本更高、周期也长的多, 因此其发展速度整体上要落后于其他小动物模型. 不过, 国际上一些先驱者在光遗传技术推出之际就开始尝试将之应用到非人灵长类模式动物. 早在 2009 年, Han 等<sup>[32]</sup>就成功将视蛋白 channelrhodopsin-2 (ChR2) 表达在猕猴前额叶皮层的兴奋性神经元上, 首次实现了对灵长类动物神经元的在体光控调节, 并且时间精度达到毫秒级. 他们的研究验证了光遗传技术在灵长类上的可行性、安全性和长效性. 随后在 2011 年, Han 等<sup>[33]</sup>又将另一种抑制性的视蛋白 ArchT 表达在猕猴皮层神经元上, 实现了对神经元的抑制性调控. 同年, 斯坦福的研究团队 Diester 等<sup>[25]</sup>则系统性地介绍了利用慢病毒(lentivirus)和腺相关病毒(AAV)载体将兴奋性的 ChR2、抑制性的 NpHR 和阶跃的视蛋白(step-function opsin)表达在非人灵长类脑皮层的方法.

上述的报道在调控神经元活动水平上验证了将光遗传技术应用到灵长类的可行性. 更进一步的研究则需要验证光遗传技术能否在调控神经元活动的基础上诱发动物相应的行为改变. 自 2012 年起, 陆续有研究报道了由光遗传调控介导的灵长类动物行为改变. 首先是 Gerits 等<sup>[34]</sup>发现, 光刺激表达 ChR2 的弓状沟(arcuate sulcus)神经元可调控猴子在视觉诱导的眼动任务中的反应时. 同年, Jazayeri 等<sup>[35]</sup>发现, 光刺激表达 ChR2 的初级视皮层(V1)神经元可诱发猴子的快速眼跳(saccade). 此外, Cavanaugh 等<sup>[36]</sup>在上丘(superior colliculus, SC)表达 ArchT, 发现光照刺激对 SC 神经元产生的抑制可影响猴子眼跳的终点, 并延长猴子的反应时, 降低眼跳的速度. 到了 2013 年, Ohayon 等<sup>[37]</sup>发现, 单独使用光遗传技术刺激额叶眼动区(frontal eye field, FEF)并不能有效诱发眼跳行为, 但是当把光遗传刺激与传统的微电流刺激相结合时, 即使是阈下的弱电流刺激, 也可有效的诱发猴子的眼跳行为. 随后的 2014 年, 来自布朗大学的两个团队相

继带来了新的报道. 其中 Dai 等<sup>[38]</sup>报道了光遗传调控猕猴顶内沟外侧区(lateral intraparietal area, LIP)神经元活动对猴子的空间分辨能力的影响, 他们发现光遗传刺激不仅能有效影响猴子的准确率, 并且其效力可与传统微电流刺激相当. 而 May 等<sup>[39]</sup>则发现, 猴子可准确检测到施加在体感皮层(somatosensory cortex, S1)的光遗传刺激. 时间推进到 2015 年之后, 又有两个团队为我们带来了新的进展. Afraz 等<sup>[40]</sup>利用光遗传技术, 特异性地抑制了下颞叶皮层(inferior temporal cortex, IT)中的面孔选择神经元, 发现这种抑制会显著改变猴子对于面孔性别的分辨能力. Inoue 等<sup>[41]</sup>则通过光遗传技术, 将 ChR2 表达在自 FEF 到 SC 的投射神经元上, 并发现在 SC 光刺激可有效诱发猴子的快速眼跳. 这些在不同脑区用不同任务进行的实验归结起来表明, 光遗传调控猕猴的神经元活动可以: a. 影响猴子的眼动行为; b. 影响猴子的注意和决策; c. 有效应用于通路研究.

### 3.3 非人灵长类研究面临的挑战

目前, 光遗传技术在非人灵长类上的研究虽然取得了令人瞩目的成果, 但是依然面临一些问题, 因而进展并没有如人们预期的那么顺利. 其中首要的问题就是由光遗传调控所诱发的行为反应并没有在啮齿类动物上所观察到的那么明显, 甚至到目前还未能成功诱发或影响灵长类的肌体运动反应(motor response, 比如四肢的运动). 考虑到猴脑的容量和复杂程度远非鼠脑可比, 在灵长类上使用与小动物相似的刺激强度或调控方式或许很难获得相似的结果. 要解决这个问题需要摸索出更有效的光遗传调控模式. 另一方面, 光遗传技术的应用依然受到光传输手段的限制. 目前的手段主要是利用微细光纤(直径约 125~400  $\mu\text{m}$ )将光脉冲导入目标脑区, 因而光传输的过程并非完全无创(non-invasive).

如果想减少对脑组织的损伤, 就需要利用更纤细的光纤; 但是光纤孔径的减少, 意味着传输光的减少. 我们需要找到能解决这个矛盾的有效方式. 一个可能的方向是开发对长波长的红光敏感的视蛋白(如 Boyden 团队最近所推介的红移视紫红质 Jaws<sup>[42]</sup>), 利用红光较强的穿透性, 在颅外即可施加刺激, 以避免对脑组织的损害. 第三方面, 目前的灵长类光遗传研究都是通过注射病毒载体感染目标神经元的方式进行基因表达, 而鼠类研究则有很多成熟的转基因鼠产品线. 在研究一些疾病及对应的治疗手段时, 转基因动物会是最好的模型. 因此培育转基因猴将会是解决这一问题的关键. 值得期待的是, 中国已经有团队成功培育了“自闭症”的转基因猴<sup>[43]</sup>, 这在国际上处于领先水平. 总而言之, 我们仍须投入更多的努力来优化光遗传技术在灵长类研究中的应用, 以期能获得更好的效力, 推动光遗传技术的发展.

## 4 Dai 等的工作亮点和意义

Dai J. 以及布朗大学的合作团队, 是国际上最早投入到研究如何将光遗传技术应用到非人灵长类的先行者之一, 他们的工作对光遗传技术的发展具有一定的推动作用. Dai 等首先在技术上解决了两个难题, 一是用于感染细胞进行基因表达的病毒注射系统, 二是用于传输光并记录神经元反馈的光电极(optrode). 对于病毒注射, 之前 Diester 等<sup>[29]</sup>所介绍的方法里, 病毒注射是在将动物麻醉之后在手术室里进行的. 该法存在步骤繁琐、效力低下、耗时较长等缺点. Dai 等<sup>[44]</sup>则构建了一套可在猴子日常训练/实验所在的猴椅上进行注射的系统, 使得病毒注射可像日常电极记录一般在清醒猴子上进行, 大大提升了病毒注射的效率(图 4a). 而对于光电极制作, 他们则进行了两方面的改进: 一是使用

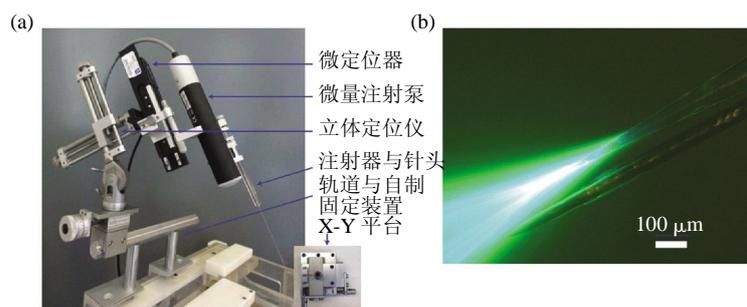


Fig. 4 The improvement of Dai *et al.* to optogenetic technique

图 4 Dai 等对灵长类光遗传技术上的改进

(a)可在猴椅上进行的病毒注射系统<sup>[44]</sup>. (b)由锥形尖端光纤和钨丝电极组成的光电极<sup>[38]</sup>.

外径只有 125  $\mu\text{m}$  的光纤和 75  $\mu\text{m}$  的钨丝电极, 使得光电极整体大小缩小到约 200  $\mu\text{m}$ , 大大小于前人所用的光电极, 因而可以有效减少对组织的损伤; 二是独创性地将光纤的输出端经过加热拉制成锥形, 因而可以有效扩大光照面积, 提升光照效率(图 4b)<sup>[38, 44]</sup>.

除了在技术上的改进, Dai 等的实验发现也具有开创性的意义. 他们首先在猕猴 LIP 区(位于背侧通路的顶叶, 主要与注意、眼动、视觉显著性 (salience map) 等相关) 的兴奋性神经元表达视蛋白 CIV1, 实现对神经元的兴奋性调控; 随后, 他们训练猕猴执行一个空间分辨任务, 即辨别对侧同时呈现的目标 “T” 和干扰子 “+”, 考察目标和干扰子呈现在不同空间位置时猕猴辨别目标的准确率(图 5a). 他们发现, 如果在给予视觉刺激的同时光照兴奋 LIP 神经元可以显著增加猴子检测呈现于感受野(receptive field)内目标的准确率, 并相应降低

检测呈现于感受野对侧目标的准确率(图 5b). 他们的这一发现是首次高级皮层 LIP 上验证了光遗传调控对灵长类行为的影响效力. 同时, 与简单的眼动任务不同, 他们引入的行为任务是需要注意、决策等高级功能参与的任务. 这表明, 光遗传调控 LIP 神经元可以干扰高级通路中的视觉显著性并引导眼动系统定位下一次眼动的目标. 此外, 他们还比较了光遗传刺激与传统的微电流刺激在相同任务中对猕猴的影响. 他们发现, 两种刺激方式对辨别准确性的影响相当, 但是光遗传刺激几乎不影响猕猴眼动选择的反应时, 而微电流刺激则会对反应时产生较大影响. 这意味着, 光遗传刺激影响的是较局部的神经网络, 而电刺激则产生较为全局的干扰, 因而会对眼动产生较大影响. 这也表明, 光遗传对神经元活动和动物行为实现了更为精准的调控. 这些发现对于光遗传技术的发展具有深远的影响.

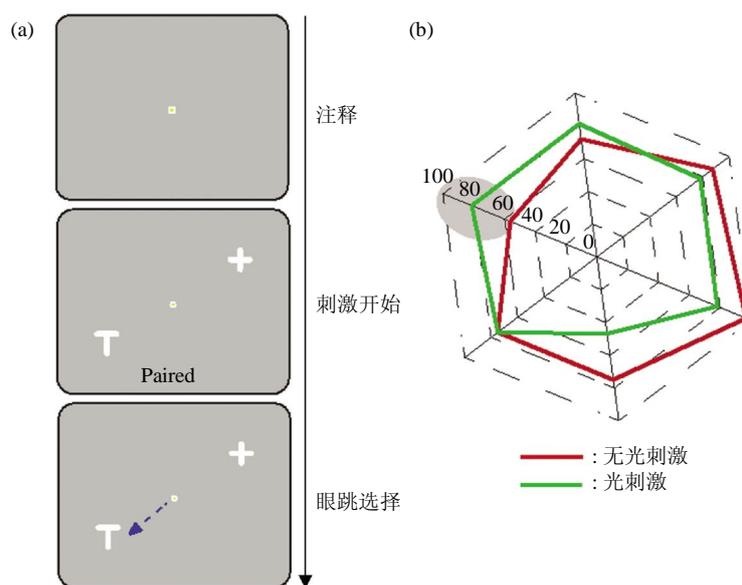


Fig. 5 Optogenetic modulation of LIP neuron influences macaque's spatial discrimination ability<sup>[38]</sup>

图 5 光遗传调控 LIP 神经元对猕猴空间辨别能力的影响<sup>[38]</sup>

(a)空间辨别任务, 其中“T”为目标, “+”为干扰子, 两者同时在可能的六对位点出现. 猕猴需要迅速辨别出那个目标并眼动到目标位置. (b)在光照刺激和无光照刺激条件下猕猴执行任务时的准确率, 其中红色为无刺激条件, 绿色为刺激条件. 阴影所示为感受野位置.

## 5 展望及立项建议

总结起来, 光遗传技术在过去 10 年里取得了飞速发展, 而应用光遗传技术在非人灵长类上进行的研究也取得了一些令人瞩目的结果. 然而, 想利

用光遗传技术在灵长类上取得更大的突破依然面临巨大的挑战, 因而需要更多的关注和更大的投入. 即将实施的“中国脑计划”是一个促进光遗传技术发展的契机. 在已经公布的纲要里, “中国脑计划”涵盖了对“神经调控技术(neuromodulation

technologies)”的支持。作为高效的新型神经调控技术,光遗传学,尤其是涉及灵长类的研究,正是需要专项支持的领域。为了能克服前文提到的困难,我们建议“脑计划”在以下方面进行立项:

a. 光遗传技术开发。该项目支持与光遗传相关的所有技术环节,包括新型光敏蛋白、更高效的可植入式移动光源、3D 光电极阵列、植入式信号传输系统等方面的研发,促进光遗传技术朝更高效、更大的调控范围、更易于转化到医学应用的方向发展。

b. 以非人灵长类为模式动物的在体光遗传学研究。在研究类人的高级脑功能时,非人灵长类比其他模式动物更具优势。作为一种精准高效的神经调控手段,光遗传技术应用于非人灵长类动物可以促进我们对注意、学习记忆、决策、意识等高级脑功能的深入理解。目前以非人灵长类为模式动物的在体光遗传学研究尚处于初级阶段,急需“脑计划”的支持开展相关研究项目以发展成熟、逐步完善,并为该技术的临床应用转化打下基础。

c. 转基因猴研究。通过转基因技术培育出具有先天性免疫系统缺陷或大脑异常病变的灵长类动物,对于我们寻找更好的治疗人类相同疾病的方法具有重大的意义。把转基因猴与光遗传技术相结合将会是理想的在疾病模型上探索治疗手段的结合方式。不过转基因猴研究耗时较长,需要获得长久稳定的支持。

### 参 考 文 献

- [1] Boyden E S, Zhang F, Bamberg E, *et al.* Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci*, 2005, **8**(9): 1263–1268
- [2] Deisseroth K, Feng G, Majewska A K, *et al.* Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *J Neurosci*, 2006, **26**(41): 10380–10386
- [3] Zhang F, Wang L P, Brauner M, *et al.* Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature*, 2007, **446**(7136): 633–639
- [4] Zhang F, Aravanis A M, Adamantidis A, *et al.* Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nat Rev Neurosci*, 2007, **8**(8): 577–581
- [5] Witten I B, Lin S C, Brodsky M, *et al.* Cholinergic interneurons control local circuit activity and cocaine conditioning. *Science*, 2010, **330**(6011): 1677–1681
- [6] Tsai H C, Zhang F, Adamantidis A, *et al.* Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science*, 2009, **324**(5930): 1080–1084
- [7] Sohal V S, Zhang F, Yizhar O, *et al.* Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 2009, **459**(7247): 698–702
- [8] Lobo M K, Covington H E, 3rd, Chaudhury D, *et al.* Cell type-specific loss of BDNF signaling mimics optogenetic control of cocaine reward. *Science*, 2010, **330**(6002): 385–390
- [9] Adamantidis A R, Zhang F, Aravanis A M, *et al.* Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature*, 2007, **450**(7168): 420–424
- [10] Carter M E, Yizhar O, Chikahisa S, *et al.* Tuning arousal with optogenetic modulation of locus coeruleus neurons. *Nat Neurosci*, 2010, **13**(12): 1526–1533
- [11] Zhang F, Wang L P, Boyden E S, *et al.* Channelrhodopsin-2 and optical control of excitable cells. *Nat Methods*, 2006, **3** (10): 785–792
- [12] Kravitz A V, Freeze B S, Parker P R, *et al.* Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature*, 2010, **466**(7306): 622–626
- [13] Johansen J P, Hamanaka H, Monfils M H, *et al.* Optical activation of lateral amygdala pyramidal cells instructs associative fear learning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(28): 12692–12697
- [14] Haubensak W, Kunwar P S, Cai H, *et al.* Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature*, 2010, **468**(7321): 270–276
- [15] Gradinaru V, Zhang F, Ramakrishnan C, *et al.* Molecular and cellular approaches for diversifying and extending optogenetics. *Cell*, 2010, **141**(1): 154–165
- [16] Gradinaru V, Mogri M, Thompson K R, *et al.* Optical deconstruction of parkinsonian neural circuitry. *Science*, 2009, **324**(5925): 354–359
- [17] Ciochi S, Herry C, Grenier F, *et al.* Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature*, 2010, **468**(7321): 277–282
- [18] Cardin J A, Carlen M, Meletis K, *et al.* Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature*, 2009, **459**(7247): 663–667
- [19] Busskamp V, Duebel J, Balya D, *et al.* Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in retinitis pigmentosa. *Science*, 2010, **329**(5990): 413–417
- [20] Airan R D, Thompson K R, Fenno L E, *et al.* Temporally precise *in vivo* control of intracellular signalling. *Nature*, 2009, **458**(7241): 1025–1029
- [21] Method of the Year 2010. *Nat Meth*, 2011, **8**(1): 1
- [22] Deisseroth K. Optogenetics. *Nat Methods*, 2011, **8**(1): 26–29
- [23] Fenno L, Yizhar O, Deisseroth K. The development and application of optogenetics. *Annu Rev Neurosci*, 2011, **34**: 389–412
- [24] Boyden E S. A history of optogenetics: the development of tools for controlling brain circuits with light. *F1000 Biol Rep*, 2011, **3**: 11
- [25] Diester I, Kaufman M T, Mogri M, *et al.* An optogenetic toolbox designed for primates. *Nat Neurosci*, 2011, **14**(3): 387–397
- [26] Liu X, Ramirez S, Pang P T, *et al.* Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*, 2012, **484**(7394): 381–385
- [27] Liu D, Gu X, Zhu J, *et al.* Medial prefrontal activity during delay

- period contributes to learning of a working memory task. *Science*, 2014, **346**(6208): 458–463
- [28] Van Wyk M, Pielecka-Fortuna J, Lowel S, *et al.* Restoring the on switch in blind retinas: opto-mGluR6, a next-generation, cell-tailored optogenetic tool. *PLoS Biol*, 2015, **13**(5): e1002143
- [29] Polosukhina A, Litt J, Tochitsky I, *et al.* Photochemical restoration of visual responses in blind mice. *Neuron*, 2012, **75**(2): 271–282
- [30] Covington H E, 3rd, Lobo M K, Maze I, *et al.* Antidepressant effect of optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex. *J Neurosci*, 2010, **30**(48): 16082–16090
- [31] Tye K M, Mirzabekov J J, Warden M R, *et al.* Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour. *Nature*, 2013, **493**(7433): 537–541
- [32] Han X, Qian X, Bernstein J G, *et al.* Millisecond-timescale optical control of neural dynamics in the nonhuman primate brain. *Neuron*, 2009, **62**(2): 191–198
- [33] Han X, Chow B Y, Zhou H, *et al.* A high-light sensitivity optical neural silencer: development and application to optogenetic control of non-human primate cortex. *Front Syst Neurosci*, 2011, **5**: 18
- [34] Gerits A, Farivar R, Rosen B R, *et al.* Optogenetically induced behavioral and functional network changes in primates. *Curr Biol*, 2012, **22**(18): 1722–1726
- [35] Jazayeri M, Lindbloom-Brown Z, Horwitz G D. Saccadic eye movements evoked by optogenetic activation of primate V1. *Nat Neurosci*, 2012, **15**(10): 1368–1370
- [36] Cavanaugh J, Monosov I E, Mcalonan K, *et al.* Optogenetic inactivation modifies monkey visuomotor behavior. *Neuron*, 2012, **76**(5): 901–907
- [37] Ohayon S, Grimaldi P, Schweers N, *et al.* Saccade modulation by optical and electrical stimulation in the macaque frontal eye field. *J Neurosci*, 2013, **33**(42): 16684–16697
- [38] Dai J, Brooks D I, Sheinberg D L. Optogenetic and electrical microstimulation systematically bias visuospatial choice in primates. *Curr Biol*, 2014, **24**(1): 63–69
- [39] May T, Ozden I, Brush B, *et al.* Detection of optogenetic stimulation in somatosensory cortex by non-human primates - towards artificial tactile sensation. *PLoS One*, 2014, **9**(12): e114529
- [40] Afraz A, Boyden E S, Dicarolo J J. Optogenetic and pharmacological suppression of spatial clusters of face neurons reveal their causal role in face gender discrimination. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(21): 6730–6735
- [41] Inoue K, Takada M, Matsumoto M. Neuronal and behavioural modulations by pathway-selective optogenetic stimulation of the primate oculomotor system. *Nat Commun*, 2015, **6**: 8378
- [42] Chuong A S, Miri M L, Busskamp V, *et al.* Noninvasive optical inhibition with a red-shifted microbial rhodopsin. *Nat Neurosci*, 2014, **17**(8): 1123–1129
- [43] Liu Z, Li X, Zhang J T, *et al.* Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2. *Nature*, 2016, **530**(7588): 98–102
- [44] Dai J, Ozden I, Brooks D I, *et al.* Modified toolbox for optogenetics in the nonhuman primate. *Neurophotonics*, 2015, **2**(3): 031202

## The Progress of Optogenetic Studies in Nonhuman Primates\*

DAI Ji\*\*, ZHANG Tao

(State Key Laboratory of Brain and Cognitive Sciences, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract** In the past decade, optogenetics is one of the most popular neuromodulation techniques in neuroscience. This review first briefly introduces the basic principle of optogenetics and summarizes its advantages in comparing with those traditional methods, and then lists some potential applications of this novel technique. In order to promote the conversion of optogenetic treatment in clinics, it is necessary to integrate optogenetics with nonhuman primate study. This review then systematically looks back the progress of optogenetic studies in the nonhuman primates, and particularly highlights the work done by Dai *et al.*. In addition, this review also points out some challenges towards the development of optogenetics in the future. In the end, to advance the optogenetic-related studies, especially in the nonhuman primates, this review proposes some suggestions to the planning “Chinese Brain Initiative”.

**Key words** optogenetics, nonhuman primate, neuromodulation, brain function

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2016.0113

\* This work was supported by a grant from the Scientific Foundation of Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences (Y5CX112005).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-10-64830652, E-mail: daij@psych.ac.cn

Received: March 1, 2016 Accepted: April 6, 2016