

Optogenetik

LICHT INS DUNKEL DES GEHIRNS

Unser Nervensystem ist – vereinfacht gesagt – ein sehr komplexer elektrischer Schaltkreis. Jedes Neuron enthält in seiner Hülle, der Zellmembran, eine Vielzahl von Proteinen, die als Pumpen oder Kanäle den Durchtritt von Ionen regulieren. Im Ruhezustand wird dabei stets ein negatives Membranpotenzial aufrechterhalten. Aktivierende Signale wie das Andocken bestimmter Botenstoffe (Neurotransmitter) bewirken, dass positiv geladene Ionen in die Zelle einströmen.

LICHTSCHALTER

Dadurch kommt es zur Depolarisation der Membran. Überschreitet sie eine bestimmte Schwelle, wird ein Aktionspotenzial ausgelöst: Ein schneller Einstrom von Natriumionen kehrt das Vorzeichen des Membranpotenzials schlagartig um und öffnet wie fallende Dominosteine weitere Natriumkanäle längs des Axons. Dieser Nervenimpuls bewirkt, dass an den Enden des Axons, den Synapsen, Neurotransmitter ausgeschüttet werden. Sie fördern oder hemmen wiederum die Entstehung elektrischer Impulse im Empfängerneuron.

Herkömmliche Methoden, mit denen man diese Prozesse an Nervenzellen untersuchte, beruhen auf der direkten Stimulation durch Mikroelektroden. Ihre räumliche und zeitliche Präzision ist jedoch sehr begrenzt. Eine nennenswerte Verbesserung brachte zunächst der Einsatz von »eingesperrten« (englisch: *caged*) Neurotransmittern, die erst durch einen gezielten Laserblitz freigesetzt werden. Um Neurone auf diese Weise zu stimulieren, muss man jedoch die Entstehung toxischer Photoprodukte in Kauf nehmen.

Den Durchbruch brachten schließlich die kürzlich entwickelten optogenetischen Werkzeuge: mikrobielle Rhodopsine, die als genetisch kodierte Schalter fungieren und es somit erlauben, Nervenzellen gezielt durch Licht zu steuern^{1,2}. Neurone lassen sich damit spezifisch, nichtinvasiv und mit höchster räumlicher Auflösung aktivieren. Das eröffnet Forschern völlig neue Wege, die Aktivität einzelner Nervenzellen zu studieren – und zwar in der Kultur ebenso wie in größeren neuronalen Netzen im Gehirn lebender Tiere. Auch mögliche erste biomedizinische Anwendungen zeichnen sich bereits ab: So macht dieser innovative Ansatz Patienten mit Sehbehinderungen oder neurologischen Störungen wie Epilepsie oder Parkinson'scher Krankheit neue Hoffnung auf Heilung.

Grundlage dieser methodischen Revolution in der Hirnforschung war die Entdeckung des Channelrhodopsins2 (ChR2) im Jahr 2003. Dabei handelt es sich um einen Ionenkanal aus Grünalgen, der sich nach Anregung mit blauem Licht öffnet und positiv geladene Ionen in die Zelle einströmen lässt. Dadurch wird das Neuron aktiviert (Bild 1).

Wenig später kam das Halorhodopsin hinzu, das bei Bestrahlung mit gelbem Licht negativ geladene Chloridionen in die Nervenzelle pumpt. Durch die daraus entstehende Hyperpolarisation wird das Neuron inaktiviert. Channel- und Halorhodopsin bilden somit zwei antagonistisch wirkende Partner, die Aktionspotenziale schnell und präzise auslösen oder unterdrücken können. Sie lassen sich leicht durch molekulargenetische Manipulationen in die Plasmamembran der Zielzellen einbringen – ganz ohne Einsatz von zusätzlichen Wirkstoffen oder Chemikalien, was einen großen Vorteil gegenüber anderen Ansätzen darstellt.

Derzeit arbeiten Forscher daran, das Channelrhodopsin so abzuwandeln, dass es noch empfindlicher auf Licht reagiert und eine höhere Schaltgeschwindigkeit erlaubt. Auch die Lichtquellen gilt es zu verbessern³. Erprobt werden Arrays aus einzelnen ansprechbaren Leuchtdioden mit hoher Lichtausbeute, die es ermöglichen sollen, einzelne Hirnbereiche mit hoher räumlicher Auflösung anzusprechen. Außerdem prüfen Forscher Beleuchtungssysteme auf der Basis von Infrarotlicht, das tiefer in das optisch dichte Hirngewebe eindringen kann als das kurzwelligere Licht aus dem sichtbaren Spektralbereich.

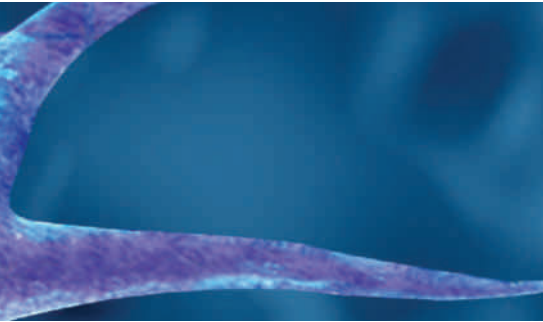
LASERGESTEUERTE NEUROWISSENSCHAFT

Obwohl die Optogenetik erst vor wenigen Jahren aufkam, hat sie schon bemerkenswerte Fortschritte ermöglicht. So ließen sich damit weit reichende funktionelle Schaltkreise im Gehirn kartieren. Außerdem gelang es, den neuronalen Informationsaustausch zwischen den beiden Hemisphären der Hirnrinde von Mäusen sichtbar zu machen. Auch Voruntersuchungen über neurologische Erkrankungen haben Forscher mit der Optogenetik schon am Tiermodell durchgeführt. Dabei konnten sie mittels Channel- und Halorhodopsin jene Schaltkreise charakterisieren, die bei der so genannten Tiefenhirnstimulation zur Therapie von Parkinsonpatienten im späten Erkrankungsstadium erregt werden.

Selbst der Heilige Gral der Neurowissenschaften liegt dank der Optogenetik in Reichweite: die Entschlüsselung der komplexen Abläufe im lebenden Gehirn⁴. Zum Beispiel können Forscher inzwischen mit Glasfasern bestimmte Bereiche des Mäusehirns belichten, so dass die Tasthaare der Tiere zucken oder durch Reizung motori-

Auch wenn der lichtgesteuerte Ionenkanal Channelrhodopsin2 (ChR2) weltweit in Hunderten von neurobiologischen Labors als wichtigstes optogenetisches Werkzeug dient, ist über seine grundlegenden molekularen Mechanismen wenig bekannt. Forscher

des Max-Planck-Instituts für Biophysik in Frankfurt konnten kürzlich zeigen, dass es sich bei ChR2 um einen lichtgesteuerten Protonenkanal handelt, der zusätzlich für positiv geladene Ionen durchlässig werden kann (Feldbauer, K. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 12317–12322, 2009).



- Mit Licht aktivierbare Proteine erlauben es, mit bisher unbekannter Präzision Nervenzellen selektiv an- oder abzuschalten.
- Mit Hilfe solcher optogenetischen Schalter in Zellen in der Kultur oder im Gehirn lebender Tiere werden komplexe Nervennetze erforscht.
- Diese Technologie birgt großes Potenzial für biomedizinische Anwendungen – etwa die Wiederherstellung des Sehvermögens bei bestimmten Erblindungen oder die Behandlung neurologischer Störungen.

scher Zentren Bewegungsaktivität ausgelöst wird (Bild 2)^{5,6}.

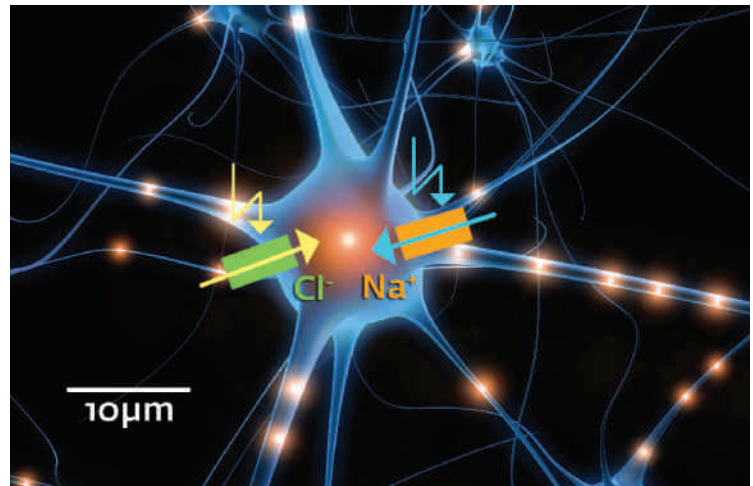
Diese Erfolge im Tiermodell sind aber nur Etappenziele auf dem Weg zur optogenetischen Therapie am Menschen. In Experimenten haben blinde Mäuse, in deren den Lichtsinneszellen nachgeschalteten Zellen der Netzhaut man Channelrhodopsin einbrachte, bereits ihre Lichtempfindlichkeit zurückerlangt^{7,8}. Auf lange Sicht könnte ein ähnlicher gentherapeutischer Ansatz Menschen helfen, die unter Makuladegeneration oder anderen Sehstörungen leiden. Das wäre eine viel versprechende Alternative zur Behandlung mit photosensitiven Implantaten, so genannten Sehchips.

Es gibt inzwischen auch erste Versuche an Labortieren, die helfen könnten, mittels Optogenetik die Behandlung der Parkinsonerkrankung zu verbessern⁹. Derzeit werden bei der so genannten Tiefenhirnstimulation Neurone in bestimmten Hirnbereichen mit bis zu ein Millimeter starken und ein Zentimeter langen Elektroden stimuliert. Zwar ist diese Methode sehr wirkungsvoll, sie hat jedoch den Nachteil, dass sie häufig räumlich zu weit verteilte Aktivierungen auslöst. Dadurch können unabsichtlich auch Neurone außerhalb der Zielregion erregt werden – mit zum Teil schweren Nebenwirkungen.

Mit Hilfe der Optogenetik sollte es gelingen, die gewünschten Zellen mikrometertgenau anzusteuern und sie spezifisch anzuregen. Auch bei anderen Erkrankungen wie der Epilepsie scheint es denkbar, nach einer Gentherapie einzelne Bereiche des Gehirns mit geeigneten implantierbaren Lichtquellen gezielt zu hemmen oder zu stimulieren.

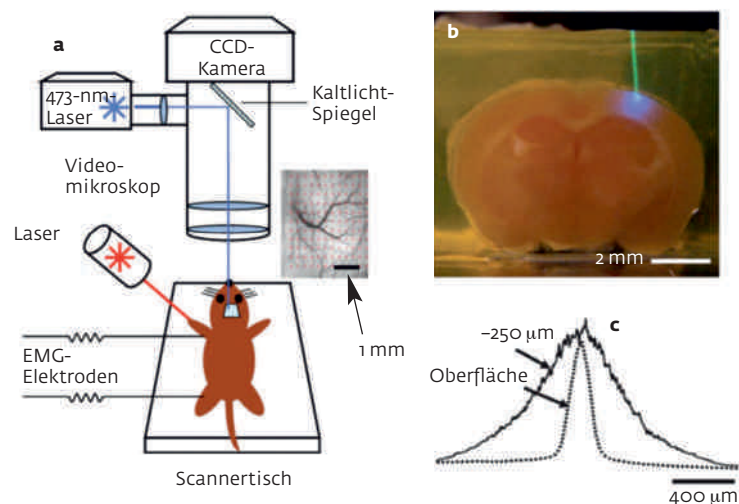
Die Optogenetik eröffnet der neurowissenschaftlichen Grundlagenforschung vielfältige Möglichkeiten und wird weltweit bereits in vielen Labors genutzt. Auch wenn auf dem Weg zu biomedizinischen Anwendungen noch zahlreiche Hürden und Risiken zu bewältigen sind, verspricht die Methode, bahnbrechende neue Ansätze für neurologische Behandlungsstrategien zu liefern.

Bild 1 | Schematische Darstellung der Wirkung von Channelrhodopsin (ChR2) und Halorhodopsin auf Nervenzellen



Aktivierung mit blauem Licht veranlasst ChR2, den Kanal zu öffnen. Dadurch können positiv geladene Natriumionen einströmen und das Neuron auf »an« schalten. Aktivierung mit gelbem Licht bringt Halorhodopsin dazu, aktiv negativ geladene Chloridionen in die Zelle zu pumpen. Die Zelle wird dadurch auf »aus« geschaltet.

Bild 2 | Automatische, lichtbasierte Kartierung der motorischen Hirnrinde der Maus



- a Versuchsanordnung. Mit Hilfe eines Laserstrahls werden die Muskeln einer betäubten Maus stimuliert.
- b Photographie eines Anregungslasers, der auf einen Koronarschnitt von fixiertem Hirngewebe in fluoreszierender Agarose gerichtet ist
- c Intensitätsprofil der beleuchteten Region, während der Strahl die fluoreszierende Agarose über der Oberfläche des Gehirns und 0,25 mm unter der Oberfläche der Hirnrinde durchdringt

Nach: Ayling, O.G. et al., 2009⁶