



Societat Catalana
de **BIOLOGIA**



Institut
d'Estudis
Catalans



UNIVERSITAT DE BARCELONA



21-25 de novembre de 2016, de 11.30 h a 13.30 h

Instructors:

Prof. Luis de Lecea,
Stanford

Dr. Pau Gorostiza,
Institut de Bioenginyeria
de Catalunya (IBEC)

Prof. Michael Häusser, UCL,
Londres

Organitzadors: Luis de Lecea
(llecea@stanford.edu),
Eduardo Soriano
(esoriano@ub.edu)
(Curs en anglès)

OPTOGENÈTICA

Curs de Màster en optogenètica, fotofarmacologia i biofotònica

RESUM

La capacitat de manipular i enregistrar l'activitat de circuits neuronals definits genèticament està revolucionant les neurociències.

L'optogenètica és una nova tècnica descrita per primer cop l'any 2005, i ha estat guardonada com una de les tècniques de la dècada per la revista *Nature*. La metodologia es basa en la introducció en neurones de sondes codificades genèticament sensibles a la llum, amb l'objectiu de manipular l'activitat de circuits cerebrals en sistemes intactes *in vitro* i *in vivo*. En els darrers anys, els mètodes optogenètics han permès descobrir nous

components neuronals en sistemes sensorials, motors, i fins i tot límbics, així com identificar noves lògiques de processament d'informació neuronal. També en els darrers anys, s'han desenvolupat noves eines a partir de l'estructura de la canalrodopsina, que permeten interrogar circuits i sistemes neuronals amb una precisió sense precedents. La combinació d'aquesta tecnologia amb avenços recents en el camp de la biofotònica i, en particular, el desenvolupament d'indicadors de calci i voltatge codificats genèticament contribuirà, sense dubte, al nostre coneixement de l'organització del sistema nerviós. Aquest curs, doncs, està enfocat cap a la discussió del conjunt de tècniques de manipulació neuronal, ja essencials per a qualsevol científic interessat en el funcionament del cervell i dels mecanismes de les patologies neuropsiquiàtriques.

OBJECTIUS

Al final del curs, els participants inscrits tindran coneixements bàsics de les tècniques optogenètiques i quimiogenètiques, de possibles aplicacions experimentals i clíniques així com del disseny primari d'experiments per al *mapeig* de circuits neuronals.

CONTINGUT

21 de novembre

Introducció, antecedents històrics. Descobriment de la canalrodopsina 2. Disseny bàsic d'un experiment d'optogenètica

(Luis de Lecea, Stanford)

Les tècniques optogenètiques es basen en l'expressió de canals o receptors sensibles a la llum en grups de neurones definides genèticament. La sonda més emprada és l'anomenada *canalrodopsina*, una proteïna originària de l'alga verd-i-blava *Chlamydomonas reinhardtii*, caracteritzada al principi de la dècada del 2000. Aquesta classe tractarà dels primers experiments optogenètics així com de les bases de les propietats físiques i òptiques de les proteïnes derivades de la canalrodopsina.

Lectures recomanades:

BOYDEN, E. S. ZHANG, F., BAMBERG, E., NAGEL, G., i DEISSEROTH, K. (2005). «Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity». *Nat Neurosci*, 8, p. 1263-1268.

NAGEL, G., SZELLAS, T., HUHN, W., KATERIYA, S., ADEISHVILI, N., BERTHOLD, P., OLLIG, D., HEGEMANN, P., i BAMBERG, E. (2003). «Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel». *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, p. 13940-13945. doi: 10.1073/pnas.1936192100.

Kato, H. E., Zhang, F., Yizhar, O., Ramakrishnan, C., Nishizawa, T., Hirata, K., Ito, J., Aita, Y., Tsukazaki, T., Hayashi, S., Hegemann, P., Maturana, A.D., Ishitani, R., Deisseroth, K., i Nureki, O. (2012). «Crystal structure of the channelrhodopsin light-gated cation channel». *Nature* 482, p. 369-374. doi: 10.1038/nature10870.

PRIGGE, M., SCHNEIDER, F., TSUNODA, S. P., SHILYANSKY, C., WIETEK, J., DEISSEROTH, K., i HEGEMANN, P. (2012). «Color-tuned channelrhodopsins for multiwavelength optogenetics». *J Biol Chem*, 287, p. 31804-31812. doi: 10.1074/jbc.M112.391185.

GUNAYDIN, L. A., YIZHAR, O., BERNDT, A., SOHAL, V. S., DEISSEROTH, K., i HEGEMANN, P. (2010). «Ultrafast optogenetic control». *Nat Neurosci*, 13, p. 387-392. doi: 10.1038/nn.2495.

22 de novembre

Fotoestimulació multifotònica. Fotofarmacologia

(Pau Gorostiza, IBEC)

L'optogenètica també permet la manipulació d'estructures subneuronals accessibles amb mètodes òptics com ara la microscòpia multifotònica. Aquesta sessió introduirà aquests conceptes i desenvoluparà com es pot interrogar la integració dendrítica i altres qüestions fonamentals de processament d'informació i computació neuronals.

A més de la ChR2, existeixen nombroses molècules alternatives i fotocommutadors derivats de canals de potassi, receptors de glutamat, etc., amb capacitat d'alterar l'activitat neuronal. Pau Gorostiza, investigador principal a l'IBEC i pioner en la generació de fotocommutadors, tractarà del desenvolupament i de les aplicacions d'aquestes sondes alternatives, així com del naixement de la quimiogenètica.

Lectures recomanades:

WIETEK, J., WIEGERT, J. S., ADEISHVILI, N., SCHNEIDER, F., WATANABE, H., TSUNODA, S. P., VOGT, A., ELSTNER, M., OERTNER, T. G., i HEGEMANN, P. (2014). «Conversion of channelrhodopsin into a light-gated chloride channel». *Science*, 344, p. 409-412. doi: 10.1126/science.1249375.

ZHANG, F., WANG, L. P., BRAUNER, M., LIEWALD, J. F., KAY, K., WATZKE, N., WOOD, P. G., BAMBERG, E., NAGEL, G., GOTTSCHALK, A., i DEISSEROTH, K. (2007). «Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry». *Nature*, 446, p. 633-639.

ARMBRUSTER, B. N., LI, X., PAUSCH, M. H., HERLITZE, S., i ROTH, B. L. (2007). «Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, p. 5163-5168. doi: 10.1073/pnas.0700293104.

GOROSTIZA P., i ISACOFF EY. «Optical switches for remote and noninvasive control of cell signaling». *Science*, 2008, oct. 17; 322(5900):395-9. doi: 10.1126/science.1166022. Review.

PRAKASH, R., YIZHAR, O., GREWE, B., RAMAKRISHNAN, C., WANG, N., GOSHEN, I., PACKER, A. M., PETERKA, D. S., YUSTE, R., SCHNITZER, M. J., i DEISSEROTH, K. (2012). «Two-photon optogenetic toolbox for fast inhibition, excitation and bistable modulation». *Nat Methods*, 9, p. 1171-1179. doi: 10.1038/nmeth.2215.

ANDRASFALVY, B. K., ZEMELMAN, B. V., TANG, J., i VAZIRI, A. (2010). «Two-photon single-cell optogenetic control of neuronal activity by sculpted light». *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, p. 11981-11986. doi: 10.1073/pnas.1006620107.

23 de novembre

Aplicacions *in vivo*. Mapeig de circuits neuronals. Marcatge retrògrad. Optogenètica combinatòria

Luis de Lecea (Stanford)

L'aplicació més estesa dels mètodes optogenètics és el *mapeig* funcional de circuits neuronals *in vivo*. Es discutiran estratègies d'intersecció viral per tal de marcar i estimular neurones que no disposen de marcadors genètics. Luis de Lecea ens donarà una visió global de com podem identificar i descobrir nous components de circuits neuronals associats a comportaments complexos.

Lectures recomanades:

ADAMANTIDIS, A. R., ZHANG, F., ARAVANIS, A. M., DEISSEROTH, K., i DE LECEA, L. (2007). «Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons». *Nature*, 450, p. 420-424. doi: nature06310 [pii]

PETREANU, L., HUBER, D., SOBCZYK, A., i SVOBODA, K. (2007). «Channelrhodopsin-2-assisted circuit mapping of long-range callosal projections». *Nat Neurosci*, 10, p. 663-668.

GRADINARU, V., MOGRI, M., THOMPSON, K. R., HENDERSON, J. M., i DEISSEROTH, K. (2009). «Optical deconstruction of parkinsonian neural circuitry». *Science*, 324, p. 354-359. doi: 10.1126/science.1167093.

ARMSTRONG, C., KROOK-MAGNUSON, E., OIJALA, M., i SOLTESZ, I. (2013). «Closed-loop optogenetic intervention in mice». *Nat Protoc*, 8, p. 1475-1493. doi: 10.1038/nprot.2013.080.

PASCOLI, V., TERRIER, J., ESPALLERGUES, J., VALJENT, E., O'CONNOR, E. C., i LUSCHER, C. (2014). «Contrasting forms of cocaine-evoked plasticity control components of relapse». *Nature*, 509, p. 459-464. doi: 10.1038/nature13257.

JENNINGS, J.H., RIZZI, G., STAMATAKIS, A.M., UNG, R.L., i STUBER, G.D. (2013). «The inhibitory circuit architecture of the lateral hypothalamus orchestrates feeding». *Science*, 341, p. 1517-1521. doi: 10.1126/science.1241812.

24 de novembre

11.30-12.30 h

Sensors-actuadors. Registre i manipulació en circuit tancat. Aplicacions clíniques (retina, etc.)

Luis de Lecea (Stanford)

La combinació de sensors d'activitat neuronal codificats genèticament amb actuadors òptics està portant a sistemes artificials de control neuronal en circuit tancat, aplicacions clíniques (retina, etc.). A l'horitzó, hi ha aplicacions clíniques per al control de la visió i l'epilèpsia.

12.30-13.30 h

Activitat en grup: Disseny d'experiments optogenètics

25 de novembre

11.30 h: Keynote lecture per Michael Häusser (UCL Londres)

Michael Häusser és professor de neurociències al University College de Londres. Ha fet contribucions fonamentals per al coneixement de com les estructures dendrítiques contribueixen a les computacions funcionals del cervell. Ha estat pioner en l'aplicació de sofisticades tècniques òptiques per tal d'establir com mecanismes no lineals a les dendrites neuronals contribueixen a la conducta i a la plasticitat de circuits neuronals. Ha estat guardonat com a membre de la Societat de Recerca Britànica (Fellow of Research Society), el 2015.

Lectures recomanades:

Emiliani V, Cohen AE, Deisseroth K, Häusser M. *All-Optical Interrogation of Neural Circuits*.

J Neurosci. 2015 Oct 14; 35(41):13917-26. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2916-15.2015.

Packer AM, Russell LE, Dagleish HW, Häusser M.

Simultaneous all-optical manipulation and recording of neural circuit activity with cellular resolution in vivo.

Nat Methods. 2015 Feb; 12(2):140-6. doi: 10.1038/nmeth.3217.

12.30 h Taula rodona. Debat del futur de l'optogenètica.

(de Lecea, Soriano, Gorostiza, Häusser)

En aquesta sessió els estudiants treballaran en grups en el disseny d'experiments d'optogenètica. La darrera sessió és una taula rodona i s'obrirà al debat i al disseny experimental per part dels participants. Es discutiran cassos particulars i perspectives futures d'evolució d'aquestes tecnologies.

Lectures recomanades:

ZHANG, F., GRADINARU, V., ADAMANTIDIS, A. R., DURAND, R., AIRAN, R. D., DE LECEA, L., i DEISSEROTH, K. (2010). «Optogenetic interrogation of neural circuits: technology for probing mammalian brain structures». *Nature protocols*, 5, p. 439-456. doi: 10.1038/nprot.2009.226.

CHUONG, A. S., MIRI, M. L., BUSSKAMP, V., MATTHEWS, G. A., ACKER, L. C., SORENSEN, A. T., YOUNG, A., KLAPOETKE, N. C., HENNINGER, M. A., KODANDARAMAIAH, S. B., OGAWA, M., RAMANLAL, S. B., BANDLER, R.C., ALLEN, B. D., FOREST, C. R., CHOW, B. Y., HAN, X., LIN, Y., TYE, K. M., ROSKA, B., CARDIN, J. A., i BOYDEN, E. S. (2014). «Noninvasive optical inhibition with a red-shifted microbial rhodopsin». *Nat Neurosci*. doi: 10.1038/nn.3752.

FENNO, L. E., MATTIS, J., RAMAKRISHNAN, C., HYUN, M., LEE, S. Y., HE, M., TUCCARONE, J., SELIMBEYOGLU, A., BERNDT, A., GROSENICK, L., ZALOCUSKY, K. A., BERNSTEIN, H., SWANSON, H., PERRY, C., DIESTER, I., BOYCE, F. M., BASS, C. E., NEVE, R., HUANG, Z. J., i DEISSEROTH, K. (2014). «Targeting cells with single vectors using multiple-feature Boolean logic». *Nat Methods*, 11, 763-772. doi: 10.1038/nmeth.2996.

INSCRIPCIONS

La inscripció és necessària per a assistir al curs i s'ha de formalitzar mitjançant l'enllaç:

<http://www.iec.cat/jornades/optogenetica2016.asp>

Nombre de places: 50

PREUS

Socis de la SCB: 55 €

No socis de la SCB: 100 €

PAGAMENT

Per transferència bancària al compte de la SCB: La Caixa ES 47 2100-0963-61-0200010607. Cal indicar com a concepte el nom i el cognom de la persona inscrita i «Optogenètica».