



Societat Catalana
de **BIOLOGIA**



Institut
d'Estudis
Catalans



UNIVERSITAT DE BARCELONA



OPTOGENÈTICA

Curs d'optogenètica, quimiogenètica i biofotònica

Tècniques d'optogenètica i biofotònica avançada per manipular l'activitat neuronal:
aplicacions a la investigació biomèdica

Del 2 al 10 de novembre de 9 a 11h
Institut d'Estudis Catalans
Carrer del Carme, 47. Barcelona

Instructors:

Prof. Luis de Lecea, Stanford / Dr. Pau Gorostiza, IDIBEC / Dra. Clara Touriño, Gènova / Prof. Gero Miesenbock, Oxford

Organitzadors:

Luis de Lecea (llecea@stanford.edu)

Eduardo Soriano (esoriano@ub.edu)



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 la identificació de 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, possibles aplicacions experimentals i clíniques així com del disseny primari d'experiments per al *mapeig* de circuits neuronals.



Contingut

2 de novembre

Introducció, antecedents històrics. Descobriments de la canalrodopsina 2. Estructura, fotocicle, mutacions i variants

(L. 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.

3 de novembre

Sondes optogenètiques i commutadors òptics. Receptors, canals i sensors

(Pau Gorostiza, IBEC)

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.

4 de novembre

Aplicacions in vitro. Fotoestimulació multifotònica

(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.

Lectures recomanades:

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.

5 de novembre

Models animals: peix zebra, *C. elegans*, *Drosophila*

(Luis de Lecea, Stanford)

Diferents variants optogenètiques s'han aplicat recentment a models animals diferents del ratolí original, com ara la rata, el peix zebra, l nemàtode *C. elegans* o *Drosophila*. Discutirem els avantatges i dificultats associats a aquests models així com les variants químic i optogenètiques més adients per a cadascun dels models alternatius.

Lectures recomanades:

NAGEL, G., BRAUNER, M., LIEWALD, J. F., ADEISHVILI, N., BAMBERG, E., i GOTTSCHALK, A. (2005). «Light activation of channelrhodopsin-2 in excitable cells of *Caenorhabditis elegans* triggers rapid behavioral responses». *Curr Biol*, 15, p. 2279-2284.

MONESSON-OLSON, B. D., BROWNING-KAMINS, J., AZIZ-BOSE, R., KREINES, F., i TRAPANI, J. G. (2014). «Optical stimulation of zebrafish hair cells expressing channelrhodopsin-2». *PLoS One*, 9, e96641.

BAIER, H., i SCOTT, E. K. (2009). «Genetic and optical targeting of neural circuits and behavior--zebrafish in the spotlight». *Curr Opin Neurobiol*, 19, p. 553-560.

Keynote lecture per Gero Miesenbock (Oxford).

El professor Miesenbock, professor de fisiologia i director del Centre for Neural Circuits and Behaviour de la Universitat d'Oxford és considerat per molts com el veritable inventor de l'optogenètica en descriure manipulacions del comportament de *D. melanogaster* mitjançant sondes sensibles a la llum. Ha rebut el Brain Prize i l'InBev-Baillet Latour International Health Prize per les seves activitats pioneres en optogenètica i actualment és un dels referents i impulsors més creatius en aquest camp.

6 de novembre

Aplicacions in vivo 1. *Mapeig* de circuits neuronals

CRACM, (Clara Touriño, Gènova)

L'aplicació més estesa dels mètodes optogenètics és el *mapeig* funcional de circuits neuronals in vivo. Clara Touriño, una investigadora amb gran experiència en aquest camp, 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., SOBCHYK, 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.

9 de novembre

Aplicacions in vivo 2. *Closed loop control. Sensors-actuators. 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 (*closed-loop systems*). A l'horitzó hi ha aplicacions clíniques per al control de la visió i l'epilèpsia.

Lectures recomanades:

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.

10 de novembre

Disseny experimental. Limitacions i perspectives

(Luis de Lecea, Calara Touriño, Pau Gorostiza, Melike Lakadamyali i Eduardo Soriano)

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., BUSKAMP, 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 l'assistència al curs i s'ha de formalitzar mitjançant l'enllaç següent:
<http://www.iec.cat/jornades/optogenetica2015.asp>



Preus

Socis de la SCB: 50 €
No socis: 90 €



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.».