

Licht ins Neuronendickicht

Die Gentechnik beschert den Neurowissenschaften mächtige neue Werkzeuge: Einzelne Neurone oder ganze Hirnschaltkreise lassen sich per Lichtschalter an- und ausknipsen – vielleicht bald auch beim Menschen.

VON JOACHIM MARSCALL



FOTOLIA / SEBASTIAN KALITZKI

SERIE

Methoden der Hirnforschung

Teil 1: Ein Genatlas der Neurone (G&G 1-2/2011)

Teil 2: Optogenetik – Hirnaktivität mit Licht steuern (3/2011)

Teil 3: 2-Photonen-Bildgebung – »Liveschaltung« zu den grauen Zellen (4/2011)

Teil 4: 3-D-Rekonstruktionen – Die Großhirnrinde exakt vermessen (5/2011)

Teil 5: Diffusions-Tensor-Imaging (DTI) – Nervenverbindungen sichtbar machen (6/2011)

Die Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* gehört zu den simpelsten Organismen der Welt. Sie besteht aus einer einzigen, wenige Mikrometer großen Zelle. Auf einer Seite hat sie zwei fadenähnliche Fortsätze, mit deren Hilfe sie sich in Wasser und Schlamm fortbewegt. Biologen schätzen die Alge schon lange als leicht zu züchtendes Versuchsobjekt – doch seit Kurzem interessieren sich auch Hirnforscher für den Einzeller. Denn der so primitiv erscheinende Winzling könnte die Erforschung von Geist und Bewusstsein beflügeln.

Der Grund ist ein lichtempfindliches Molekül, das man bislang nur in der Zellmembran dieser Spezies fand: das Kanalrhodopsin. Wenn kurzwelliges Licht darauf trifft, verformt es sich und bildet rasend schnell einen Tunnel, durch den elektrisch geladene Teilchen von außerhalb in die Zelle einströmen. Der Fluss der Ionen verändert die Spannung an der Membran – ähnlich wie bei Nervenzellen, bevor sie ein elektrisches Signal abgeben.

Genau deshalb haben Neurobiologen den Kanal auch für sich entdeckt: Sie schleusen das Protein aus der Alge und ähnliche Moleküle, die sie unter anderem in Bakterien fanden, in menschliche oder tierische Nervenzellen ein. Dazu verpacken sie das Gen zur Bildung des

Lichtkanals in ein Retrovirus, das in der Lage ist, das Erbgut der von ihm befallenen Zellen zu verändern. Das Virus fügt dem genetischen Bauplan der Nervenzellen den Abschnitt der Algen-DNA hinzu, und die Neurone beginnen nach kurzer Zeit, das artfremde Protein herzustellen. Nachdem sie es in ihre Zellmembran eingebaut haben, braucht nur noch Licht der richtigen Wellenlänge daraufzufallen – schon öffnen sich die Ionenkanäle, die Zelle sendet ein elektrisches Signal (siehe Grafik auf S. 65).

Auf diese Weise lassen sich die Nervenzellen aktivieren, ohne dass die Forscher sie berühren müssen. Dass eine solche Fernsteuerung tatsächlich funktioniert, demonstrierte 2005 ein Team um den Frankfurter Biochemiker Alexander Gottschalk. Erstmals baute er Kanalrhodopsin in die Nervenzellen eines lebenden Tiers ein: des nur etwa einen Millimeter großen, durchsichtigen Fadenwurms *Caenorhabditis elegans*. Neben dem Gen aus der Grünalge kopierten die Forscher ein weiteres lichtempfindliches Protein in die Würmer: Halorhodopsin. Es stammt aus einem Salz bakterium und legt Nervenzellen lahm, wenn gelbes Licht daraufscheint.

So konnte Gottschalks Team die Nervenzellen der Würmchen – in jene für die Bewegungssteuerung – mit einem blauen Lichtblitz anre-



DREAMTIME / ALAMY JUDIN [M]

**ERLEUCHTUNG DER
ANDEREN ART**
Neue Möglichkeiten, die
Aktivität des Gehirns durch
Lichtstrahlen zu manipu-
lieren, könnten die Neurowis-
sensschaften revolutionieren.

gen und mit einem gelben hemmen. Ein Fadenwurm, der unter blauem Licht munter zappelt, erstarrt somit unter gelbem Licht in der Petrischale.

In einer weiteren, noch unveröffentlichten Studie machten die Frankfurter ihre Versuchstierchen sogar auf Knopfdruck »glücklich«: Sie schmuggelten das Kanalrhodopsin in Nervenzellen, die Dopamin freigeben. Der Botenstoff wird im Wurmhirn ausgeschüttet, wenn das Tier auf Futter trifft – etwa einen Bakterienrasen in der ansonsten öden Petrischale –, worauf es langsamer kriecht. Die Wissenschaftler konnten dieselbe Reaktion hervorrufen, indem sie die manipulierten Dopaminzellen mit blauem Licht anstrahlten.

Beeinflussen statt nur beobachten

»Optogenetik« heißt diese neue Methode, die es erlaubt, die Aktivität des Nervensystems so schnell und präzise wie nie zuvor zu beeinflussen. »Wir stehen an einem Wendepunkt«, glaubt Gero Miesenböck von der University of Oxford, einer der Väter der neuen Methode. »Bisher haben Neurobiologen vor allem beobachtet, aber vergleichsweise wenig interveniert.« Doch mit Ableitungen von einzelnen Zellen oder mit Hirnscans könnten Forscher dem Nervensystem nie

die letzten Geheimnisse entlocken. »Mit Hilfe der Optogenetik ist es einfach, Neurone gezielt zu manipulieren und die daraus resultierenden Effekte zu beobachten. Das lässt genauere Rückschlüsse zu als bloßes Beobachten.«

Natürlich haben Forscher auch bisher schon Nervenzellen experimentell stimuliert. Dazu mussten sie jedoch feine Elektroden ins Hirngewebe stechen, die Stromstöße an die umliegenden Zellen aussenden. Niemand weiß genau, wie viele und welche Neurone dabei angeregt werden; zudem kann die Behandlung das Gewebe schädigen.

»Mit dem Kanalrhodopsin bekommen wir nun eine sehr hohe zeitliche und räumliche Auflösung hin«, betont Ernst Bamberg, Direktor am Frankfurter Max-Planck-Institut für Biophysik. Zusammen mit Georg Nagel von der Universität Würzburg und Peter Hegemann von der Humboldt-Universität Berlin hatte er das ungewöhnliche Molekül 2002 im Genom der Grünalge aufgestöbert. Schon seit den 1980er Jahren erforscht Bamberg lichtempfindliche Proteine, das Halorhodopsin etwa war schon damals bekannt. »Vor 30 Jahren hätte man es noch für eine verrückte Idee gehalten, so etwas in die Nervenzellen lebender Tiere einbauen zu wollen«, sagt er.

AUF EINEN BLICK

Hoffungsträger Optogenetik

1 Forscher beleuchten gentechnisch veränderte Nervenzellen, um deren Aktivität zu steigern oder zu hemmen.

2 Auf diese Weise lässt sich die neuronale Erregung mit bislang ungeahnter Präzision kontrollieren.

3 Neben Erkenntnissen in der Grundlagenforschung könnte die Optogenetik auch neue Therapien bei neurologischen Erkrankungen eröffnen.

Leuchtende Zellen dank Quallen-Gen

Die Optogenetik umfasst auch Methoden, mit denen sich die Aktivität von Zellen besser als je zuvor sichtbar machen lässt: Ein Gen aus der Qualle *Aequorea victoria* etwa sorgt in Hirngewebe anderer Tiere dafür, dass einzelne Neurone – oder nur bestimmte Zellbestandteile – bei Bestrahlung mit blauem Licht unter dem Mikroskop grün schimmern. Für die Entdeckung dieser Methode erhielten der Japaner Osamu Shimomura sowie die US-Forscher Martin Chalfie und Roger Tsien 2008 den Nobelpreis für Chemie.

Doch der gentechnische Fortschritt machte genau das möglich. Etwa zwei Jahre bevor die drei Biophysiker den Ionenkanal entdeckten, war es Gero Miesenböck erstmals gelungen, lebende Neurone in einer Zellkultur mit Licht zu aktivieren. Statt des Kanalrhodopsins nutzte sein Team jedoch ein Mehrkomponentensystem, bestehend aus Rhodopsin und zwei zusätzlichen Proteinen, die erst im komplexen Zusammenspiel die Zelle anregen.

Die Fusion dieser Methode mit dem neu entdeckten Kanalrhodopsin, das einfacher und präziser einzusetzen ist, entwickelte sich binnen weniger Jahre zum Erfolgsmodell: Mittlerweile arbeiten rund 1000 Labore auf der ganzen Welt mit dem Algenprotein als Lichtschalter in Neuronen, und es werden stetig mehr. »Das hat die Neurobiologie auf den Kopf gestellt«, erklärt Bamberg. Die Redaktion der Fachzeitschrift »Nature Methods« sah das offenbar ähnlich und wählte die Optogenetik 2010 zur »Methode des Jahres« – wegen ihres Potenzials, »noch unerschlossene wissenschaftliche Wege zu erleuchten«.

Als revolutionär gilt die neue Methode auch, weil es möglich ist, den Lichtkanal selektiv in ganz bestimmte Typen von Neuronen einzubauen. Dazu müssen die Forscher vor das Algen-Gen noch einen so genannten »Promotor« kleben, der dafür sorgt, dass nur manche Zellarten die fremde DNA ablesen – alle anderen ignorieren den Erbgutabschnitt. So können Wissenschaftler mit einem Lichtblitz Hirnzellen anregen, die eine gemeinsame Funktion haben, sich aber im weit verzweigten Nervengeflecht an ganz verschiedenen Orten befinden.

Allerdings, so gibt Gero Miesenböck zu bedenken, funktionieren die derzeit nur begrenzt:

»Um Neurone eines bestimmten Typs zu manipulieren, brauchen wir sozusagen deren genetische Postleitzahl.« Doch noch ist nicht einmal bekannt, wie viele verschiedene Arten von Nervenzellen im Gehirn vorkommen – von der genetischen »Adresse« der meisten ganz zu schweigen.

Trotz dieses Mankos hat die neue Technik bereits erstaunliche Erkenntnisse zu Tage gefördert. 2008 untersuchte der Neurobiologe zusammen mit Dylan Clyne von der Yale University in New Haven (US-Bundesstaat Connecticut) das Paarungsverhalten der Taufliege *Drosophila melanogaster*. Männliche Fliegen führen zur Balz eine Art Gesang auf, indem sie einen ihrer Flügel vibrieren lassen und so die Weibchen in ihrer Nähe bezirzen. Das Verhalten steuern Neurone am Bauch der Fliege, in denen das *fru*-Gen abgelesen wird, das eine wichtige Rolle beim Sexualverhalten spielt.

Balzende Fliegenweibchen

Weibliche Tiere besitzen den Nervenschaltkreis ebenfalls, trotzdem führen sie nie solche »Flügelmusik« auf. Mit Hilfe von optogenetischen Methoden gelang es den beiden Biologen jedoch, gezielt diese Neurone bei Fliegenweibchen anzuregen – woraufhin sie ebenfalls zu brummen anfangen. Das zeige, so Miesenböck, dass das Programm für den männlichen Gesang auch bei den Weibchen von Geburt an vorhanden sei, aber normalerweise ungenutzt schlummere, da der zuständige Neuronenkreislauf nie aktiviert werde.

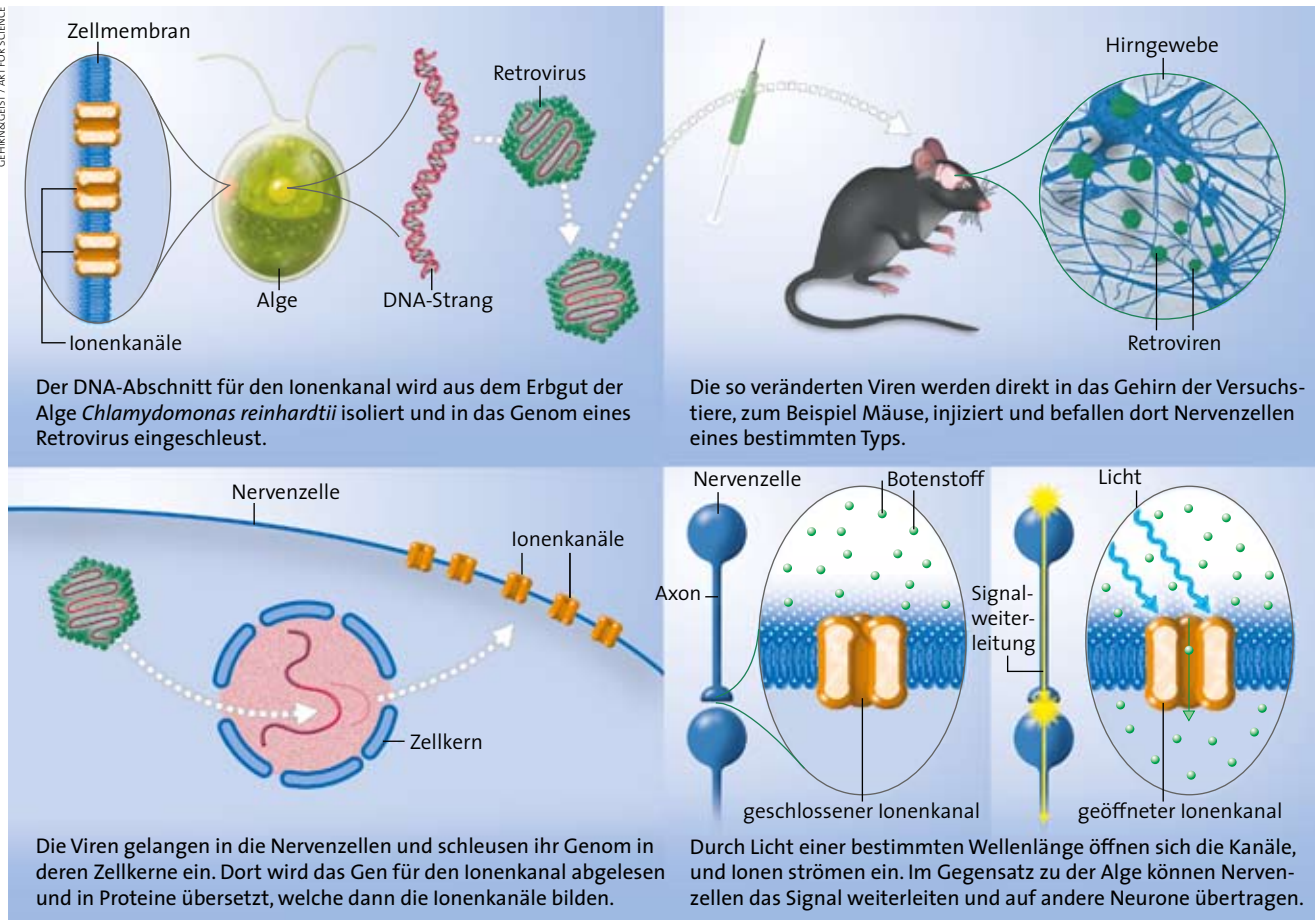
»Das Fliegengehirn ist sozusagen bisexuell angelegt, alle Tiere besitzen sowohl die männlichen als auch die weiblichen Schaltkreise für ein bestimmtes Verhalten«, erläutert der Forscher. »Anscheinend ist es praktischer, wenn die Hirnreifung bei beiden Geschlechtern erst einmal gleich verläuft. Erst bestimmte Master-Schalter entscheiden dann darüber, welches der im Gehirn vorhandenen Verhaltensprogramme ein Individuum nutzt.« Dasselbe Prinzip hätten Forscher auch schon bei manchen Säugetieren nachgewiesen, sagt Miesenböck. Er gehe daher davon aus, dass es in gewissem Maß auch auf das menschliche Gehirn zutrifft – auch wenn unser Verhalten natürlich ungleich komplexer gesteuert sei.

Die Möglichkeit, gezielt einzelne Fliegenneurone an- und auszuschalten, setzte der Neurobiologe 2009 auch in Experimenten gemeinsam mit seinem Kollegen Adam Claridge-Chang von der University of Oxford ein. Ihr Forscher-

DIREKTER DRAHT ZUM GEHIRN
Dieser Maus haben Forscher ein Glasfaserkabel implantiert, über das blaues Licht ins Schädelinnere gelangt. Dort aktiviert es Nervenzellen, die zuvor genetisch manipuliert wurden. Über das dicke Kabel links messen die Neurobiologen um Antoine Adamantidis von der McGill University (Montreal, Kanada) gleichzeitig die Hirnströme des Versuchstiers per EEG.



MITTEILUNG VON ANTOINE ADAMANTIDIS



team interessierte sich diesmal für das Gedächtnis der Taufiegen. Die Insekten lernen beispielsweise, bestimmte Gerüche zu meiden, wenn sie mit Schmerzen verknüpft sind. Hängt etwa Lakritzgeruch in einer Röhre, deren Wände unter Spannung stehen – so dass die Tiere bei jeder Landung einen leichten elektrischen Schlag bekommen –, so meiden sie für die nächsten 24 Stunden diesen Duft.

Das Gedächtnis für solche Erfahrungen sitzt im Pilzkörper, einer Region auf beiden Seiten des *Drosophila*-Gehirns, die aus jeweils rund 2500 Nervenzellen besteht. Aus früheren Versuchen wussten die Forscher bereits, dass für solche Lernvorgänge nur rund 300 Neurone entscheidend sind, die den Botenstoff Dopamin ausschütten. Nachdem sie genau diese Zellen genetisch manipuliert hatten, konnten Miesenböck und sein Team per Laserstrahl die Ausschüttung von Dopamin im Pilzkörper hervorrufen. Und tatsächlich: Wurde das Gedächtnis für schlechte Erfahrungen mit kurzen Lichtblitzen aktiviert, mieden die Fliegen künftig den Geruch, der sie währenddessen umgeben hatte – obwohl sie keinerlei Gefahr ausgesetzt waren!

Durch genaue Auswertung ihrer Daten gelang es dem britischen Forscherteam, eine Gruppe von zwölf Zellen eines bestimmten Neuronentyps zu identifizieren, die offenbar allein für die Furchtkonditionierung zuständig sind. »Im Gehirn muss es Zellen geben, die vermelden, wenn wir gerade einen Fehler begangen haben – damit wir daraus lernen«, erklärt der Biologe. Bei der Taufiege bestehe dieser innere Kritiker anscheinend aus genau jenen zwölf Neuronen – und mittels Optogenetik lässt er sich aktivieren, ohne dass die Fliegen tatsächlich eine schmerzhaft Erfahrung gemacht hätten. »Unsere Fliegen lernten sozusagen aus Fehlern, die sie gar nicht begangen hatten«, so Miesenböck.

Noch findet die Optogenetik allein in der Grundlagenforschung Anwendung. Doch Karl Deisseroth von der kalifornischen Stanford University möchte das ändern. Er ist nicht nur Neurowissenschaftler, sondern auch Psychiater, und verfolgt ein ehrgeiziges Ziel: mit der neuen Methode Krankheiten zu heilen. Dass dies gar nicht so abwegig ist, zeigte eine Studie, die er 2007 veröffentlichte – eine der ersten, in denen es Forschern gelang, Kanalrhodopsin in das Ge-

VON DER ALGE IN DIE MAUS

Um die Neurone von Säugetieren optogenetisch steuern zu können, müssen Forscher zuvor aus dem Erbgut anderer Spezies bestimmte Gene isolieren. Sie sorgen dafür, dass im Gehirn der Versuchstiere lichtempfindliche Proteine entstehen.

Der Natur auf die Sprünge geholfen

Die lichtempfindlichen Proteine, die in der Optogenetik zum Einsatz kommen, stammen aus Algen und Bakterien. Mittlerweile arbeiten Wissenschaftler daran, diese Werkzeuge aus der Natur zu optimieren. Künstliche Ionenkanäle brauchen beispielsweise weniger Licht zu ihrer Aktivierung oder bleiben länger geöffnet. Ein aussichtsreicher Kandidat ist ChETA, das eine Gruppe um den Berliner Biophysiker Peter Hegemann 2010 vorstellte.

QUELLEN

Busskamp, V. et al.: Genetic Reactivation of Cone Photoreceptors Restores Visual Responses in Retinitis Pigmentosa. In: Science 329, S. 413–417, 2010

Claridge-Chang, A. et al.: Writing Memories with Light-Addressable Reinforcement Circuitry. In: Cell 139, S. 405–415, 2006

Weitere Quellen im Internet:
www.gehirn-und-geist.de/artikel/1060957

WEBLINKS

www.nature.com/nmeth/focus/moy2010/index.html
Die Fachzeitschrift »Nature Methods« kürte die Optogenetik zur »Methode des Jahres« 2010.

www.stanford.edu/group/dlab

Der Neuropsychiater Karl Deisseroth stellt sein Labor und seine Arbeiten zur Optogenetik vor.

hirn von Säugetieren einzuschleusen, genauer gesagt in das von Mäusen.

Deisseroth und sein Kollege Antoine Adamantidis von der McGill University in Montreal (Kanada) wählten Neurone im Hypothalamus der Tiere, die den Botenstoff Hypocretin herstellen. Das Hormon reguliert den Schlaf-wach-Rhythmus, regt Stoffwechsel, Aufmerksamkeit und Wachheit an. Um das Licht ins Innere des Schädels zu bringen, implantierten die Forscher Mäusen feine Glasfaserkabel ins Gehirn, die Lichtimpulse weiterleiten können. Tatsächlich gelang es Deisseroths Team, die genetisch veränderten Tiere nur mit kurzen, blauen Lichtimpulsen aus verschiedenen Schlafphasen aufzuwecken, sogar aus dem Tiefschlaf.

Licht als Heilmittel

Theoretisch sei denkbar, so Deisseroth, mit diesem optogenetischen Wecker Erkrankungen wie Narkolepsie zu behandeln. Bei den Betroffenen geht ein Teil der Zellen, die Hypocretin ausschütten, zu Grunde – sie können infolgedessen nicht mehr lange am Stück wach bleiben (siehe auch G&G 9/2010, S. 40). Wenn etwas so Komplexes wie der Schlaf-wach-Rhythmus über Lichtblitze zu steuern sei, lässt das laut Deisseroth auch für andere Erkrankungen hoffen, die auf Fehlfunktionen von Nervenzellen zurückgehen, etwa die Parkinsonkrankheit.

Schon seit den 1960er Jahren ist bekannt, dass Menschen, die an Parkinson leiden, einen Schwund an Dopaminneuronen aufweisen. Die Zellen sterben in den Basalganglien ab, einem Teil des Gehirns, der daran beteiligt ist, koordinierte Bewegungen zu planen und auszuführen. Das ruft die typischen Symptome wie motorische Verlangsamung, Zittern oder Starre hervor. Zusammen mit den Neurologen Alexai Kravitz und Anatol Kreitzer von der University of California in San Francisco baute Deisseroth 2010 einen optogenetischen Schalter in das Gehirn von Mäusen ein, deren Basalganglien irreparabel geschädigt waren. Als sie die noch vorhandenen Neurone mit Lichtimpulsen aktivierten, verschwanden die typischen Parkinsonsymptome vollständig, die Tiere bewegten sich wieder normal.

Noch seien viele Fragen offen, geben die Forscher zu, doch eine Anwendung der Technik bei menschlichen Patienten sei zumindest vorstellbar. Ein Gen aus der Grünalge in menschlichen Hirnzellen, beschienen von Licht aus Glasfaserkabeln? Das ist nicht so abwegig, wie es klingt. Schon heute lassen sich Patienten Elektroden

als »Hirnschrittmacher« unter die Schädeldecke pflanzen. Deren Stromstöße lindern, richtig platziert, die Symptome der Parkinsonkrankheit, auch bei schweren Depressionen oder Epilepsie wird die Methode schon eingesetzt. Die Optogenetik verheißt eine viel präzisere und schonendere Stimulation der Zellen.

Doch dafür müsste man Gehirne der Betroffenen mit Viren infizieren, die in das Erbgut eingreifen – keine angenehme Vorstellung. Und noch wissen Forscher viel zu wenig über die damit verbundenen Risiken. Anders liegt der Fall, wenn man die Lichtrezeptoren aus der Alge in die Netzhaut einpflanzt. Denn im Auge von Säugetieren gibt es kaum Immunreaktionen gegen fremdes Gewebe, daher sind dort weniger Schäden durch artfremde Proteine zu befürchten.

2010 therapierten Botond Roska vom Friedrich-Miescher-Institut in Basel und José Sahel von der Pariser Université Pierre et Marie Curie mit Hilfe der optogenetischen Methode Mäuse, die an *Retinitis pigmentosa* litten. Die Erkrankung befällt die Zapfen der Netzhaut, die Licht in Nervenimpulse umwandeln – die meisten Zellen sterben ab, der Rest bleibt funktionsunfähig zurück. Per Virus schleusten die Forscher das Kanalrhodopsin in die Netzhaut der Tiere. Dort begannen die defekten Zapfen, den Lichtkanal in ihre Membran einzubauen. Tatsächlich reagierten die Tiere in anschließenden Tests auf Lichtreize und bewegten beispielsweise den Kopf, wenn sie vor ein rotierendes Gittermuster gesetzt wurden – allem Anschein nach konnten die blinden Mäuse wieder etwas sehen!

Als Nächstes werde die Methode an Affen getestet, so Bamberg. Sollten die Tests positiv verlaufen, stehen in zwei bis drei Jahren Studien mit menschlichen Patienten an. Ein Pharmaunternehmen hat bereits Interesse an dem Kanalrhodopsin bekundet, auf dessen Anwendung die deutschen Entdecker das Patent halten.

Ob und wann es gelingt, mit Hilfe der Optogenetik bestimmte Formen der Blindheit, Narkolepsie oder die Parkinsonkrankheit beim Menschen zu heilen, weiß niemand. Doch wenn man die heute bereits möglichen Anwendungen betrachtet, scheinen genetische Lichtschalter zur Anregung des Gehirns oder zur Reparatur der Netzhaut nicht in allzu weiter Ferne zu liegen. Gegen sie wirken die Hirnschrittmacher aus metallenen Elektroden, die derzeit im Einsatz sind, schon jetzt hoffnungslos veraltet. ~

Joachim Marschall ist Diplompsychologe und G&G-Redakteur.