

Signaltransduktion in Sehzellen

Frank Müller und U. Benjamin Kaupp

Institut für Biologische Informationsverarbeitung,
Forschungszentrum Jülich, Postfach 1913,
52425 Jülich, Germany

Vertebrate photoreceptors respond to light with a brief hyperpolarization of their membrane potential. In the dark, photoreceptors are depolarized by cation influx through channels in the plasma membrane which are kept open by the second messenger cGMP. Light absorption activates an enzyme cascade that hydrolytically destroys cGMP, resulting in channel closure and hyperpolarization of the membrane. In addition, processes are initiated that allow photoreceptors to adapt their sensitivity to the ambient illumination. Although these adaptational mechanisms are less well understood, it is clear that they are strongly controlled by the intracellular Ca^{2+} concentration. This review describes our present knowledge about the signal transduction and its fine tuning by a complex network of Ca^{2+} -mediated processes in vertebrate photoreceptors.

Der optische Apparat unseres Auges bildet die Umwelt auf dem Augenhintergrund ab, der von der Netzhaut, oder Retina, ausgekleidet wird. Die Netzhaut ist ein ca. 200 μm dickes Nervengewebe, das die eigentlichen Sehzellen (Photorezeptoren), die Stäbchen und Zapfen, sowie nachgeschaltete Nervenzellen enthält.

Lichtreize werden in den Sehzellen in die Sprache des Nervensystems, d.h. in elektrische Spannungssignale umgewandelt (*photoelektrische Transduktion*). Das Licht wird in den Sehzellen zunächst von dem Sehfärbstoff, dem Rhodopsin, absorbiert und dort in ein biochemisches Signal umgewandelt. Dieses Signal breitet sich in Bruchteilen einer Sekunde lawinenartig in der Zelle aus, indem es eine Kette chemischer Reaktionen in Gang setzt, die schließlich zur Änderung der elektrischen Spannung über der Plasmamembran führt. Um das elektrische Signal zu erzeugen, benötigt die Sehzelle eine Energiemenge, die millionenfach größer ist als jene, die das Licht geliefert hat. Diese Energie stammt aus dem Zellstoffwechsel, die Sehzelle funktioniert also wie ein Verstärker.

Die Retina hat bemerkenswerte Eigenschaften. Sie ermöglicht uns das Sehen in einer sternklaren Nacht ebenso wie bei Sonnenschein auf einem gleißend hellen Gletscher, wenn 10^9 mal mehr Licht ins Auge fällt. Diese Leistung wird durch eine Arbeitsteilung der Sehzellen ermöglicht. Stäbchen haben die Grenze des physikalisch Machbaren erreicht. Sie sind so empfindlich, daß sie einzelne Lichtquanten detektieren können. Sie können sich aber auch an etwa 1000 mal hellere Reize anpassen, eine Fähigkeit, die man *Adaptation* nennt. Sie sind für das Sehen in der Nacht und bei Dämmerlicht zuständig. Zapfen sind weitaus weniger empfindlich und sind für das Sehen bei Tageslicht geeignet. In einem menschlichen Auge gibt es weit über 100 Millionen Stäbchen und 5 Millionen Zapfen. Drei Zapfentypen, die für verschie-

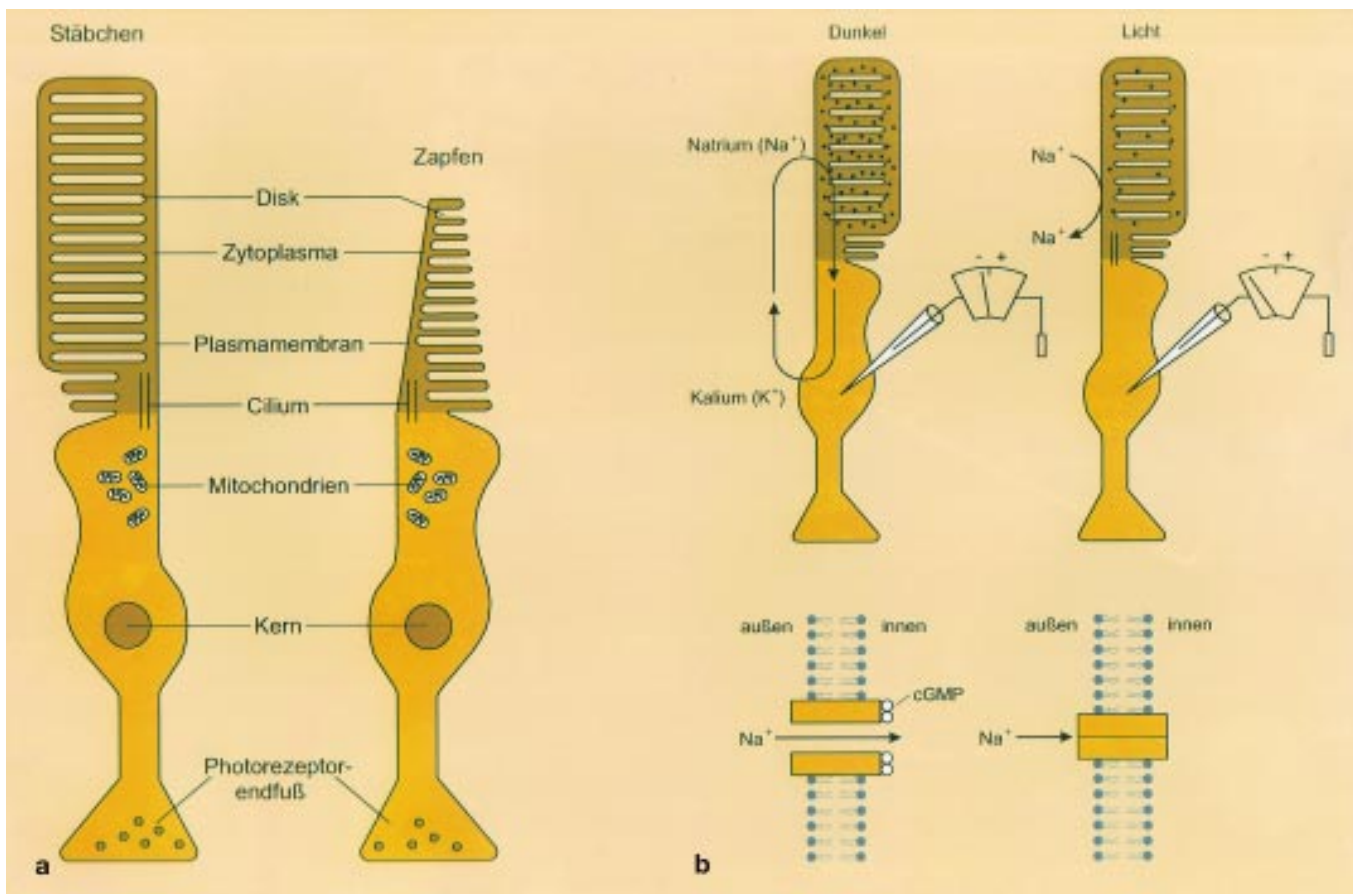


Fig. 1. a, Schematische Darstellung von Stäbchen und Zapfen der Wirbeltiernetzhaut. Zellkörper und Innensegment dienen allgemeinen Zellfunktionen. Am Photorezeptorfuß werden hochkomplexe synaptische Verbindungen (hier nicht dargestellt) mit mehreren nachgeschalteten Zellen gebildet. Die Außensegmente der Photorezeptoren enthalten alle Elemente, die für die Erzeugung einer Lichtantwort notwendig sind. Die Disks dienen der Oberflächenvergrößerung. In der Diskmembran sitzt der Sehfärbstoff, das Rhodopsin. b, Das Botenstoff-Mo-

dell der elektrischen Erregung in Sehzellen. Im Dunkeln halten cGMP Moleküle Ionenkanäle offen, durch die Na^+ -Ionen einströmen. Im Innensegment findet ein K^+ -Ausstrom statt. Die Membranspannung liegt bei ca. -40 mV. Bei Belichtung wird cGMP abgebaut. Die Kanäle schließen sich und die Membranspannung sinkt auf negativere Werte (bis zu -70 mV) ab. Diese Veränderung der Membranspannung stellt die Lichtantwort dar. Sie bewirkt eine veränderte Transmitterfreisetzung an der Synapse zu nachgeschalteten Zellen

dene Wellenlängen des Lichts unterschiedlich empfindlich sind, ermöglichen uns das Farbsehen. Die biochemischen Prozesse der Transduktion und der Adaptation in Sehzellen sind in den vergangenen dreißig Jahren weitgehend aufgeklärt und die beteiligten Signalproteine und intrazellulären Botenstoffe identifiziert worden. Einige der Bausteine, die in Sehzellen die Lichtantwort erzeugen, findet man auch in so unterschiedlichen Zellen wie Riechzellen der Nase, Geschmacksknospen der Zunge, in Zellen des Pineal- und des Parietalorgans, und sogar in Spermien. Die Photorezeptionsforschung wirkte deshalb weit über ihr eigentliches Fachgebiet hinaus und diente als Leitbild für die Erforschung der Signaltransduktion in vielen anderen Zellsystemen.

Morphologie der Photorezeptoren

Sehzellen sind nach Aufgabenbereichen morphologisch gegliedert (Fig. 1A). Wie jede Körperzelle besitzen sie einen Zellkörper mit Zellkern. Das sogenannte Innensegment beherbergt die normale Ausstattung an zellulären Organellen, wie Mitochondrien und endoplasmatisches Retikulum, die für die biochemische Routinearbeit einer Zelle gebraucht werden. Eine synaptische Region (Endfuß) stellt die Verbindung zu den nachgeschalteten Nervenzellen her. Das Besondere an den Sehzellen ist jedoch das Außensegment, das sich aus einem Cilium entwickelte. Reste der Cilienstruktur finden sich noch am Übergang zum Innensegment. Das Außensegment bildet einen Lichtdetektor, der alle molekularen Komponenten enthält, die zur Absorption der Licht-

quanten, zur Umwandlung in ein biochemisches Signal, zur Verstärkung und zur Erzeugung eines elektrischen Signals notwendig sind. Das langgestreckte Außensegment des Sehstäbchens ist mit einem Stapel dichtgepackter, flacher Membransäckchen, den sogenannten Disks gefüllt, in deren Lipiddoppelschicht das Rhodopsin eingelagert ist. Die Zahl der Disks variiert je nach Species zwischen 500 und 2000, in einem menschlichen Sehstäbchen findet man ca. 800 pro Außensegment. Die Disks sind wie Münzen in einer Geldrolle angeordnet und werden von der Plasmamembran umhüllt. Schmale Zwischenräume, die mit Zytoplasma gefüllt sind, trennen die Disks voneinander und von der Plasmamembran. Sehzapfen dagegen besitzen keine isolierten Membransäckchen; ihre Plasmamembran ist jedoch vielfach gefaltet und verleiht dem Zapfenaußensegment ebenfalls eine stapelförmige Struktur. Das Zapfensehpigment ist hier in der Plasmamembran zu finden.

Die elektrische Antwort der Zelle

Nervenzellen, zu denen auch die Photorezeptoren gehören, bauen an ihrer Plasmamembran eine elektrische Spannung auf, indem sie mit energieverbrauchenden Pumpen Ionengradienten über der Membran erzeugen. Molekulare Schalter in Form von Ionenkanälen in der Membran können durch Flüsse von Ionen in die Zelle hinein oder aus der Zelle heraus diese Spannung kurzfristig verändern. In den Photorezeptoren sind im Dunkeln einige Ionenkanäle in der Plasmamembran des Außensegmentes geöffnet, durch die hauptsächlich Na^+ -Ionen, aber auch Ca^{2+} -Ionen in die Zelle einströmen. Durch diesen „Dunkelstrom“ von ca. 40 pA, der die Sehzelle durch Kanäle im Innensegment wieder verläßt, bildet sich eine elektrische Potentialdifferenz von -40 mV über der Membran aus. Die Kette biochemischer Reaktionen, die durch einen Lichtreiz gestartet wird, bewirkt, daß sich die Ionenkanäle im Außensegment schließen. Weil weniger positive Ionen einströmen, sinkt die Spannung an der Zellmembran bis auf ~ -70 mV ab (Fig. 1B). Diese Spannungsänderung wird passiv über das Innensegment zur Synapse weitergeleitet und führt dort zu einer verringerten Ausschüttung des Transmitters Glutamat. Die Veränderung der Transmitterkonzentration im synaptischen Spalt wird dann von nachgeschalteten Nervenzellen, z. B. den Bipolarzellen, wahrgenommen, vielfältig verarbeitet und schließlich von den Ganglienzellen zum Gehirn weitergeleitet.

Stäbchen sind ideale Quantendetektoren. Bereits die Absorption eines einzelnen Lichtquants reduziert in

Stäbchen der Amphibienretina den Dunkelstrom um ~ 1 pA. Ein kurzer Reiz, der 30 Lichtquanten enthält, löst eine halbmaximale Antwort von 15–20 pA aus; schon 100–300 Lichtquanten genügen, um den Dunkelstrom völlig zu unterbrechen, d.h. die Lichtantwort zu sättigen. Um einzelne Quanten detektieren zu können, ist das Rhodopsin im Außensegment extrem dicht gepackt. Ein μm^2 Diskmembran enthält bis zu 30000, ein Sehstäbchen des Menschen mehr als 50 Millionen Rhodopsin-Moleküle. Wenn nur 0,001% der Sehpigmente von einem Lichtquant getroffen werden, sättigt das die Reaktion eines Sehstäbchens. Die enorme Zahl von Rhodopsin-Molekülen stellt eine Absorptionswahrscheinlichkeit von fast 1 sicher.

Ein intrazellulärer Botenstoff vermittelt die Lichtantwort

Wird ein einzelnes Lichtquant von einem Rhodopsin-Molekül in der Diskmembran absorbiert, schließen ca. 100–400 der offenen Ionenkanäle in der Plasmamembran. Wegen der räumlichen Trennung von Plasma- und Diskmembran und des hohen Verstärkungsgrades, kann nur ein löslicher Botenstoff die Lichtantwort vermitteln, der sich in der Zelle durch Diffusion ausbreitet und die Aktivität der Ionenkanäle kontrolliert.

Lange Zeit konkurrierten zwei „Botenstoff“-Theorien der Phototransduktion miteinander. Die *Ca²⁺-Hypothese* schlug vor, daß Ca^{2+} nach Belichtung aus den Disks freigesetzt wird und die Ionenkanäle schließt. Sie wurde hauptsächlich durch Experimente gestützt, die zeigen, daß sowohl Ca^{2+} -Ionen als auch Licht den Dunkelstrom unterdrücken und daß die Disks viel Ca^{2+} speichern. Die *cGMP-Hypothese* hingegen favorisierte zyklisches 3',5'-Guanosin-monophosphat (cGMP) als Botenstoff, der die Kanäle öffnet; durch Belichtung wird cGMP enzymatisch abgebaut und die Kanäle schließen.

Wie so oft verbarg sich auch hinter diesem heftig geführten Wettstreit ein komplexes Problem, dessen Lösung beiden Seiten gerecht wurde. Eine russische Arbeitsgruppe um E. E. Fesenko zeigte mit Hilfe der Patch-Clamp-Technik, daß die Ionenkanäle in der Außensegmentmembran öffnen, wenn sie mit einer cGMP-haltigen Lösung umspült werden, jedoch nicht auf Ca^{2+} reagieren. Gleichzeitig führten mehrere Arbeitsgruppen den Beweis, daß die Ca^{2+} -Konzentration in belichteten Sehstäbchen nicht ansteigt – wie es die *Ca²⁺-Hypothese* verlangt hätte – sondern absinkt. Im Dunkeln ist die cGMP-Konzentration hoch. Es wird

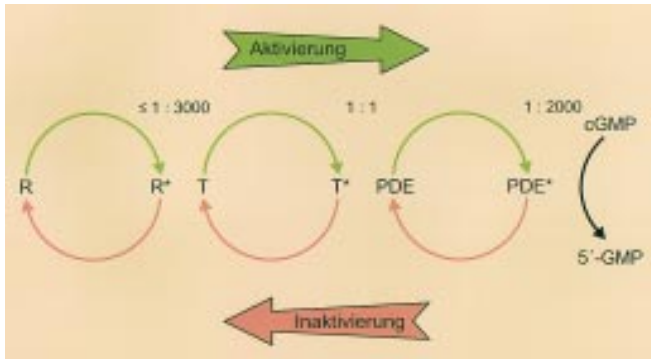


Fig. 2. Die Enzymkaskade: *R* Rhodopsin; *T* Transducin; *PDE* Phosphodiesterase. Ein Sternchen kennzeichnet die katalytisch aktiven Formen. Ein R^* kann bis zu 3000 *T* aktivieren, eine PDE^* bis zu 2000 cGMP Moleküle hydrolysieren. Der theoretische Verstärkungsfaktor liegt demnach über 1 Million

von einem Enzym, der Guanylylzyklase aus GTP synthetisiert. cGMP hält spezielle Ionenkanäle geöffnet, indem es an eine spezifische Stelle am Kanalprotein bindet (Fig. 1B). Ein Lichtreiz löst eine biochemische Kettenreaktion aus, die dazu führt, daß cGMP zu 5'-GMP hydrolysiert wird und die Ionenkanäle deshalb schließen. Die Änderung der cGMP-Konzentration vermittelt also die Lichtantwort in den Sehzellen der Wirbeltiernetzhaut! Welche Rolle aber spielt das Ca^{2+} ? Ca^{2+} -Ionen sind wichtig für die Erholung der Zelle von dem Lichtreiz und für die Lichtadaptation. Die Sehzelle beschäftigt also zwei Botenstoffe, einen für die Lichtantwort (cGMP) und einen anderen für die Abschaltung bzw. Adaptation (Ca^{2+}).

Lichtaktivierte „Enzymkaskade“

Die Lichtabsorption überführt das Rhodopsin in wenigen Millisekunden in eine enzymatisch aktive Form (R^*), die das GTP-bindende Protein Transducin aktiviert (Fig. 2). Aktives Transducin (T^*) wiederum aktiviert die Phosphodiesterase (PDE). Die aktive Form (PDE^*) schließlich zerstört cGMP-Moleküle durch hydrolytische Spaltung des zyklischen Phosphodiesters. Bemerkenswert an diesem System hintereinandergeschalteter enzymatischer Reaktionen ist die hohe, in zwei Stufen erreichte Verstärkung. Ein einzelnes Lichtquant kann durch die katalytische Wirkung von R^* bis zu ~ 3000 Transducin-Moleküle aktivieren; und ein PDE^* -Molekül kann maximal ~ 2000 cGMP-Moleküle in der Sekunde hydrolysieren. Der Verstärkungsgrad kann somit mehr als 1 Million betragen. Da sich das Signal lawinenartig in der Zelle ausbreitet, spricht man von der Enzymkaskade des Sehvorgangs.

Die Darstellung der Enzymkaskade in Fig. 2 verdeutlicht auch, daß es sich nicht um einfache Folgereaktionen handelt, die nacheinander von R^* , T^* und PDE^* katalysiert werden. In Wirklichkeit stellt die Enzymkaskade eine Kette ineinandergreifender Reaktionszyklen dar: jedes Enzym ist nur für eine kurze Zeit aktiv; die mittlere Lebensdauer und damit die Effizienz der Kaskade hängt davon ab, wie schnell jedes Enzym inaktiviert wird und wie effizient die Proteine aneinander koppeln. Wie wir im Laufe dieses Artikels sehen werden, kann die Effizienz der Kaskade von den Photorezeptoren gezielt den Bedürfnissen angepaßt werden. In dunkeladaptierten Stäbchen ist der Wirkungsgrad der Kaskade und damit die Lichtempfindlichkeit durch lange Lebensdauer der Enzyme und enge Kopplung maximiert. Dadurch wird allerdings die Lichtantwort relativ langsam (Maximum nach einigen 100 ms). Umgekehrt sind Zapfen zwar weniger empfindlich, zeigen aber wesentlich schnellere Lichtantworten (wenige ms). Betrachten wir im folgenden die Komponenten der Enzymkaskade etwas genauer.

Rhodopsin, das Sehpigment

Rhodopsin, beispielsweise aus der Rinderretina, besteht aus dem Opsin, einem Protein von 348 Aminosäuren und einem lichtempfindlichen Farbstoff (Chromophor), dem 11-*cis*-Retinal. Der Chromophor, ein Abkömmling des Vitamin A, ist als Aldimin-Gruppierung („Schiffsche Base“) an einen Lysinrest im Protein chemisch gebunden und ist vollständig von der Polypeptidkette umhüllt. Das Retinal ist ein mehrfach konjugiertes π -Elektronensystem und besitzt ein Absorptionsspektrum im ultravioletten Bereich ($\lambda_{\max} = 380$ nm). Die Anlagerung eines Protons an die „Schiffsche Base“ und die Wechselwirkung mit dem Proteinteil verändern die elektronische Struktur des Retinals und verschieben sein Absorptionsspektrum in den sichtbaren Bereich des Lichts ($\lambda_{\max} = 500$ nm). In den Sehpigmenten unserer drei Zapfenarten wird auch immer 11-*cis*-Retinal als Chromophor verwendet, die Proteinteile unterscheiden sich jedoch voneinander und beeinflussen die Absorptionsspektren. Die drei menschlichen Zapfenspektren besitzen Absorptionsmaxima bei den Wellenlängen 420 nm (blau), 540 nm (grün) und 560 nm (gelbgrün).

Das Rhodopsin-Molekül besteht aus einer regelmäßigen Folge von hydrophoben und hydrophilen Abschnitten. Sieben hydrophobe Abschnitte (TM 1–7) durchqueren die Lipiddoppelschicht der Diskmem-

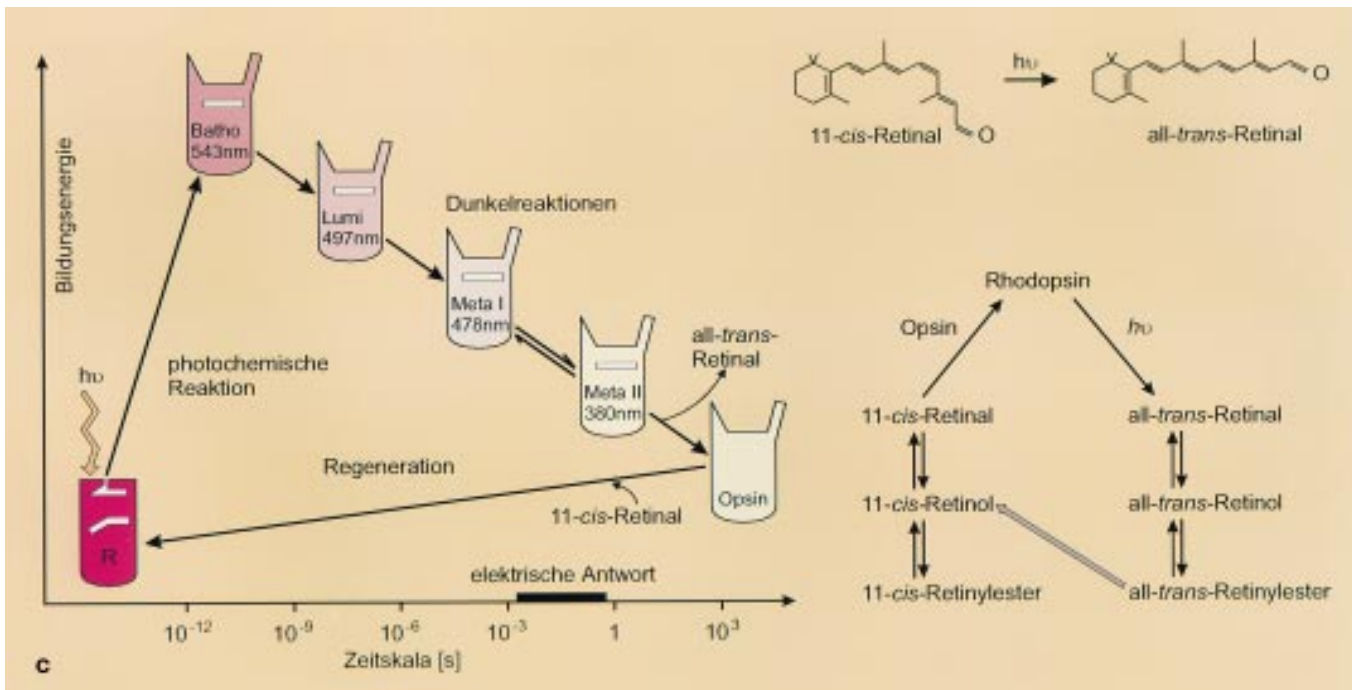
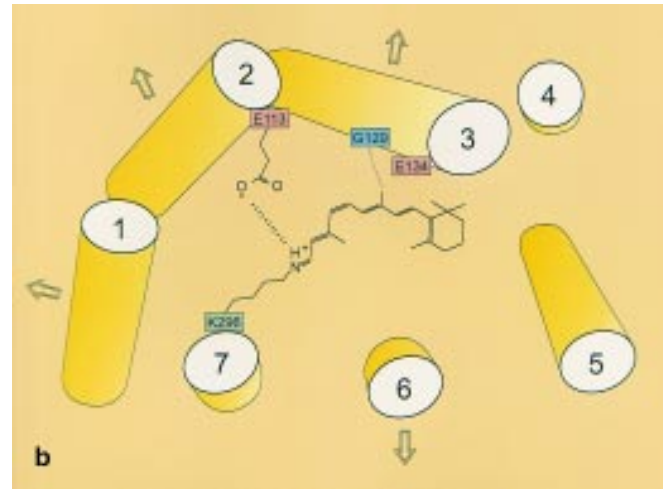
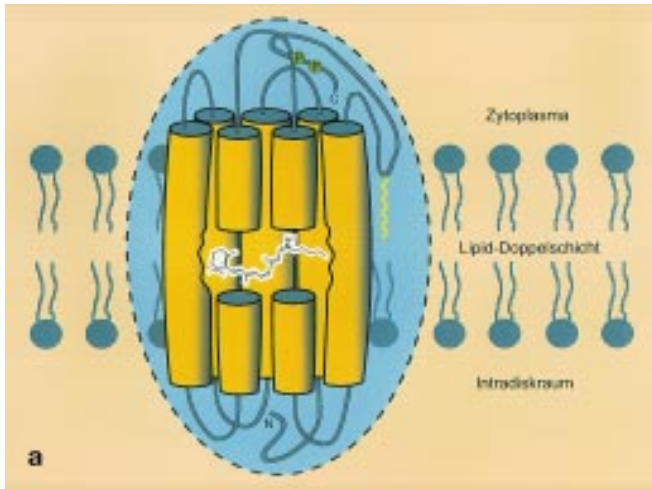


Fig. 3a–c. Das Rhodopsin. a Modell des Rhodopsins in der Diskmembran, schematische Seitenansicht. Das Rhodopsin besitzt 7 Abschnitte, die durch die Diskmembran ziehen (Säulen). Der Chromophor (Retinal) ist in das Rhodopsin eingebettet. Das N kennzeichnet den Proteinanfang, der die Aminogruppe trägt, das C das Ende des Proteins mit der Carboxygruppe. Stellen im Protein, an die Phosphatgruppen übertragen werden, sind mit grünen P gekennzeichnet. In gelb ist ein Myristoylrest am Protein markiert, der hilft, das Rhodopsin in der Membran zu verankern. b Aufsicht. Die transmembranalen Segmente (1–7) liegen mit unterschiedlichen Neigungswinkeln in der Membran. Das Retinal ist an das Lysin an Position 296 (K296) gebunden. Es bildet eine Wasserstoffbrücke mit dem Glutamat an Position 113 (E113) aus. Das Glyzin an Position 129 (G129) stabilisiert die Lage des Retinals durch Wechselwirkung mit der Methylgruppe an Position 9 des Retinals. c

Photozyklus des Rhodopsins. Wenn Licht einfällt – angedeutet durch den Blitz – findet die primäre photochemische Reaktion statt, die Umwandlung von 11-*cis*-Retinal in all-*trans*-Retinal (rechts oben). Nach dem Lichteinfall – also im Dunkeln – wandelt sich das erste Reaktionsprodukt, Bathorhodopsin über mehrere Zwischenprodukte mit jeweils unterschiedlichen Absorptionsmaxima in die enzymatisch aktive Konformation Metarhodopsin II um. Protein und Chromophor trennen sich. Die Regeneration des Chromophors ist im rechten Teil abgebildet. Das Retinal wird zunächst aus dem Photorezeptor in das dahinterliegende Pigmentepithel transportiert. Dort wird es zuerst reduziert, dann verestert und während der Hydrolyse des Esters zu 11-*cis*-Retinal wieder isomerisiert. Schließlich gelangt es wieder zurück in den Photorezeptor und wird dort in das retinalfreie Opsin eingebaut. Das Rhodopsin wird dadurch regeneriert

bran (Fig. 3A), vermutlich in Form von spiralingewundenen α -Helices. Das Retinal ist mit einem Lysin an Position 296 der Aminosäurekette (K 296) verknüpft, das sich ungefähr in der Mitte von TM 7 befindet; wahrscheinlich bilden die membranständigen Abschnitte eine hydrophobe und neutrale Tasche, in die der Chromophor eingelagert ist (Fig. 3B). Die protonierte „Schiffsche Base“ besitzt eine positive Ladung am Stickstoff-Atom, die über Wasserstoffbrücken mit einem Glutamatrest (E 113) am zyttoplasmatischen Ende von TM 3 wechselwirkt. Der Glyzinrest an Position 129 stabilisiert durch eine Wechselwirkung mit der Methylgruppe am C9 Atom des Retinals die Lage des Chromophors.

Mehr oder weniger lange hydrophile Abschnitte verbinden die Helices und bilden die Kontaktstellen zwischen Rhodopsin und dem wässrigen Milieu in der Zelle (Fig. 3A). Sie dienen als Orte der spezifischen Erkennung und Bindung weiterer, an der Signaltransduktion beteiligter Proteine, z. B. von Transducin.

Photozyklus des Rhodopsins

Bei der Absorption eines Lichtquants wird das Retinal von der gewinkelten 11-*cis*- in die gestreckte *all-trans*-Form überführt (Fig. 3C). Diese photochemische Reaktion würde in wässriger Lösung relativ langsam (Nanosekunden) und mit geringer Quantenausbeute (≤ 0.1) ablaufen. Im Rhodopsin dagegen wird die Reaktion beschleunigt (~ 200 Femtosekunden) und konkurrierende Reaktionswege, etwa die thermische Desaktivierung des angeregten Zustands, haben deshalb einen geringeren Einfluß; dadurch wird eine hohe Quantenausbeute (~ 0.7) erzielt.

Die energiereiche Form des angeregten Rhodopsins ist sehr kurzlebig und zerfällt schnell über mehrere Zwischenstufen, die man aufgrund ihrer Absorptionsspektren unterscheiden kann (Fig. 3C). Das gestreckte *all-trans*-Retinal paßt nicht mehr in die Bindungstasche und verursacht im Protein mechanische Spannungen. Das Protein gibt dem veränderten Raumbedarf des Chromophors nach und erfährt dabei eine Reihe struktureller Änderungen: Durch die Bewegung des Chromophors wird die Salzbrücke zwischen Glutamat 113 und Lysin 296 aufgebrochen, die „Schiffsche Base“ am Lysin 296 verliert ihr Proton, während Glutamat 113 protoniert wird, gemeinsam mit einem weiteren Glutamatrest an Position 134. Teile des Rhodopsins werden bewegt und weitere H-Brücken aufgebrochen bzw. neu gebildet. Insbesondere bewegen sich dabei die TM 1, 2, 3 und 6 nach außen (Pfeile in Fig. 3B).

Die wichtigste Zwischenstufe, das Metarhodopsin (MII), bildet sich in wenigen Millisekunden. In der MII-Form ist die „Schiffsche Base“ vollständig deprotoniert und das Maximum des Absorptionsspektrums von 500 nm nach 380 nm verschoben. MII katalysiert den nächsten Schritt der Enzymkaskade, die Aktivierung des Transducin.

Übermittler und Effektor, das Transducin und die PDE

Transducin gehört in die große Familie der GTP-bindenden Proteine, oder G-Proteine. Alle G-Proteine bestehen aus drei unterschiedlichen Polypeptidketten, die als α , β , und γ Untereinheiten bezeichnet werden. Es gibt mindestens zwanzig verschiedene α , fünf β und zwölf γ Untereinheiten. Die α Untereinheit des Transducins ist spezifisch nur in Sehzäpfchen exprimiert. Die Struktur des Transducins wurde kürzlich kristallographisch aufgeklärt (Fig. 4). Die linke Abbildung zeigt das Transducin, von der Membran aus betrachtet. Die β Untereinheit hat die Form eines Propellers mit sieben „Blättern“. Sie ist eng mit der γ Untereinheit verknüpft. Man blickt durch den Propellerschaft auf die darunterliegende α Untereinheit. Rechts sieht man den ganzen Komplex von der Seite. Die γ Untereinheit ist durch einen Farnesylrest, die α Untereinheit ist über Palmitoyl/Myristoylreste in der Diskmembran verankert. Im inaktiven Zustand hat die α Untereinheit GDP gebunden. Bei der Aktivierung durch R^* wird das GDP gegen GTP ausgetauscht und der Komplex zerfällt in $T_{\alpha}GTP$ (T^*) und $T_{\beta\gamma}$. Das T^* diffundiert entlang der Diskmembran und aktiviert das nächste Enzym der Kaskade, die PDE.

Die PDE ist aus vier Untereinheiten zusammengesetzt: zwei große einander ähnliche α und β Untereinheiten und zwei kleinere, inhibitorische γ Untereinheiten. Die beiden großen Untereinheiten besitzen die katalytische Aktivität, die im Ruhezustand der Zelle aber durch die Bindung der γ Untereinheiten unterdrückt wird. Die Blockierung wird beseitigt, indem T^* die inhibitorischen Untereinheiten der PDE bindet. Jedes T^* bindet zwar nur eine der inhibitorischen Untereinheiten, allerdings genügt bereits das Entfernen einer γ Untereinheit, um die PDE zu aktivieren. Die aktivierte PDE ist enzymatisch sehr effektiv und kann bis zu 2000 cGMP-Moleküle pro Sekunde hydrolysieren. Wenn die cGMP Konzentration im Außensegment absinkt, schließen die cGMP-gesteuerten Ionenkanäle und weniger Na^+ - und Ca^{2+} -Ionen fließen in die Zelle ein. In der Lichtantwort

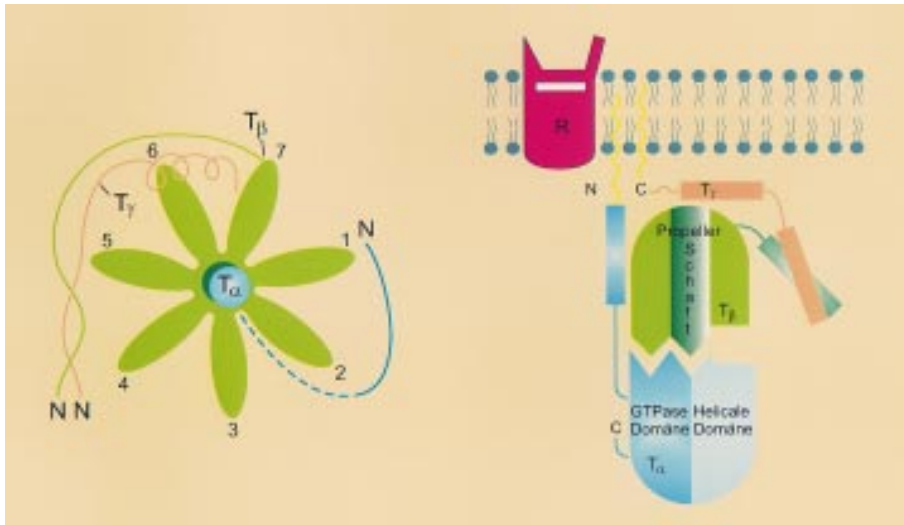


Fig. 4. Struktur des Transducins: In der linken Abbildung sieht man das Transducin, von der Membran aus betrachtet, rechts von der Seite. Die β Untereinheit hat die Form eines Propellers. Die γ Untereinheit ist eng mit ihr assoziiert und verankert zusätzlich den ganzen Komplex über einen Farnesylrest in der Membran. Auch die α Untereinheit ist durch Palmityl/Myristoylreste in der Membran verankert und mit dem $\beta\gamma$ Komplex verbunden (Fettsäurereste gelb). Nach Aktivierung durch Rhodopsin tauscht $T\alpha$ das gebundene GDP gegen GTP aus und dissoziiert vom $\beta\gamma$ Komplex ab

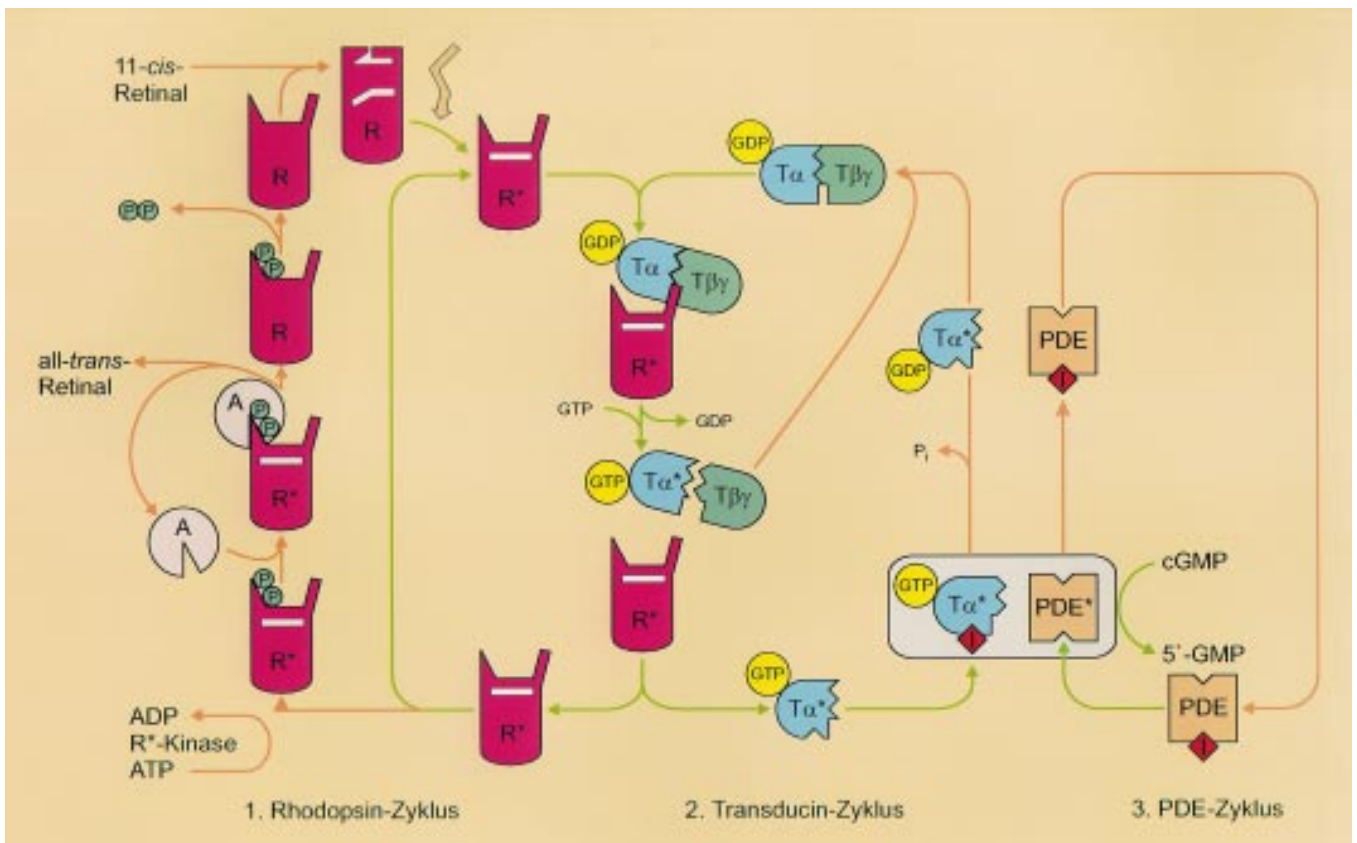


Fig. 5. Die drei Reaktionszyklen im Detail. Aktivierungsschritte sind durch grüne Pfeile, Inaktivierungs- und Regenerationsschritte durch rötliche Pfeile dargestellt. Lichtaktiviertes R^* aktiviert Transducin, das sein GDP gegen GTP austauscht und sich dann in $T\alpha^*$ -GTP und $T\beta\gamma$ spaltet. Das $T\alpha^*$ -GTP bindet die inhibitorische Untereinheit (I) der PDE, wodurch diese aktiviert wird. Nach kurzer Zeit spaltet das $T\alpha^*$ das GTP in GDP und P_i und inaktiviert sich selbst. Es setzt die inhibitorische Untereinheit wieder frei, die die PDE inaktiviert. Das $T\alpha$

GDP verbindet sich wieder mit $T\beta\gamma$ zu T. An dieser Reaktion sind zwei weitere Proteine beteiligt – GAP und Phosducin – deren Funktion in Fig. 6 erklärt wird. Auch das R^* muß effizient inaktiviert werden. Es wird zunächst von einer Rhodopsin-Kinase phosphoryliert und das phosphorylierte R^* dann durch das Arrestin (A) versiegelt. Danach spaltet sich das all-trans Retinal ab, die Phosphatreste werden entfernt und das inaktive Opsin verbindet sich mit 11-cis-Retinal wieder zu R

sinkt deshalb die Membranspannung auf negativere Werte (die Zelle hyperpolarisiert).

Der Wirkungsgrad der Kaskade

Die Enzymkaskade in Sehzellen ist so perfektioniert, daß sie schnell das vorhandene cGMP zerstört. Auf je 100 Rhodopsin-Moleküle kommen etwa 10 Transducin- und 1 PDE-Molekül. Die PDE-Konzentration ist etwa so hoch wie die cGMP-Konzentration (ca. 30 μM). Ein einziges R^* kann alle PDE-Moleküle, die sich zwischen zwei Disks aufhalten (ca. 500), aktivieren, die dann schlagartig alle cGMP-Moleküle in diesem Abschnitt hydrolysieren. Die Verstärkung ist so effizient, daß die Zelle Sorge tragen muß, nicht das gesamte cGMP im Außensegment zu zerstören und damit die Lichtantwort vorzeitig zu sättigen. In der Tat beeinflußt ein einzelnes Lichtquant nur einen kleinen Abschnitt von etwa 50 benachbarten Disks, was etwa einem vierzigstel bis zehntel des Außensegments, entspricht. Die Disks wirken als Diffusionsbarrieren und grenzen so den Reaktionsraum ein. Die Zelle besitzt darüber hinaus Mechanismen, die Kettenreaktion gezielt auf jeder Ebene abzuschalten. Dadurch wird eine optimale Feinregulation ermöglicht.

Die Enzymkaskade schaltet ab

*Inaktivierung von R^**

Lichtaktiviertes R^* wird mit Hilfe zweier Proteine aus der Enzymkaskade entfernt (Fig. 5). Eine Rhodopsinkinase (RK) konkurriert mit Transducin (T) um die Bindung an das katalytisch aktive R^* . Weil T ca. 100-mal häufiger vorkommt als RK, werden viele T-Moleküle aktiviert, bevor ein RK-Molekül bindet. Der R^*/RK -Komplex kann zwar kein T mehr aktivieren, das reicht aber nicht aus, um R^* endgültig auszuschalten. Die RK überträgt Phosphatgruppen auf Serinreste am C-Terminus von R^* . Dort besitzt das Rhodopsin neun dichtbeieinander liegende Threonin- und Serin-Reste, die alle *in vitro* phosphoryliert werden können. *In vivo* wird allerdings nur Ser 338 und bei Dauerlicht Ser 334 phosphoryliert. Durch den Einbau einer Phosphatgruppe sinkt die Affinität des R^* für Transducin, während die Bindung eines weiteren Proteins, des *Arrestins*, fester wird. Arrestin kommt mindestens genauso häufig vor wie Transducin und ist deshalb geeignet R^* zu „versiegeln“, R^*

scheidet aus der Enzymkaskade aus. Die Rolle, die man der Phosphorylierung und dem Arrestin bei der Inaktivierung zuschreibt, wird auch durch Experimente mit transgenen Mäusen unterstrichen, denen entweder das C-terminale Segment mit den Phosphorylierungsstellen am Rhodopsin oder das Arrestin fehlt. In beiden Mutanten dauert die Lichtantwort sehr viel länger als im Wildtyp, in den Rhodopsinmutanten ist sie zusätzlich zweimal größer. Aus diesen Ergebnissen kann man vorsichtig schließen, daß Phosphorylierung alleine die katalytische Kraft von R^* hemmt, daß aber die vollständige Wirkung nur gemeinsam mit dem Arrestin erzielt wird. Es gibt zwei Formen von Arrestin: Die kurze Form inaktiviert R^* viel wirksamer als die lange Form, wahrscheinlich weil ihre effektive Konzentration durch Bindung an die Oberfläche der Diskmembran größer ist, als die der langen Form. Vielleicht wird das kurze Arrestin bei geringen Lichtintensitäten eingesetzt und das lange Arrestin bei starkem Dauerlicht. Arrestin ist auch als sogenanntes S-Antigen bekannt. In einer speziellen Form von Autoimmunerkrankung werden Antikörper gegen Arrestin (deshalb S-Antigen) gebildet. Die Folge davon kann die Zerstörung der Photorezeptoren und Erblindung sein.

Inaktivierung von Transducin und der PDE

Aktives Transducin, also T^* oder $T_{\alpha}\text{-GTP}$, besitzt eine innere Uhr, die seine mittlere Lebensdauer bestimmt. Es spaltet nach einiger Zeit durch eine endogene GTPase-Aktivität das gebundene GTP in GDP und anorganisches Phosphat und inaktiviert sich dadurch selbst. $T_{\alpha}\text{-GDP}$ verbindet sich wieder mit $T_{\beta\gamma}$ zu neuem, reaktionsbereitem $T_{\alpha\beta\gamma}$ und stößt dabei die inhibitorische γ -Untereinheit der PDE ab. Schließlich verbinden sich inhibitorische γ -Untereinheiten der PDE wieder mit ihren $\alpha\beta$ -Untereinheiten. Der Reaktionszyklus ist geschlossen – und kann von neuem beginnen.

In vitro beträgt die mittlere Lebensdauer von T^* mehrere Sekunden bis Minuten – zu lang für die schnelle Lichtantwort. Kürzlich wurde ein „Helfer“-Protein identifiziert, das zur Familie der GAPs (*GTPase activating-protein*) gehört. Solche Faktoren, die man auch „regulator of G-protein signalling“ (RGS) nennt, kommen in vielen anderen Zellen vor. Das RGS 9 scheint aber spezifisch für Sehzellen zu sein. Wahrscheinlich benötigt T^* diesen Faktor für eine schnelle Spaltung des gebundenen GTP (Fig. 6). Transducin wechselwirkt noch mit einem weiteren Protein, dem *Phosducin*. Phosducin ist das häufigste Phospho-Protein in Sehzellen. Im Dunkeln liegt Phosducin in der phosphorylierten Form vor und

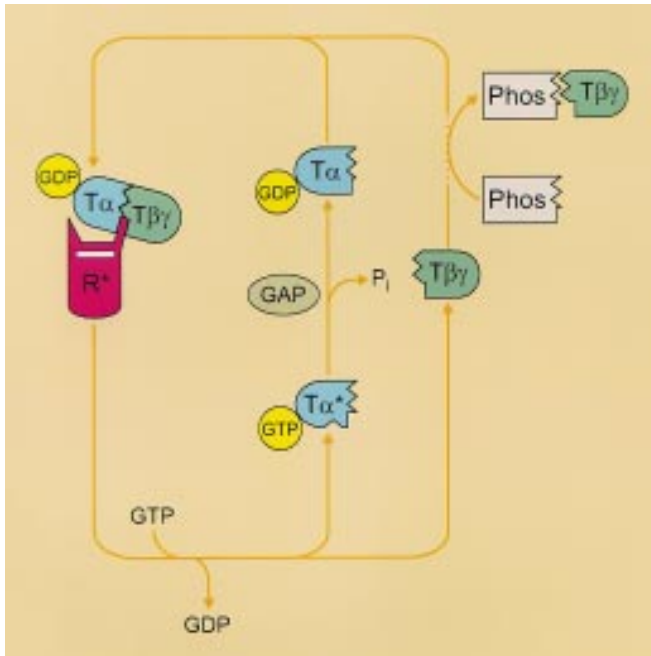


Fig. 6. Wechselwirkung von Transducin mit Phosducin und GAP. Das GAP Protein verkürzt die Lebenszeit des T* α , indem es die Spaltung des GTP durch das T* α beschleunigt. Das Phosducin bindet die T $\beta\gamma$ Untereinheit und verhindert so deren Reassoziierung mit T α

wird bei einem Lichtreiz dephosphoryliert. Unphosphoryliertes Phosducin bindet an T $\beta\gamma$ und blockiert so das Recycling mit T α -GDP, reduziert also den Vorrat aktivierbaren Transducins (Fig. 6). Phosducin könnte also eine wichtige Funktion bei der Lichtadaptation übernehmen. Wie aber kontrolliert die Zelle den Phosphorylierungszustand des Phosducins? Diese Frage wird später diskutiert, wenn wir die Rolle von Ca²⁺ bei der Lichtadaptation untersuchen.

Erholung und Adaptation

Nach einem Lichtreiz muß die Zelle wieder in den Ruhezustand zurückkehren: die cGMP Konzentration muß steigen, damit die cGMP-gesteuerten Ionenkanäle öffnen und der Dunkelstrom wieder zu fließen beginnt. Dieser Zustand ist aber nicht mit dem dunkeladaptierten Zustand vor dem Lichtreiz gleichzusetzen, denn die Empfindlichkeit der Zelle ist nun verändert: ein zweiter Lichtreiz, der dem ersten folgt, verursacht eine schwächere Antwort. Die Adaptationsfähigkeit ist eine essentielle Eigenschaft unserer Photorezeptoren, die es ihnen erlaubt, Reize zu verarbeiten, die sich in ihrer Intensität um mehrere Größenordnungen unterscheiden. Die Rückkehr in den

Dunkelzustand und die Lichtadaptation werden durch Änderungen der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration vermittelt. Unterdrückt man Änderungen der freien Ca²⁺-Konzentration beispielsweise durch Ca²⁺-Puffer, zeigen Photorezeptoren keine Adaptation an Hintergrundlicht. Die Ca²⁺-Konzentration in Sehstäbchen beträgt im Dunkeln nur 350–500 nM, außerhalb der Zelle jedoch 2–3 mM. Ca²⁺-Ionen fließen durch den cGMP-gesteuerten Ionenkanal in das Außensegment (Fig. 7). Ungefähr 15% des Dunkelstroms werden durch Ca²⁺-Ionen getragen. Na⁺/Ca²⁺-K⁺-Austauscher pumpen die Ca²⁺-Ionen wieder aus der Zelle. Im Dunkelzustand fließen genauso viele Ca²⁺-Ionen durch cGMP-gesteuerte Ionenkanäle in die Zelle hinein, wie über die Na⁺/Ca²⁺-K⁺-Austauscher aus der Zelle transportiert werden. Die stabile Ca²⁺-Konzentration im Dunkeln wird also bestimmt von einem dynamischen Gleichgewicht zwischen Ca²⁺-Einstrom und Ca²⁺-Ausstrom. Da sich bei einem Lichtreiz die cGMP-gesteuerten Ionenkanäle schließen, wird der Ca²⁺-Einstrom unterbrochen. Die Na⁺/Ca²⁺-K⁺-Austauscher pumpen jedoch weiter, so daß die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration stark absinkt. Ca²⁺-Bindungsproteine dienen als Ca²⁺-Sensoren, die die Änderung der Ca²⁺-Konzentration registrieren und die Information zu ihren Zielenzymen tragen. Bisher wurden in Photorezeptoren drei Ca²⁺-Bindungsproteine – GCAP, Recoverin und Calmodulin (CaM) – und ihre dazugehörigen Zielenzyme identifiziert.

Die Erholungsphase

Eine Ca²⁺-Konzentration von ≤ 100 nM signalisiert der Guanylylzyklase, die Synthese von cGMP zu beschleunigen. Diese „Botschaft“ wird von einem Protein namens GCAP (guanylyl-cyclase-activating-protein) vermittelt. GCAP besitzt vier Sequenzmotive für eine Ca²⁺-Bindungsstelle („EF-Hand“). Im Dunkeln, wenn die Ca²⁺-Konzentration hoch ist, sind wahrscheinlich alle vier Bindungsstellen mit Ca²⁺-Ionen besetzt. Die Ca²⁺-Form des GCAP kann die Guanylylzyklase nicht aktivieren; wenn die Ca²⁺-Konzentration aber nach einem Lichtreiz absinkt, verliert GCAP die Ca²⁺-Ionen und wird in die Ca²⁺-freie, aktive Form (GCAP*) überführt; GCAP* stimuliert die cGMP-Synthese durch die Guanylylzyklase und die cGMP-gesteuerten Ionenkanäle öffnen wieder. Der neuerliche Na⁺-Einstrom führt die Membranspannung wieder auf den Ruhewert (~ -40 mV) zurück. Durch die offenen Kanäle strömen auch wieder Ca²⁺-Ionen zurück in die Zelle: die Ca²⁺-Konzentration kehrt ebenfalls auf ihren Ruhewert zurück. Schließlich unterdrücken die Ca²⁺-Ionen wieder die

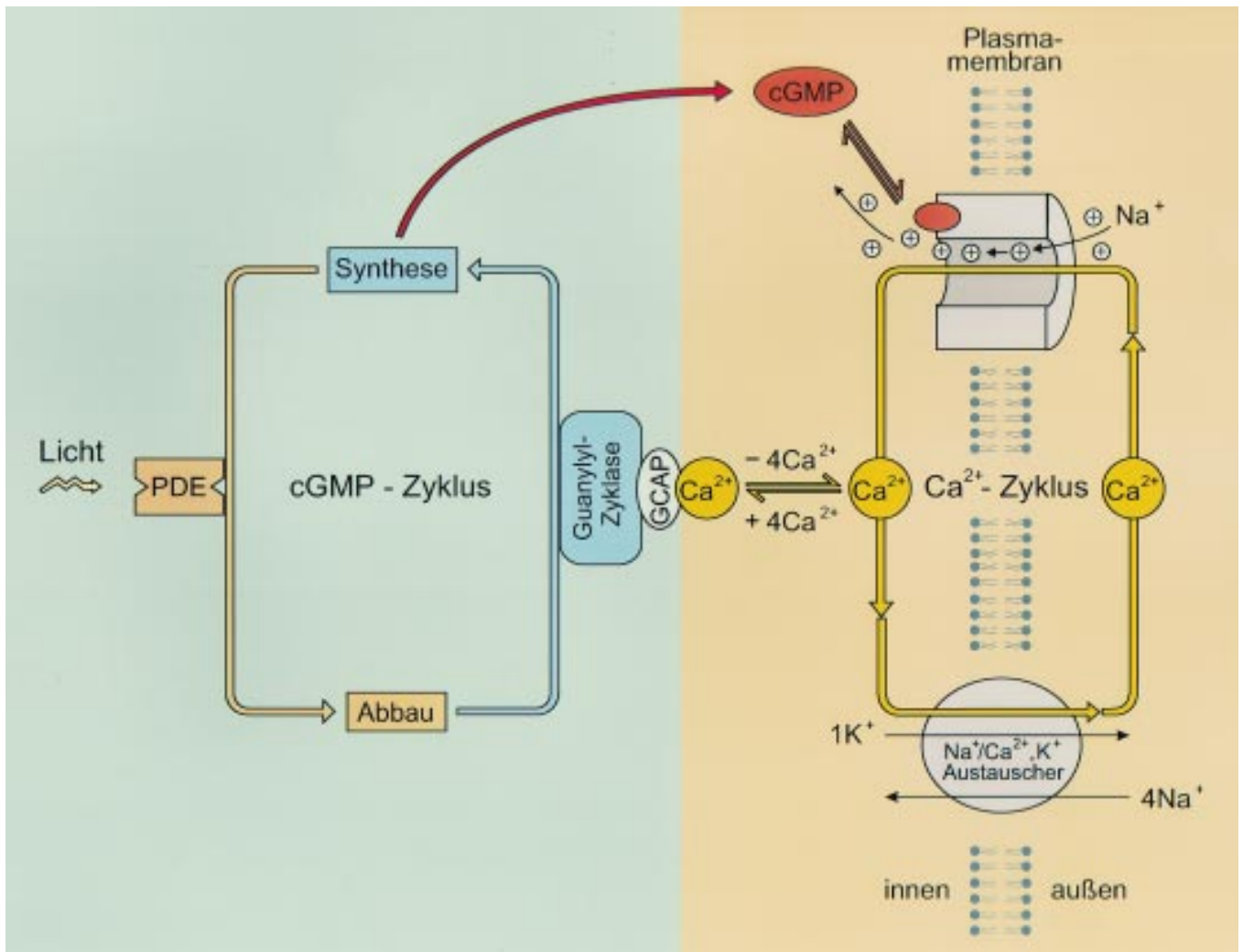


Fig. 7. Wechselseitige Kontrolle des cGMP-Zyklus und des Ca^{2+} -Zyklus. Die Botenstoffe cGMP und Ca^{2+} durchlaufen ihre eigenen Zyklen, die über den Komplex zwischen der Guanylylzyklase und dem Ca^{2+} -bindenden Protein GCAP verbunden sind. Das cGMP öffnet Ionenkanäle, durch die u.a. Ca^{2+} einströmt. Einstrom durch den Kanal und Ausstrom durch den Austauscher stellen die Ca^{2+} -Konzentration

auf ein Dunkelniveau ein. Das Ca^{2+} bindet an das GCAP und unterdrückt so die Guanylylzyklase. Sinkt die cGMP-Konzentration nach Belichtung, wird auch der Ca^{2+} -Einstrom durch den Kanal, und damit die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration kleiner. Das GCAP verliert sein Ca^{2+} , die Guanylylzyklase wird aktiviert und die cGMP-Konzentration steigt. Durch die geöffneten Kanäle strömt wieder Ca^{2+} ein

cGMP-Synthese, indem sie an GCAP binden: die gesamte Zelle befindet sich aufs Neue im stabilen Ruhezustand.

Der Ca^{2+} -Zyklus – ein geregelter Ein- und Ausstrom von Ca^{2+} – und der cGMP-Zyklus – ein geregelter Auf- und Abbau von cGMP – stellen zwei Regelkreise dar, die über den cGMP-gesteuerten Ionenkanal und den Guanylylzyklase/GCAP-Komplex miteinander verknüpft sind (Fig. 7). Der Ca^{2+} -Zyklus dient gewissermaßen als negative Rückkopplung für den cGMP-Stoffwechsel.

Lichtadaptation

Die Ca^{2+} - und cGMP-Regelkreise sind viel enger verwoben als die einfache Darstellung bisher vermuten läßt. Die bisher beschriebenen Schritte werden durch ein Netz von Wechselwirkungen, an denen weitere Ca^{2+} -Bindungsproteine beteiligt sind, auf komplexe Weise feinreguliert.

So beeinflusst Ca^{2+} den cGMP-Abbau, indem es die Kaskade und damit die PDE-Aktivität reguliert. Wahrscheinlich wird diese Modulation durch Recoverin, ein Ca^{2+} -bindendes Protein, vermittelt. Im Dunkeln, wenn die Ca^{2+} -Konzentration hoch ist, inhibiert Recoverin die Phosphorylierungsreaktion und verlän-

gert dadurch die Lebensdauer von R^* . Bei niedrigen Ca^{2+} -Konzentrationen, wie sie bei Belichtung auftreten, verläuft die Rhodopsin-Phosphorylierung durch RK schnell, d. h. die Kaskade wird schneller gestoppt und die Lichtantwort fällt kleiner und kürzer aus. Viele Fragen bleiben jedoch unbeantwortet: So gibt es nicht nur zehnmal mehr Recoverin als RK in der Zelle, es kommt auch in vier Formen vor, die durch unterschiedliche Fettsäurereste (meist Myristoylreste) modifiziert sind. Es ist sehr wahrscheinlich, daß Recoverin noch weitere Funktionen in der Sehzelle wahrnimmt.

Umstritten ist auch die Modulation des cGMP-abhängigen Ionenkanals durch Calmodulin (CaM). Der Kanal wird durch hohe Ligandenkonzentrationen nicht desensitiviert, im Gegensatz zu vielen anderen ligandengesteuerten Ionenkanälen. Deshalb hat man lange Zeit angenommen, daß der Kanal als einfacher Schalter funktioniert, der die cGMP-Konzentration in der Zelle „mißt“ und entsprechend öffnet oder schließt. Kürzlich wurde jedoch gezeigt, daß die Kanalaktivität von CaM moduliert werden kann. Die Dosis-Wirkungskurve der Kanalaktivierung durch cGMP ist in Anwesenheit von Ca^{2+}/CaM zu höheren Konzentrationen verschoben: die Ligandenempfindlichkeit nimmt um den Faktor 1,5–2 ab. Die Regulation des cGMP-gesteuerten Kanals durch Ca^{2+}/CaM wurde als negative Rückkopplung interpretiert: Nach einem Lichtreiz, wenn die Ca^{2+} -Konzentration gering ist, würde das CaM vom Kanal abdiffundieren und dadurch die cGMP-Empfindlichkeit erhöhen. Das würde helfen, den Kanal wieder zu öffnen und Ca^{2+} -Ionen in die Zelle strömen zu lassen. Obwohl die Ca^{2+}/CaM -Regulation des Kanals *in vitro* experimentell gut abgesichert ist, sind ernstzunehmende Argumente gegen eine physiologische Funktion *in vivo* vorgebracht worden. Vor allem würde eine so geringe Verschiebung der cGMP-Empfindlichkeit nur wenig zur dramatischen Absenkung der Lichtempfindlichkeit beitragen.

Ca^{2+}/CaM greift noch in einen weiteren Reaktionszyklus ein: es kontrolliert den Phosphorylierungszustand des Phosducins. Im Dunkeln, wenn die Ca^{2+} -Konzentration hoch ist, stimuliert Ca^{2+}/CaM eine Adenylylzyklase, die daraufhin cAMP synthetisiert. Dieses wiederum aktiviert eine cAMP-abhängige Proteinkinase (PKA), die das Phosducin phosphoryliert; im Hellen jedoch, bei einer geringen Ca^{2+} -Konzentration, wird Phosducin durch Phosphatasen, die nicht weiter charakterisiert sind, dephosphoryliert. Das dephosphorylierte Phosducin kann nun, wie in Fig. 6 gezeigt, das $T_{\beta\gamma}$ binden und dadurch die Regenerierung des Transducins verhindern. Die Effizienz der Kaskade wird verringert, da weniger aktivierbares Transducin zur Verfügung steht. Die bisher be-

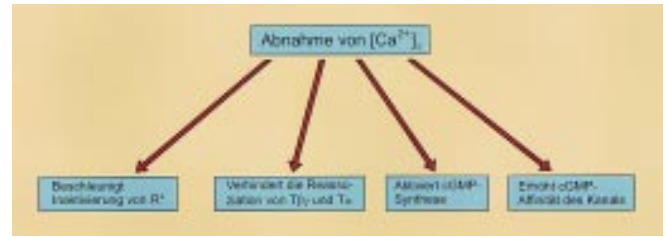


Fig. 8. Die Abnahme der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration hat vielfache Wirkungen auf die Zelle

kannten Vorgänge, die durch eine Abnahme der Ca^{2+} -Konzentration beeinflusst werden, sind in Fig. 8 zusammengefaßt.

Ca^{2+} ist unumstritten der Botenstoff, der für die Photorezeptor-Adaptation maßgeblich verantwortlich ist. Daneben spielen wahrscheinlich auch die Botenstoffe Inositoltrisphosphat (IP_3), Stickoxid (NO) und cAMP, sowie umfassende Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsschritte verschiedener an der Signaltransduktion beteiligter Proteine in der Adaptation eine wichtige, wenngleich auch zur Zeit noch unvollständig verstandene Rolle.

Der cGMP-gesteuerte Kanal

Kalzium gelangt nur über cGMP-gesteuerte Ionenkanäle, die Endglieder der Transduktionskette, in das Außensegment. Die Zelle benutzt hierfür einen Kanaltyp, der nicht nur das elektrische Spannungssignal an der Plasmamembran erzeugt, indem er Na^+ -Ionen leitet, sondern auch gleichzeitig den Botenstoff der Adaptation, das Ca^{2+} in die Zelle bringt. Damit nicht genug. Das Ca^{2+} sorgt auch für die Verminderung des Membranrauschens, eine notwendige Voraussetzung, um einzelne Lichtquanten zu detektieren. Stäbchen haben einen Dunkelstrom von ca. 40 pA. In Abwesenheit zweiwertiger Kationen fließen Ströme von ca. 1 pA durch einen einzelnen Kanal. Die Zelle würde nur ca. 40 offene Kanäle benötigen, um den Dunkelstrom zu erzeugen. Kanäle sind aber grundsätzlich nicht ständig offen, sondern schließen zwischenzeitlich, d. h. der Strom fluktuiert. Die Schwankungsbreite beträgt $\sqrt{40}$, also ca. 6 Kanäle, die ein Rauschen von ca. 6 pA erzeugen würden. Die winzige Stromänderung (1 pA) nach Absorption eines einzelnen Lichtquants ginge in diesem Rauschen unter. Die Natur löste dieses Problem wiederum durch Ca^{2+} . Ca^{2+} braucht sehr viel länger als einwertige Kationen, um durch den Kanal in die Zelle zu gelangen. Es blockiert also den Kanal und reduziert dadurch den mikroskopischen Strom durch den Einzelkanal auf ca. 4 fA. In einem Stäbchen sind des-

halb ca. 10000 Kanäle geöffnet, um den Dunkelstrom zu erzeugen. Die Zahl der fluktuierenden Kanäle wird dadurch zwar auf ca. 100 erhöht, aber durch den kleinen Leitwert wird das Rauschen auf ca. 0,4 pA verkleinert. Die Quantendetektion wurde somit ermöglicht.

Unterschiede zwischen Stäbchen und Zapfen

Zapfen sind weitaus weniger empfindlich als Stäbchen. Die Antwort auf die Absorption eines einzelnen Lichtquants fällt in Zapfen etwa 100 mal kleiner aus als in Stäbchen (ca. 10 fA gegenüber 1 pA). Das winzige Signal geht im Rauschen der Membran unter, Zapfen können keine einzelnen Lichtquanten detektieren. Ihr Arbeitsbereich ist an das Sehen bei Tage angepaßt. Alle beschriebenen Elemente der Signaltransduktionskaskade (wie Opsin, Transducin, PDE) kommen auch in Zapfen vor. Es handelt sich um Isoformen, die in ihrer Aminosäuresequenz charakteristische Unterschiede zu denen in Stäbchen aufweisen. Kann die unterschiedliche Empfindlichkeit von Stäbchen und Zapfen auf die molekularen Eigenschaften dieser Komponenten zurückgeführt werden? Vermutlich nicht. E. Pugh und T. Lamb kamen zu dem überraschenden Ergebnis, daß die Aktivierungskinetik und die Verstärkung der Enzymkaskade in Stäbchen und Zapfen gleich sind. Allerdings gibt es einen entscheidenden Unterschied. Die Lichtantwort der empfindlicheren Stäbchen verläuft weitaus langsamer als in Zapfen und hat vermutlich mehr Zeit sich zu entwickeln, bis die Inaktivierung einsetzt. Erinnern wir uns, daß besonders die Änderung der Ca^{2+} -Konzentration im Außensegment die Inaktivierung der Kaskade und die Adaptation des Photorezeptors beeinflusst. Es könnte sein, daß die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration und vor allem deren Änderung durch Licht in Zapfen anders ist als in Stäbchen. Bisher ist darüber wenig bekannt. Wir wissen aber, daß die Fähigkeit der cGMP-gesteuerten Kanäle, Ca^{2+} zu leiten, sich erheblich zwischen Stäbchen und Zapfen unterscheidet. Da sie den Einlaß für das Ca^{2+} im Außensegment darstellen, sind Unterschiede in der Ca^{2+} -Homöostase zwischen Stäbchen und Zapfen zu erwarten.

Adaptation in der Netzhaut

Die Beschreibung der Adaptationsmechanismen mag den Eindruck erweckt haben, jeder Photorezeptor stelle sich selbständig und unabhängig von den anderen auf die Lichtverhältnisse ein. Das ist aber nicht

der Fall. Wenn nur ein Prozent aller Stäbchen in der Netzhaut ein Lichtquant pro Sekunde empfängt, sinkt die Empfindlichkeit unseres visuellen Systems um den Faktor 100! Aufgrund dieser Beobachtungen hat W. Rushton schon vor fast 40 Jahren den Begriff der Netzwerkadaptation geprägt. Die Empfindlichkeit der Netzhaut wird in kleinen, lokalen Bereichen reguliert. Die Mechanismen sind zur Zeit noch nicht vollständig geklärt. Vermutlich spielen dabei verschiedene Neuromodulatoren, wie Dopamin oder Stickoxid, die von den nachgeschalteten Zellen in der Netzhaut freigesetzt werden, eine wesentliche Rolle. Man vermutet, daß sie nicht nur im Rahmen einer Rückkopplung die Empfindlichkeit der Sehzellen regulieren, sondern auch ganze Systeme in der Netzhaut an- und abschalten können. Am Tage sehen wir mit unserem Zapfensystem, das nicht nur Farbsehen, sondern auch gute räumliche und zeitliche Auflösung erlaubt. Das dunkeladaptierte Auge schaltet auf das Stäbchensystem um. Dessen hohe Empfindlichkeit kann nur durch den Verlust der Auflösung erkauft werden. „In der Nacht sind nicht nur alle Katzen grau“, wir sehen sie auch weniger scharf und nehmen sie verzögert wahr. Trotzdem hat uns dieses genial konstruierte Netzwerk in der Jahrmillionen langen Evolution das Überleben gesichert.

Glossar

cGMP	zyklisches 3'5' Guanosin-mono-phosphat
Rhodopsin (R)	Sehpigment (Sehpurpur), absorbiert Licht
11- <i>cis</i> -Retinal	Chromophor des Rhodopsins, geht nach Absorption eines Lichtquants in all- <i>trans</i> -Retinal über
Transducin (T)	GTP-bindendes Protein, aktiviert die Phosphodiesterase
Phosphodiesterase (PDE)	hydrolysiert cGMP
Guanylylzyklase	synthetisiert cGMP
GCAP	aktiviert die Guanylylzyklase
Rhodopsin-Kinase (RK)	überträgt Phosphatgruppen auf Rhodopsin (Phosphorylierung)
Recoverin	moduliert die Phosphorylierung von Rhodopsin
Arrestin (A)	auch bekannt als S-Antigen, inaktiviert das Rhodopsin
Calmodulin (CaM)	bindet Ca^{2+} -abhängig an den cGMP-gesteuerten Kanal
GAP (RGS9)	stimuliert die GTPase Aktivität von T^*
Phosducin	kontrolliert die Rekombination von T_α mit $T_{\beta\gamma}$

Physiologie und Evolution

Soweit wir wissen, reagieren alle Photorezeptoren der Wirbeltiernetzhaul wie beschrieben. Ein Dunkelstrom hält die Membranspannung auf ca. -30 bis -40 mV. In diesem *depolarisierten* Zustand setzt die Zelle an ihrer Synapse den Transmitter Glutamat frei. Bei Belichtung *hyperpolarisiert* die Zelle, d.h. die Membranspannung sinkt auf negativere Werte und es wird weniger Transmitter freigesetzt. Es mag verwundern, daß unsere Photorezeptoren ihren Transmitter im Dunkeln freisetzen, und nicht, wenn sie durch Licht gereizt werden. Das ist aber von sekundärer Bedeutung. Unter normalen Bedingungen ist ein Photorezeptor einem permanenten Wechsel von Licht und Dunkel ausgesetzt, was zu einer entsprechenden Fluktuation der Transmittermenge im synaptischen Spalt führt. Die nachgeschalteten Zellen, insbesondere die Bipolarzellen reagieren auf die Transmitterschwankungen und erzeugen daraus neue Signale. Einige Bipolarzelltypen werden im Dunkeln erregt, also wenn die Transmitterkonzentration ansteigt (Licht-aus-Zellen), andere, wenn Licht die Transmitterfreisetzung der Photorezeptoren hemmt (Licht-an-Zellen).

Die Photorezeptoren in den Augen der Wirbellosen *depolarisieren* bei Belichtung. Die Prozesse, die dieser Antwort zugrunde liegen, sind allerdings noch nicht vollständig aufgeklärt. Es scheinen mehrere Botenstoffe an der Lichtantwort beteiligt zu sein, vor allem wahrscheinlich Inositoltriphosphat (IP_3). Die Photorezeptoren der Wirbellosen gehören aufgrund ihrer Morphologie meist dem sogenannten „Rhabdomertyp“ an, die Wirbeltierphotorezeptoren dagegen dem „ciliären Typ“, da sich ihr Außensegment aus einem Cilium entwickelte. Man glaubte deshalb, das Vorzeichen der Lichtantwort sei mit dem Zelltyp gekoppelt. Vor kurzer Zeit wurden allerdings im Parietalorgan von Reptilien ciliäre Photorezeptoren entdeckt, die sich morphologisch kaum von den retinalen unterscheiden, aber überraschenderweise bei Belichtung depolarisieren. Das Parietalorgan ist (ähnlich wie das Pinealorgan, die Zirbeldrüse) ein Auswuchs des Zwischenhirns. Es liegt dem Gehirn auf und ist als „drittes Auge“ bei einigen Wirbeltieren für die Wahrnehmung von Tagesrhythmen verantwortlich. In den Parietalphotorezeptoren vermutete man zuerst eine IP_3 -vermittelte Zellantwort, interessanterweise fand man aber cGMP-gesteuerte Kanäle, wie sie in retinalen Photorezeptoren vorkommen. Man vermutet, daß die cGMP-Konzentration bei Belichtung ansteigt, und die Kanäle öffnen. Es wird interessant sein, die zugrunde liegende Kaskade zu erforschen. Es scheint also, als ob durch den Zelltyp nicht die Polarität der Lichtantwort, wohl aber der Botenstoff vorgegeben wird. Ciliäre Photorezeptoren wie in der Retina, dem Pineal- und Parietalorgan und in einigen Muscheln scheinen cGMP zu benutzen, rhabdomere Photorezeptoren benutzen (auch) andere Botenstoffe.

Ausgewählte Literatur

In diesem Artikel werden Ergebnisse aus ca. 20 Jahren Photorezeptorforschung zusammengefaßt. Aufgrund der Fülle von Veröffentlichungen auf diesem Gebiet wurde auf eine umfassende Zusammenstellung von Originalliteratur verzichtet. Im folgenden werden neben wenigen Originalarbeiten vor allem Übersichtsartikel zitiert, in denen die hier besprochenen Mechanismen detailliert diskutiert werden.

- Fesenko EE, Kolesnikov SS, Lyubarsky AL (1985) Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature* 313:310–313
- Finn JT, Solessio EC, Yau KW (1997) A cGMP-gated cation channel in depolarizing photoreceptors of the lizard parietal eye. *Nature* 385:815–819
- Helmreich EJM, Hofmann K-P (1996) Structure and function of proteins in G-protein-coupled signal transfer. *Biochim Biophys Acta* 1286:285–322
- Kaupp UB (1995) Family of cyclic nucleotide gated ion channels. *Curr Opin Neurobiol* 5:434–442
- Kaupp UB, Koch K-W (1992) Role of cGMP and Ca^{2+} in vertebrate photoreceptor excitation and adaptation. *Ann Rev Physiol* 54:153–175
- Koch K-W (1992) Biochemical mechanism of light adaptation in vertebrate photoreceptors. *Trends Biochem Sci* 17:307–311
- Korenbrodt JI (1995) Ca^{2+} flux in retinal rod and cone outer segments: differences in Ca^{2+} selectivity of the cGMP-gated ion channels and Ca^{2+} clearance rates. *Cell Calcium* 18:285–300
- Koutalos Y, Yau K-W (1996) Regulation of sensitivity in vertebrate rod photoreceptors by calcium. *Trends Neurosci* 19:73–81
- Lambright DG, Sondak J, Bohm A, Skiba NP, Hamm HE, Sigler PB (1996) The 2.0 Å crystal structure of a heterotrimeric G protein. *Nature* 379:311–319
- Miller JL, Picones A, Korenbrodt JI (1994) Differences in transduction between rod and cone photoreceptors: an exploration of the role of calcium homeostasis. *Curr Opin Neurobiol* 4:488–495
- Polans A, Baehr W, Palczewski K (1996) Turned on by Ca^{2+} ! The physiology and pathology of Ca^{2+} -binding proteins in the retina. *Trends Neurosci* 19:547–554
- Pugh EN Jr, Lamb TD (1990) Cyclic GMP and Calcium: the internal messengers of excitation and adaptation in vertebrate photoreceptors. *Vision Res* 30:1923–1948
- Pugh EN Jr, Lamb TD (1993) Amplification and kinetics of the activation steps in phototransduction. *Biochim Biophys Acta* 1141:111–149
- Rando RR (1990) The chemistry of vitamin A and vision. *Angew Chem* 29:461–480
- Rao VR, Oprian DD (1996) Activating mutations of rhodopsin and other G protein coupled receptors. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 25:287–314
- Schertler, GFX, Hargrave PA (1995) Projection structure of frog rhodopsin in two crystal forms. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:11578–11582
- Solessio E, Engbretson GA (1994) Antagonistic chromatic mechanisms in photoreceptors of the parietal eye of lizards. *Nature* 364:442–445