

Funktionelle Analyse kleiner neuronaler Netzwerke im Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* mit Hilfe der „Optogenetik“

Dr. rer. nat. Alexander Gottschalk

In den Neurowissenschaften ist es von zentraler Bedeutung, das Zusammenwirken von Neuronen mit der Erzeugung eines Verhaltens zu korrelieren. Wir wollen dies innerhalb des neuronalen Netzwerks des Fadenwurms *C. elegans* tun. Dieses einfache Tier hat gerade einmal 302 Nervenzellen, welche jedoch eine erstaunliche Vielfalt von Verhaltensweisen und Sinneswahrnehmungen steuern. Um die Funktion einzelner Neuronen zu ermitteln machen wir sie durch genetische Methoden lichtempfindlich, und kontrollieren sie dann durch Beleuchtung (*C. elegans* ist durchsichtig). So können wir ein von der jeweiligen Nervenzelle gesteuertes Verhalten auslösen, unterdrücken oder modulieren.

In einem neuronalen Netzwerk kann z.B. über sensorische Zellen Information aus der Umwelt aufgenommen und bewertet, und als Konsequenz ein bestimmtes Muster an Ausgangsaktivität erzeugt werden (Abb. 1a). Diese kann z.B. ein Verhalten beeinflussen oder erwirken. Will man das Nervennetzwerk in seiner Gesamtheit verstehen, muß man die Funktion der einzelnen Nervenzellen kennen. Daher möchte man im Experiment deren Funktion gezielt aktivieren oder unterdrücken. In größeren Versuchstieren wie der Maus ist das prinzipiell durch eine Stimulationselektrode möglich, allerdings sind die Nervennetzwerke so komplex, daß man die Funktion einzelner Neuronen nicht ermitteln kann. In einfachen Tieren wie dem Fadenwurm *C. elegans* ist zwar die Anzahl der Nervenzellen sehr gering (genau 302, mit vermutlich invarianter „Verschaltung“), dafür ist das Tier so klein (1 mm), daß man einzelne Neuronen für eine Elektrode nur durch Sezierung zugänglich machen kann, was normalem Verhalten entgegensteht.

Um dieses Problem zu umgehen, haben wir „optogenetische“ Methoden zur Zellaktivierung oder Inhibition entwickelt: Wir bringen die Gene für lichtempfindliche Proteine aus Grünalgen bzw. Halobakterien in die Nervenzellen von *C. elegans* ein. Diese Proteine sind Channelrhodopsin-2 (ChR2), ein blaulicht-aktivierter Natriumionenkanal, und Halorhodopsin (HR), eine gelblicht-getriebene Ionenpumpe. Das Einströmen positiv geladener Natriumionen bewirkt in Neuronen eine Aktivierung und das Feuern von Aktionspotentialen, negativ geladene Chloridionen bewirken das Gegenteil. Durch die Auswahl geeigneter genetischer Regulationssequenzen können wir bestimmen, in welchen Neuronen diese Proteine hergestellt werden. Somit können wir ganz bestimmte Zellen innerhalb eines Netzwerks durch blaues Licht anregen oder durch gelbes Licht hemmen. Wir konnten bereits zeigen, daß man auf diese Weise Verhalten spezifisch auslösen kann: So kann ChR2-Aktivierung in Motoneuronen, welche die Muskeln stimulieren, Kontraktionen des Tiers auslösen. Die HR-vermittelte Inhibition dieser Zellen führt zu Erschlaffung, und kann z.B. Schwimmverhalten unterdrücken (Abb. 1b). Mechanosensorische Nervenzellen können durch Licht so gereizt werden, als ob das Tier berührt worden sei, und eine einzelne Zelle, das Neuron „DVA“, nimmt die Körperbiegung des Tiers wahr und kann diese verstärkend oder abschwächend regulieren (Abb. 1c).

Wir wollen nun einige der Nervennetzwerke von *C. elegans* im Detail in ihrer Funktionsweise verstehen. Zu diesen gehören Neuronen die die Bewegung der Tiere steuern und deren „Navigation“ bewirken, sowie sensorische Zellen, deren Habituationseigenschaften wir untersuchen wollen. Ausserdem wollen wir Zellen untersuchen die stromauf oder stromab des DVA Neurons verschaltet sind, um deren Einfluß auf die DVA Funktion zu ermitteln. Zu diesem Ziel werden wir Methoden verwenden, die uns das Einbringen von ChR2 oder HR in beliebige einzelne Nervenzellen erlauben, bzw. wir werden Laserstrahlen auf einzelne Nervenzellen richten (eine entsprechende Apparatur wurde durch die Schram Stiftung bewilligt). Den akuten Einfluß der Aktivierung oder Inhibition auf das jeweilige Verhalten beschreiben wir durch Video- Analyse quantitativ. Das Langzeitziel unseres Ansatzes ist, so viele Neuronen wie

möglich zu untersuchen, um Funktion und Verschaltung aller 302 Nervenzellen in ihrer Gesamtheit zu verstehen, bzw. gar im Computer simulieren zu können.

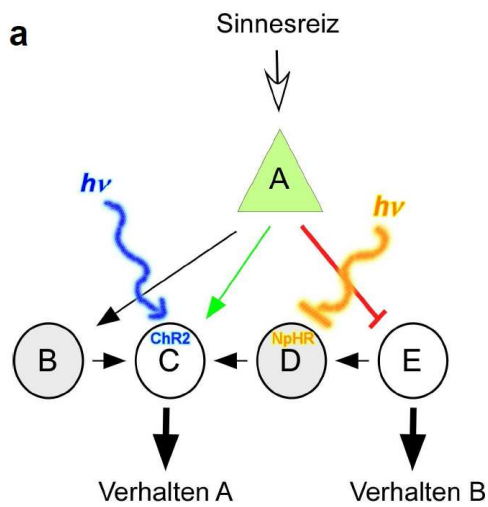


Abb. 1: Funktionelle Analyse neuronaler Netzwerke im Fadenwurm *C. elegans*

a) Schematische Darstellung eines neuronalen Schaltkreises, der aus einer Sinneszelle (A), sowie mehreren Interneuronen (B-E) besteht, die von A angeregt oder inhibiert werden können. Durch Einbringen und Anregen von ChR2 oder HR in bestimmte Zellen, kann man deren Aktivität steuern und den Einfluß auf die von A initiierten Verhaltensweisen beobachten.

b) Unterdrückung der Motorneuron-Aktivität über HR. Schwimmbewegungen des Tiers in Wasser werden durch gelbes Licht sofort gehemmt. (Falschfarbendarstellung mehrerer Bilder aus einem Video übereinander, Zeiten angezeigt).

c) Das propriozeptive Neuron DVA gibt dem Fadenwurm einen Sinn für seine Körperhaltung, und reguliert diese sowohl verstärkend wie abschwächend. Das Ausmaß der Körperbiegung kann durch Photo-Aktivierung des Neurons (über ChR2, durch blaues Licht) verstärkt werden.

