

# 光遗传学技术用于调控细胞信号通路的研究

南迪<sup>1,2</sup> 许迎科<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>浙江大学生物医学工程系, 杭州 310027; <sup>2</sup>生物医学工程教育部重点实验室, 浙江省心脑血管检测技术与药效评价重点实验室, 杭州 310027)

**摘要** 光遗传学技术结合蛋白的遗传学表达与激光的光控和成像, 可实现对细胞内特定信号通路分子的快速激活与调控, 在细胞生物学的研究中具有广阔的应用前景。迄今为止, 越来越多的光控元件被发现, 它们具备不同的结构特征及光反应特性, 极大的扩展了光遗传学技术的生物医学应用。该综述将对不同类型的光控元件及其应用于活细胞中信号通路调控的研究进行总结。

**关键词** 光遗传学; 光敏蛋白; 信号转导

## Studies of Optogenetic Control of Intracellular Signaling Pathways

Nan Di<sup>1,2</sup>, Xu Yingke<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Biomedical Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Biomedical Engineering of Ministry of Education, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Cardio-Cerebral Vascular Detection Technology and Medicinal Effectiveness Appraisal, Hangzhou 310027, China)

**Abstract** Optogenetics combines genetic expression with optical controlling and imaging, which permits rapidly activation and regulation of the activities of intracellular signaling molecules. Optogenetics has great promise in cell biology applications. To date, a variety of photoactivatable modules have been identified. They have distinct structure and photoactivation features, and those have greatly extended optogenetics in the biomedical research. In this review, we will introduce different species of photoactivatable modules, their distinct photon properties, and with an emphasis on their applications in using light to control intracellular cell signaling.

**Keywords** optogenetics; photoreceptors; signal transduction

光遗传学(optogenetics)作为一门新兴的学科在以神经科学为主的很多领域被广泛应用<sup>[1]</sup>。光遗传学技术结合蛋白的遗传学表达与激光的光控和成像, 为细胞生物学提供了崭新的研究思路。常规信号通路的研究手段, 包括如蛋白突变、敲除等由于作用于细胞时间较长, 会对细胞功能造成非特异性的影响。另外, 特定的化学抑制剂虽能较快的阻断某些特定的信号通路, 但由于药物作用的不可逆性及缺乏空间上的控制等, 也就很难对信号通路的时间及空间上的转

导与调控有深入的了解。光遗传学技术不但具备无损、非侵入、时空分辨率高、高度可逆等众多优点, 而且通过结合显微成像手段能实现对信号通路分子及其控制的细胞生命活动进行高时空分辨率记录, 进而揭示信号通路的传递与时空调节机制。

### 1 目前常用的光控元件及其特性

已有的光控元件大致包括以下六类: 视紫红质类(rhodopsins)、视黄质类(xanthopsins)、光

收稿日期: 2015-05-07 接受日期: 2015-09-18

国家自然科学基金(批准号: 31301176、31571480)、浙江省自然科学基金(批准号: LY13C050001)和教育部博士点基金(批准号: 20130101120172)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0571-87951091, E-mail: yingkexu@zju.edu.cn

Received: May 7, 2015 Accepted: September 18, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31301176, 31571480), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LY13C050001) and the Doctoral Fund of Ministry of Education of China (Grant No.20130101120172)

\*Corresponding author. Tel: +86-571-87951091, E-mail: yingkexu@zju.edu.cn

网络出版时间: 2015-11-12 12:46:20 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151112.1246.016.html>

敏色素类(phytochromes, Phy)、隐花色素类(cryptochromes, CRY)、光-氧-电势传感(light, oxygen, or voltage, LOV)包含域类和具有黄素腺嘌呤二核苷酸的蓝色感光(blue light sensor using flavin adenine dinucleotide, BLUF)包含域类等。根据其感受光信号后的蛋白反应情况, 又可分为单元件光异构化蛋白[如LOV、Dronpa和UV-resistance locus 8(UVR8)等]与双元件光结合蛋白[如CRY-CIB1(cryptochromes-interacting basic helix-loop-helix1)、Phy-PIF(phytochromes-interacting factor)]和含LOV结构域的双元件系统等。各种光敏蛋白光化反应的特性及其示意图分别见表1及图1。

### 1.1 基于单元件的光异构化蛋白

吸收光能之后, 光敏蛋白的构象发生改变, 获得或失去其原有的空间抑制作用是光异构化蛋白发挥其作用的基础。

1.1.1 光-氧-电势传感域(LOV domain) 光-氧-电势传感域首先在植物向光素中被发现。向光素是一种丝氨酸和苏氨酸激酶, 负责调节细胞的各种活动。而且, 哺乳动物细胞内含有内源性的黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN)。在蓝光照射下, LOV结构吸收光能之后与FMN结合, 开启光循环。当失去蓝光照射时, 光化反应就会恢复至基态。暗逆转时间从向光素LOV域的10~100 s<sup>[18]</sup>到拟南芥

的几小时不等<sup>[19]</sup>。

1.1.2 UVR8结构域 与大多数光敏蛋白不同, UVR8的光活化过程不需要其他的小分子辅助因子, 只需要其本身的色氨酸残基作为感光元件。在暗环境中, UVR8以同源二聚体的形式存在, 当有紫外线照射时会破坏两个单体之间的色氨酸和精氨酸连接, 致使同源二聚体解离。UVR8单体在离体情况下的暗逆转过程会持续数个小时<sup>[16]</sup>。

1.1.3 Dronpa荧光光敏蛋白域 荧光蛋白Dronpa在蓝紫光(~400 nm)照射下能形成四聚体, 而在蓝绿色光(~500 nm)刺激下能解离成单体的形式<sup>[13]</sup>。与UVR8一样, Dronpa的光活化过程不需要其他的小分子辅助因子, 利用其经修饰后的氨基酸残基作为感光元件。同时, 它的光活化反应也是可逆的。

### 1.2 基于双元件的光敏结合蛋白

当吸收光子之后, 光敏蛋白构象发生改变使得其能与光敏蛋白配体、效应器或是其他蛋白发生结合反应是双元件光敏结合蛋白发挥功能的基础。

1.2.1 隐花色素(cryptochrome, CRY) 隐花色素是自然界中普遍存在的一种蓝光和紫外光敏蛋白。它的结构中包含一个N-端DNA光裂合酶同源区(photolyase homology region, PHR)和一个对于信号传导至关重要的C-端<sup>[20]</sup>。隐花色素可分为三大类: 植物CRYs、动物CRYs和CRY-DASH(CRY-

表1 各种光遗传学元件的光调节与反应性质一览(根据参考文献[2]修改)

Table 1 Optogenetic modules and their optical responsive characteristics (modified from reference [2])

光激活蛋白 Photoactivatable protein	大小(氨基酸数目) Size (amino acids)	辅助因子 Cofactor	聚合/解离波长(nm) Association/ dissociation wavelength (nm)	聚合/解离时间 Association/ dissociation time	参考文献 References
PhyB(FL)-PIF3	1 211/524	PCB	650/750	s/s	[3-4]
PhyB(NT)-PIF3	621/524	PCB	650/750	s/s	[5]
PhyB-PIF6	908/100	PCB	650/750	ms/ms	[6]
CRY2-CIB1	612/335	FAD	450/dark	s/6 min	[7]
CRY2-CIB1	498/170	FAD	450/dark	s/6 min	[8]
CRY2-CRY2	498/498	FAD	450/dark	s/6 min	[9]
CRY2olig	498	FAD	450/dark	s/23 min	[10]
FKF1-GI(LOV fast cycler)	619/1 173	FMN	450/dark	min/h	[11]
LOVpep-ePDZ	153/194	FMN	450/dark	s/s	[12]
Dronpa-Dronpa	257/257	None	400/500	s/s	[13]
UVR8-COP1C340	440/340	None	Dark/290~310	1~4 h/s	[14]
UVR8-UVR8	440/440	None	Dark/280~315	2~24 h/s	[15-17]

PIF: 光敏色素反应因子; PhyB(FL): 全长B型光敏色素; PhyB(NT): B型光敏色素N-端; CIB: 隐花色素碱性螺旋-环-螺旋反应因子; CRY2olig: 低聚2型隐花色素; UVR8: 紫外抗性位点8; COP1C340: 光形态建成调控因子1的C-端340个氨基酸。

PIF: phytochrome-interacting factor; PhyB(FL): full length PhyB; PhyB(NT): N-terminal of PhyB; CIB: cryptochrome-interacting basic helix-loop-helix; CRY2olig: oligomerization CRY2; UVR8: UV-resistance locus 8; COP1C340: C-terminal 340 amino acids of constitutively photomorphogenic 1.

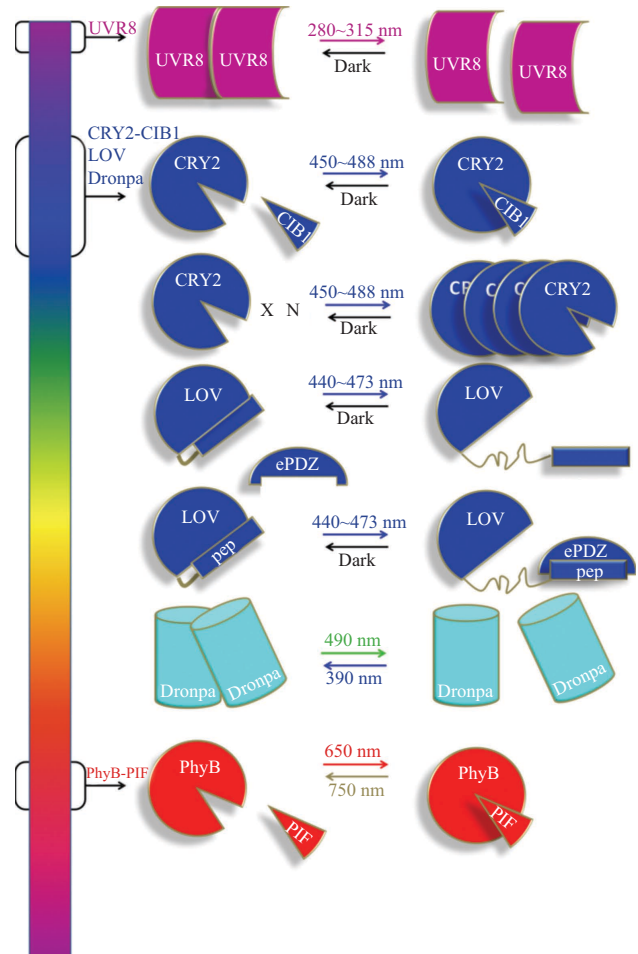
*Drosophila*, *Arabidopsis*, *Synechocystis*, Human) 蛋白。隐花色素首次被发现于拟南芥中, 目前, 常用的有CRY1和CRY2。CRY2在蓝光刺激下会与它的配子CIB1结合; 相反地, 在黑暗环境中会与其分离, CRY2与CIB1的结合具有光可逆性。

**1.2.2 光敏色素(Phytochrome-Phy)** 光敏色素共有五类成员(PhyA、PhyB、PhyC、PhyD和PhyE), 在植物众多的光介导生长过程中发挥重要作用。在动物细胞的光遗传学应用中, 使用最为广泛是PhyB-PIF系统。不同于CRY和LOV蛋白, PhyB-PIF的结合需要以蓝藻素(phycocyanobilin, PCB)作为底物, 对红光(650 nm)/红外光(750 nm)光谱敏感<sup>[21]</sup>。PhyB吸收了红光后从非激活状态(photoactivated red-absorbing, Pr)转变到激活的红外吸收状态(photoactivated far-red-absorbing, Pfr)。在Pfr状态吸收了红外光线后能重新恢复到Pr状态, 整个过程同样具有可逆性。

**1.2.3 含LOV结构域的双元件系统** 此外, 还有几种基于LOV结构域的双元件系统, 如FKF1(flavin-binding, kelch repeat, F-box1), FKF1是一种含有LOV结构域的蓝光感受性光敏元件, 在蓝光(450 nm)照射下会与其配体GIGANTEA(GI)相结合, 利用了双元件结合蛋白的原理实现光控功能<sup>[11]</sup>。此外, 研究人员利用LOV空间变构这一特性设计出了基于LOV的双元件光基因工具, 他们将LOV的Ja结构域与一小段多肽LOVpep(LOV polypeptide)相连接, 而这小段多肽能与ePDZ[engineered post synaptic density protein (PSD95)、Drosophila disc large tumor suppressor (Dlg1) and zonula occludens-1 protein (zo-1)]蛋白结合。在黑暗状态中, Ja处于螺旋状态能阻止多肽与ePDZ结合。当有蓝光照射的时候, Ja解旋并释放多肽使得其能与ePDZ结合<sup>[12]</sup>。

## 2 光调控细胞内信号通路的应用研究

常规的实验手段, 如蛋白突变、敲除等往往需要几天的时间才能检测细胞信号分子改变所造成的细胞功能的影响, 而在这一过程中往往还会造成非特异性影响, 如某些功能蛋白的代偿性表达或蛋白过表达造成的假象等。截止目前, 研究人员通过对上述各种光控元件的科学改造, 已经实现了对多条重要细胞信号通路的光学调控。如受体酪氨酸激酶Ras-MAPK信号通路<sup>[12,22-23]</sup>、PI3K-Akt信号通路<sup>[24-27]</sup>和Rho GTPase激活相关通路<sup>[6,11-12,28]</sup>等, 通过对上述



左边的光谱标明用于激发光基因元件反应的光波长以及发生暗逆转的光波长。右边表示各类光基因元件在相应激发光的刺激下发生的相互作用以及暗逆转的过程。其中, PhyB-PIF、CRY2-CIB1和LOVpep-ePDZ三种是典型的双元件系统, 光激发时与配子发生结合反应。UVR8、Dronpa、CRY2和LOV是典型的单元件系统, 光激发时自身分子构象发生改变。

The left bar illustrates the color of light (wavelength) that is used to activate and inactivate photoreaction. Various protein pairs are shown on the right with or without activation. PhyB-PIF, CRY2-CIB1 and LOVpep-ePDZ are typical two components modules interacting with their partners after stimulation. UVR8, Dronpa, CRY2 and LOV are typical single component modules, whose intramolecular change occurs after stimulation.

图1 光照条件下多种光敏元件发生光化反应的示意图  
(根据参考文献[2]修改)

Fig.1 Scheme of light-induced photochemical reaction of optogenetics modules (modified from reference [2])

信号通路的快速、有效以及特异性的开关控制, 有助于我们了解信号通路的级联传递规律以及不同信号分子的作用效能。这些手段对于与信号通路密切相关的疾病研究, 例如, 癌症、糖尿病及其相关的炎症反应等探索也有十分重要的意义。

### 2.1 Ras-MAPK信号通路

MAPK信号通路是高度保守的, 普遍存在于包

括酵母和哺乳动物在内的多种生物细胞中, 参与调控细胞生长、发育、分化、凋亡等多种生理过程。研究者最早利用PhyB-PIF6光控元件实现了在酵母细胞中MAPK信号通路的光遗传学调控<sup>[12]</sup>。紧接着基于PhyB/PIF6光基因元件调控哺乳动物细胞中MAPK信号通路研究也取得成功, 实验中研究者把PhyB锚定到细胞膜上, 同时将SOS(son of sevenless) [一种鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide-exchange factors, GEF)]的催化域SOS<sub>cat</sub>与PIF6融合表达达到酵母细胞质中。在红光(650 nm)的刺激下, PhyB与PIF6结合同时SOS<sub>cat</sub>这个GEF催化蛋白转运到膜上, 在这里它能够激活Ras/Raf/MEK/ERK信号通路<sup>[22]</sup>。利用同样的原理, Zhang等<sup>[23]</sup>使用CRY2/CIBN(N-terminal of CIB)光基因元件, 实现了光控哺乳动物细胞中Raf/MEK/ERK信号通路。首先, CIB1被锚定到细胞膜上, 同时将CRY2与Raf1结合。当有蓝光刺激时, 细胞质中的CRY2会主动地迁移到细胞膜附近与CIB1进行结合, 并将融合在一起的Raf1运送到细胞膜附近。运送到细胞膜附近的Raf1将发挥其信号蛋白的功能, 紧接着激活其下游信号分子MEK和ERK, 实现了在缺少神经生长因子刺激条件下的精确时间尺度光控制PC12细胞神经突的生长。

## 2.2 PI3K-Akt信号通路

磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)既具有Ser/Thr激酶活性, 又具有磷脂酰肌醇激酶活性。当其募集到膜附近时可以催化膜上的PI-4-P(phosphatidylinositol-4-phosphate, PI4P)生成PI-3,4-P<sub>2</sub>[phosphatidylinositol-(3,4)-bisphosphate, PI(3,4)P<sub>2</sub>], 催化PI-4,5-P<sub>2</sub>[phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate, PI(4,5)P<sub>2</sub>]生成PI-3,4,5-P<sub>3</sub>[phosphatidylinositol-(3,4,5)-trisphosphate, PIP<sub>3</sub>]。膜上生成的PIP<sub>3</sub>为多种信号转导蛋白提供锚定位点, 进而介导PI3K的下游信号通路, 其中就包括Akt。有研究者就利用CRY2/CIBN光基因元件来调控PI3K/PIP<sub>3</sub>/Akt信号通路。他们将CIBN与细胞膜定位序列CAAX融合使其表达在细胞膜上, 同时将PI3K的iSH2(intra-Scr homolog 2)结构域与CRY2的融合蛋白表达在细胞质中。当有蓝光照射时, CRY2-iSH2会迅速转位到细胞膜上, 膜上的iSH2将激活内源性的PI3K, 并通过磷酸化生成PIP<sub>3</sub>, PIP<sub>3</sub>会激活其下游的信号蛋白如Akt、Rac/actin和PKC(protein kinase C)等<sup>[26]</sup>。此外, Idevall-Hagren等<sup>[26]</sup>

还利用CRY2-CIB1实现了光调控细胞内磷酸肌醇的代谢, 他们研究发现细胞局部区域PIP<sub>3</sub>的产生, 会导致细胞膜褶皱的形成以及细胞膜的波动, 而这一过程是完全光激活依赖性的, 且可逆。应用同样的机理, Toettcher等<sup>[24]</sup>利用PhyB-PIF6系统也实现了光控PI3K-Akt信号通路的研究。

## 2.3 Rho GTPase酶活性

Rho GTPase属于Ras家族成员, 它在调节骨架肌动蛋白、细胞迁移以及细胞器的发生等过程发挥重要作用。Rho GTPase可包括Rac1、Cdc42和RhoA等。Rho GTPase在GEFs的作用下释放GDP, 结合GTP进入激活状态, 也能在GTP活化酶(GAP)的作用下从活化状态再次进入失活状态。GEF和GAP在Rho GTPase的激活状态调控中起着重要作用。已有较多的研究利用上述的光敏蛋白元件实现了光控Rho GTPase的活性。Wu等<sup>[29]</sup>将持续激活型的Rac1突变体与LOV2-J $\alpha$ 融合共表达。在黑暗情况下, LOV结构域在蛋白空间上抑制Rac1的活性区域, 在蓝光照射时LOV结构域吸收光能, 使其J $\alpha$ 结构解旋并释放LOV蛋白的空间抑制, 进而激活Rac1。他们利用这一光控系统对细胞的局部区域实施光激活后, 发现在光照区域能形成细胞膜的褶皱和突出, 且细胞膜的动态变化随光照的情况具有可逆性。这一实验充分显示了光遗传学技术的超高时空分辨率, 为我们理解局部信号通路是如何影响细胞整体提供了帮助。此外, Levskaya等<sup>[6]</sup>利用Phy/PIF系统开展了类似的调控胞内Rho GTPase活性的研究。他们将PhyB表达达到细胞膜上, 然后将Tiam(Rac的GEF)、intersectin(Cdc42的GEF)和Tim(Rho的GEF)分别与PIF融合表达。当给细胞光刺激后, GEF蛋白被转运到细胞膜上, 在膜附近激活相应的Rho GTPase酶活性。在3T3细胞中, 研究发现光激活Tiam和intersectin蛋白会引发细胞膜附近板状伪足和丝状伪足的生长, 而光刺激Tim则会引发细胞胞体的收缩。此外, 局部光诱导细胞的Tiam也会引发该区域的板状伪足突出性生长。类似的, 研究者们还利用了FKF1-GI、Dronpa和LOVpep-ePDZ等元件实现了光控Rho GTPase活性的研究<sup>[12-13]</sup>。

## 2.4 细胞内其他功能活性

光控元件除了在上述三条重要信号通路的研究中提供极大地便利以外, 在控制细胞的其它生理活性方面也同样发挥了重要作用。在基因水平上,

研究者利用CRY2-CIB1<sup>[8]</sup>、FKF1-GI<sup>[11,30]</sup>、UVR8-COP1<sup>[14]</sup>和LOV蛋白<sup>[31]</sup>等元件来调控哺乳动物细胞中特定基因的转录表达。有研究将GAL4基因的DNA结合域(GAL4 DNA-binding domains, GBDs)与双元件的其中之一PhyB或CRY2等结合,同时将GAL4基因的DNA转录激活域(GAL4-activation domains, GADs)与PIF3、PIF6或是CIBN结合并在细胞中表达,当有光照时光基因元件之间发生相互作用使得GBDs与GADs相互接近并启动相关标记基因的转录,并且实验证实光基因调控基因的转录过程是可逆的<sup>[5]</sup>,此外,也有利用光基因元件通过连接Cre重组酶来调节DNA转录的研究。我国的杨弋教授率先在国内开展真核细胞中的光控基因转录的研究,其构建了LOV蛋白结构域(Vivid)与GAL4的融合表达载体(Vivid-GAL4),在蓝光照射下,激活的LOV将导致GAL4发生二聚化,进而激活下游的基因转录。在蛋白水平上,研究者利用光控元件控制细胞内蛋白的合成、分泌<sup>[32]</sup>、活性抑制<sup>[10,33]</sup>和降解<sup>[34-35]</sup>等。例如,Chen等<sup>[15]</sup>将两到三个UVR8与疱疹性口腔炎病毒糖蛋白G(vesicular stomatitis virus glycoprotein, VSVG)的C端融合到一起,在黑暗状态下UVR8成低聚状态,VSVG-YFP-UVR8聚合在内质网上,当有紫外光线照射时VSVG-YFP-UVR8聚合体解离,使得蛋白可以沿着细胞分泌路径进入高尔基体之后运转至细胞膜,由此可以实现细胞中蛋白分泌的光控调节。此外,还有的研究利用LOV和Dronpa等光控元件,实现了哺乳动物细胞凋亡过程的光控制。他们将凋亡激活蛋白caspase-7的活性结构域与LOV结合,在黑暗环境中LOV在空间上抑制caspase-7的活性,当有蓝光照射时LOV解旋释放caspase-7活性,使细胞在一小时之内发生凋亡<sup>[36]</sup>。

### 3 总结与展望

光遗传学技术为开展细胞内信号通路研究提供了前所未有的便捷手段,但距其广泛地应用仍有一段路。例如,现有光控元件的数量、种类以及调控特性等仍然不够丰富;不同种类的光敏蛋白的激活光谱存在重叠,且多数时候与光学成像的常用荧光光谱也有重叠,这在一定程度上限制了很多应用;光控元件的系统稳定性仍需评价,以减少表达量差异造成的误差等。总之,光遗传学技术为我们研究细胞功能提供了一种非侵入、可逆、高时空分辨率

的有效手段。正如荧光蛋白的发现与应用极大地促进了生物学的研究发展,我们可以想像光遗传学技术的深入应用及其与相关的学科<sup>[24,37-38]</sup>,如合成生物学、光学等领域的交叉必将会引起生物学研究的另一场革命。

### 参考文献 (References)

- 1 Fenno L, Yizhar O, Deisseroth K. The development and application of optogenetics. *Annu Rev Neurosci* 2011; 34: 389-412.
- 2 Zhang K, Cui B. Optogenetic control of intracellular signaling pathways. *Trends Biotechnol* 2014; 33(2): 92-100.
- 3 Ni M, Tepperman JM, Quail PH. Binding of phytochrome B to its nuclear signalling partner PIF3 is reversibly induced by light. *Nature* 1999; 400(6746): 781-4.
- 4 Ni M, Tepperman JM, Quail PH. PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein. *Cell* 1998; 95(5): 657-67.
- 5 Shimizu-Sato S, Huq E, Tepperman JM, Quail PH. A light-switchable gene promoter system. *Nat Biotechnol* 2002; 20(10): 1041-4.
- 6 Levsikaya A, Weiner OD, Lim WA, Voigt CA. Spatiotemporal control of cell signalling using a light-switchable protein interaction. *Nature* 2009; 461(7266): 997-1001.
- 7 Liu H, Yu X, Li K, Klejnot J, Yang H, Lisiero D, *et al.* Photo-excited CRY2 interacts with CIB1 to regulate transcription and floral initiation in *Arabidopsis*. *Science* 2008; 322(5907): 1535-9.
- 8 Kennedy MJ, Hughes RM, Peteya LA, Schwartz JW, Ehlers MD, Tucker CL. Rapid blue-light-mediated induction of protein interactions in living cells. *Nat Methods* 2010; 7(12): 973-5.
- 9 Bugaj LJ, Choksi AT, Mesuda CK, Kane RS, Schaffer DV. Optogenetic protein clustering and signaling activation in mammalian cells. *Nat Methods* 2013; 10(3): 249-52.
- 10 Taslimi A, Vrana JD, Chen D, Borinskaya S, Mayer BJ, Kennedy MJ, *et al.* An optimized optogenetic clustering tool for probing protein interaction and function. *Nat Commun* 2014; 5: 4925.
- 11 Yazawa M, Sadaghiani AM, Hsueh B, Dolmetsch RE. Induction of protein-protein interactions in live cells using light. *Nat Biotechnol* 2009; 27(10): 941-5.
- 12 Strickland D, Lin Y, Wagner E, Hope CM, Zayner J, Antoniou C, *et al.* TULIPs: Tunable, light-controlled interacting protein tags for cell biology. *Nat Methods* 2012; 9(4): 379-84.
- 13 Zhou XX, Chung HK, Lam AJ, Lin MZ. Optical control of protein activity by fluorescent protein domains. *Science* 2012; 338(6108): 810-4.
- 14 Crefcoeur RP, Yin R, Ulm R, Halazonetis TD. Ultraviolet-B-mediated induction of protein-protein interactions in mammalian cells. *Nat Commun* 2013; 4: 1779.
- 15 Chen D, Gibson ES, Kennedy MJ. A light-triggered protein secretion system. *J Cell Biol* 2013; 201(4): 631-40.
- 16 Christie JM, Arvai AS, Baxter KJ, Heilmann M, Pratt AJ, O'Hara A, *et al.* Plant UVR8 photoreceptor senses UV-B by tryptophan-mediated disruption of cross-dimer salt bridges. *Science* 2012; 335(6075): 1492-6.
- 17 Heijde M, Ulm R. Reversion of the *Arabidopsis* UV-B

- photoreceptor UVR8 to the homodimeric ground state. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(3): 1113-8.
- 18 Matsuoka D, Tokutomi S. Blue light-regulated molecular switch of Ser/Thr kinase in phototropin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(37): 13337-42.
- 19 Imaizumi T, Tran HG, Swartz TE, Briggs WR, Kay SA. FKF1 is essential for photoperiodic-specific light signalling in *Arabidopsis*. *Nature* 2003; 426(6964): 302-6.
- 20 Sancar A. Photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. *Adv Protein Chem* 2004; 69: 73-100.
- 21 Rockwell NC, Su YS, Lagarias JC. Phytochrome structure and signaling mechanisms. *Annu Rev Plant Biol* 2006; 57: 837-58.
- 22 Toettcher JE, Weiner OD, Lim WA. Using optogenetics to interrogate the dynamic control of signal transmission by the Ras/Erk module. *Cell* 2013; 155(6): 1422-34.
- 23 Zhang K, Duan L, Ong Q, Lin Z, Varman PM, Sung K, *et al.* Light-mediated kinetic control reveals the temporal effect of the Raf/MEK/ERK pathway in PC12 cell neurite outgrowth. *PLoS One* 2014; 9(3): e92917.
- 24 Toettcher JE, Gong D, Lim WA, Weiner OD. Light-based feedback for controlling intracellular signaling dynamics. *Nat Methods* 2011; 8(10): 837-9.
- 25 Kakumoto T, Nakata T. Optogenetic control of PIP<sub>3</sub>: PIP<sub>3</sub> is sufficient to induce the actin-based active part of growth cones and is regulated via endocytosis. *PLoS One* 2013; 8(8): e70861.
- 26 Idevall-Hagren O, Dickson EJ, Hille B, Toomre DK, de Camilli P. Optogenetic control of phosphoinositide metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(35): 2316-23.
- 27 Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, Bilanges B. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(5): 329-41.
- 28 Strickland D, Yao X, Gawlak G, Rosen MK, Gardner KH, Sosnick TR. Rationally improving LOV domain-based photoswitches. *Nat Methods* 2010; 7(8): 623-6.
- 29 Wu YI, Frey D, Lungu OI, Jaehrig A, Schlichting I, Kuhlman B, *et al.* A genetically encoded photoactivatable Rac controls the motility of living cells. *Nature* 2009; 461(7260): 104-8.
- 30 Polstein LR, Gersbach CA. Light-inducible spatiotemporal control of gene activation by customizable zinc finger transcription factors. *J Am Chem Soc* 2012; 134(40): 16480-3.
- 31 Wang X, Chen X, Yang Y. Spatiotemporal control of gene expression by a light-switchable transgene system. *Nat Methods* 2012; 9(3): 266-9.
- 32 Tyszkiewicz AB, Muir TW. Activation of protein splicing with light in yeast. *Nat Methods* 2008; 5(4): 303-5.
- 33 Lee S, Park H, Kyung T, Kim NY, Kim S, Kim J, *et al.* Reversible protein inactivation by optogenetic trapping in cells. *Nat Methods* 2014; 11(6): 633-6.
- 34 Renicke C, Schuster D, Usherenko S, Essen LO, Taxis C. A LOV2 domain-based optogenetic tool to control protein degradation and cellular function. *Chem Biol* 2013; 20(4): 619-26.
- 35 Bongler KM, Rakhit R, Payumo AY, Chen JK, Wandless TJ. General method for regulating protein stability with light. *ACS Chem Biol* 2014; 9(1): 111-5.
- 36 Mills E, Chen X, Pham E, Wong S, Truong K. Engineering a photoactivated caspase-7 for rapid induction of apoptosis. *ACS Synth Biol* 2012; 1(3): 75-82.
- 37 Dugue GP, Akemann W, Knopfel T. A comprehensive concept of optogenetics. *Prog Brain Res* 2012; 196: 1-28.
- 38 Xu Y, Melia TJ, Toomre DK. Using light to see and control membrane traffic. *Curr Opin Chem Biol* 2011; 15(6): 822-30.