

PETER HEGEMANN / ANDREAS MÖGLICH

## Was ist Optogenetik?

**Das neue Forschungsgebiet *Optogenetik* bedient sich genetischer Methoden, um licht-aktivierbare Proteine, vor allem aus Mikroalgen oder Bakterien, in Wirtssysteme wie Fliege, Zebrafisch oder Maus einzubringen und dort mit Licht zelluläre Abläufe zu steuern, die neue Informationen über biologische, insbesondere neuronale Prozesse liefern sollen. Wir stehen an der Grenze zu der Anwendung am Menschen, um Defekte bzw. Krankheiten mittels Licht zu verstehen, zu lindern oder zu therapieren.**

Die Editorin Erika Pastrana von »Nature Methods« erzählt uns zur Methode des Jahres 2010 in einem kurzen Video die Geschichte der Optogenetik. Sie beginnt mit den folgenden Sätzen:

*»Scientists can switch on cells in the mouse's brain simply by switching on the light; the light activates nerve cells which makes the animal to walk in circles. This neat trick is also a powerful new tool. Using light to control the behavior of cells is teaching us everything from how we wake up to how we learn. This is Optogenetics.«*  
[www.nature.com/nmeth/video/moy2010/index.html](http://www.nature.com/nmeth/video/moy2010/index.html)

Das klingt spannend und ist plastisch beschrieben, aber wir wissen nicht wirklich, woher die Methode so plötzlich kommt, von der viele Leser vermutlich noch nie gehört haben. Deshalb berichten wir hier über die Ursprünge der Optogenetik und nicht so sehr über spektakuläre Anwendungen, die gegenwärtig eine rasante Entwicklung durchlaufen.

### Problemstellung

Die Entwicklung der Optogenetik, die heute so etwas wie ein *Hype* ist, hat verschiedene Wurzeln und beruht auf sehr unterschiedlichen Interessen von Wissenschaftlern aus ganz verschiedenen wissenschaftlichen Disziplinen.

Besonders Mikroorganismen und Pflanzen nutzen Licht zur Energiegewinnung aber auch als Stimulus zur Orientierung oder als Signal zur Differenzierung in verschiedene Wachstumsformen. Photobiologen beschäftigen sich seit über hundert Jahren mit dem Einfluss von Licht auf Bewegungsreaktionen, Differenzierung von Zellen und Organismen, sowie Tag-Nacht-Rhythmen von Tieren, Pflanzen, und Bakterien, also alles Prozesse, die fundamental sind für das Überleben einer Spezies. Die Wissenschaftler sind bis heute bestrebt, die molekularen Mechanismen im Detail zu verstehen. Ganz unabhängig davon wollen Biophysiker die Grundlagen von Ionenpumpen und Ionenkanälen verstehen, um damit die Schaltvorgänge dieser komplexen Moleküle quantitativ zu beschreiben. Neurophysiologen wiederum untersuchen neuronale Netzwerke, um die Verschaltungen im Gehirn zu verstehen und damit den Mechanismen unseres Denkens auf die Spur zu kommen. Dazu ist es notwendig, neuronale Zellen einzeln oder zumindest Zellen nur eines Typs gezielt anzuregen, um die Reaktionen anderer Zellen beobachten zu können. Es liegt nahe, die Anregung neuronaler Systeme mit Licht zu realisieren, da Licht sehr genau räumlich und zeitlich kontrollierbar ist und in der Lage ist, in lebendes Gewebe einzudringen. Aber wie lassen sich Photobiologie und Neurobiologie verbinden? Können wir von der Natur lernen (»creative learning from nature«) oder sind chemisch synthetisierte Verbindungen, die wir an biologische Systeme anbringen, besser geeignet als natürlich photoschaltbare Proteine?

### Chemo-Optogenetik

Die ersten Ansätze zur Lichtaktivierung von Proteinen, die natürlicherweise nicht licht-empfindlich sind, stammen von der Gruppe um Erlanger. Er hat Azobenzen, das mit UV-Licht von der *trans*- in die *cis*-Form schaltbar ist, mit Acetylcholin che-

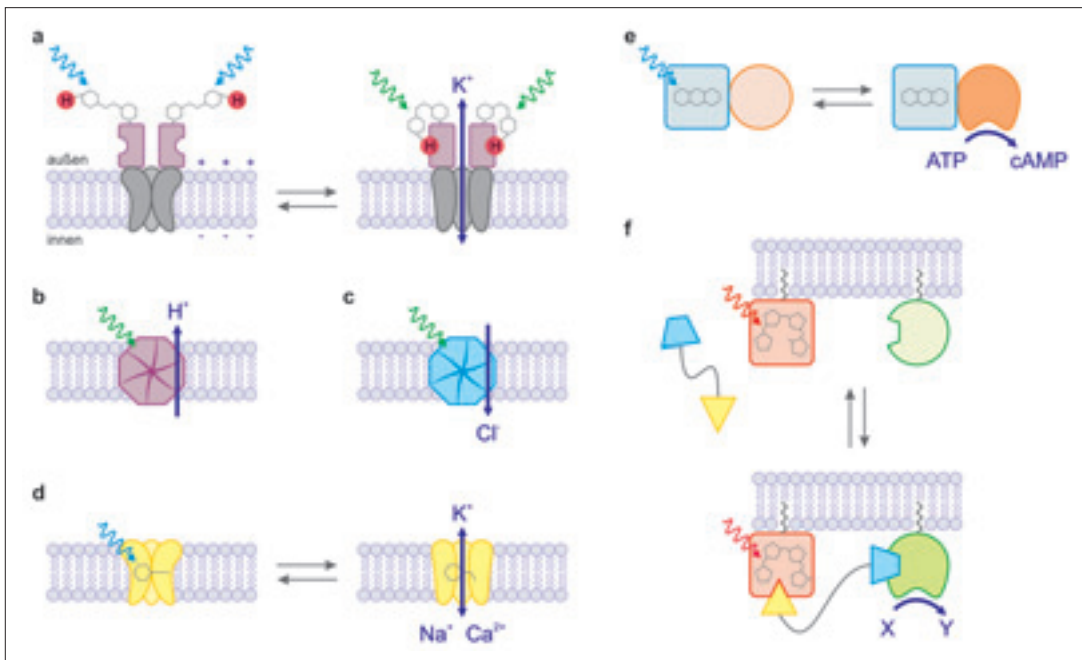


Abb. 1  
Licht-geschaltete Werkzeuge, die Anwendung in der Optogenetik finden bzw. dies in Zukunft tun könnten. a) Ein Hormonligand (H) wird über eine Azobenzengruppe an einen Kanal gekoppelt. Nur im *cis*-Zustand des Azobenzens kann das Hormon seine Bindestelle erreichen und somit die Kanalöffnung auslösen. b) Bacteriorhodopsin (BR) ist eine durch Grünlicht getriebene Pumpe, die Protonen ( $H^+$ ) aus der Zelle heraus befördert. c) Halorhodopsin (HR) ist eine durch Grünlicht getriebene Pumpe, die  $Cl^-$ -Ionen in die Zelle befördert. d) Das Kanalrhodopsin (ChR) ist ein durch Licht aktivierter Kationenkanal. BR, HR und ChR binden je einen Retinal-

chromophor, welcher Licht absorbiert und die Proteine dadurch aktiviert. e) Die photoaktivierbaren Zyklen (PAC) bestehen aus einer blaulicht-empfindlichen BLUF-Domäne und einer katalytischen Einheit. Nach Absorption von Blaulicht wird letztere aktiviert, und aus ATP wird der »second messenger« cAMP gebildet. f) Bestimmte pflanzliche Phytochrome bilden bei Rotlicht einen Komplex mit sogenannten PIF Proteinen aus (gelbes Dreieck). Dies kann z. B. dazu verwendet werden, membranständige Proteine Lichtvermittelt in Kontakt zu bringen und dadurch in ihrer Aktivität zu regulieren. Bei Phytochromen wird nicht nur das »Anschalten« durch Rotlicht, sondern auch das »Abschalten« durch Rotlicht einer anderen Wellenlänge ausgelöst.

misch verknüpft und konnte somit den nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor mit Licht an- und wieder abschalten (Bartels et al. 1971 PNAS).

Dirk Trauner, Ehud Isacoff und Rich Kramer von der University of California Berkeley haben dieses Thema wieder aufgegriffen und das alte Azobenzene mit verschiedenen chemischen »Linkern« versehen und zur Modulierung von Ionenkanälen verwendet. Glutamat-verknüpfte Azobenzene sind in der Lage, die verschiedensten Glutamatrezeptoren zu aktivieren, die in neuronalen Systemen Schlüsselfunktionen einnehmen. Die schnelle Diffusion bzw. der schnelle Abbau der Azobenzene-Verbindungen konnte durch Anbringen von reaktiven Gruppen und Verknüpfung mit Cysteinen der zu aktivierenden Zielproteine verhindert werden (Abb. 1a). Dazu mussten aber durch Mutagenese reaktive Cysteine an definierte Stellen der Ionenkanäle eingeführt werden, so dass nach Zugabe der konfektionierten Azobenzene-Liganden diese mit genau diesem Kanaltyp reagieren. Mit dem modifizierten Kanal werden dann definierte Zellen genetisch komplementiert, um genau diese Zellen mit Licht selektiv aktivieren zu können. Damit handelt

es sich um einen *optogenetischen* Ansatz. Bei Verwendung von Azobenzenen sind die Zellen bimodal schaltbar; sie können mit Licht verschiedener Wellenlängen aktiviert und wieder inaktiviert werden. Die photochemische Reaktion ist ultraschnell, beide Zustände sind relativ stabil, so dass nur an- und ausgeschaltet werden muss und kein Dauerlicht notwendig ist. Mit diesem Ansatz wird die Photochemie elegant mit Synthetischer Biologie verbunden. (Gerostiza, Isacoff 2008 Science)

Die Chemo-Optogenetik bringt aber auch Nachteile und Probleme mit sich, die für viele Anwendungen noch überwunden werden müssen. So werden die Azobenzene im UV-Bereich bei 340 nm aktiviert und ihre Extinktionskoeffizienten sind klein, so dass hohe Lichtintensitäten benötigt werden, was sich schädigend auf die Zellen auswirken kann. Azobenzene können im wesentlichen auf der Zelloberfläche, aber nicht im Inneren von Zellen benutzt werden, da sie im Cytosol reduziert und damit inaktiviert werden. Die Azobenzene sind moderat toxisch, so dass sie selten in lebenden Organismen verwendet werden. Gegenwärtig sind die benötigten Azobenzene-Verbindungen nicht

kommerziell erhältlich, sondern werden aufwendig von Spezialisten wie Dirk Trauner hergestellt. Die daher unsichere Verfügbarkeit der Azobenzeneverbindungen ist somit ein weiterer Faktor, der die Neurophysiologen noch zur Zurückhaltung bei der Einbindung der Technologie in ihre Forschung veranlasst. Azobenzene haben sich in der Neurobiologie bisher erst einen »Nischenplatz« erobert, und es wird insbesondere von der Innovation der Chemiker abhängen, ob sie neue schaltbare Moleküle bereitstellen können, die zuverlässig im sichtbaren Spektralbereich arbeiten, nicht toxisch sind und allgemein verfügbar werden.

#### Optogenetik mit natürlichen Chromophoren

Am weitesten verbreitet sind in der heutigen Optogenetik direkt licht-gesteuerte Kanäle aus Mikroalgen und – mit einigen Abstrichen – licht-getriebene Ionenpumpen aus Prokaryonten wie Achaeen und Eubakterien.

Die Grundlagen zur Verwendung dieser Licht-sensitiven Proteine wurden von Dieter Oesterhelt und Walter Stoerkenius in der frühen 70er Jahren des vorigen Jahrhunderts gelegt. Sie haben gezeigt, dass Bakteriorhodopsin (BR) aus dem *Halobacterium salinarium* eine licht-getriebene Protonenpumpe ist (Abb. 1b), und damit den Grundstein gelegt für eine fast vierzig Jahre andauernde Forschung an diesem Protein. Eine besondere Eigenschaft des BRs ist die zyklische Reaktionsabfolge nach Lichtabsorption und der damit verbundene kontinuierliche Transport von Protonen über die Membran im Dauerlicht. Die Arbeiten am BR haben in den folgenden Jahren zu der Entdeckung weiterer mikrobieller Rhodopsine geführt wie der licht-getriebenen Chloridpumpe Halorhodopsin (HR) (Abb. 1c). Trotz vieler Patente wurden diese »Transporter« jedoch nicht in größerem Umfang für analytische oder technische Zwecke genutzt.

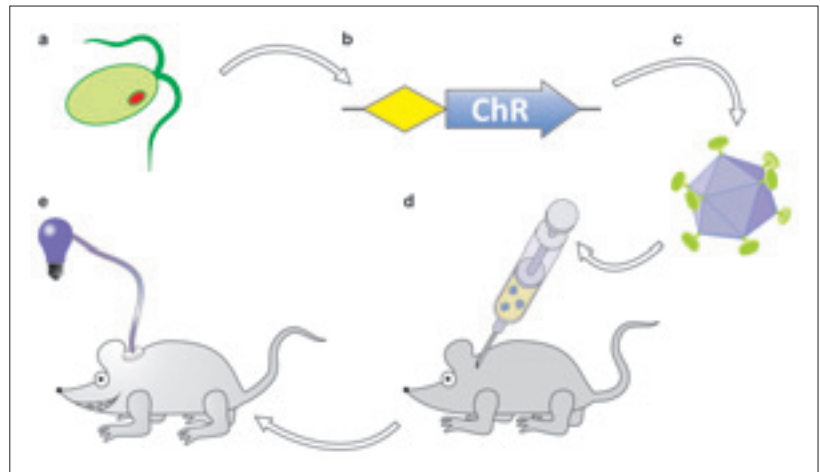
Ein wesentlicher Beitrag zur Entwicklung der Optogenetik kam aus dem Labor von Gero Miesenböck in Oxford. Seine Gruppe hat drei Proteine aus der Sehkaskade von *Drosophila* in Neuronen eingeschleust und gezeigt, dass damit die Neuronen durch Licht aktiviert werden können (Zemelman et al. 2002 Neuron). Die durch Licht hervorgerufene Aktivierung bzw. Inaktivierung der Neuronen war jedoch zu langsam und das System mit drei Proteinen zu kompliziert für eine weite Anwendung. Die Idee, Neuronen mit Licht zu stimulieren, lag damit aber in der Luft.

Der Durchbruch für die optogenetische Anwendung kam durch die Entdeckung eines ungewöhnlichen Rhodopsins aus der Alge *Chlamydomonas reinhardtii*. Basierend auf dem Postulat von Ken Foster (1980 Nature), dass Bewegungsreaktionen in Mikroalgen durch Rhodopsine gesteuert werden, hat Hartmann Harz in meiner Arbeitsgruppe (PH) Licht-induzierte elektrische Signale von der Alge *Chlamydomonas* abgeleitet und gezeigt, dass diese von Rhodopsinen gesteuert werden (Harz, Hegemann 1991 Nature). Die Aktivierung des Photorezeptorstroms geschieht ultraschnell, was besagt, dass Rhodopsin und Kanal eine Einheit bilden bzw. einen Proteinkomplex bilden. Erst nach weiteren 10 Jahren und vielen Rückschlägen konnten wir die verantwortlichen Proteine identifizieren und in einer Kooperation mit Georg Nagel (Professor in Würzburg) zeigen, dass es sich um Rhodopsine mit intrinsischer photoschaltbarer Ionenleitfähigkeit handelt, also um direkt durch Licht gesteuerte Ionenkanäle. Zur Demonstration wurde die entsprechende mRNA in Froscheier injiziert, wo dann das Protein hergestellt und in die Plasmamembran eingebaut wird. Die elektrischen Eigenschaften werden dann mittels der Zwei-Elektroden-Spannungsklemme (»two electrode voltage clamp« [TEVC]) untersucht. Wir haben diese Proteine dann *Kanalrhodopsine* oder allgemeiner *Channelrhodopsine* (ChR) genannt. Wir hatten vorgeschla-

gen, dass man diese neuen ChRs dazu verwenden kann, auch andere Zellen nicht-invasiv mit Licht zu depolarisieren und damit zu aktivieren (Nagel et al. 2002 Science).

In den nun folgenden Jahren haben sich mehrere Arbeitsgruppen mit der Aktivierung von Neuronen mittels Licht befasst. Im Jahr 2005 sind dann Publikationen von vier Arbeitsgruppen über die Anwendung von ChR in Neuronen erschienen. Die Gruppe von Karl Deisseroth (Boyden et al. 2005 Nat.Neurosci.) hatte ChR mit dem Grün-fluoreszierenden Protein (GFP) verknüpft und dieses in Neuronen eingeschleust. Mit einer Serie von Lichtblitzen konnten mit hoher Präzision Aktionspotentiale ausgelöst werden, ohne die Zellen zu berühren. Die Gruppe von Hiromu Yawo (Ishizuka et al. 2006 Neurosci.Res.) hat Schnitte aus Mäusegehirnen mit ChR transfiziert und gezeigt, dass auch an diesen Schnitten mit Licht Aktionspotentiale auslösbar sind und ChR dazu geeignet ist, Kommunikation zwischen verschiedenen Zellen zu untersuchen. Stefan Herlitze (Li et al.) hat an ChR-transfizierten Hühner-Embryonen elektrische Reaktionen im Rückenmark mit Licht ausgelöst und gezeigt, dass das ChR auch in lebenden Tieren anwendbar ist. Alexander Gottschalk (Nagel et al. 2005 Curr Biol.) hat schließlich Motoneurone des Fadenwurms *Caenorhabditis elegans* stabil mit ChR transfiziert und an diesen transgenen Tieren mit Licht Muskelkontraktionen ausgelöst. Damit waren Verhaltensreaktionen mit Licht steuerbar. Diese vier Arbeiten kann man als Durchbruch für das neue Forschungsgebiet, der *Optogenetik*, ansehen.

Die Neurowissenschaftler hatten bald darauf den Wunsch, Zellen mit Licht zu inaktivieren und damit ihre Funktion auszuschalten. Hier boten sich nun die licht-aktivierten Ionenpumpen BR und HR an, die über so viele Jahre besonders in Deutschland sehr in-



tensiv studiert wurden. Die Gruppen um Karl Deisseroth (Zhang et al. 2007 Nature) und Ed Boyden (HanBoyden 2007 Plos One) haben zu diesem Zweck die licht-aktivierte Chloridpumpe HR verwendet. HR absorbiert grün-gelbes Licht, wohingegen ChR blaues Licht absorbiert. Mit HR und ChR in einer Zelle konnte im gelbem Licht hyperpolarisiert und inaktiviert und mit blauem Licht depolarisiert und aktiviert werden (Abb. 1). Mit diesen neuen Werkzeugen waren die Neurobiologen in der Lage, Zellen wie gewünscht zu aktivieren und zu inaktivieren.

Eine erste spektakuläre Anwendung wurde im Jahr 2006 von Zhuo Pan in Detroit vorgestellt. Er konnte in blinden Mäusen, die kein Sehpigment mehr haben, Channelrhodopsin in Sekundärzellen der Retina einschleusen. In diesen transfizierten Mäusen konnte er mit Licht elektrische Reaktionen auslösen und als Elektretinogramme aufzeichnen (Bi et al. 2006 Neuron). Das war der erste Schritt zur Retinalprothetik, die z. Z. sehr intensiv vorangetrieben wird, insbesondere von der Gruppe von Botond Roska in Basel.

In den folgenden Jahren haben sich in den USA sehr viele Gruppen mit optogenetischen Methoden

**Abb. 2**  
Das optogenetische Prinzip zur Lichtaktivierung neuronaler Zellen in der Maus. a/b) Das Kanalrhodopsin-kodierende Gen der Alge (ChR, blauer Pfeil) wird mit einem Steuerelement (gelbe Raute) der Zielzellen kombiniert. c) Dieses Konstrukt wird in E.coli Zellen vermehrt und in einem Virus (Lentivirus oder Adeno-assoziiertes Virus) verpackt. d) Das Virus wird mittels stereotaktischer Hilfsmittel an die vorgesehene Stelle des Gehirns injiziert, wo es verschiedene Zellen infiziert, sich dort aber nicht vermehren kann. Nur in den Zielzellen, die das Steuerelement erkennen, wird das Kanalrhodopsin hergestellt und in die Zellmembran integriert. e) In den Injektionskanal wird ein dünner Lichtleiter eingebracht, über den das Licht an die Zielzellen gelangt. Intensität und Dauer des Lichtes bestimmen nun das Verhalten der Maus und bringen Informationen über neuronale Funktionen.

beschäftigt. Das Feld der Optogenetik ist dabei, unser Verständnis dafür zu schärfen, wie einzelne Zellen zur Funktion biologischer Netzwerke beitragen. Arenkiel et al. (Neuron 2007) haben die erste transgene ChR-Maus beschrieben und damit das ChR in die präklinische Forschung eingeführt. Die durch Optogenetik unterstützte Forschung hat seitdem sehr schnell zu neuen Erkenntnissen über Kodierungen im Mausgehirn geführt, die relevant sind für z.B. Parkinson, Autismus, Schizophrenie, Drogenmissbrauch, Angst, soziales Verhalten oder Depression, um nur einige hier zu nennen (Cardin et al. 2009 Nature, Gradinaru et al. 2009 Nature, Sohal et al. 2009 Nature, Tsai et al. 2009 Science, Witten et al. 2010 Science, Ytzer et al. 2011 Nature).

Die wichtigsten Faktoren für die schnelle Verbreitung von ChR und mit Abstrichen der Pumpen HR und BR in den Neurowissenschaften sind die folgenden: Alle drei Proteine sind verhältnismäßig klein (< 30kD). Der Kofaktor Retinal (Vitamin A-Derivat), der in das Protein eingebaut werden muss, damit die Proteine sichtbares Licht absorbieren, wird in allen neuronalen Zellen in ausreichender Menge bereitgestellt. Er muss also nicht von außen zugegeben werden. Die Proteine rufen keine antigenen Reaktionen hervor und schädigen die Zellen in den allermeisten Fällen nicht.

Wie bei jeder neuen Technologie gibt es noch vieles zu verbessern, um die Methode spezifischer zu gestalten und komplexere Anwendungen zu ermöglichen. In den letzten Jahren haben wir hierfür viele ChR-Derivate hergestellt, wie z.B. Varianten mit extrem langen Öffnungszeiten des Kanals, um neuronale Zellen mit wenig Licht über lange Zeiträume zu depolarisieren. Auf der anderen Seite haben wir Varianten mit extrem schnellen Photozyklen hergestellt, um Aktionspotentiale mit hohen Frequenzen von bis zu 200 Herz in Interneuron auszulösen.

Heute gibt es von uns und anderen Arbeitsgruppen Varianten mit größeren Photoströmen, verschobener Absorption oder erhöhten Ionenselektivitäten für  $H^+$ ,  $Na^+$  oder  $Ca^{2+}$ . All diese Werkzeuge können in naher Zukunft neue Anwender finden, hoffentlich auch hier in Berlin.

Neben den oben beschriebenen Rhodopsinen existieren in der Natur noch unzählige andere Photorezeptoren, die bereits Anwendung in der Optogenetik finden oder dies in Zukunft tun könnten. Hervorzuheben sind hier die photoaktivierten Adenylatzyklasen (PAC) aus dem Protisten *Euglena gracilis* und dem Bodenbakterium *Beggiatoa sp.*, deren optogenetische Anwendung wir (PH) in Kooperation mit Georg Nagel, Thomas Oertner (Basel) und weiteren Kollegen in den Jahren 2007 und 2010 beschrieben haben (Schröder-Lang 2007 JBC, Stierl 2010 JBC, Ryu 2010 JBC) (Abb. 1e). Beide Enzyme katalysieren die Bildung des Botenstoffes (sogenannter »second messenger«) zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) und werden durch Bestrahlung mit Blaulicht in ihrer Aktivität gesteigert. Die Modulation der Aktivität durch Licht wird durch eine BLUF Photosensordomäne vermittelt, welche ein Flavin (Vitamin B2-Derivat) als Kofaktor verwendet. Da cAMP an der Regulation diverser zellulärer Prozesse wie zum Beispiel Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel oder Öffnung bestimmter Ionenkanäle beteiligt ist, stellen die PACs attraktive Werkzeuge dar, die den Anwendungsbereich der Optogenetik auf die Stoffwechselregulation erweitern. Die Arbeitsgruppen um Martin Schwärzel (FU Berlin) und Thomas Oertner (Basel) konnten mit diesen neuen Werkzeugen die Bildung von cAMP und das Verhalten von *Drosophila* gezielt beeinflussen und studieren. Mark Gomelsky (Wyoming, USA) konnte durch Einführung von Mutationen die Spezifität der Zykase auf zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) umstellen. cGMP ist an der Regulation anderer bio-

### Optogenetische Projekte und Kooperationen in Berlin

Die ehemals an der HU angesiedelte DFG-Forschergruppe FOR526 »Blue Light Photoreceptors« hatte sich mit den Primärprozessen biologischer Photorezeptoren beschäftigt mit dem Ziel, die ultraschnellen photophysikalischen und photochemischen Ereignisse zu verstehen, die die Konformationsänderungen in den Proteinen erzeugen. Die FOR526 war im März 2010 ausgelaufen. Es ist dann gelungen, die nahtlos anschließende Forschergruppe FOR1279 »Protein-based Photoswitches as optogenetic tools« zu initiieren, die sich mit den späteren Prozessen, d.h. vorwiegend mit der Interaktion von Photorezeptormodul und Effektdomäne bzw. Enzymdomäne beschäftigt. Hier geht es nach wie vor um Grundlagenforschung, also um Struktur und Funktion von Photorezeptoren. Aus Berlin sind die Gruppen von P. Hegemann (HU) und Joachim Heberle (FU) beteiligt. Außerdem wirken noch unser langjähriger Kooperationspartner Georg Nagel (Würzburg), die Kristallographin Ilme Schlichting (MPI Heidelberg) sowie der Theoretiker Marcus Elster (Karlsruhe) mit. Zusätzlich ist außerdem der organische Chemiker Dirk Trauner (LMU München) beteiligt, um die Erkenntnisse der Chemo-Optogenetik auch für die biologische Anwendung zu nutzen. Die optogenetischen Anwendungen evaluieren wir zuerst in den sogenannten kleinen Modellsystemen *C. elegans* mit Alexander Gottschalk (Frankfurt) und Zebrafisch mit Soojin Ryu (Heidelberg), bevor weitere Anwendungen in größeren Modelltieren wie der Maus getestet werden. Letzteres geschieht in Kollaborationen mit Karl Deisseroth (Stanford) und Thomas Oertner (Basel) und hoffentlich zunehmend mit den

Berliner Kollegen an Charité – Universitätsmedizin Berlin und Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch.

Da es sich bei vielen optogenetischen Werkzeugen um Katalysatoren handelt, die Aktivierungsenergien für biologische Reaktionen erniedrigen, werden optogenetische Werkzeuge auch im an der TU Berlin angesiedelten Exzellenzcluster »Unifying Concepts in Catalysis« bearbeitet. Hier liegt der Schwerpunkt auf den licht-aktivierten Enzymen, da sich die Chemiker noch schwer tun, »vektorielle Katalysatoren« wie licht-aktivierte Kanäle als Katalysatoren anzuerkennen. Aber ich bin sicher, dass wir unsere Kollegen Chemiker auch dazu bekehren werden. Weitere Informationen zur Optogenetik sind zu finden z.B. unter: »Optogenetics, method of the year 2010«, *Nature Methods* 8, 19–42. [www.nature.com/nmeth/focus/moy2010](http://www.nature.com/nmeth/focus/moy2010)

Weitere Aktivitäten in Berlin: Da wir an der Schwelle zur Anwendung optogenetischer Methoden am Menschen stehen, in erster Linie zur Verwendung in der Retinal-Prosthetik, scheint es an der Zeit, über die Perspektiven, also Chancen und Risiken der neuen Technologie nachzudenken. Erfreulicherweise hat sich unsere Partneruniversität, die FU Berlin, entschieden, im September 2012 eine Dahlem-Konferenz zur Optogenetik zu veranstalten. Die Ergebnisse dieser kritischen Bestandsaufnahme werden allen größeren Forschungseinheiten, die sich mit Neurobiologie im weiteren Sinne beschäftigen und allen weiteren Interessenten zugänglich gemacht. Interessenten können sich hierzu an den Organisator Herrn Michael Brückner wenden und sich vormerken lassen ([Dahlem@fu-berlin.de](mailto:Dahlem@fu-berlin.de)).



logischer Abläufe beteiligt wie etwa Apoptose oder Muskelrelaxation (vgl. Viagra), was eine weitere Ausweitung der Anwendbarkeit des optogenetischen Ansatzes auf sensorische Prozesse zur Folge hat.

Ermutigt und motiviert durch die Erfolge obiger Photorezeptoren in der Optogenetik, insbesondere Anwendungen der Kanalrhodopsine, versuchen viele Kollegen, das Arsenal optogenetischer Werkzeuge zu erweitern. Ziel dieser Bestrebungen ist es, die Aktivität von Proteinen, die normalerweise nicht auf Beleuchtung reagieren, unter die Kontrolle von Licht zu stellen. Das Design künstlicher Photorezeptoren beruht nun auf der modularen Rekombination von Effektormodulen, die die gewünschte biologische Aktivität vermitteln, mit Photosensormodulen, die auf Licht der gewünschten Farbe ansprechen. Die größte Herausforderung hierbei ist, Photosensor und Effektor in chimären Proteinen miteinander so zu verknüpfen, dass diese konstruktiv miteinander kommunizieren und die Aktivität des Effektors durch den Photosensor lichtvermittelt und möglichst stringent kontrolliert wird. Auf Basis grundlegender Arbeiten von Khorana und Mitarbeitern wurden in der Deisseroth-Gruppe (Airan et al. 2009 Nature) chimäre tierische Rhodopsine entwickelt, in denen bestimmte Abschnitte des Proteins durch entsprechende Segmente eines  $\beta$ -adrenergen Hormonrezeptors ersetzt wurden. Obschon in dieser Studie gezeigt werden konnte, dass über Licht Verhaltensänderungen in Versuchsmäusen induziert werden können, scheint die Anwendbarkeit der OptoXRs begrenzt, da die tierischen Rhodopsine als Kofaktor 11-*cis* Retinal benötigen, das sich nach Lichtanregung nicht selbst regeneriert und außerhalb unserer Augen nur in sehr geringen Mengen verfügbar ist.

Hingegen wurden auf Grundlage verschiedener anderer Photosensoren, die reversibel durch Licht geschaltet werden, künstliche Lichtschalter ent-

wickelt, die nicht diesen Einschränkungen unterworfen sind. Von besonderem Erfolg gekrönt waren Studien, die sich der rotlicht-empfindlichen Phytochrome sowie der blaulicht-empfindlichen LOV-Domänen (*light-oxygen-voltage sensors*) bedienen, bei denen die Photoreaktionen komplett reversibel ablaufen. LOV-Domänen haben den entscheidenden Vorteil, dass die zum Einsatz kommenden Kofaktoren Vitamin-B2-Derivate sind, was den optogenetischen Einsatz in Geweben und lebenden Organismen begünstigt. Auch dieses Feld durchläuft gegenwärtig eine rasante Entwicklung und wir verweisen auf mehrere Übersichtsartikel, die aktuelle Entwicklungen zusammenfassen (Toettcher 2011 Nat. Meth., Hegemann & Möglich 2011 Nat.Meth., Möglich & Moffat 2010 Photochem.Photobiol.). Hier möchten wir nur beispielhaft einige wenige und besonders spektakuläre Entwicklungen diskutieren. Durch Kopplung an eine LOV-Domäne konnten Klaus Hahn und Kollegen die Aktivität der kleinen GTPase Rac1 unter die Kontrolle von Blaulicht stellen (Wu et al. 2009 Nature). Da Rac1 einen zentralen Platz in der Regulation des Cytoskeletts einnimmt, konnte die Motilität von Fibroblasten mittels Blaulicht gesteuert werden. In einer nachfolgenden Anwendung gelang es gar, die Bewegung und räumliche Position einzelner Zellen innerhalb eines sich entwickelnden Zebrafisch-Embryos zu kontrollieren (Yoo et. al. 2010 Cell Dev.). Zusammengefasst stellt diese Licht-regulierte Variante des Rac1 ein gänzlich neuartiges optogenetisches Werkzeug dar, welches die gezielte Manipulation lebender Systeme in bis dahin nicht realisierbarer Präzision ermöglicht, was insbesondere in der Grundlagenforschung, mittelfristig aber vielleicht auch in der medizinischen Anwendung, von höchstem Interesse ist. Wiederum auf Basis von Kopplung mit LOV-Domänen haben wir (AM) die Blaulicht-regulierte Histidinkinase YF1 generiert, welche verwendet werden kann, um die Expression von

Zielgenen in Prokaryoten über Licht zu steuern (Möglich et al. 2009 JMB). Begonnen wurden diese Arbeiten im Labor von Keith Moffat in Chicago und werden aktuell weitergeführt in unserem neuen Labor an der Humboldt-Universität. Gegenwärtig planen wir auch, unseren Ansatz auf eukaryotische Organismen auszudehnen. Schließlich wurde vor knapp zwei Jahren ein besonders vielseitig einsetzendes optogenetisches Werkzeug auf der Basis des Rotlichtrezeptors *Phytochrom* entwickelt. Die Arbeitsgruppen von Wendell Lim und Chris Voigt (San Francisco) etablierten ein System, welches bei Rotlicht-Bestrahlung die Assoziation zweier nahezu beliebiger Proteine auslöst. So können zum Beispiel die intrazelluläre Lage von Zielproteinen oder deren Aktivität über Licht reguliert werden. Ein besonderer Vorzug von Phytochromen ist, dass sie über zweierlei Wellenlängen roten Lichtes an- und abgeschaltet werden können, während die meisten anderen Photorezeptoren nach Lichtanregung spontan (thermisch) und daher mitunter sehr langsam in ihren Grundzustand revertieren. Obgleich

die Entwicklung auf diesem Feld atemberaubend ist, muss konstatiert werden, dass die beschriebenen, allesamt erst jüngst entwickelten künstlichen Photorezeptoren sich bislang nur auf der Schwelle hin zur praktischen Anwendung befinden. Eine wesentliche aktuelle Herausforderung besteht darin, eine neue, fortgeschrittene Generation von künstlichen Photorezeptoren zu generieren bzw. die bislang existierenden Vertreter entsprechend zu optimieren, um Lichtschalter zu erhalten, die in ihren Eigenschaften den natürlichen, wie dem ChR, nicht nachstehen und daher auch ähnlich breit angewendet werden können. Sollte aber dieser Schritt getan werden, könnte die Anwendbarkeit der Optogenetik noch deutlich gesteigert werden.

Wir sehen es als unsere Aufgabe, das optogenetische Methodenspektrum weiter zu entwickeln und zu vermitteln zwischen biologischer bzw. biophysikalischer Forschung und der Anwendung dieser Methoden in anderen Forschungsgebieten wie den Neurowissenschaften oder der Zellbiologie.



**Professor Dr. Peter Hegemann**  
Jg. 1954. Peter Hegemann studierte Chemie in Münster und an der LMU München. Nach seiner Dissertation am MPI für Biochemie, München, bei Dieter Oesterhelt war er zunächst als PostDoc an der Syracuse University, NY, USA, leitete anschließend eine Forscher-

gruppe am MPI für Biochemie und habilitierte sich 1992 an der LMU München. 1993–2004 war er Professor für Biochemie an der Universität Regensburg, seit 2005 ist er Professor für Experimentelle Biophysik am Institut für Biologie der Humboldt-Universität.

**Humboldt-Universität zu Berlin • Institut für Biologie**

E-Mail: [hegemann@rz.hu-berlin.de](mailto:hegemann@rz.hu-berlin.de)

[www.biologie.hu-berlin.de/expbp/](http://www.biologie.hu-berlin.de/expbp/)



**Professor Dr. Andreas Möglich**  
Jg. 1975. Andreas Möglich studierte Diplom Biochemie an der Universität Regensburg. Nach seiner Dissertation in Biophysik bei Thomas Kiefhaber am Biozentrum Basel, wechselte er an die University of Chicago ins Labor von Keith Moffat, wo er sich mit Struktur

und Funktion von Photorezeptoren und Optogenetik befasste. Mit einem Sofja Kovalevskaja-Preis der AvH-Stiftung ausgestattet kam er im Juli 2010 als Professor für Biophysikalische Chemie an das Institut für Biologie der Humboldt-Universität zu Berlin.

**Humboldt-Universität zu Berlin • Institut für Biologie**

E-Mail: [andreas.moeglich@hu-berlin.de](mailto:andreas.moeglich@hu-berlin.de)

[lehre.biologie.hu-berlin.de/biophyschem/](http://lehre.biologie.hu-berlin.de/biophyschem/)