

ウシガエルにおける内因性光感受性網膜神経節細胞の検討

菊池太賀¹・石金浩史²

Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in bullfrogs

Taiga Kikuchi¹ and Hiroshi Ishikane²

Abstract：第三の光受容器として注目されている内因性光感受性網膜神経節細胞は、視細胞の活動を介さず、視物質としてメラノプシンを持ち、単体で光刺激に対して電気的な活動を示すことが可能である。メラノプシン陽性神経節細胞とも呼ばれるこの細胞は、概日リズム形成などの非撮像的機能への関与の可能性が指摘されている。本研究では、ウシガエルの剥離網膜標本に白色光と赤色光の刺激を呈示し、神経節細胞の活動電位を測定することで、内因性光感受性網膜神経節細胞の有無について調べた。その結果、白色光に対してゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答を示すが、赤色光に対してはそのような応答を示さない細胞が観察された。さらに神経節細胞における視細胞由来の ON 応答を抑制する L-AP4 を投与したところ、このゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答は残存した。これらの結果から、ウシガエルに視物質としてメラノプシンを持つ内因性光感受性網膜神経節細胞が存在する可能性が示唆された。

Keywords：内因性光感受性網膜神経節細胞，メラノプシン，網膜

付記

本研究は、第一著者が令和2年度に専修大学人間科学部心理学科に提出した卒業論文の一部を加筆・修正したものである。

序論

ヒトをはじめとする動物の多くに共通する特徴として、約1日を単位として繰り返す日周活動周期を持っていることが挙げられる。この特性を概日リズム (circadian rhythm) とよび、体温や内分泌系、神経活動、およびそれに起因する睡眠覚醒などの生物の多くの行動様式に関与している。自然界において動物は、光刺激、湿度、温度、その他の社会的刺激など、時間の経過を示唆する刺激をもとに、外界の時間を感じ取ることができる。このような時間由来の外的刺激を告時因子、あるいは環境同調因子という。こうした環境因子がある環境下であれば、動物のリズムは自然界の昼-夜のリズムと同調し、ほとんど厳密に24時間周期を維持することができる。一方で、時間同調因子を完全に剥奪された動物は、自然界のリズムをもとに活動を決定することができず、内因性リズム (free-run rhythm) にしたがっておよそ24時間周期で活動するようになる。脳では、視交叉上核 (suprachiasmatic nuclei) が概日リズムの形成・維持に重要な役割を果たしていると考えられており、この神経核をすべて切除したサルでは、内因性リズムを消失する

(Edgar, Dement, & Fuller, 1993)。また、視交叉上核が網膜神経節細胞からの入力を受けているという生理学的研究から、最も大きな同調因子として作用するのは光刺激であると考えられており、実際にヒトをはじめとする動物は、明暗周期に合わせて行動周期を変容させることが多い。

動物が光刺激を受容するために機能する器官を光受容器と呼ぶが、網膜の研究が行われるようになって100年以上もの間、一般的な動物の眼球に存在する光受容器は、主に暗所視において機能する桿体細胞と、明所視や色の検出に関与する錐体細胞のみであるとする考えが定説であった。ところが、概日リズムに関する研究のなかで、この定説では説明できない動物の行動が報告されるようになった。もし、定説通り光受容器が桿体細胞と錐体細胞のみであるならば、両者が機能していない動物は明暗をもとに概日リズムを維持することは不可能なはずである。しかし、桿体細胞と錐体細胞を遺伝的にノックアウトしたマウスを用いた実験では、視覚機能を喪失しているにもかかわらず、概日リズムが損なわれていないという報告がある (Freedman et al., 1999)。こうした発見から、桿体細胞でも錐体細胞でもない第三の光受容器が視交叉上核に視覚情報を伝達している可能性が示唆されていた。この第三の光受容器の研究は、メラノプシン (melanopsin) という物質の発見により大きく前進した。

受稿日2021年11月30日 受理日2021年12月14日

1 専修大学大学院文学研究科 (Graduate School of the Humanities, Senshu University)

2 専修大学人間科学部心理学科 (Department of Psychology, Senshu University)

メラノプシンは、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) の皮膚より発見された視物質の一種であり、メラニン顆粒を含む真皮メラノフォア (melanophore) より分離されたことから命名された (Provencio, Jiang, De Grip, Hayes, & Rollag, 1998)。メラノプシンの mRNA は同種の視床下部、虹彩などに発現していることも明らかになり、メラノプシンが外界の光受容において特定の役割を有している可能性が指摘された。その後、Provencio らが網膜神経節細胞とアマクリン細胞においてメラノプシンを含有する細胞を発見し、視細胞付近ではメラノプシンの発現が確認されなかったと報告した (Provencio et al., 2000)。また、メラノプシンを含有する神経節細胞は、概日リズムに関与する視交叉上核に投射していることが推定された。そのため、メラノプシンが像の形成などの撮像系ではなく、概日リズムの制御などといった非撮像系に関与しているのではないかという説が浮上してきた。

その後、マウスやラットを用いた動物実験が盛んとなり、それらの動物における内因性光感受性網膜神経節細胞の存在と非撮像的情報処理への関与についての研究が盛んになった。特に内因性の光応答性を持つマウスの網膜神経節細胞に必ずメラノプシンが発現していることが明らかになり、メラノプシンが内因性の光応答性を持つ網膜神経節細胞の視物質であることが結論づけられた (Hattar, Liao, Takao, Berson, & Yau, 2002)。こうしたことから内因性光感受性網膜神経節細胞はメラノプシン陽性神経節細胞と呼ばれることもある。

メラノプシン陽性神経節細胞は、この細胞単体で光刺激に対して応答を示す、つまり内因性の光応答性を有しており、かつほかの光受容器である錐体細胞と桿体細胞由来の入力も受けている。さらに、メラノプシン陽性神経節細胞が概日リズムを司る視交叉上核 (Berson, Dunn, & Takao, 2002)、瞳孔対光反射に関連する視蓋前域のオリブ核など (Hattar et al., 2002) に投射されていることが明らかになっており、それらが非撮像系として機能していると考えられている。

メラノプシンの反応を介したメラノプシン陽性神経節細胞の光応答は、桿体や錐体の反応を介する神経節細胞の光応答と比較して、時間的特性が異なる。光刺激に対する反応潜時は、桿体を介する場合は約 150 ms、錐体を介する場合は約 30~40 ms であるが、メラノプシン陽性神経節細胞の持つ独自の反応潜時は約 900 ms である。また、その反応のピークは約 3 sec 後に現れ、応答が持続的である (Dacey et al., 2005)。すなわち、光

刺激が呈示されてやや遅れて反応が生じ、照射されている間は持続的に活動し続ける性質を持つ細胞であると言える。また、そのスペクトル感受性に関する検討から青色光付近の短波長光に対して感度が最も高いことが示唆されており、一方で赤色光付近の長波長光に対しては感度を持たず反応が生じないと考えられている。なお、ヒトの一つの眼球における錐体細胞が約 1.2 億個、桿体細胞が約 650 万個あるのに対し、神経節細胞の数は約 150 万個と言われており、錐体・桿体細胞に比べて少ないことが知られている。そのなかでもメラノプシン陽性神経節細胞の数は 3 千個程度とされており、神経節細胞全体の約 0.2% であり、かなり少数である。また、ラット網膜上でメラノプシンの陽性反応を示す網膜神経節細胞に標識をつけ、その数を測定した Hattar らは、網膜 1 枚につき 2,300 ~ 2,500 個の細胞を観測したと報告している (Hattar et al., 2002)。ラットの網膜神経節細胞の数はおよそ 10 万個と言われており、メラノプシン陽性神経節細胞は全体の 2.5 % 程度である可能性が示唆されている。これらの検討からメラノプシン陽性神経節細胞は動物種によって多少の差異はあるものの、網膜上にかなり少数しか存在していない細胞だと考えられている。

このメラノプシン陽性神経節細胞については、マウス、ラット、サル、ヒトなどいくつかの生物種においては存在の確認や特性の研究が進められているものの、そのほかの生物種ではあまり調べられていない。その特性や進化の過程を明らかにする上でも、他動物種における検討は大きな意義があると考えられる。カエル網膜は視覚神経系の研究において、他種の動物の高次な視覚情報処理のモデルとして用いられるなど、視覚情報処理研究に適した標本である。しかし、先述の内因性光感受性網膜神経節細胞は、マウス、ラット、サルにおける研究が専らであり、カエルにおける発見例は報告されていない。そこで本研究では、ウシガエル網膜を用いて電気生理実験を実施し、内因性光感受性網膜神経節細胞の有無を調べることを目的とした。

方法

すべての実験は「専修大学人間科学部動物実験取扱内規」に基づいて実施された (承認番号 #2020-1)。

・被験体

実験にはウシガエル (*Rana catesbeiana*) を 5 匹用いた。被験体は実験動物の販売業社より購入し、プラスチック製のケージ内で飼育され、ケージは冷暗所に保管していた。実験実施の直前に被験体を 2 時間以上暗順応

させた。

・手術

十分に暗順応させたウシガエルの脊髄を穿刺し、眼球を摘出した。その後、眼球から前眼部（角膜・虹彩・水晶体）を切除して眼盃標本を作成した。その眼盃標本を4等分に切り分けたのち、色素上皮と網膜を剥離し、網膜標本を作成した。網膜を切除する手続きについては、暗赤色光の照明のもとで実体顕微鏡（SMZ-1, Nikon社）を用い、生理溶液（組成は以下で述べる）で満たしたペトリディッシュ（FALCON No.1008, BECTON DICKINSON社）のなかで行った。

・生理溶液

手術および実験に使用した生理溶液の組成は、NaCl（Wako社, 191-01665）（100.0mM）、KCl（Wako社, 163-03545）（2.5mM）、NaHCO₃（Wako社, 191-01305）（18.0mM）、Glucose（Wako社, 041-00595）（10.0mM）、CaCl₂（Wako社, 039-00475）（1.0mM）、MgCl₂（Wako社, 135-00165）（1.6mM）、Phenol Red（Wako社, 165-01121）（4 mg/l）であった。なお、そのうちCaCl₂、MgCl₂、Phenol Redは希釈時に加えるものとした。標本の保管中には標準ガス（O₂ 95%、CO₂ 5%）で常時バブリングを行った。実験中はこの溶液を剥離網膜標本が設置されたチェンバー内に毎分2 mlの速度で灌流した。

・実験装置および計測

MED64 system（アルファメッドサイエンティフィック社製）を用いて実験を実施した（図1）。メインアンプとしてMED-A64MD1、ヘッドアンプとしてMED-A64HE1Sを使用した。また、活動電位の記録は、計測用PCシステム（MED-D0T）を用いて行い、記録したデータはspike 2. Ver.9.12（CED社）を用いて解析した（Chaya et al., 2021, 2017）。光刺激の発生・制御にはMED オプトステイミュレーター（MED-S11）を用いた。刺激呈示中および順応中の生理溶液の灌流にはMED リングポンプ（MED-KP01）、MED 灌流キャップ・キット（MED-KCAP01TU）を使用した。活動電位の検出にはMED プローブ（Multi - electrode dish）（MED-P515A）を使用し、網膜標本を電極と密着させるためのアンカーとして六角ナットにセルストレーナー（FALCON No.2360, BECTON DICKINSON社）のメッシュを切除し貼りつけたものを使用した。また、アンカーにより網膜が過度に圧迫され、細胞の活動が阻害されるのを防ぐため、マスキングテープ（厚さ50 μm）を電極の周りに貼りつけ高さを調節した。

・実験手続き

実験は暗室にて行った。手術手続きに従って切除した網膜標本をピペット（FALCON No.7501, BECTON DICKINSON社）を用いて生理溶液とともにMED プ

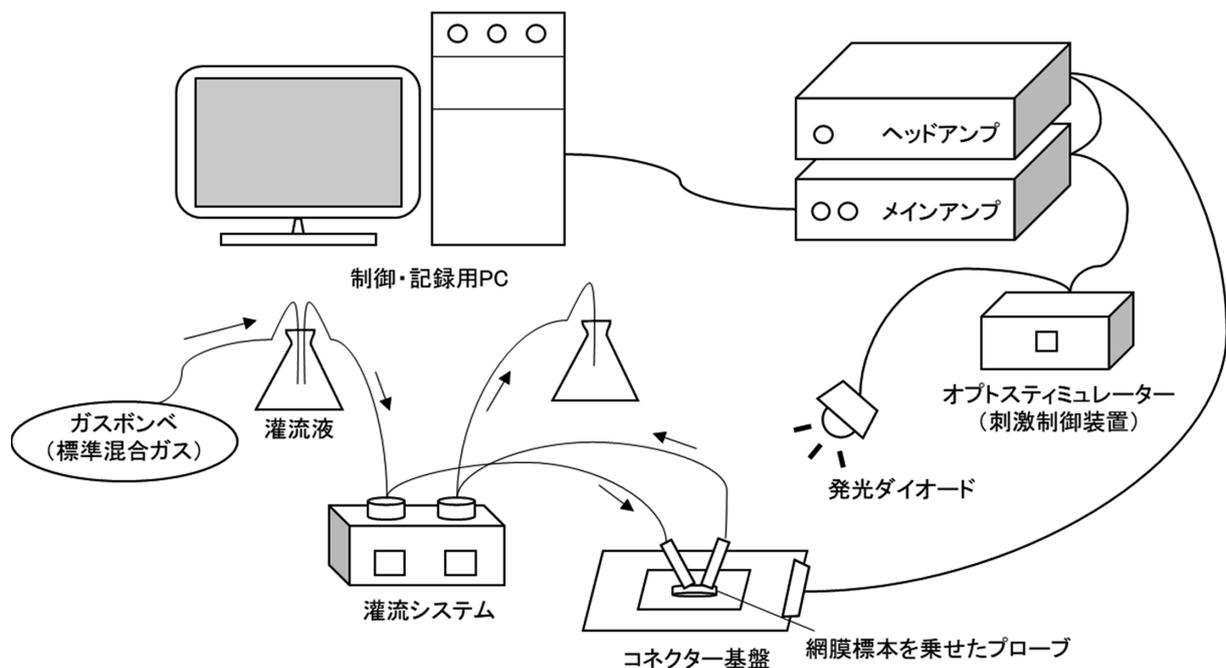


図1 実験装置の概要

生理食塩水で灌流した剥離網各標本に対して発光ダイオードで光刺激を呈示し、活動電位を記録した。

プローブ上に移動した。網膜標本の神経節細胞側が下になるように電極の上に置き、その上からアンカーを乗せ、網膜標本と電極が密着するようにした。

プローブ上に網膜標本を乗せたサンプルをコネクタの上に設置し、設置した網膜標本に照明を2、3回程度当てて、光刺激に対応して活動電位が生じているかどうかを確認した。この時、光刺激に対して活動電位を生じ、正常に活動していると判断した網膜標本は生理溶液の灌流を行い、20分程度環境に順応させるために安置した。この時点で光刺激に対して反応が全く見られない網膜は組織が損傷している可能性があったため、記録を取らずに除外した。安置後、まず白色光のフラッシュ刺激（「呈示刺激」参照）を2分間呈示し、活動電位を記録した。その後、試行間隔を5分以上置いて再び消灯条件に順応させた後、同様に赤色光のフラッシュ刺激を2分間呈示し、活動電位を記録した。次にL-AP4（10 μ M）を投与し、標本内によく浸透させるために10分以上安置した。安置したのちに同様の手順で白色光刺激、赤色光刺激をそれぞれ呈示し、活動電位を記録した（図2）。

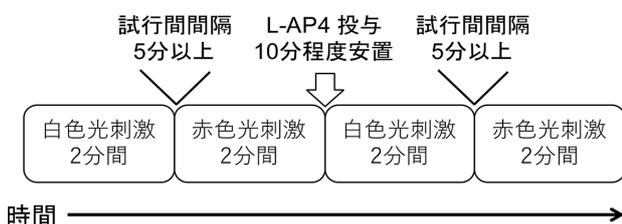


図2 実験試行の流れ

各条件の間には5分以上の試行間隔を設けた。L-AP4を投与する実験では、投与開始から10分以上経過した後に試行を開始した。

・呈示刺激

呈示した光刺激は白色光条件も赤色光条件もいずれもフラッシュ刺激であり、5秒間消灯、5秒間刺激呈示（点灯）、5秒間消灯を繰り返すものを各条件8試行実施した。網膜表面での照度は白色光条件では点灯時2,056.67 lx、赤色光条件では点灯時398.00 lxであった。赤色光の波長は、620~625 nmであった。また、消灯時の照度は白色光条件で9.23 lx、赤色光条件で3.44 lxであった。

結果

本実験では、ウシガエルの網膜神経節細胞の活動を測定し、メラノプシン陽性神経節細胞様の内因性光感受性

網膜神経節細胞の存在について検討することを目的としていた。そこで、ウシガエルの眼球から摘出した網膜標本に白・赤のフラッシュ刺激を呈示し、その活動電位を記録した。

カエルの持つ網膜神経節細胞は、4つのサブタイプに分類できることが知られており、それぞれClass-1（エッジ検出器）、Class-2（凸型運動検出器）、Class-3（影の変化検出器）、Class-4（デイミング検出器）と呼ばれ、適刺激が異なっている（Ishikane, Gangi, Honda, & Tachibana, 2005; Ishikane, Kawana, & Tachibana, 1999; Lettvin, Maturana, McCulloch, & Pitts, 1959）。しかし、光刺激が呈示されている間に持続的に応答する「ON持続型」の神経節細胞はほとんど観察されない（Lettvin et al., 1959）。従って、「ON持続型」の応答が観測できた細胞は、内因性の光感受性を有している可能性を示唆していると考えられる。記録した細胞110個のうち、白色光に対してON持続型の応答が観察された細胞は2個であった。本研究では、光刺激の呈示中に観察された1秒以上持続する応答をON持続型の応答とした。それぞれ細胞1、細胞2として記述する。ON持続型の応答が観察された細胞について、Neuro-Explorer Ver.5.022（Nex Technologies社）を用いて、活動電位のラスタプロットとPeri-stimulus time histograms（PSTHs）を作成した。

活動を記録することができた2つの内因性光感受性網膜神経節細胞と見られる細胞について、それぞれ白色光条件と赤色光条件で生じた応答を比較した（図3、4）。

・細胞 # 1

細胞 # 1 では、白色光条件で刺激呈示を行なっている間、持続的に細胞の活動電位が記録された（図3左）。また、消灯後にはスパイクは消失し、活動電位を生じないという傾向が見られた。一方、赤色光条件では、刺激呈示開始直後と刺激呈示終了直後に集中して活動電位が生じており、白色光条件のように光刺激に対して持続的に活動電位を生じるという傾向は観測されなかった（図3右）。

・細胞 # 2

細胞 # 2 から記録された応答では、白色光、赤色光いずれの条件においても、刺激呈示開始直後と刺激呈示開始直後に集中してスパイクが観測される傾向があった（図4）。また、白色光条件においてはそれら「ON一過性」「OFF一過性」の2つの応答の間を埋めるように、刺激呈示中持続的なスパイクが観測された（図4左）。しかし、赤色光条件においてはそれらの持続的なスパイ

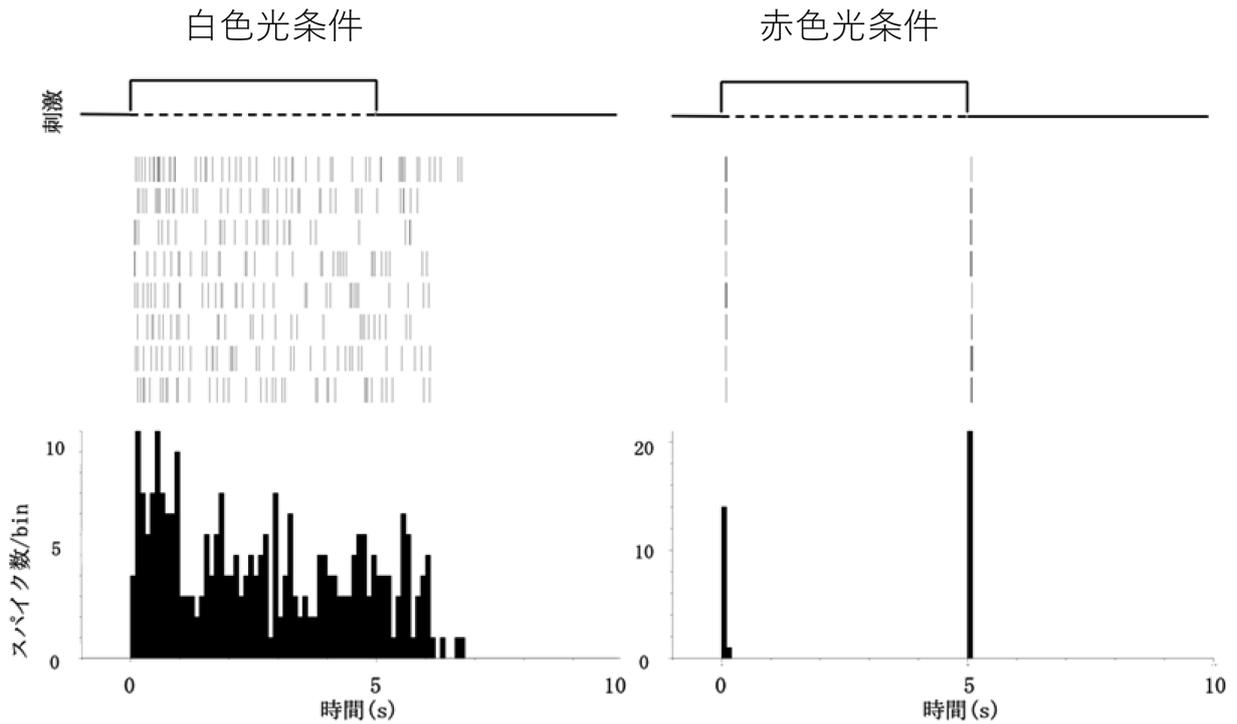


図3 フラッシュ光に対する細胞 #1 の光応答

上段が刺激の呈示区間，中段がラスタープロット，下段がPSTH。以下すべてのPSTHの時間ビンの幅は100 ms。左が白色光条件，右が赤色光条件。

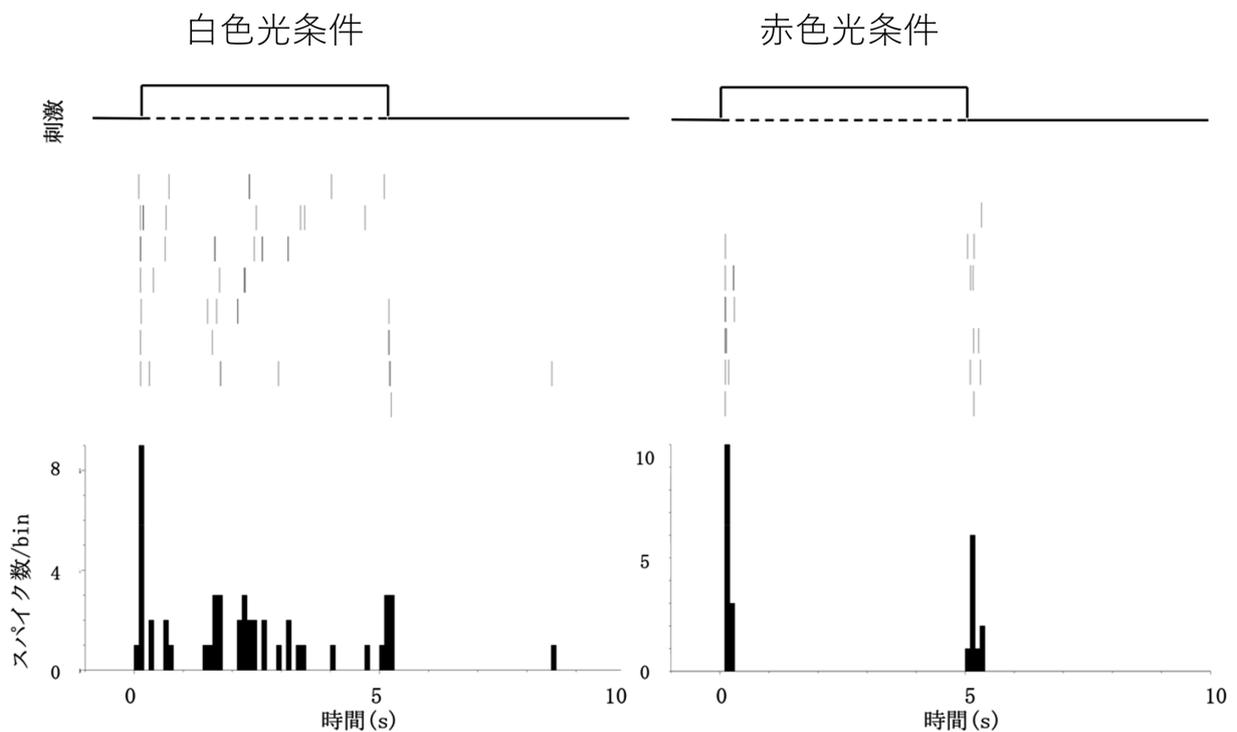


図4 フラッシュ光に対する細胞 #2 の光応答

上段が刺激の呈示区間，中段がラスタープロット，下段がPSTH。左が白色光条件，右が赤色光条件。

クは観測されなかった (図 4 右)。

・L-AP 4 の投与

通常の神経節細胞は、光受容体である視細胞 (錐体細胞・桿体細胞) 由来の信号によって光応答を示す。一方で、内因性光感受性網膜神経節細胞は、それ自体が光感受性を持つ神経節細胞であるため、視細胞由来の信号伝達がない場合にも光応答を示すことが知られている。今回観測された光応答が、神経節細胞における内因性の光応答を含む可能性を検討するために、L-AP 4 を投与した。L-AP 4 は、代謝共役型グルタミン酸受容体のアゴニストであり、視細胞と ON 型双極細胞との間でのシナプス伝達を阻害する (Schiller, Sandell, & Maunsell, 1986; Slaughter & Miller, 1981)。通常の神経節細胞であれば、この L-AP 4 を投与することで、視細胞由来の信号が神経節細胞まで伝達されないため、ON 応答が消失する。しかし、メラノプシン陽性神経節細胞のような内因性光感受性網膜神経節細胞の光応答は、L-AP 4 の投与によって消失しない。

白色光条件において持続的な発火が確認された細胞について L-AP 4 を投与し、視細胞由来の ON 応答を抑制した条件下で白色光と赤色光を呈示した。細胞 # 1 では、白色光を呈示した直後の応答 (一過性の ON 応答) がほとんど見られなくなり、一方で、OFF 応答は残留

した (図 5 左)。また、光刺激が呈示されてからゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答 (刺激呈示後 3~4 秒後) が観測された。赤色光条件では、このような ON 応答は観測されなかった (図 5 右)。細胞 # 2 では、L-AP 4 投与により自発発火が非常に多くなった (図 6)。また、細胞 # 1 と同様に、ゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答が観測された (図 6 左)。赤色光条件では、ゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答は観測されなかった (図 6 右)。しかしながら、1 試行当たりほぼ 1 回の活動電位が光刺激呈示後 1 秒以内に観測された。この成分は、ほかの動物で確認されているメラノプシンを介した応答とは時間経過が異なる (Dacey et al., 2005)。

以上のことから、今回観測された L-AP 4 投与下において残存するゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答を示す神経節細胞は、内因性光感受性網膜神経節細胞である可能性が示された。また、ゆっくりと立ち上がる持続的な ON 応答は、長波長である赤色光の呈示に対して観測されなかったため、光感受性色素がメラノプシンである可能性が示唆された。なお、今回の研究において、このような神経節細胞は 2 例のみ観測されたため、統計的検定は行わなかった。

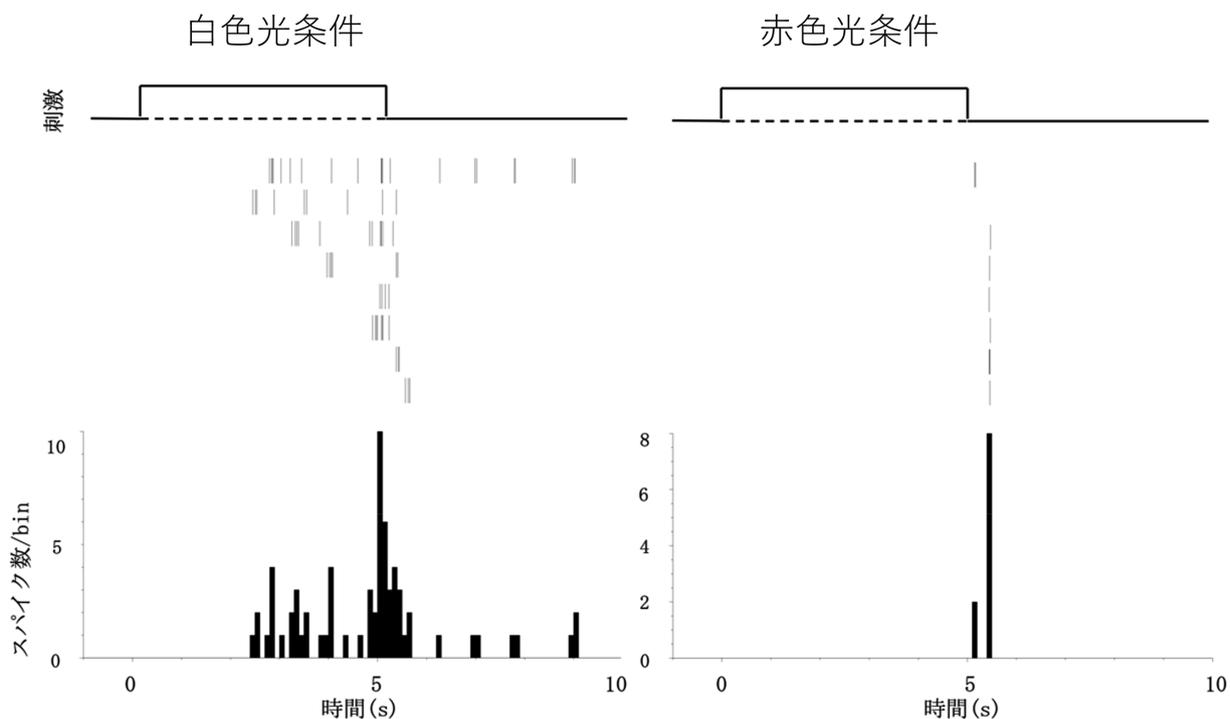


図 5 L-AP 4 投与下におけるフラッシュ光に対する細胞 # 1 の光応答

上段が刺激の呈示区間、中段がラスタプロット、下段が PSTH。左が白色光条件、右が赤色光条件。

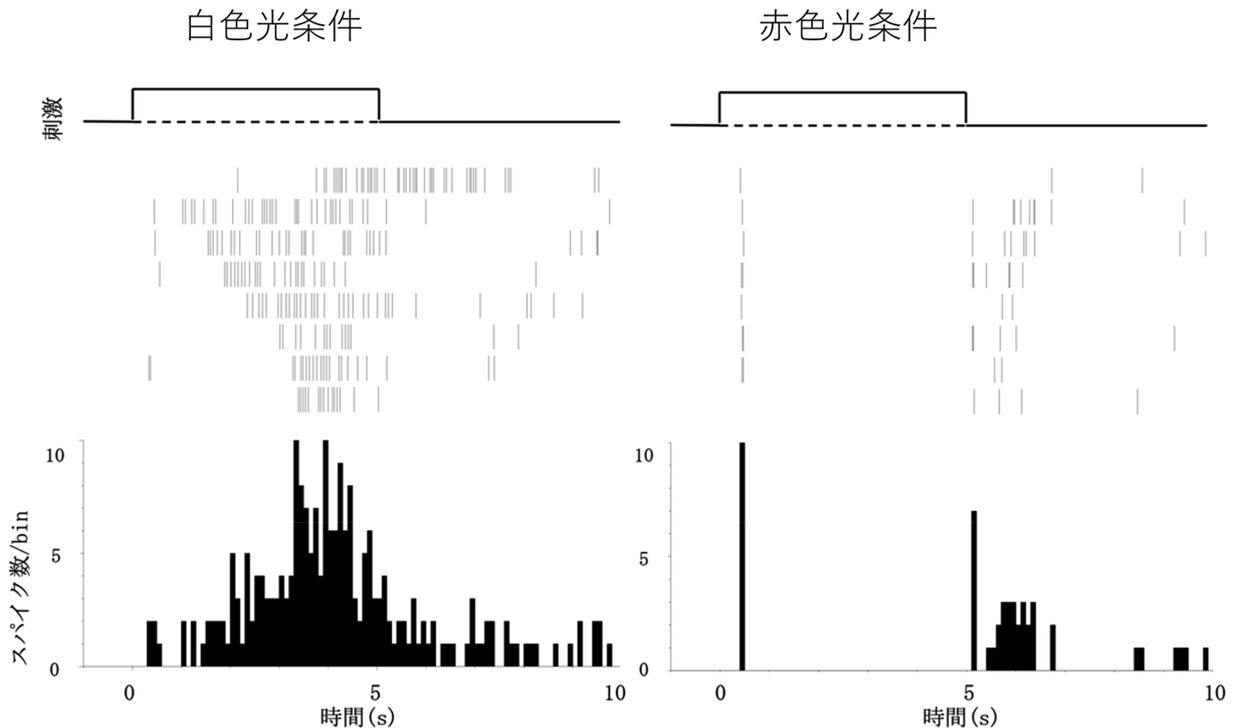


図6 L-AP4投与下におけるフラッシュ光に対する細胞#2の光応答

上段が刺激の呈示区間、中段がラスタープロット、下段がPSTH。左が白色光条件、右が赤色光条件。

考察

本実験では、ウシガエル網膜における内因性光感受性網膜神経節細胞の有無を調査することを目的として、ウシガエルの網膜標本を対象とした電気生理実験を実施した。マウスなどでは、視物質としてメラノプシンを持ち、視細胞由来の信号無しに自身が光の呈示に対して電気的な応答を示す内因性光感受性網膜神経節細胞の存在が報告されており、メラノプシン陽性神経節細胞ともよばれている。メラノプシン陽性神経節細胞は長波長の光に対して感度が低い。そこで、ウシガエルの剥離網膜標本に対して、白色光と赤色光を呈示したところ、白色光に対しては持続的なON応答を示すが、赤色光に対しては持続的なON応答を示さない神経節細胞が観察された。これらの神経節細胞では、視細胞由来の信号によるON応答を遮断するL-AP4を投与すると、白色光を呈示した場合には、ゆっくりと立ち上がる持続的なON応答が残留した。赤色光を呈示した場合には、このような応答は観察されなかった。従って、残留した応答は、視細胞由来の信号がなくても光応答可能な内因性光感受性網膜神経節細胞から記録されたものである可能性が示唆された。また、L-AP4の投与下観察されたゆっくりと立ち上がる持続的なON応答は赤色光の呈示では観

察されなかったため、この内因性光感受性網膜神経節細胞と推定される細胞の視物質はメラノプシンである可能性が考えられる。

内因性光感受性網膜神経節細胞と推定される神経節細胞は記録した110細胞中で2細胞だけであり、非常に少数であることが推定される。ラット網膜上では、メラノプシン陽性神経節細胞は全体の2.5%程度であり、本実験の結果と類似している(Hattar et al., 2002)。

本実験では、内因性光感受性網膜神経節細胞である可能性を持つ1つの神経節細胞において、L-AP4投与下で、赤色光に対して潜時が1秒以内の少数の活動電位が観察された(図6右)。赤色光に対する感度や時間経過から、メラノプシンを介した反応ではないと考えられる(Dacey et al., 2005)。今後この成分について解明する必要がある。

本実験結果から、ウシガエル網膜に内因性光感受性網膜神経節細胞が存在することが示唆されたが、今後はさらに実験を遂行し、その存在を確実に証明する必要がある。また、視物質についても分光吸収特性を調べるとともに、免疫組織化学的手法によりメラノプシンであることを確認することが求められる。

謝辞

本研究の遂行にあたっては、専修大学の寺田慧子研究員、学部生の佐藤朝香氏、永岡顕一氏の協力を得た。

引用文献

- Berson, D. M., Dunn, F. A., & Takao, M. (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science (New York, N.Y.)*, *295*(5557), 1070–1073. <https://doi.org/10.1126/science.1067262>
- Chaya, T., Ishikane, H., Varner, L. R., Sugita, Y., Maeda, Y., Tsutsumi, R., … Furukawa, T. (2021). Deficiency of the neurodevelopmental disorder-associated gene *Cyfp2* alters the retinal ganglion cell properties and visual acuity. *Human Molecular Genetics*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddab268>
- Chaya, T., Matsumoto, A., Sugita, Y., Watanabe, S., Kuwahara, R., Tachibana, M., & Furukawa, T. (2017). Versatile functional roles of horizontal cells in the retinal circuit. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05543-2>
- Dacey, D. M., Liao, H.-W., Peterson, B. B., Robinson, F. R., Smith, V. C., Pokorny, J., … Gamlin, P. D. (2005). Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*, *433*(7027), 749–754. <https://doi.org/10.1038/nature03387>
- Edgar, D. M., Dement, W. C., & Fuller, C. A. (1993). Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *The Journal of Neuroscience*, *13*(3), 1065–1079. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-02-00600.2000>
- Freedman, M. S., Lucas, R. J., Soni, B., von Schantz, M., Muñoz, M., David-Gray, Z., & Foster, R. (1999). Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science (New York, N.Y.)*, *284*(5413), 502–504. <https://doi.org/10.1126/science.284.5413.502>
- Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M., & Yau, K. W. (2002). Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science (New York, N.Y.)*, *295*(5557), 1065–1070. <https://doi.org/10.1126/science.1069609>
- Ishikane, H., Gangi, M., Honda, S., & Tachibana, M. (2005). Synchronized retinal oscillations encode essential information for escape behavior in frogs. *Nature Neuroscience*, *8*(8), 1087–1095. <https://doi.org/10.1038/nn1497>
- Ishikane, H., Kawana, A., & Tachibana, M. (1999). Short- and long-range synchronous activities in dimming detectors of the frog retina. *Visual Neuroscience*, *16*(6), 1001–1014.
- Lettvin, J. Y., Maturana, H. R., McCulloch, W. S., & Pitts, W. S. (1959). What the Frog's Eye Tells the Frog's Brain. *Proceedings of the IRE*, *47*, 1940–1951.
- Provencio, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P., & Rollag, M. D. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(1), 340–345. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.340>
- Provencio, I., Rodriguez, I. R., Jiang, G., Hayes, W. P., Moreira, E. F., & Rollag, M. D. (2000). A Novel Human Opsin in the Inner Retina. *The Journal of Neuroscience*, *20*(2), 600–605. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-02-00600.2000>
- Schiller, P. H., Sandell, J. H., & Maunsell, J. H. (1986). Functions of the ON and OFF channels of the visual system. *Nature*, *322*(6082), 824–825. <https://doi.org/10.1038/322824a0>
- Slaughter, M. M., & Miller, R. F. (1981). 2-amino-4-phosphonobutyric acid: a new pharmacological tool for retina research. *Science (New York, N.Y.)*, *211*(4478), 182–185. <https://doi.org/10.1126/science.6255566>