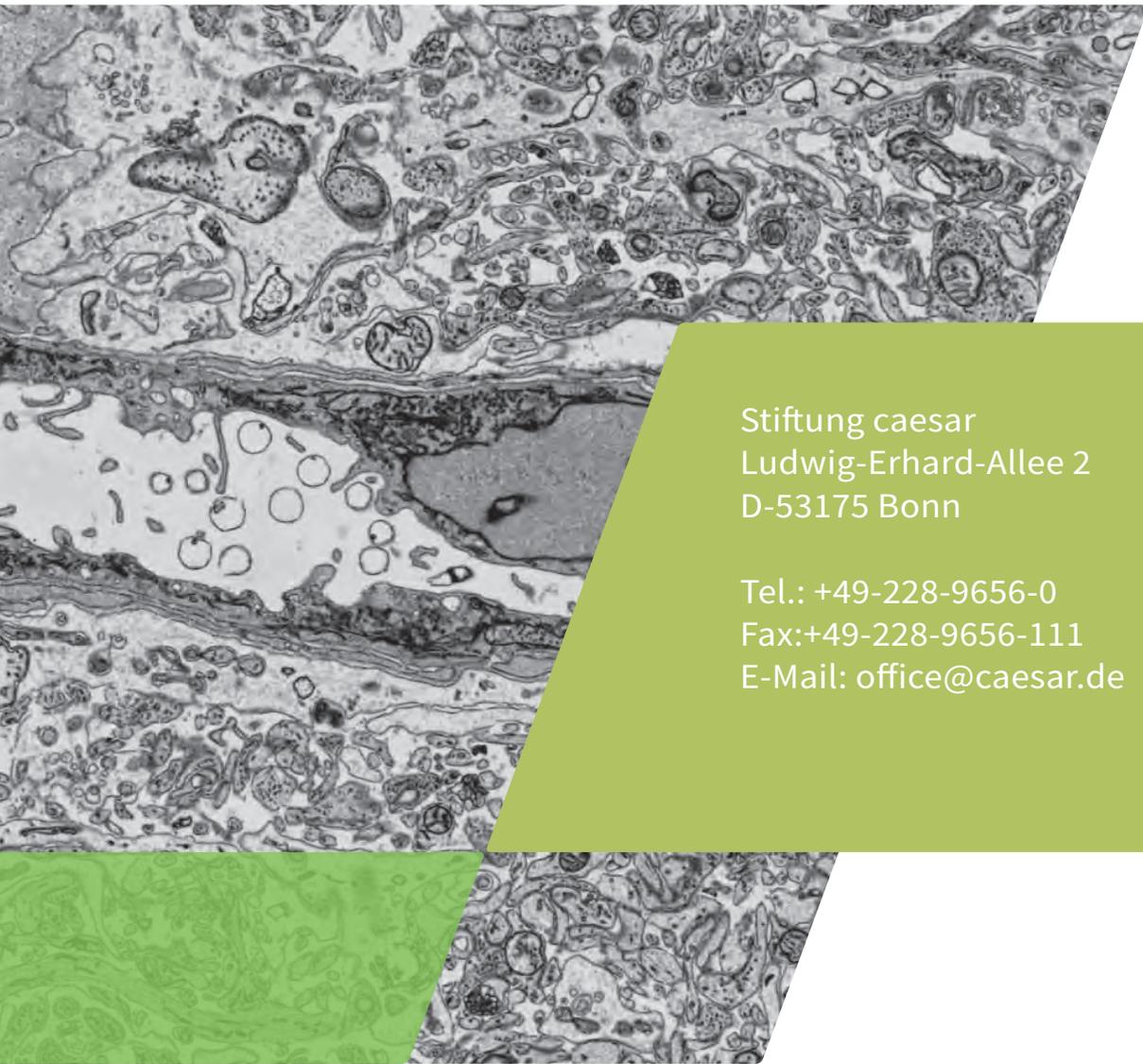


Jahresbericht 2017

 caesar



assoziiert
mit der
Max-Planck-
Gesellschaft



Stiftung caesar
Ludwig-Erhard-Allee 2
D-53175 Bonn

Tel.: +49-228-9656-0
Fax: +49-228-9656-111
E-Mail: office@caesar.de

Vorwort

Das wesentliche Ziel der Neuroethologie besteht darin, zu verstehen, wie die kollektive Aktivität der gewaltigen Anzahl miteinander vernetzter Neurone im Gehirn die enorme Bandbreite tierischen Verhaltens hervorruft. Die besondere Schwierigkeit hierbei besteht darin, dass die Verknüpfung zwischen Hirnfunktion und Verhalten nur am sich verhaltenden Tier untersucht werden kann und Untersuchungen am aktiven Gehirn erhebliche technische Herausforderungen bedeuten. Wenn es gelingt, sowohl die experimentellen als auch die technischen Hürden zu überwinden, ermöglicht uns dieser Ansatz, einige der größten bislang unbeantworteten Fragen der Neurowissenschaften zu beantworten, zum Beispiel, wie das Gehirn ein dynamisches Modell seiner Umwelt entwirft, wie es Entscheidungen trifft und wie es komplexes Sozialverhalten ermöglicht.

caesar ist ein Forschungsinstitut, das sich der neuroethologischen Untersuchung von Tieren widmet. Mit einem in dieser Kombination einzigartigen Spektrum experimenteller und computerbasierter Methoden beschäftigen sich unsere Forschungsgruppen und Abteilungen mit der Frage, wie das Gehirn das Verhalten steuert. Die Forschung bei caesar umfasst eine große Bandbreite verschiedener Größenordnungen, von der Abbildung des Gehirns auf einer Nanoskala über die großräumige, funktionelle Darstellung tausender Nervenzellen im Gehirn bis hin zur Quantifizierung natürlichen tierischen Verhaltens. Diese wissenschaftliche Kompetenz steht hinter der Entwicklung neuer Techno-

logien, bei der experimentellen Instrumentierung ebenso wie bei Computermodellen und Methoden zur Datenanalyse. Neben der Breite des bei caesar vorhandenen technologischen Know-hows sind die neuroethologischen Fragestellungen vergleichender Natur und beziehen sich auf eine Vielzahl verschiedener Gattungen, wodurch die Untersuchung eines großen Verhaltensrepertoires im gesamten Tierreich möglich wird (z.B. in kleinen Säugetieren, Vögeln, Amphibien und Fliegen). Ein solches Spektrum an Tierarten an einem Institut zu halten und zu versorgen ist eine anspruchsvolle Aufgabe, bei der für uns das Wohlergehen der Versuchstiere und die Einhaltung tierethischer Prinzipien an erster

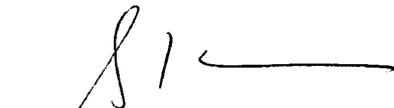
Stelle stehen. Aus diesem Anspruch heraus entwickeln wir nicht nur minimalinvasive Versuchsmethoden, sondern sorgen auch dafür, dass unsere Mitarbeiter regelmäßig geschult und weitergebildet werden, so dass die Tierhaltung bei caesar höchsten Anforderungen genügt.

Im Jahr 2017 wurde Dr. Kevin Briggman zum wissenschaftlichen Direktor bei caesar berufen. Seine im Juni gegründete Abteilung „Computational Neuroethology“ (CNE) arbeitet an der Entwicklung von Computermodellen, die zielgerichtetes Verhalten bei Tieren unter Berücksichtigung verhaltensmäßiger Variabilität vorhersagen können. Zu diesem Zweck integriert Dr. Briggman Verhaltensanalyse, Bildgebung von neuronalen Populationen auf zellulärer Ebene, 3D-Elektronenmikroskopie und Computermodellierung, um zu verstehen, wie Schaltungen im Nervensystem das Verhalten von Tieren steuern. Dr. Briggman will caesar zu einem modernen Neuroethologie-Institut in der Max-Planck-Gesellschaft ausbauen und er teilt dieses Ziel mit seinem Co-Direktor Dr. Jason Kerr, der seinerseits die Abteilung „Organisation des Gehirns und Verhaltens“ leitet. Diese hat sich zum Ziel gesetzt, ein umfassendes Verständnis des Sehvermögens von Säugetieren und dessen Organisation auf neuronaler Schaltkreisebene zu gewinnen.

Neben den wissenschaftlichen Abteilungen sind am caesar derzeit folgende Max-Planck-Forschungsgruppen etabliert: „Neuronale Schaltkreise“ unter Leitung von Dr. Johannes Seelig, „In Silico Brain Sciences“ unter Leitung von Dr. Marcel Oberlaender, „Neuronale Systemanalyse“ unter Leitung von Prof. Dr. Jakob Macke und „Strukturelle Dynamik von Proteinen“ unter Leitung von Prof.

Dr. Elmar Behrmann. Des Weiteren wurde 2017 die Emmy-Noether-Forschungsgruppe „Neurobiology of Flight Control“ von Dr. Bettina Schnell bei caesar eingerichtet. Am Modellorganismus der Fruchtfliege untersucht sie die neuronalen Mechanismen, die den Tieren die Navigation ermöglichen. Außerdem beherbergt caesar die Emeritus-Gruppe von Prof. Dr. U. Benjamin Kaupp, der im August 2017 in den Ruhestand ging.

2017 war ein weiteres Jahr von herausragender Bedeutung für caesar und die Planungen für 2018 sind in vollem Gange. Wir erwarten ein Jahr des Wachstums und der Veränderung, das caesar in seiner Entwicklung zu einem modernen und dynamischen Neuroethologie-Institutentscheidend voranbringen wird.



Prof. Dr. Martin Stratmann
Präsident der Max-Planck-Gesellschaft
Vorsitzender des Stiftungsrates



Dr. Jason Kerr
Geschäftsführender Direktor



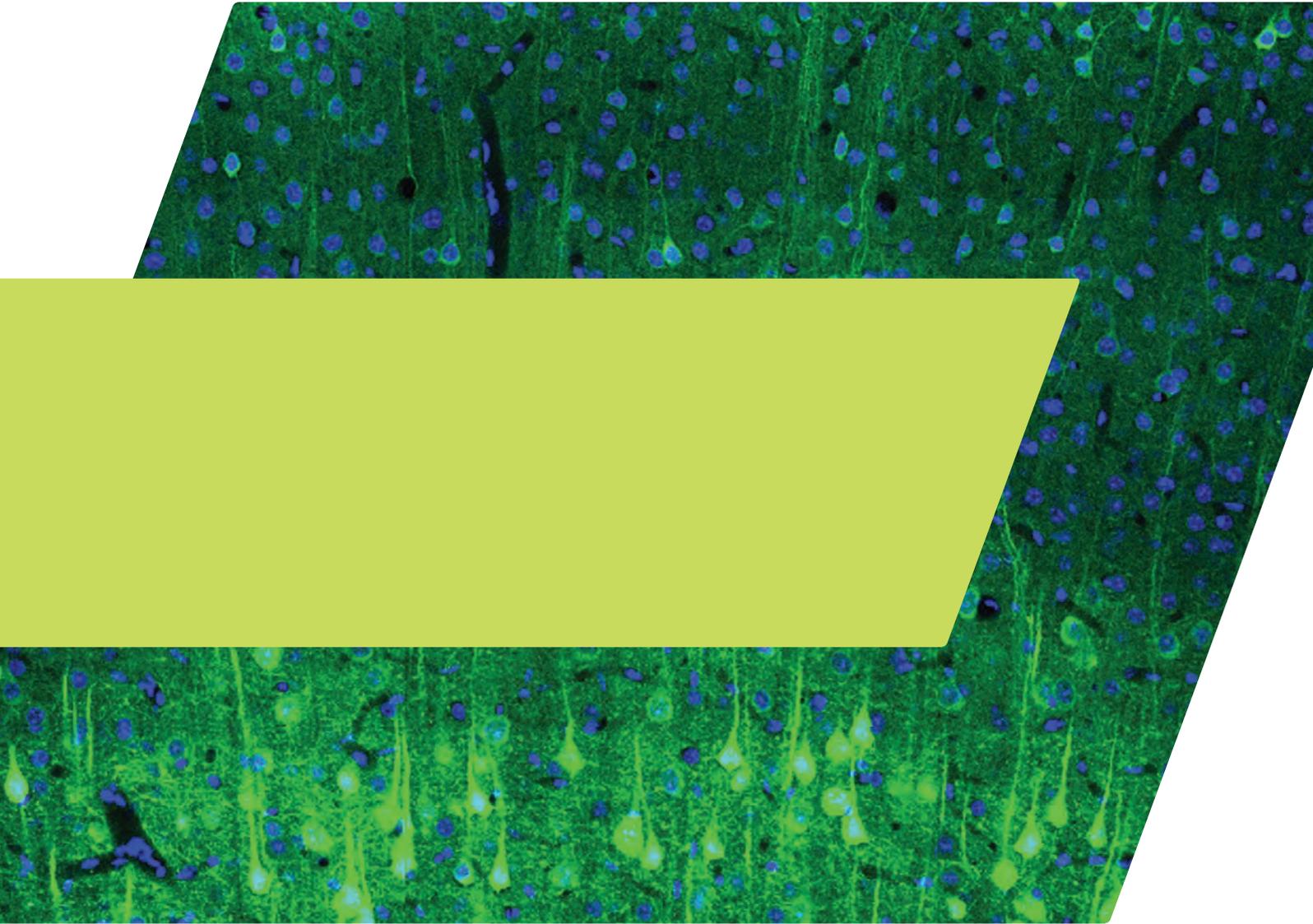
Dr. Kevin Briggman
Direktor



Gertrud Bilski
Kaufmännische Geschäftsführerin

Inhalt

FORSCHUNGSBERICHTE	11
Der visuelle Kortex: ein Ort, an dem sich viele Pfade kreuzen	12
Geheimnisse der Retina: Augengröße und Geschwindigkeitswahrnehmung	22
Eine außergewöhnliche Chimäre – halb Ionenkanal, halb Transporter	30
Wie der Neokortex sensorische Information in motorische Signale umwandelt	36
Optische Mikroskopie bei Fruchtfliegen	42
Wenden oder nicht wenden, das ist hier die Frage	48
Neuronale Systemanalyse	54
Einmal ist keinmal: Wie Rauschen im Auge unterdrückt wird	60
Nanostrukturen: von Aptamer-Nanokapseln zu Bio-Hybrid Motoren	68
Die Funktion der Zilien: Wie Licht ins Dunkel kommt	74
PUBLIKATIONEN	81
EINBLICKE IN CAESAR	89
Neues aus der IMPRS	90
Veranstaltungen bei caesar	94
ZAHLEN UND FAKTEN	99
Organe der Stiftung	107





Prof. Dr. Martin Stratmann

Präsident der Max-Planck-Gesellschaft /
Vorsitzender des Stiftungsrates



Dr. Jason Kerr

Geschäftsführender Direktor



Dr. Kevin Briggman

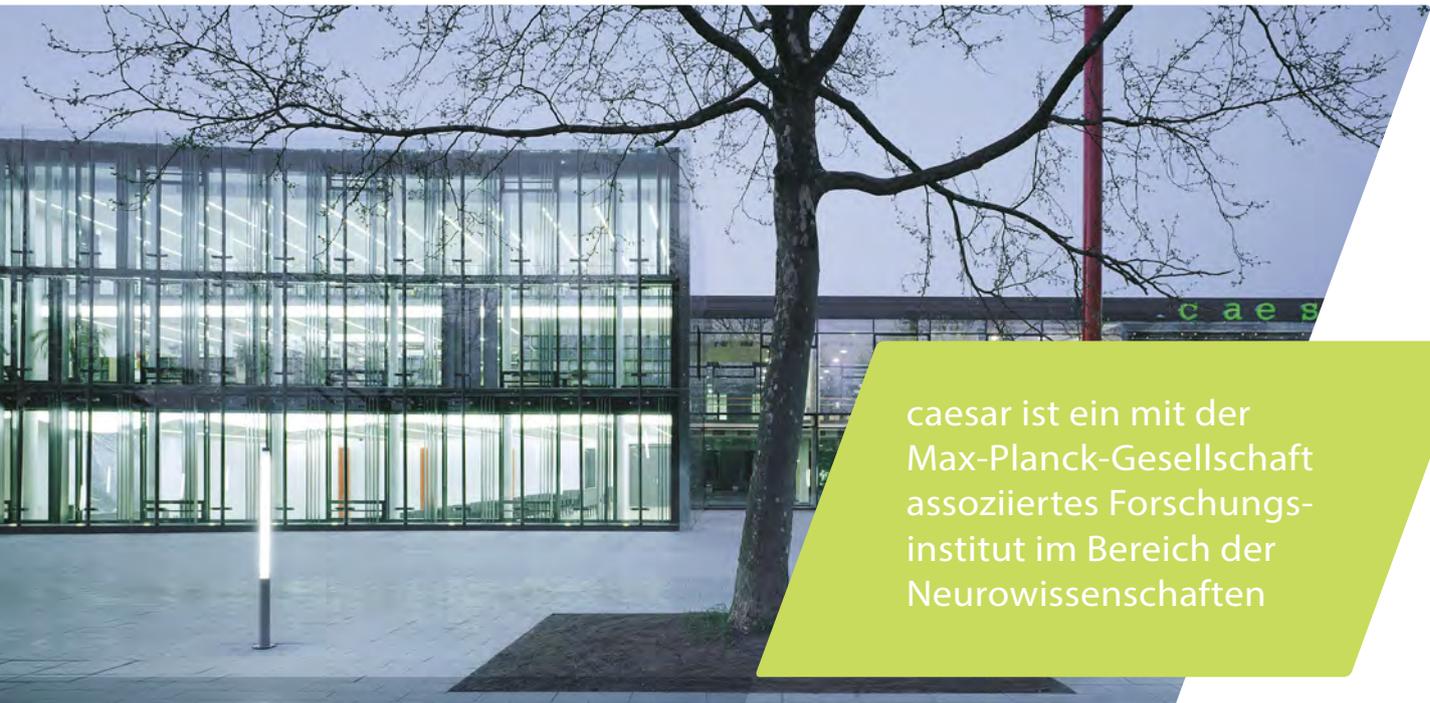
Direktor



Gertrud Bilski

Kaufmännische
Geschäftsführerin

Stiftung caesar



caesar ist ein mit der Max-Planck-Gesellschaft assoziiertes Forschungsinstitut im Bereich der Neurowissenschaften

Das Institut wird von einer gemeinnützigen Stiftung privaten Rechts betrieben. Der Vorsitzende des Stiftungsrats ist der Präsident der Max-Planck-Gesellschaft. Die Bundesrepublik Deutschland, das Bundesland Nordrhein-Westfalen sowie die Stadt Bonn fungieren als Treugeber der Stiftung.

caesar wird regelmäßig durch einen Fachbeirat bewertet. Diese Bewertung erfolgt – wie auch die wissenschaftliche Arbeit selbst – gemäß den Evaluationsverfahren und Kriterien der Max-Planck-Gesellschaft.

FORSCHUNGS- BERICHTE



Wie funktionieren die Leitungsbahnen, die visuelle Informationen zwischen den beiden Hemisphären des Säugerhirns übermitteln?

Der visuelle Kortex: Ein Ort, an dem sich viele Pfade kreuzen

Das visuelle System der Säugetiere ist komplex und stark vernetzt. Es umfasst unter anderem eine große und charakteristische Nervenbahn, die den linken und rechten visuellen Kortex miteinander verbindet und deren Funktion noch weitgehend unbekannt ist. Wir haben einige der Funktionsprinzipien untersucht, derer sich diese Bahn bedient.

von Dr. Jason Kerr | Abteilung Organisation des Gehirns und Verhaltens

Der linke und rechte visuelle Kortex sind bei Säugetieren im Allgemeinen durch eine Population von Neuronen miteinander verbunden, die ihre Axone in die jeweils kontralaterale Hemisphäre projizieren. Diese Neurone werden callosale Projektionsneurone genannt, während der Nervenstrang, durch den ihre Axone laufen, Corpus Callosum genannt wird. Diese wechselseitige Projektion findet jedoch nicht im gesamten visuellen Kortex statt, dessen topographische Anordnung dem visuellen Raum entspricht, der durch das einzelne Auge kodiert wird. Frühe mit Katzen durchgeführte Studien zur Funktionsweise dieser Leitungsbahn haben gezeigt, dass das Ziel dieser Projektion der retinotop zugeordnete Bereich des kontralateralen visuellen Kortex ist [1]. Es werden also die Bereiche der beiden visuellen Kortexe miteinander verbunden, die den gleichen Teil des visuellen Raums kodieren, nämlich den Bereich direkt vor dem Tier. Da dies auch der

Bereich ist, in dem sich das linke und rechte Sehfeld überschneiden, wurde vermutet, dass die callosale Leitungsbahn die Aufgabe hat, die Abbildungen dieser sich überschneidenden Bereiche in der linken und rechten Hemisphäre zusammenzuführen [1, 2]. Diese mit Katzen und Primaten durchgeführten Studien haben außerdem zu der These geführt, dass diese Projektion für die binokulare Verarbeitung und das stereoskopische Sehen von entscheidender Bedeutung ist [3]. Mit Random-Dot-Stereogrammen durchgeführte Experimente zur visuellen Diskrimination bei Katzen haben jedoch zu gegenteiligen Beweisen geführt. Sie haben gezeigt, dass die callosale Projektion zwar zu ihrem stereoskopischen Sehen beiträgt, aber nicht dafür entscheidend ist [4]. Die Tiere haben die Fähigkeit zum stereoskopischen Sehen erst verloren, nachdem sowohl das Corpus callosum als auch das Chiasma opticum durchtrennt worden waren. Seitdem haben

sich nur sehr wenige Studien damit befasst zu untersuchen, welche Rolle diese Leitungsbahn für die visuelle Verarbeitung spielt, so dass ihre Funktion weitgehend unklar ist. Die Ergebnisse einiger Studien [5, 6] können zwar als Hinweis dafür ausgelegt werden, dass die callosale Leitungsbahn Reaktionen von Neuronen im kontralateralen Kortex bewirkt, jedoch gab es bislang keine Studien, in denen die funktionelle Beteiligung der callosalen Projektion an der Verarbeitung auf der Ebene einzelner Zellen untersucht wurde. In unserer aktuellen Studie haben wir diese Frage bei Nagetieren untersucht. Unser Ziel war es, den folgenden Fragen nachzugehen: 1) Kann die callosale Projektion die Neuronenaktivität im kontralateralen visuellen Kortex des Nagetiers unabhängig bewirken und 2) inwiefern ist diese Leitungsbahn an der Verarbeitung des visuellen Inputs im visuellen Kortex beteiligt?

Lokalisierung kontralateraler Projektionsneurone und Auswirkungen optogenetischer Deaktivierung

Zunächst haben wir die Region des linken visuellen Kortex bestimmt, die den Bereich direkt vor dem Tier repräsentiert. Hierfür haben wir die intrinsische optische Signalbildung verwendet (eine Technik, bei der ein visueller Reiz im fraglichen Bereich des visuellen Raums platziert wird und die entsprechende Region des visuellen Kortex anhand von Veränderungen in der Lichtabsorption identifiziert wird, die mit neuronaler Aktivität intrinsisch einhergehen). Dann haben wir einen gentechnisch veränderten Adeno-assoziierten Virus verwendet, um die Expression des fluoreszierenden Indikators gelb-fluoreszierendes Protein (YFP) und

Dieses Ergebnis könnte darauf hinweisen, dass die callosale Leitungsbahn Aktivität in einer Sub-Population visueller Kortex-Neurone unabhängig hervorrufen kann, ohne dass dafür eine Aktivierung im ipsilateralen LGN erforderlich ist.

des optogenetischen Inhibitors eArchT3.0 in einer großen Neuronenpopulation innerhalb der identifizierten Region zu initiieren (Abb. 1 a). Mit Hilfe des YFP als anterogradem Tracer konnte die Region des visuellen Kortex in der gegenüberliegenden Hemisphäre bestimmt werden, die durch die kortikalen Projektionsneurone angesteuert wird (Abb. 1 a & b). Im nächsten Schritt haben wir die intrinsische optische Signalbildung genutzt, um gezielt eine kleine Menge eines rot fluoreszierenden Markers (CTB-Alexa-594) in den Bereich des rechten visuellen Kortex zu injizieren, der den gleichen Raum vor dem Tier repräsentiert. Die CTB-Alexa-594-Injektion war in dem Bereich lokalisiert, den die anterograd markierten callosalen Projektionsneurone ansteuern (Abb. 1 b). Dies hat gezeigt, dass bei der Projektion Regionen mit passender retinotoper Ausrichtung in der gegenüberliegenden Hemisphäre angesteuert werden. Anschließend haben wir die Auswirkungen untersucht, die eine optogenetische Deaktivierung von callosalen Projektionsneuronen auf visuell hervorgerufene Reaktionen von Neuronen im kontralateralen visuellen Kortex hat.

Der optogenetische Inhibitor eArchT3.0 ist eine durch Licht aktivierbare Protonenpum-

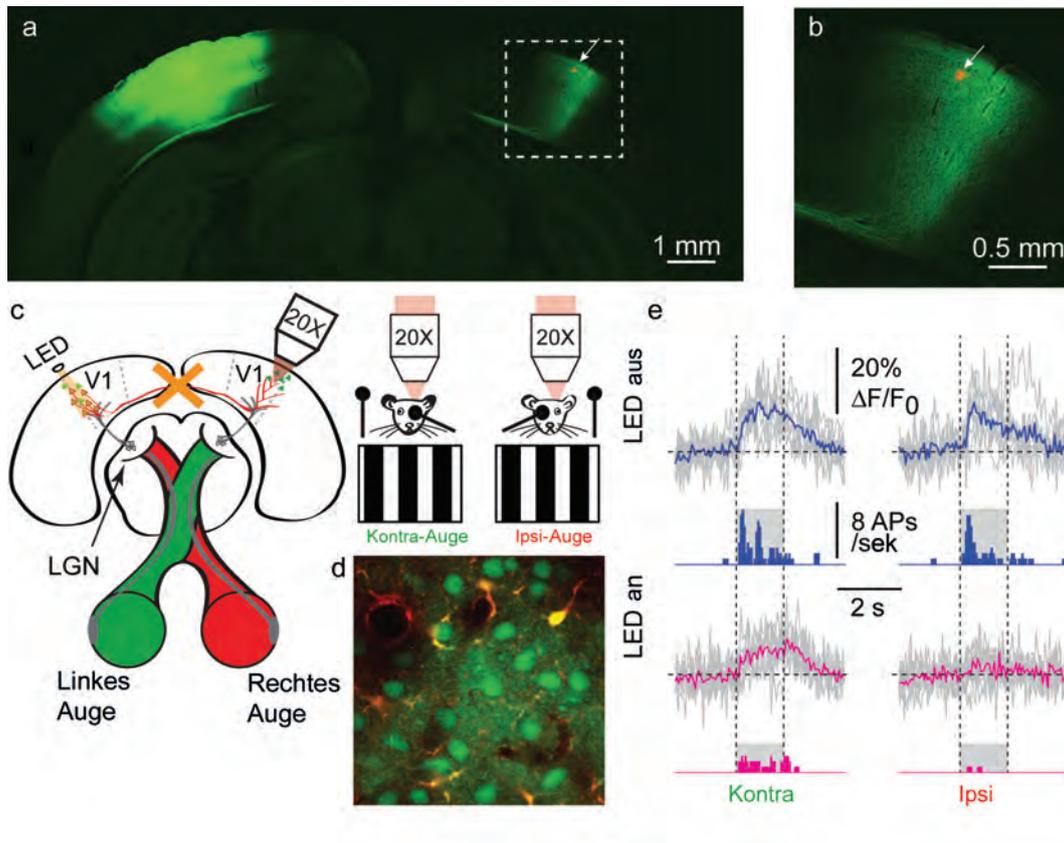


Abbildung 1: Die callosale Leitungsbahn im visuellen Kortex der Ratte und Auswirkungen der optogenetischen Hemmung. a. Koronaler Querschnitt, auf dem Neurone im visuellen Kortex der linken Hemisphäre zu sehen sind, die gelb-fluoreszierendes Protein (YFP) exprimieren. b. Vergrößerte Abbildung der in a. beschriebenen Region der rechten Hemisphäre. Die Injektion einer geringen Menge CTB-Alexa-594 (rot) erfolgte in die Region, die auf den visuellen Raum vor dem Tier reagiert. c. Schematische Darstellung der visuellen Hauptleitungsbahnen vom Auge zum visuellen Kortex der Ratte (links), die auch die experimentelle Struktur für kontra- und ipsilaterale visuelle Stimulation zeigt (rechts). Multiphotonen-Aufzeichnungen wurden von Neuronen im rechten visuellen Kortex angefertigt. Dies erfolgte sowohl mit als auch ohne Hemmung der callosalen Projektion in der linken Hemisphäre (mit LED gekennzeichnet). Das linke Auge (kontralateral zu den neuronalen Aufzeichnungen) und die assoziierte Projektion in den visuellen Thalamus (den Corpus geniculatum laterale oder LGN) sind grün gekennzeichnet, das rechte Auge (ipsilateral) und die assoziierte Projektion sind rot gekennzeichnet. Die nicht-gekrenzten Leitungsbahnen sind in grau dargestellt. d. Exemplarisches Multiphotonen-Bild von mit OGB-1 markierten Neuronen im rechten visuellen Kortex (grün) mit Astrozyten mit Gegenfärbung mittels Sulforhodamin-101 (rot). e. Exemplarische kinetische Ca^{2+} -Spuren, die Reaktionen auf kontra- und ipsilaterale visuelle Stimulation für ein Neuron mit (LED an) und ohne (LED aus) Hemmung der callosalen Projektion aufweisen.

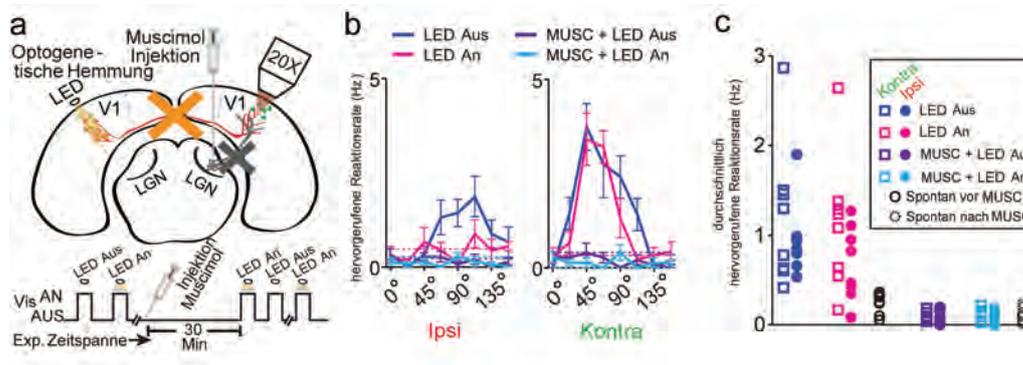


Abbildung 2: Auswirkungen der Hemmung des ipsilateralen visuellen Thalamus. a. Schematische Darstellung des Aufbaus und Prinzips des Experiments. b. Beispiel für durchschnittliche visuelle Reaktionen, die in einem Neuron im rechten visuellen Kortex durch unterschiedlich ausgerichtete visuelle Reize hervorgerufen wurden, für kontra- und ipsilaterale visuelle Reize. Die Reaktionen wurden mit (LED an) und ohne (LED aus) Hemmung der callosalen Projektionsneurone im linken visuellen Kortex aufgezeichnet sowie mit und ohne pharmakologische Hemmung des ipsilateralen LGN mittels Muscimol (MUSC). Gestrichelte Linien zeigen die mittlere Häufigkeit spontaner Aktivität an. c. Gruppendaten des in b. beschriebenen Experiments, jedoch mit dem Mittelwert von Reaktionen auf alle Reizausrichtungen. Jeder Marker kennzeichnet die Reaktionen eines Neurons. Der Mittelwert für die Häufigkeit spontaner Aktivität mit und ohne Hemmung des visuellen Thalamus wird ebenfalls gezeigt.

pe, die bei Belichtung mit blauem Licht einen starken hyperpolarisierenden Strom erzeugt, der neuronale Aktivität hemmt und somit eine umkehrbare Hemmung der neuronalen Populationen bewirkt. Mit Hilfe von konventionellen Aufzeichnungen der elektrischen Aktivität in Neuronen im infizierten Bereich, die durch visuelle Reize ausgelöst wird, konnten wir bestätigen, dass selbst Neurone in den tiefsten Schichten des Kortex, die am weitesten von der Oberfläche entfernt liegen, effektiv gehemmt werden konnten. Im nächsten Schritt haben wir eArchT3.0 verwendet, um zu untersuchen, inwiefern die Aktivität der callosalen Projektionsneurone im lin-

ken visuellen Kortex zur Neuronenaktivität im rechten visuellen Kortex beiträgt (Abb. 1 c). Wir haben die Aktivität von Neuronen in den oberen Schichten des rechten visuellen Kortex *in vivo* aufgezeichnet, indem wir sie mit dem Aktivitätsindikator OGB-1 (einem fluoreszierenden Ca^{2+} -sensitiven Indikator, dessen Helligkeit ansteigt, wenn Ca^{2+} eintritt, während ein markiertes Neuron elektrisch aktiviert wird) markiert und die Fluoreszenz der markierten Neurone mittels Multiphotonen-Bildgebung beobachtet haben (Abb. 1 d). Wir haben neuronale Reaktionen auf visuelle Reize aufgezeichnet, die entweder dem linken Auge (kontralateral zu den markierten

Neuronen im rechten visuellen Kortex) oder dem rechten Auge (ipsilateral) gezeigt wurden. Dies erfolgte sowohl mit als auch ohne optogenetische Deaktivierung der callosalen Projektionsneurone. Die Hemmung der callosalen Projektionsneurone hat bei 46 % der aufgezeichneten binokularen Neurone zu einer deutlichen Modulation der visuellen Reaktion geführt. Bei 27 % der modulierten Neurone war eine reduzierte Reaktion auf die Stimulation des ipsilateralen Auges zu beobachten, die von spontaner Aktivität nicht deutlich zu unterscheiden war (Abb. 1 e). Es gibt mindestens zwei Leitungsbahnen, auf welche die bei diesen Neuronen beobachteten Reaktionen nach Stimulation des ipsilateralen Auges zurückzuführen sein könnten: Eine durch eine große Projektion zum linken visuellen Kortex (die kreuzende Leitungsbahn) über den linken visuellen Thalamus (der Corpus geniculatum laterale oder LGN), dann über die callosale Leitungsbahn zum rechten visuellen Kortex und die andere über eine deutlich kleinere Projektion direkt zum rechten visuellen Kortex (die nicht-kreuzende Leitungsbahn) über den rechten LGN (Abb. 1 c). Dieses Ergebnis könnte darauf hinweisen, dass die callosale Leitungsbahn Aktivität in einer Sub-Population visueller Kortex-Neurone unabhängig hervorrufen kann, ohne dass dafür eine Aktivierung im ipsilateralen LGN erforderlich ist. Zusammenfassend leisten die callosalen Projektionsneurone einen wesentlichen Beitrag zu den visuellen Reaktionen in Neuronen im primären visuellen Kortex. Außerdem findet die Reaktion auf das ipsilaterale Auge bei einer Sub-Population von binokularen Neuronen abhängig von einer Aktivierung der

callosalen Projektionsneurone statt.

Abhängigkeit der Reaktionen von Aktivität im visuellen Thalamus

Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass die Aktivität der callosalen Projektionsneurone allein dafür ausreichen kann, Aktivität in Neuronen im visuellen Kortex in der gegenüberliegenden Hemisphäre zu bewirken. Wenn dies zutrifft, sollten die dem ipsilateralen Auge präsentierten Reize auch dann noch zu Aktivität in Neuronen im rechten visuellen Kortex führen, wenn die Leitungsbahn durch den ipsilateralen LGN pharmakologisch gehemmt ist (Abb. 2 a). Um das zu überprüfen, haben wir zunächst wie zuvor Reaktionen von Neuronen im rechten visuellen Kortex aufgezeichnet. Wie bereits im vorherigen Datensatz konnten auch hier Reaktionen auf die Stimulation des ipsilateralen Auges in einer Sub-Population binokularer Neurone durch optogenetische Hemmung der callosalen Projektionsneurone im linken visuellen Kortex vollständig verhindert werden (Abb. 2 b & c). Die pharmakologische Hemmung des ipsilateralen LGN hat alle visuell hervorgerufenen Reaktionen auf Reize verhindert, die dem kontralateralen und auch dem ipsilateralen Auge gezeigt wurden (Abb. 2 b & c). Während also ein Teil der Reaktionen binokularer Neurone, die durch die Stimulation des ipsilateralen Auges hervorgerufen wurden, von der Aktivität der callosalen Projektionsneurone hervorgerufen wird, reicht diese Projektion allein nicht aus, um visuell hervorgerufene Reaktionen zu

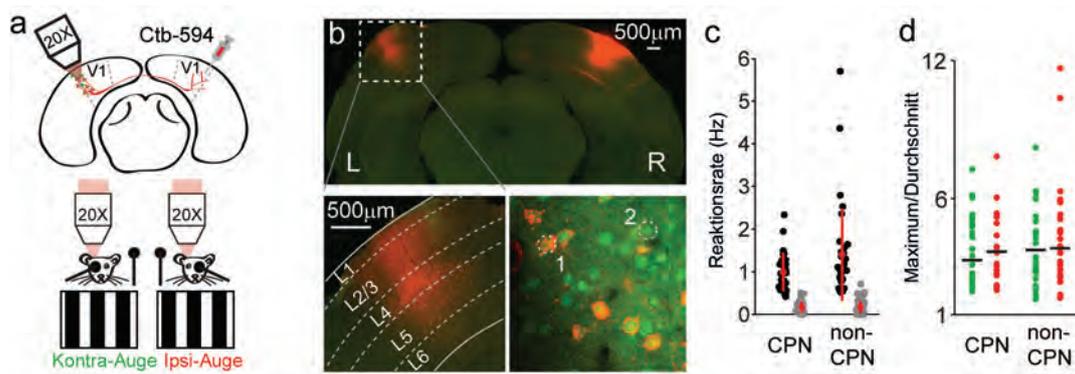


Abbildung 3: Visuelle Reaktionen in projizierenden und nicht-projizierenden Neuronen. a. Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. b. Koronaler Querschnitt des Rattengehirns, auf dem durch Injektion von Cholera Toxin Subunit B (CTB) in den rechten visuellen Kortex retrograd markierte Neurone im linken visuellen Kortex zu sehen sind (oben). Die untere linke Abbildung zeigt ein vergrößertes Bild der in der oberen Kachel dargestellten Region. Die untere rechte Abbildung zeigt einen exemplarischen Überblick über mit OBG-1 markierte Neurone im linken visuellen Kortex (grün) mit und ohne zusätzliche Markierung mittels CTB (rote Punkte). c. Zusammengefasste Datengruppen, die die maximale Häufigkeit visuell hervorgerufener Reaktionen (schwarze Punkte) und Spontanentladungen (grau) bei kortikalen Projektionsneuronen (CPN) und nicht-projizierenden Neuronen (non-CPN) zeigt. Mittelwert und Standardabweichung sind rot dargestellt. d. Angabe der Intensität der Einstellung auf Reize als gemessener Maximalwert geteilt durch den Mittelwert für die Häufigkeit von reizevozierten Reaktionen für den gleichen Datensatz, der in b. dargestellt ist. Reaktionen auf kontralaterale Stimulation sind grün, auf ipsilaterale Stimulation rot dargestellt.

erzeugen. Stattdessen ist auch eine Aktivität im ipsilateralen LGN erforderlich.

Vergleich von Reaktionen von projizierenden und nicht-projizierenden Neuronen

Um das spezifische Ansprechverhalten der callosalen Projektionsneurone auf visuelle Reize direkt mit dem von benachbarten nicht-projizierenden Neuronen vergleichen zu können, haben wir schließlich visuell hervorgerufene Reaktionen von Neuronen im linken visuellen Kortex aufgezeichnet, wobei die kortikalen Projektionsneurone durch In-

jektion des retrograden Tracers Cholera Toxin Subunit B in die entsprechenden Bereiche des rechten visuellen Kortex markiert waren (Abb. 3 a & b). Mit einem rot-fluoreszierenden Marker gekennzeichnetes Cholera Toxin Subunit B dringt an der Injektionsstelle in neuronale Axone ein und wird in der Folge durch das gesamte Neuron transportiert. Innerhalb der aufgezeichneten Population haben wir festgestellt, dass es sich bei $37,26 \pm 2,79 \%$ (Mittelwert \pm SD, $N = 3$) der neuronalen Population um Projektionsneurone handelte. Die beiden Populationen haben sich weder in der Häufigkeit von Spontanentladungen noch in der Häufigkeit von durch durchschnittliche Reize erzeugten Entladungen unterschieden

(Abb. 3 c). Auch in der Intensität, in der sie sich auf visuelle Reize eingestellt haben (Abb. 3 d), oder bei jeglichen anderen ausgewerteten Eigenschaften von Reizreaktionen wurden keine Unterschiede beobachtet. Wir haben demnach keine Belege dafür gefunden, dass callosale Projektionsneurone auf visuelle Reize anders reagieren als ihre nicht-projizierenden Nachbarzellen.

Zusammenfassung

In dieser Studie haben wir gezeigt, dass visuelle Reaktionen in einer Sub-Population von binokularen Neuronen im visuellen Kortex von Nagetieren sowohl vom Input der callosalen Projektionsneurone im kontralateralen visuellen Kortex als auch vom Input aus dem ipsilateralen LGN abhängig sind. Außerdem haben wir gezeigt, dass callosale Projektionsneurone nicht anders auf visuelle Reize reagieren und die Projektionen Regionen mit passender retinotoper Ausrichtung im kontralateralen visuellen Kortex ansteuern.

Das Ergebnis, dass alle über das ipsilaterale Auge visuell evozierten Reaktionen bei Neuronen im visuellen Kortex durch Deaktivierung des ipsilateralen LGN eingestellt werden können, einschließlich der Reaktionen in Zellen, die auch durch die Hemmung der callosalen Projektionsneurone ausgeschaltet werden können, macht die Neubewertung der potentiellen Funktionen der callosalen Leitungsbahn und der ihr zugrunde liegenden neuronalen Mechanismen erforderlich. Callosale Projektionsneurone scheinen mit der Projektion aus dem visuellen Thalamus zusammenzuarbeiten; diese Voraussetzung war bislang gänzlich unbekannt.

Literatur

1. Choudhury, B.P., Whitteridge, D., and Wilson, M.E. (1965). The Function of the Callosal Connections of the Visual Cortex. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 50, 214-219.
2. Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1967). Cortical and callosal connections concerned with the vertical meridian of visual fields in the cat. *J Neurophysiol* 30, 1561-1573.
3. Blakemore, C. (1969). Binocular depth discrimination and the nasotemporal division. *J Physiol* 205, 471-497.
4. Ptito, M., Lepore, F., and Guillemot, J.P. (1991). Stereopsis in the cat: behavioral demonstration and underlying mechanisms. *Neuropsychologia* 29, 443-464.
5. Blakemore, C., Diao, Y.C., Pu, M.L., Wang, Y.K., and Xiao, Y.M. (1983). Possible functions of the interhemispheric connexions between visual cortical areas in the cat. *J Physiol* 337, 331-349.
6. Schmidt, K.E., Lomber, S.G., and Innocenti, G.M. (2010). Specificity of neuronal responses in primary visual cortex is modulated by interhemispheric corticocortical input. *Cereb Cortex* 20, 2776-2786.



Über die Abteilung Organisation des Gehirns und Verhaltens

Das zentrale Anliegen der Abteilung Organisation des Gehirns und Verhaltens (Behavior and Brain Organization, BBO) ist es zu verstehen, wie Säugetiere anhand ihres Sehvermögens Entscheidungen treffen und die Grundprinzipien der daran beteiligten neuronalen Schaltkreise zu erforschen. Dazu werden Bildgebung, computerbasierte Algorithmen, Verhaltensanalyse, elektrophysiologische Aufzeichnungen und Anatomie kombiniert, um Zusammenhänge zwischen Verhalten und neuronaler Aktivität erkennen zu können. Die Forschung der Abteilung BBO lässt sich in zwei grundsätzliche Bereiche unterteilen: Zum einen entwickeln die Wissenschaftler Werkzeuge und Verfahren zur Erfassung und Analyse neuronaler Aktivität von Populationen kortikaler Nervenzellen in wachen und sich frei bewegendem Tieren mit einer Auflösung bis hinunter zu einzelnen Zellen und einzelnen Aktionspotentialen. Zum anderen beschäftigen sie sich mit den neuronalen Prozessen, die der Entscheidungsfindung aufgrund optischer Reize in einem sich frei bewegendem Tier zugrunde liegen. Das erfordert die Entwicklung spezieller Multiphotonenmikroskope sowie optischer Verfahren zur Detektion von Kopf- und Augenbewegungen, die an sich frei bewegendem Tieren verschiedener Säugetiergattungen angewandt werden können. Durch die Untersuchung unterschiedlicher Arten lassen sich beispielsweise Vergleiche ziehen, ob und wie sich die Augenbewegungen der untersuchten Gattungen in ihrer Art und Koordination unterscheiden. Ziel dieses Ansatzes ist es, ein umfassendes Verständnis des Sehvermögens von Säugetieren und dessen Organisation auf neuronaler Ebene zu gewinnen.



Wie ist es möglich, dass die Geschwindigkeit eines bewegten Objekts von den verschiedenen visuellen Systemen von Tieren, trotz der enormen Größenunterschiede der Retina, auf gleiche Weise wahrgenommen wird?

Geheimnisse der Retina: Augengröße und Geschwindig- keitswahrnehmung

Der Durchmesser des Auges der verschiedenen Säugetierarten unterscheidet sich zum Teil um mehr als das Zehnfache. Wir haben untersucht, wie sich die synaptische Verschaltung der Retina im Detail im Hinblick auf unterschiedliche Augendurchmesser und die Erfassung bewegter Objekte entwickelt hat.

von Dr. Kevin Briggman | Abteilung Computational Neuroethology

Für die meisten Tierarten mit einem ausgeprägten visuellen System ist die Erfassung bewegter Objekte von entscheidender Bedeutung, um das Überleben zu sichern. Zum Beispiel müssen Tiere die Bewegung von Raub- oder Beutetieren erkennen und darauf mit entsprechendem Verhalten reagieren. Ein entscheidender Aspekt für diese Berechnung ist die Fähigkeit, nicht nur zu erkennen, ob sich etwas im visuellen Raum bewegt, sondern auch in welche Richtung das Objekt sich bewegt. Bei vielen Arten erfolgt diese Berechnung – also die Unterscheidung, ob ein Objekt sich nach oben, unten, links oder rechts bewegt – frühzeitig innerhalb des visuellen Systems, nämlich auf der Ebene der Retina, des lichtempfindlichen Nervengewebes im hinteren Bereich des Auges.

Wir und viele andere Forschungsgruppen haben genau untersucht, wie diese Berechnung von den zahlreichen Typen von Nervenzellen in der Retina durchgeführt wird. Dabei konnten wir herausfinden, welche Nervenzellen daran beteiligt sind, die Richtung zu berechnen und wie diese Berechnung durch das genaue Muster von Zellverbindungen ermöglicht wird.

Geheimnisse der Verschaltung

Der neuronale Schaltkreis, der für die Berechnung der Bewegungsrichtung zuständig ist, wird auch als richtungsselektiver Schaltkreis der Retina bezeichnet. Eine Unterkategorie von Ausgangsneuronen der Retina, die visuelle Informationen an den Rest des

Gehirns weiterleiten, kodieren die Bewegungsrichtung entlang der vier Sichtachsen (aufwärts, abwärts, links und rechts) – diese Zellen werden richtungsselektive retinale Ganglienzellen oder auch DSGC genannt [1]. Diese Nervenzellen empfangen Signale von inhibitorischen Synapsen einer Art von Interneuronen, den Starburst-Amakrinzellen (SAC), benannt nach ihrer einzigartigen radial-symmetrischen Morphologie [2]. Es war zwar bereits seit einiger Zeit bekannt, dass die inhibitorischen Synapsen, die SAC zu DSGC bilden, entscheidend für die richtungsselektive Berechnung sind [3], aber es konnte erst kürzlich beschrieben werden, dass die Berechnung auf den biophysikalischen Eigenschaften der SAC und einem sehr präzisen Verschaltungsmuster basieren [4, 5].

Das Problem mit den Augen- größen

In unseren jüngsten Studien haben wir uns einem Problem gewidmet, das sich in der Tierwelt aufgrund der großen Unterschiede zwischen den Augendurchmessern bei verschiedenen Tierarten ergibt, sowie der Frage, welchen Einfluss diese Unterschiede auf die Berechnung der Bewegungsrichtung haben [6]. Das Auge einer Maus hat zum Beispiel einen Durchmesser von 3 Millimetern, während größere Säugetiere – wie zum Beispiel Kaninchen – Augen mit einem Durchmesser von etwa 15 Millimetern haben, also einen 5-fach größeren Durchmesser. Der Durchmesser des Auges und der Linse bestimmt, in welcher Größe ein Objekt im visuellen Raum auf die Oberfläche der Retina projiziert wird. Ein Objekt, das 10 Grad des visuellen Raums abdeckt, wird auf der Retina eines Kanin-



Aufgrund der unterschiedlichen Augengrößen stellt sich die Frage, wie es möglich ist, dass Säugetierarten das gleiche Spektrum von Winkelgeschwindigkeiten erfassen können. Die Schaltkreise müssen sich auf irgendeine Weise unterscheiden, um die unterschiedlichen Augendurchmesser zu kompensieren.

chens auf eine Fläche von ca. 1500 Mikrometern projiziert, jedoch lediglich auf eine Fläche von 300 Mikrometern auf der Oberfläche der Retina einer Maus (Abb. 1). Dieser Unterschied erstreckt sich auch auf die Geschwindigkeit bewegter Objekte – ein Objekt, das sich mit einer Winkelgeschwindigkeit von 10 Grad / Sekunde bewegt, kreuzt die Oberfläche der Retina eines Kaninchens mit einer fünfmal höheren Lineargeschwindigkeit als die Retina einer Maus.

Aufgrund der unterschiedlichen Augengrößen stellt sich die Frage, wie es möglich ist, dass verschiedene Säugetierarten das gleiche Spektrum von Winkelgeschwindigkeiten erfassen können. Wenn die richtungsselektiven Schaltkreise der Retinae von Kaninchen und Mäusen identisch sind, würde das darauf hindeuten, dass die beiden Arten unterschiedliche Bereiche von Winkelgeschwindigkeiten visueller Bewegung erfassen können (z. B.

um einen Faktor von 5 verändert). Wenn ein Evolutionsziel jedoch darin bestand, es beiden Arten zu ermöglichen, ähnliche Spektren von Winkelgeschwindigkeiten zu erfassen, würde dies darauf hinweisen, dass die Schaltkreise sich auf irgendeine Weise unterscheiden müssen, um die unterschiedlichen Augendurchmesser zu kompensieren. Aufgrund dieser beiden konkurrierenden Annahmen haben wir die Anatomie der Retinae von Kaninchen und Mäusen genau miteinander verglichen und nach Unterschieden in der Verschaltung der richtungsselektiven Schaltkreise gesucht.

Untersuchung der Retina

Zunächst haben wir mit Hilfe dreidimensionaler Elektronenmikroskopie einen großen Datensatz von der Retina einer Maus erfasst. Hierfür haben wir die serielle Block-Flächen-Rasterelektronenmikroskopie eingesetzt [5]. Dann haben wir auf Grundlage dieser Daten die Standorte der exzitatorischen und inhibitorischen Synapsen auf den dendritischen Verzweigungen der SAC kartiert. Dabei haben wir – im Vergleich zu der bereits beschriebenen Rekonstruktion der synaptischen Eingänge zu Kaninchen-SAC [6] – einen auffälligen Unterschied zu der Anordnung der synaptischen Eingänge zu den SAC der Maus festgestellt. Die inhibitorischen Eingänge lagen entlang der dendritischen Standorte in

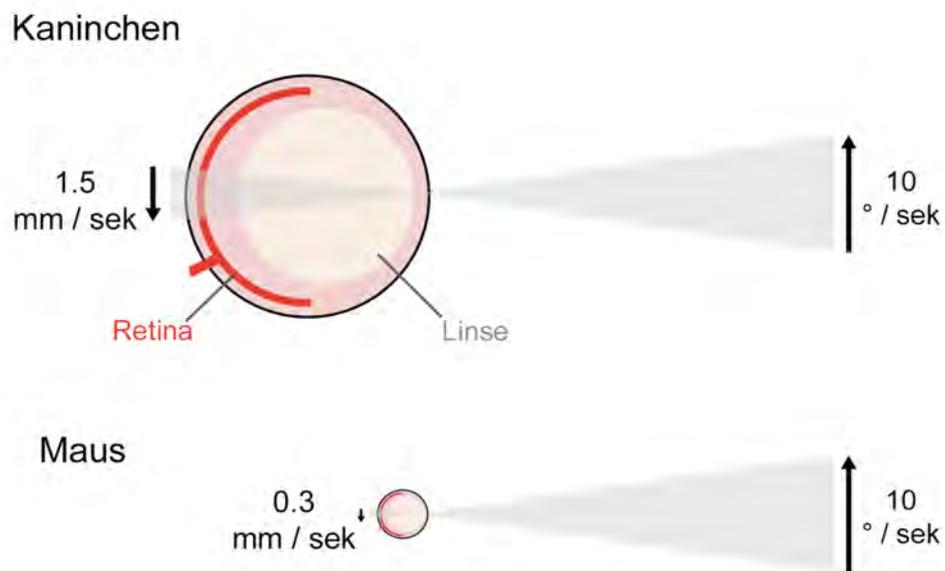


Abbildung 1: Der Durchmesser des Auges bestimmt die Geschwindigkeit, mit der sich ein auf die Retina projiziertes Objekt bewegt.

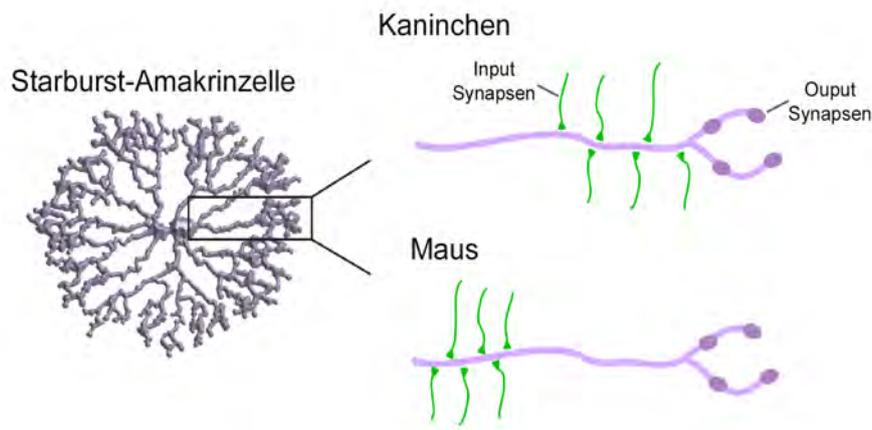


Abbildung 2: Durch eine Adaption der genauen synaptischen Verschaltung von Starburst-Amakrinzellen (SAC) zwischen den Retinae von Maus und Kaninchen können die unterschiedlichen projizierten Geschwindigkeiten kompensiert werden.

der Nähe der Somata der SAC der Maus eng beieinander, während sie bei Kaninchen-SAC mit größeren Abständen entlang der Dendriten verteilt sind (Abb. 2). Um die Auswirkungen einer Verschiebung der Positionen der inhibitorischen Eingänge zu erforschen, haben wir ein Berechnungsmodell eines SAC-Netzwerks konstruiert.

Aufgrund des Detaillierungsgrads unserer anatomischen Rekonstruktion konnten wir unser Netzwerk-Modell deutlich eingrenzen. Unter anderem konnten wir realistische Dendritendurchmesser, Synapsenstandorte und statistische Werte zur Vernetzung innerhalb der SAC nutzen. Im nächsten Schritt haben wir die richtungsselektiven Eigenschaften unseres Modells untersucht, indem wir simuliert haben, dass ein Lichtstreifen mit verschiedenen Lineargeschwindigkeiten über das Modell läuft. Wir haben das Modell dann so geschaltet, dass das in der Kaninchen-Retina beobachtete Vernetzungsmuster reproduziert wurde. In den SAC kam es ab ca. 1 Millimeter / Sekunde zu richtungsselektiven

Reaktionen. Als wir dann aber die Positionen der inhibitorischen Verbindungen so verändert haben, dass das Verschaltungsmuster der Maus reproduziert wurde, verschob sich das Spektrum von Geschwindigkeiten, die zu richtungsselektiven Reaktionen geführt haben, hin zu niedrigeren Geschwindigkeiten von ca. 0,2 Millimeter / Sekunde. Anders ausgedrückt: es verändert sich also durch die bloße Veränderung der Positionen der inhibitorischen Synapsen entlang der Dendriten der SAC das Spektrum der Geschwindigkeiten der richtungsselektiven Reaktionen fast um das Fünffache – dieser Unterschied entspricht annähernd dem oben genannten Unterschied zwischen den Augendurchmessern.

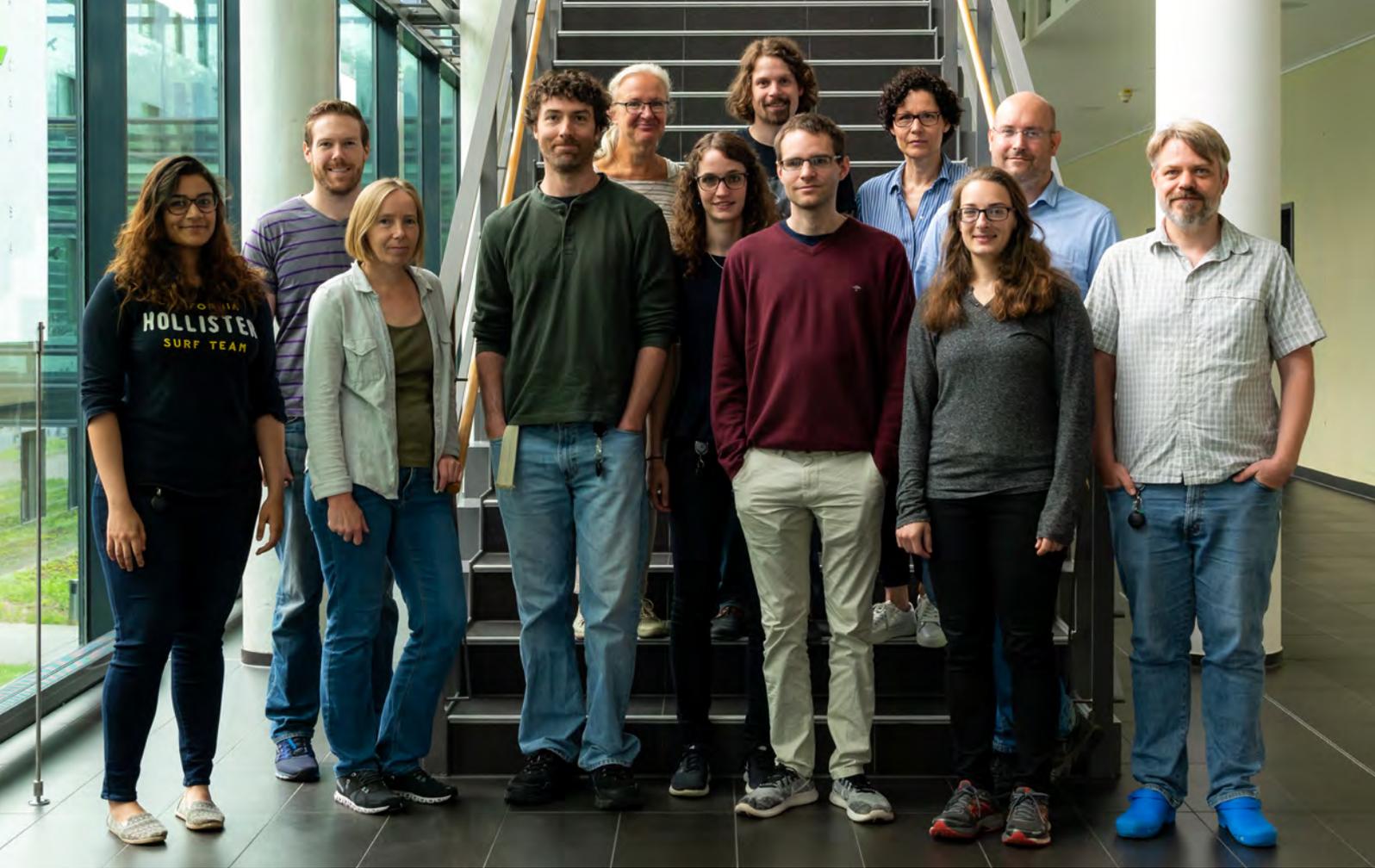
Kleine Unterschiede in der Vernetzung

Unsere Daten sprechen also für die Hypothese, dass richtungsselektive Schaltkreise der Retina sich so entwickelt haben, dass Säugetierarten dazu in der Lage sind, Objekte

te, die sich mit ähnlichen Winkelgeschwindigkeiten bewegen, zu sehen und auf sie zu reagieren. Die Retina bewerkstelligt dies, indem die Vernetzung auf eine relativ subtile Weise verändert wird, die für uns nur durch umfassende anatomische Rekonstruktionen im Nanometerbereich erkennbar ist. Sollte diese Hypothese korrekt sein, würden wir nun davon ausgehen, dass sich die Unterschiede zwischen den Verschaltungsmustern auf weitere Tierarten mit noch größeren oder kleineren Augendurchmessern übertragen lassen. Dieser Aufgabe widmen wir uns zurzeit. Allgemeiner ausgedrückt belegt diese Studie den Nutzen eines genauen Vergleichs der Verschaltung des Gehirns zwischen mehreren Arten. In unserem Fall hat dieser vergleichende Ansatz („vergleichende Konnektomik“) erst ermöglicht zu erforschen, welche Eigenschaften eines neuronalen Schaltkreises für eine Berechnung entscheidend sind und welche Details artenspezifisch sind.

Literatur

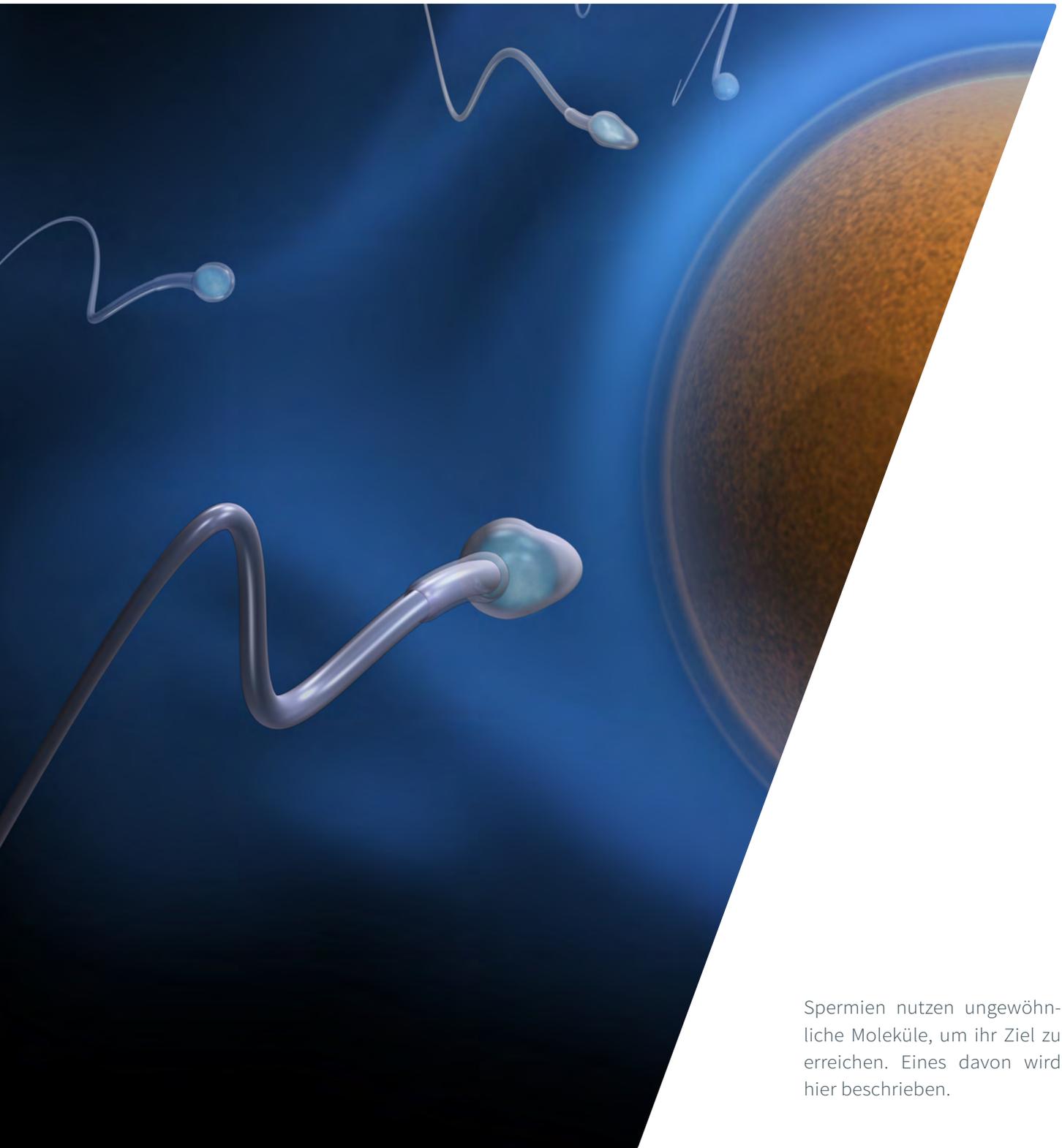
1. Barlow, H.B., Hill, R.M., and Levick, W.R. (1964). Retinal Ganglion Cells Responding Selectively to Direction and Speed of Image Motion in the Rabbit. *J Physiol* 173, 377-407.
2. Euler, T., Detwiler, P.B., and Denk, W. (2002). Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells. *Nature* 418, 845-852.
3. Briggman, K.L., Helmstaedter, M., and Denk, W. (2011). Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. *Nature* 471, 183-188.
4. Denk, W., and Horstmann, H. (2004). Serial block-face scanning electron microscopy to reconstruct three-dimensional tissue nanostructure. *PLoS Biol* 2, e329.
5. Ding, H., Smith, R.G., Polog-Polsky, A., Diamond, J.S., and Briggman, K.L. (2016). Species-specific wiring for direction selectivity in the mammalian retina. *Nature* 535, 105-110.
6. Famiglietti, E.V. (1991). Synaptic organization of starburst amacrine cells in rabbit retina: analysis of serial thin sections by electron microscopy and graphic reconstruction. *J Comp Neurol* 309, 40-70.



Über die Abteilung Computational Neuroethology

Das Ziel der Abteilung Computational Neuroethology (CNE) besteht in der Entwicklung von Berechnungsmodellen, mit denen zielgerichtetes Verhalten von Tieren prognostiziert werden kann. Um die Daten zu erhalten, die wir brauchen, um biologisch plausible Modelle zu erstellen, entwickeln und nutzen wir eine große Bandbreite von fächerübergreifenden experimentellen Verfahren. Wir nehmen Bilder mit Auflösung auf Zellebene von neuronalen Populationen von Tieren auf, während diese bestimmte Verhaltensweisen zeigen. Des Weiteren verwenden wir Fluoreszenzmikroskopie, um die Expressionsmuster bestimmter Proteine zu ermitteln. Außerdem rekonstruieren wir synaptische Vernetzungen mit Hilfe dreidimensionaler Elektronenmikroskopie.

Unser Ziel ist es, durch die Kombination dieser Methoden innerhalb einzelner Gehirne, Beziehungen zwischen der Struktur und der Funktion von neuronalen verhaltensprägenden Netzwerken zu entdecken. Zunächst möchten wir verstehen, wie sensorische Reize im Gehirn umgewandelt werden, um letztendlich zu Bewegungsentscheidungen zu führen. Auf Grundlage dieses Verständnisses wollen wir die Quellen von Varianzmöglichkeiten bei zielgerichteten Verhaltensweisen ermitteln. Wir untersuchen diese Fragestellungen, indem wir neuronale Schaltkreise von Säugetieren, Fischen und Amphibien vergleichen und analysieren, um festzustellen, welche Aspekte einer Berechnung artenspezifisch sind und welche über Artengrenzen hinweg allgemein zutreffen.



Spermien nutzen ungewöhnliche Moleküle, um ihr Ziel zu erreichen. Eines davon wird hier beschrieben.

Eine außergewöhnliche Chimäre – halb Ionenkanal, halb Transporter

Ein ungewöhnliches chimäres Transportmolekül – halb Löwe, halb Mensch – offenbart sein Geheimnis. Dadurch werden unerwartete Einblicke in die Entstehung des Ionen transports innerhalb der Zellen ermöglicht.

von Prof. U. Benjamin Kaupp | Emeritus-Gruppe: Molekulare Neurosensorik

Spermien sind außergewöhnlich. Verglichen mit anderen Zellen, wie Herz- oder Nervenzellen, nutzen Spermien oft besondere Proteine, die es in anderen Zellen nicht gibt. Mit Hilfe verschiedener physikalischer und chemischer Wegweiser schwimmen die Spermien in Richtung der Eizelle. Die Navigation wird durch biochemische Signalwege innerhalb der Spermien gesteuert. Erst in den letzten Jahren wurde erkannt, dass Moleküle, die wir aus normalen somatischen Zellen kennen, wie zum Beispiel aus Riech- oder Sehzellen, in Spermien keine Rolle spielen. Noch verwirrender ist, dass die in Spermien vorkommenden Signalmoleküle von außen vertraut aussehen. Sie weisen nämlich eine ähnliche Aminosäuresequenz auf. Das ist jedoch eine „Maske“, hinter der sich andere, unerwartete Eigenschaften und Funktionen verstecken.

Diese Verkleidung hat in der Fortpflanzungsforschung für große Verwirrung gesorgt, da einigen Signalmolekülen zunächst bekannte Eigenschaften zugeschrieben wurden. Erst später wurde deutlich, dass diese spezifischen Moleküle in Spermien ganz anders „ticken“. Dieses Beispiel verdeutlicht außerdem, wie einige Wissenschaftler sich von vorgefassten Annahmen zu falschen Schlüssen verleiten lassen, anstatt sich von nüchternen Hypothesen leiten zu lassen.

Wieso betreibt die Natur einen so großen Aufwand, um Spermien mit einem einzigartigen Repertoire von Signalmolekülen auszustatten? Zellen sind normalerweise dauerhaft in Gewebe oder einem Organ eingebunden. Ihr Umfeld ist stabil und keinen plötzlichen oder dramatischen Veränderungen ausgesetzt.

Das ist bei Spermien anders. Von den Hoden über die Nebenhoden, die Samenflüssigkeit und die Vagina bis hin zum Eileiter sind Spermien sehr unterschiedlichen chemischen und zellulären Umgebungen ausgesetzt. Bei Fischen ist die Lage offensichtlich: Spermien, die in den Hoden von einer physiologischen Lösung umgeben sind, werden entweder ins Meerwasser mit einem Salzgehalt von 36 % (Heringe, Aale) oder in das Süßwasser eines Flusses (Lachse) freigesetzt. Die Ionenkonzentration in Meer- und Flusswasser unterscheidet sich um das Tausendfache. Es wird daher davon ausgegangen, dass sich die Signalmoleküle in den Spermien unterschiedlicher Tierarten an das jeweilige Umfeld angepasst haben.

Eines dieser Moleküle ist der in Spermien vorkommende Natrium-Protonen-Austauscher

Auf dem Weg zur Eizelle müssen Spermien verschiedene Umgebungen durchqueren. Um diesen Herausforderungen zu begegnen, nutzen sie einzigartige Moleküle.

(NHE) [1]. NHE-Moleküle regulieren den pH-Wert in vielen Zellen und gehören zu einer großen Familie von Membranproteinen, die Ionen und andere wichtige Nährstoffe in Zellen hinein und aus ihnen heraus transportieren – von dem einfachen Bakterium bis hin zum Menschen. Der Stofftransport nach innen und außen ist gekoppelt: Der Na^+ -Transport nach innen ist mit dem Transport von H^+ nach außen verbunden. Dieser Austausch ist umkehrbar: Na^+ und H^+ können

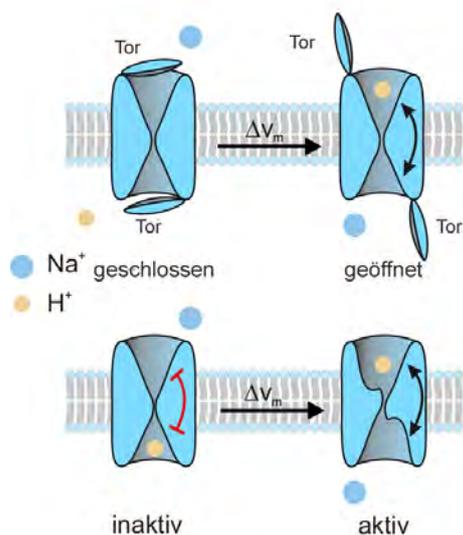


Abbildung 1: Vorschlag für zwei verschiedene Steuerungsmechanismen des Na^+/H^+ -Austauschers. Ein Deckel versperrt den Zugang der Ionen zu den jeweiligen Bindungsstellen. Ein Spannungssprung öffnet den Deckel; der Schaukelstuhl-Mechanismus kann somit aktiviert werden (oben). Die Ionen-Bindungsstellen sind zugänglich, aber die Schaukelstuhl-Bewegung ist verriegelt (roter Balken). Der Spannungssprung entriegelt den Mechanismus (unten).

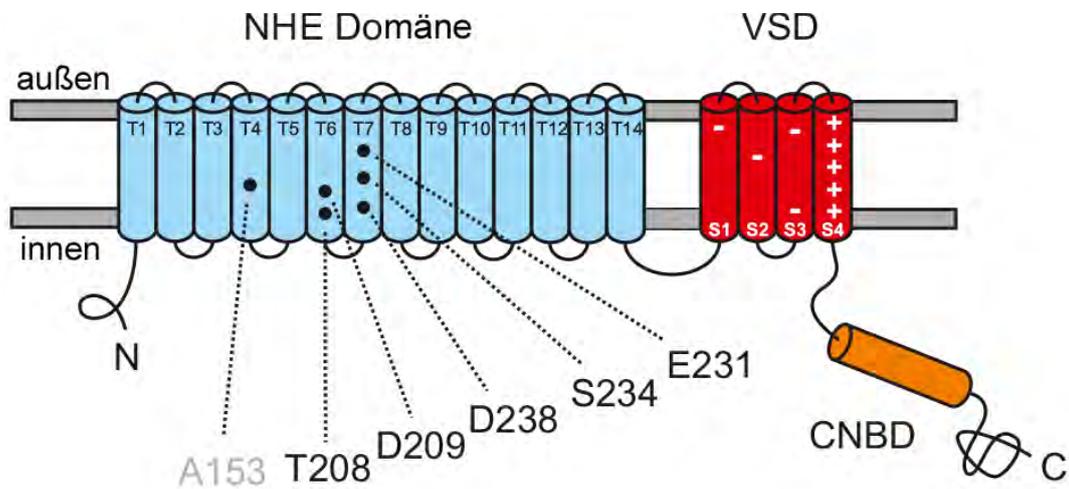


Abbildung 2: Schematische Darstellung der NHE-Struktur in der Zellmembran. Die Austauscher-Domäne (blau) zeigt die Aminosäuren (schwarz) der Na⁺-Bindungsstelle, die zwischen NHE-Molekülen von Archaeen und Spermien konserviert sind; Transmembransegmente sind mit T1 bis T14 gekennzeichnet. Spannungssensor (rot) mit positiv und negativ geladenen Aminosäuren. Zyklische Nukleotid-Bindedomäne (orange).

in beide Richtungen transportiert werden. Der Mechanismus, bei dem Moleküle im *direkten Austausch* durch die Zellmembran geschleust werden, scheint immer der gleiche zu sein: eine Schaukelbewegung (Abb. 1). Zunächst bindet ein Na⁺-Ion an die Außenseite des Austauschers. Praktisch gleichzeitig bindet ein Proton an die Innenseite. Durch Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen, wie bei einem Schaukelstuhl, werden die Ionen kontinuierlich nach innen und außen transportiert. Dieser Schaukelstuhl-Mechanismus scheint dem Transport von Ionen, Aminosäuren, Zuckern und Fetten in allen Arten von Transportern zugrunde zu liegen. Das NHE-Molekül in Spermien weicht jedoch von dieser Regel ab. Viele Transportmoleküle werden aktiviert. Bei Ionenkanälen

spricht man von gesteuerten Kanälen, im Englischen *gating*, da eine Art Tor geöffnet wird, durch das Ionen strömen können. Bei Ionenkanälen wird die Pore, durch die die Ionen wandern können, tatsächlich durch ein physisches Tor blockiert. Das Tor kann durch Membranspannung oder chemische Liganden geöffnet werden. Welcher Mechanismus aktiviert Transporter und setzt die Schaukelbewegung in Gang? Es sind die Ionen selbst! Wenn sie an das Transportmolekül binden, verändern sie gleichzeitig dessen Struktur: die Stelle, an die sie binden, bewegt sich auf und ab und trägt das Ion mit sich wie in einem Aufzug.

Beim Na⁺/H⁺-Austauscher in Spermien ist dieser Steuermechanismus anders. Der Aus-

tauscher verfügt über zwei weitere Domänen, die wir von Ionenkanälen kennen: eine Spannungsfühler-Domäne (voltage-sensing domain, kurz VSD) und eine Domäne, die zyklische Nukleotide bindet (cyclic nucleotide-binding domain, kurz CNBD) (Abb. 2). Diese Beobachtung war sehr überraschend und deutete darauf hin, dass diese zusätzlichen Domänen etwas mit dem Steuerungsprozess des NHE-Moleküls zu tun haben.

NHE-Moleküle in Spermien von Säugetieren wurden zwar bereits 2004 entdeckt, ihre Eigenschaften blieben jedoch unbekannt, da die entsprechenden Säugetiergene nicht in Zelllinien exprimiert werden konnten und die Charakterisierung in Spermien technisch schwierig war. Daher haben wir NHE-Moleküle aus anderen Tierarten getestet, um zu überprüfen, ob diese funktionell exprimiert werden können. Mit dem Austauscher aus den Spermien des Seeigels hatten wir Erfolg.

Wir konnten zeigen, dass die NHE-Moleküle tatsächlich Na^+ - gegen H^+ -Ionen austauschen und dieser Austausch durch Veränderungen in der Membranspannung ein- und ausgeschaltet wird. Unsere spannendste Entdeckung war jedoch, dass wir – *en passant* – die Funktion des zellulären Botenstoffs cAMP in Spermien des Seeigels aufdecken konnten. Es ist zwar schon seit fast 40 Jahren bekannt, dass cAMP irgendwie am Signalweg beteiligt ist, die genaue Funktion konnte aber bislang nicht entschlüsselt werden. Unsere Arbeit hat gezeigt, dass cAMP den Austauscher empfindlicher macht und

der Ionentransport durch kleinere Spannungssprünge eingeschaltet werden kann. Bereits vor Jahren hatten wir einen ähnlichen Mechanismus im Schrittmacher-Kanal des Herzens entdeckt [2]. Man kann also auch hier von einem *Déjà-vu* sprechen. Der Austauscher ist im Grunde eine Chimäre aus Transportern und Kanälen. Eine der spannendsten Fragen ist diese: Wie können ein Spannungssensor und eine cAMP-bindende Domäne zwei so unterschiedliche Mechanismen des Ionentransports steuern? Die Aufklärung der dreidimensionalen Architektur durch biologische Strukturforschung wird hoffentlich eine Antwort auf die Frage liefern, wie sich die verschiedenen Ionentransportmechanismen im Laufe der Evolution entwickelt haben.

Literatur

1. Windler, F., Bönigk, W., Körschen, H.G., Grahn, E., Strünker, T., Seifert, R., Kaupp, U.B. (2018). The solute carrier SLC9C1 is a Na^+/H^+ -exchanger gated by an S4-type voltage-sensor and cyclic-nucleotide binding. *Nat. Commun.* 9, 2809.
2. Gauss, R., Seifert, R. and Kaupp, U.B. (1998). Molecular identification of a hyperpolarization-activated channel in sea urchin sperm. *Nature* 393, 583-587.



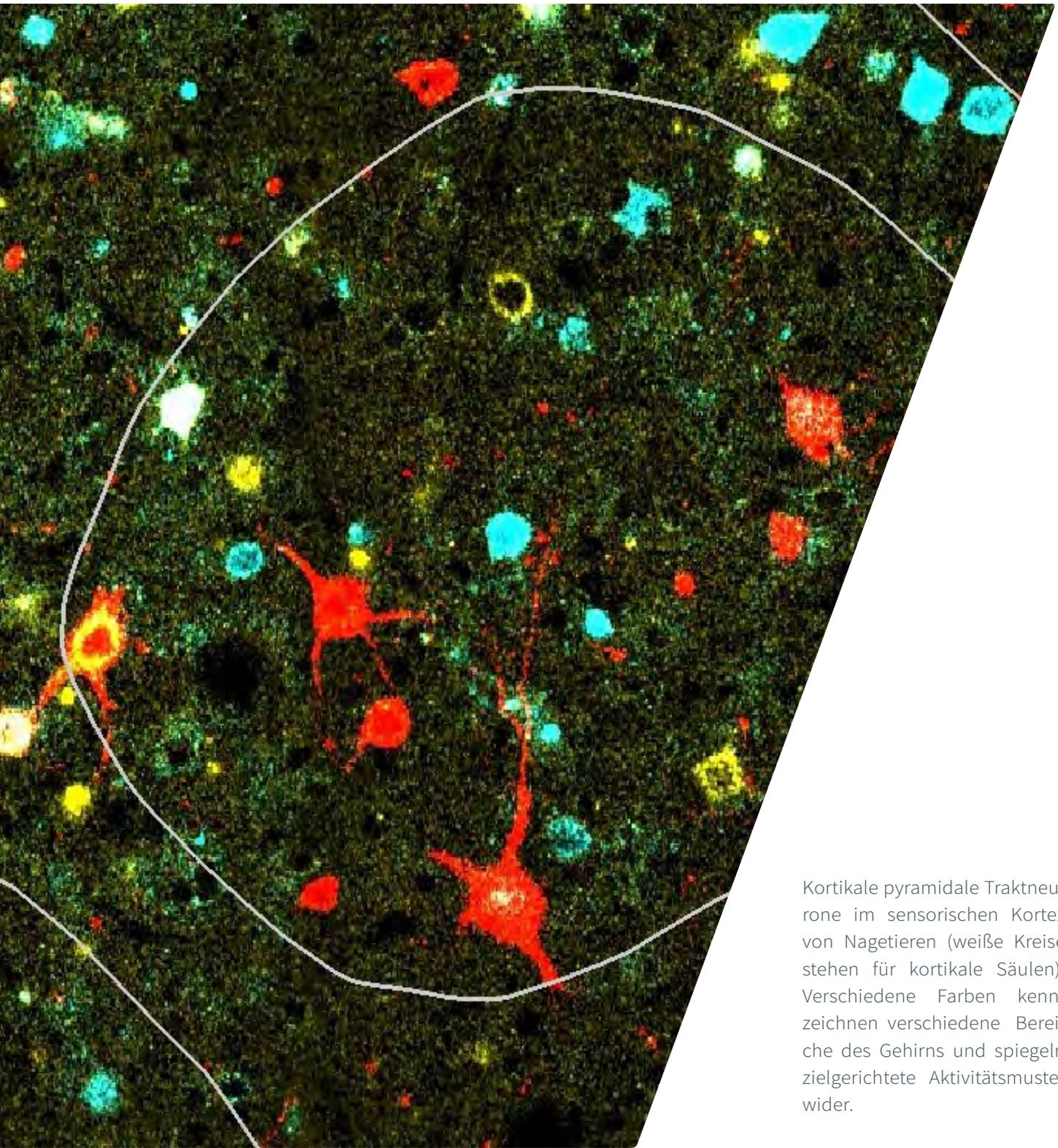
Über die Emeritus-Gruppe: Molekulare Neurosensorik

Wir untersuchen die Signalverarbeitung in Zellen. Wir wollen verstehen, wie sensorische Reize von Zellen erkannt und in Zellreaktionen umgewandelt werden. Um diesen komplexen Vorgang im Detail verstehen zu können, nutzen wir biologische, chemische und physikalische Verfahren. Biologen, Chemiker und Physiker arbeiten daher in der Abteilung eng zusammen.

Ziel unserer Forschungsarbeit ist es, die molekularen Mechanismen aufzudecken, auf denen die sensorische Signalwandlung beruht. Um das zu erreichen, untersuchen wir die Struktur, Funktion und Wechselwirkungen von Proteinen, die an diesen Prozessen beteiligt sind. Insbesondere betrachten wir Ionenkanäle, die an der Erzeugung elektrischer Signale beteiligt sind.

Eine erfolgreiche Befruchtung setzt die Fähigkeit der beweglichen Samenzelle voraus, die Eizelle zu finden. Wir erforschen die Signalwege, die der Chemosensorik von Samenzellen von Seeigeln und Menschen zugrunde liegen. Wir interessieren uns insbesondere für die Rezeptoren, zellulären Botenstoffe und Ionenkanäle, die Samenzellen mit einer derart ausgeprägten Empfindsamkeit ausstatten.

Außerdem entwickeln wir optische Schalter, die für die photonische Steuerung von Rezeptoren und Ionenkanälen eingesetzt werden. Mit Hilfe von zusammengesetzten „Trojanischen Pferden“ können Signalwege in Zellen sehr genau zeitlich und räumlich verfolgt werden. Diese so genannten „caged compounds“ werden eingesetzt, um Konformationsänderungen in Proteinen zeitlich und räumlich zu verfolgen.



Kortikale pyramidale Traktneurone im sensorischen Kortex von Nagetieren (weiße Kreise stehen für kortikale Säulen). Verschiedene Farben kennzeichnen verschiedene Bereiche des Gehirns und spiegeln zielgerichtete Aktivitätsmuster wider.

Wie der Neokortex sensorische Information in motorische Signale umwandelt

Pyramidale Traktneurone (PTs) – der wichtigste Zelltyp, der Information aus dem Neokortex an andere Hirnareale sendet – kombinieren Eingangssignale aus dem Thalamus mit kortikalen Aktivitätsmustern und wandeln so sensorische Informationen in Signale um, die sich nach der jeweiligen Zielregionen der PTs unterscheiden.

Von Dr. Marcel Oberlaender | Max-Planck-Forschungsgruppe: In Silico Brain Sciences

Der Neokortex ist im Säugetiergehirn der Teil, der an höheren Funktionen beteiligt ist, wie zum Beispiel der sensorischen Wahrnehmung, den kognitiven Prozessen und der Generierung motorischer Befehle. 2017 konnten wir grundlegende Prinzipien beschreiben, nach denen kortikale Schaltkreise sensorische Informationen aus unterschiedlichen Stimuli vernetzen, diesen Input in Aktivitätsmuster umwandeln, die der jeweiligen Zielregionen im Gehirn entsprechen und ermitteln, welche dieser Zielregionen an der motorischen Steuerung beteiligt sein können.

Hintergrund

Nagetiere bewegen aktiv die Tasthaare (Vibrissen) in ihrem Gesicht, um ihre Umwelt zu erkunden. Das Vibrissensystem ist deshalb

ein verbreitetes Modellsystem, um die Prinzipien zur Verarbeitung sensorischer Informationen, zur motorischen Steuerung und dem Zusammenspiel zwischen sensorischen und motorischen Netzwerken zu untersuchen. Aktuelle Studien konnten einen detaillierten Einblick in jene Netzwerke liefern, durch die rhythmische Tasthaar-Bewegungen auf Ebene des Hirnstamms gesteuert werden. Außerdem gibt es immer mehr Hinweise darauf, dass das Zusammenspiel verschiedener kortikaler Netzwerke mit diesen Strukturen des Hirnstamms eine entscheidende Rolle für sensomotorische Reaktionen bei Erkundungsverhalten spielen könnten. Die Gruppe „In Silico Brain Sciences“ hat deshalb in einer aktuellen Forschungsreihe die strukturelle und funktionelle Basis von kortikalen sensomotorischen Reaktionen im Tasthaarsystem von Nagetie-

ren untersucht. Für diese Forschungsarbeit haben wir uns auf den Hauptzelltyp des Neokortex konzentriert, welcher Informationen in den Hirnstamm weiterleitet: pyramidale Traktneurone (PTs). PTs kombinieren sensorische Signale aus thalamokortikalen (TC) Schaltkreisen mit lokalen und weitreichenden intrakortikalen (IC) Schaltkreisen und senden die Ergebnisse dieses Integrationsprozesses an verschiedene Zielregionen im Gehirn (z. B. den Hirnstamm).

Wie sensorische Eingangssignale die Aktivität von PTs steuern

Der Ursprung der sensorisch hervorgerufenen Aktivität der PTs ist mit Hilfe der derzeit bekanntesten Konzepte über die Struktur und Funktion neuronaler Schaltkreise nicht zu verstehen. Um zu untersuchen, wie PTs reizspezifische (z. B. in diesem Fall von verschiedenen Tasthaaren) synaptische Eingangssignale kombinieren und in kortikale Ausgangssignale umwandeln, haben wir ein Multi-Scale-Modell entwickelt, das als die bislang umfassendste digitale Darstellung der Schaltkreise des Kortex anzusehen ist.



Die Daten haben gezeigt, dass diese Nervenzellen die kürzeste Verbindung zwischen dem Neokortex und Tasthaarmuskeln herstellen.

Wir zeigen, dass das Modell *in-silico*-Experimente ermöglicht, also Simulationen, welche Aktivitätsmuster generieren, die mit den experimentellen Beobachtungen übereinstimmen. Die Simulationen haben gezeigt, dass kortikale Ausgangssignale durch eine reizspezifische Kombination synaptischer TC- und IC-Eingangssignale entstehen. Es hat sich gezeigt, dass die Populationen, von denen in der Vergangenheit angenommen wurde, dass sie sensorisch hervorgerufene Aktivität in PTs erzeugen, über strukturelle und / oder funktionelle Eigenschaften verfügen, die prinzipiell verhindern, dass sie PTs steuern können. Unsere Erkenntnisse führen zu einer neuen Theorie, die eine wesentliche Erweiterung der bisherigen Konzepte zur Organisation neuronaler Schaltkreise im Kortex darstellt [1].

Sensorisch erzeugte Aktivitätsmuster in PTs sind Zielregion-spezifisch

Jüngste Studien haben Hinweise darauf geliefert, dass kortikale Neurone in Abhängigkeit der Gehirnbereiche, in die sie Informationen senden, bei der Verarbeitung sensorischer Reize unterschiedliche Funktionen einnehmen könnten. Wir haben daher diese Zielregion-spezifische Aufteilung in mehrere funktionelle Kanäle untersucht. Aufgrund des Mangels an genetischen oder molekularen Markern, die mit den jeweiligen Zielregionen der PTs übereinstimmen, und aufgrund der weiten Entfernungen zu und zwischen den verschiedenen subkortikalen Zielbereichen, konnten bisher keine elektrophysiologischen Messungen *im lebenden Organismus* gemacht werden, die gleichzeitig

die jeweilige Zielregion der untersuchten PTs bestimmen ließen.

Um diese Einschränkungen zu überwinden, haben wir retrograde Tracer in mehrere subkortikale Bereiche injiziert, die Aktivität dieser retrograd markierten PTs vermessen und deren jeweilige dendrische Struktur rekonstruiert. Wir haben festgestellt, dass die Position der Zellkörper und die Verteilung der Dendriten es ermöglichen, die jeweiligen Zielregionen von PTs vorherzusagen und dass ihre jeweiligen Aktivitätsmuster sich ebenfalls nach der Zielregion richten. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass PTs verschiedene Stimulus-Eigenschaften aus kortikalen Netzwerken extrahieren könnten [2].

Die Strukturelle Basis, aufgrund der PTs sensorische in motorische Signale umwandeln

Um zu untersuchen, ob PTs tatsächlich in verschiedene Netzwerke mit jeweils unterschiedlicher Funktion eingebettet sind, und um zu analysieren, welche dieser Netzwerke an der motorischen Steuerung der Tasthaare beteiligt sein könnten, haben wir die strukturelle Organisation von neuronalen Netzwerken im gesamten Gehirn rekonstruiert, welche mit der Tasthaar-Muskulatur zusammenhängen.

Zu diesem Zweck haben wir retrograde Tracer in die intrinsischen Muskeln injiziert, mit

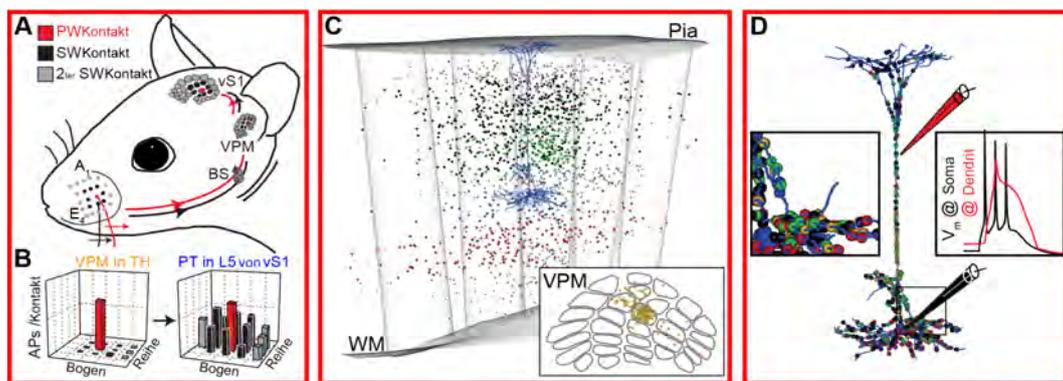


Abbildung 1: a. Schematische Darstellung der sensorischen Netzwerke, welche die durch Tasthaare induzierte Aktivität in PTs des vS1 hervorrufen. b. PT in vS1 reagieren auf die Berührung mehrerer Tasthaare, während ihre TC-Eingangs-Neurone nur auf ein einzelnes Tasthaar reagieren. c. Multi-Scale-Modell der TC- und IC-Netzwerke. TC- und IC-Neurone (je nach Zelltyp farbig gekennzeichnet), die den Signaleingang für PTs während der Simulationen liefern (blau). d. Zelltypspezifische Synapsen, die die durch Tasthaare hervorgerufenen Aktivitätsmuster während der Simulation ergeben (rechte Seite) [1].

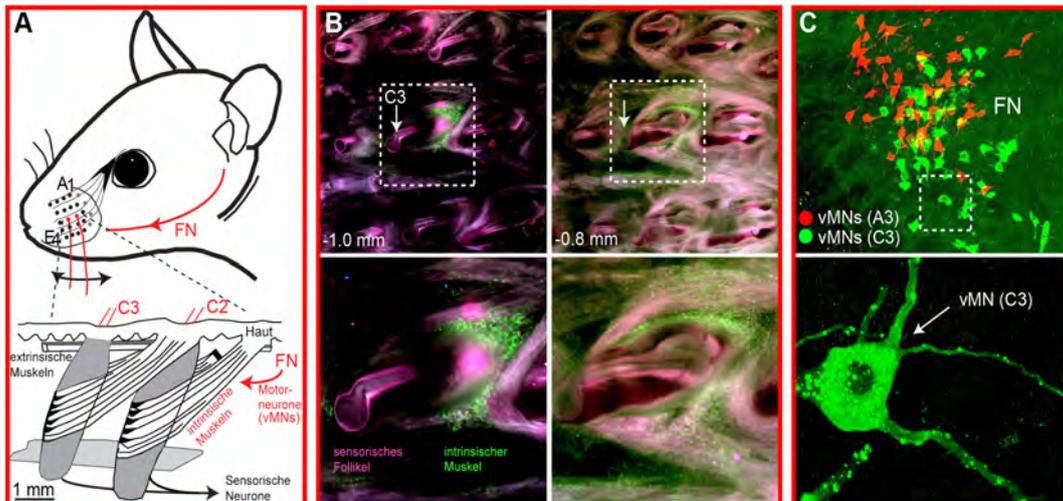


Abbildung 2: a. Schematische Darstellung der Muskulatur, auf der die motorische Steuerung der Tasthaare basiert. b. Injektionen von retrograden Tracern wurden in die intrinsischen Muskeln einzelner Tasthaare gesetzt. Die oberen Abbildungen zeigen die Injektion (weißer Pfeil) in den Muskel des Tasthaars C3. Untere Abbildungen: Vergrößerung der oberen Abbildung. Der Tracer verteilt sich nur innerhalb des Muskels, in den er injiziert wurde. c. Obere Abbildung: Die retrograden Tracer infizieren vMNs, die die jeweiligen injizierten Tasthaar-Muskeln steuern. Untere Abbildung: Vergrößerung eines retrograd infizierten vMNs. Die Abbildungen wurden übernommen und angepasst aus [2].

denen ein einzelnes Tasthaar bewegt wird. So konnten wir eine kleine Population Tasthaar-spezifischer Motoneurone (vMNs) markieren und trans-synaptische Neurone im Hirnstamm und im Kortex identifizieren, die Informationen an diese vMNs liefern. Die Daten haben gezeigt, dass eine Untergruppe von PTs in vS1, Ausgangssignale an Neurone im trigeminalen Komplex des Hirnstamms liefert. Im Vergleich zu allen anderen Neuronen im Neokortex stellen diese PTs somit die kürzeste synaptische Verbindung zu den Tasthaar-Muskeln dar. Auf Grundlage dieser Beobachtungen konnten wir unser digitales Modell des Kortex um die subkortikalen Netzwerke der Bewegungssteuerung der Tasthaare erweitern, was eine notwendige Voraussetzung sein wird, um die grundlegenden

Prinzipien aufzuzeigen, mit denen der Kortex (z. B. PTs in vS1) sensorische Informationen in motorische Signale umsetzen kann [3].

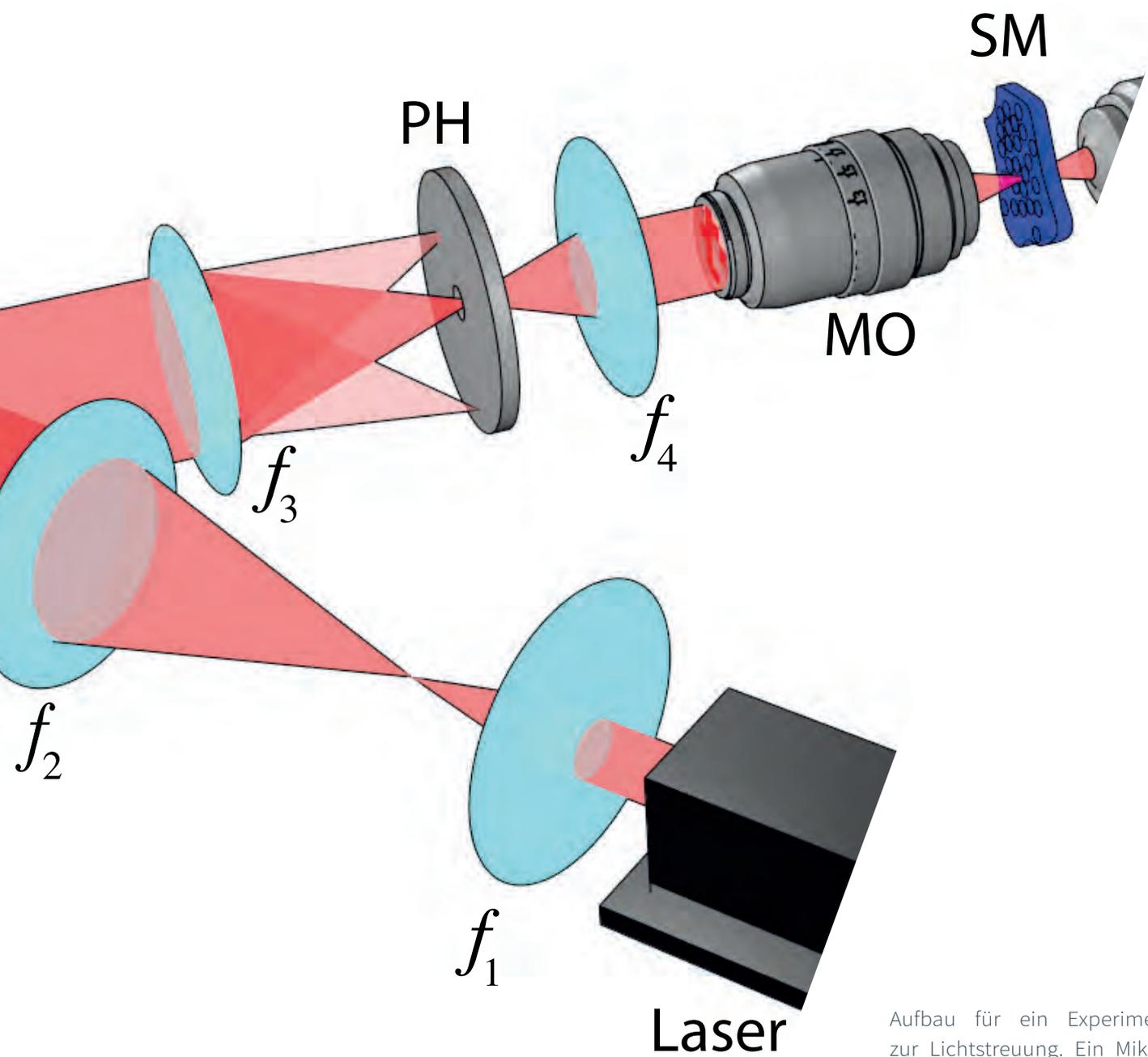
Literatur

1. Egger, R., Narayanan, R. T., Bast, A., Udvary, D., De Kock, C.P., and Oberlaender, M. (2018). Cortical output is driven by transcolumnar pathways in deep layers. under review.
2. Rojas-Piloni, G., Guest, J.M., Egger, R., Johnson, A.S., Sakmann, B., and Oberlaender, M. (2017). Relationships between structure, in vivo function and long-range axonal target of cortical pyramidal tract neurons. *Nat Commun* 8, 870.
3. Guest, J.M., Seetharama, M.M., Wendel, E.S., Strick, P.L., and Oberlaender, M. (2018). 3D reconstruction and standardization of the rat facial nucleus for precise mapping of vibrissal motor networks. *Neuroscience* 368, 171-186.



Über die Max-Planck-Forschungsgruppe: In Silico Brain Sciences

Eine der größten Herausforderungen der neurowissenschaftlichen Forschung besteht darin, mechanistische Prinzipien zu erklären, nach denen das Gehirn sensorische Informationen in Signale umwandelt, welche dann Verhalten hervorrufen können. Derzeit mangelt es an experimentellen Methoden, um sensorisch hervorgerufene Aktivitätsmuster im gesamten Gehirn, und mit zellulärer bzw. Milisekundenauflösung direkt zu beobachten. Um diese Einschränkungen zu überwinden, befasst sich die Max-Planck-Forschungsgruppe: In Silico Hirnforschung damit, einen alternativen Ansatz zu entwickeln. Für diesen Ansatz werden elektrophysiologische Messungen im intakten Gehirn (*in vivo*) mit Rekonstruktionen der detaillierten dreidimensionalen Anatomie lokaler und langreichweitiger neuronaler Netzwerke kombiniert. Die Messungen liefern die strukturelle und funktionale Basis für digitale Modelle von neuronalen Schaltkreisen, die denen im Gehirn entsprechen. Am Beispiel des Tasthaar-Systems bei Nagetieren, wird dieser Ansatz derzeit genutzt, um anatomisch und physiologisch realistische Modelle der Regionen des Hirnstamms, Thalamus und Kortex zu erstellen, die im Zusammenhang mit dem Tasthaar-System stehen. Mit den Modellen lassen sich Computersimulationen durchführen (*in silico*), die die Aktivitätsmuster *im lebenden Organismus* nachahmen, und so neue Erkenntnisse über grundlegende Prinzipien der sensorischen Informationsverarbeitung liefern können.



Aufbau für ein Experiment zur Lichtstreuung. Ein Mikrospiegelaktor (digital micromirror device, DMD) verändert die Wellenfront eines Laserstrahls, sodass er ein streuendes Material durchdringen kann.

Optische Mikroskopie bei Fruchtfliegen

Durch Lichtstreuung ergeben sich Einschränkungen für viele Anwendungen, die auf eine kontrollierte Ausbreitung von Licht angewiesen sind, wie zum Beispiel für die optische Mikroskopie, aber auch in anderen Bereichen, in denen Licht zum Zweck der Bildgebung, Detektion oder Manipulation gesteuert werden muss. Wir haben einen Ansatz basierend auf maschinellem Lernen entwickelt, um die Kontrolle von Licht unter Streuungsbedingungen zu verbessern.

von Dr. Johannes Seelig | Max-Planck-Forschungsgruppe: Neuronale Schaltkreise

Wir verwenden optische Mikroskopietechniken, wie die Zwei-Photonen-Kalzium-Bildgebung sowie elektrophysiologische Ableitungen um zu verstehen, wie sich neuronale Netzwerke im Gehirn im Laufe unterschiedlicher Zeiträume verändern – vom Millisekundenbereich einzelner Neuronenbewegungen bis hin zur Größenordnung langsamerer Verhaltensanpassungen, die im Zusammenhang mit dem Tag- und Nacht-Rhythmus stehen. Für unsere Forschung konzentrieren wir uns auf den Modellorganismus *Drosophila melanogaster*, in dem wir umfangreiche neuronale Netzwerke untersuchen können, auf denen adaptives Verhalten beruht. Die Fliege zeigt diverse komplexe Verhaltensweisen, wie das visuelle Erkennen von Mustern – zum Beispiel kann sie lernen, ein aufrechtes „T“ von einem

umgekehrten „T“ zu unterscheiden – oder die visuell gestützte Orientierung, wofür sie sich an einen Ort in Hinblick auf optische Orientierungspunkte in der Umgebung erinnert. Molekulare, strukturelle und funktionelle Ähnlichkeiten zwischen neuronalen Schaltkreisen bei verschiedenen Arten weisen darauf hin, dass bei der Fliege gewonnene Erkenntnisse über die Berechnungen, die solchen Verhaltensweisen zugrunde liegen, zu unserem Verständnis des Säugetiergehirns auch beitragen werden [1].

Werkzeuge für die nicht-invasive Bildgebung von Gewebe

Dynamische, strukturelle oder funktionelle Veränderungen, die im gesamten Nerven-

system der Fliege auftreten, *im lebenden Organismus* mit beugungsbegrenzter Auflösung zu beobachten, stellt uns jedoch – insbesondere über längere Zeiträume – vor diverse technische Herausforderungen. Das liegt daran, dass das Nervensystem der Fliege in mehrere Gewebeschichten eingebettet ist und durch eine Kutikula geschützt wird. Durch die Kombination dieser Schichten wird Licht stark gestreut und so der direkte optische Zugang zum Gehirn und zu anderen Teilen des Nervensystems verhindert. Deshalb werden für die optische Mikroskopie der Fliege üblicherweise Teile der Kutikula und des darunter liegenden Gewebes entfernt, um optischen Zugang zu erhalten. Allerdings ist dieses Vorgehen invasiv und es verkürzt die Lebenszeit des Tiers.

Das Problem des begrenzten nicht-invasiven Zugangs zum Gewebe tritt bei optischer Mikroskopie grundsätzlich auf, da die Tiefe der Bildgebung durch Lichtstreuung eingeschränkt ist. Wenn Licht sich in Gewebe (oder einem anderen nicht-homogenen Material) verteilt, führen leichte Variationen der optischen Eigenschaften des Materials, zum Beispiel zwischen unterschiedlichen Zellen, zu einer Streuung des Lichts und einer Verzerrung der sich verteilenden Wellenfront (ein vertrautes Beispiel hierfür ist die verringerte Sicht bei Nebel). Wenn Licht tiefer in Gewebe eindringt, verhindern diese Verzerrungen letztendlich, dass ein Bild erzeugt werden kann.

Adaptive Optik kompensiert Lichtstreuung

Es wurden viele Techniken entwickelt, um



Wir haben festgestellt, dass effiziente Modelle zur Lichtstreuung mit einer Reihe von Netzwerkarchitekturen erstellt werden können.

das Problem der Lichtstreuung in Gehirngewebe zu überwinden [2, 3]. Ein Ansatz, der zum Beispiel zum Erfolg der Multiphotonenmikroskopie beiträgt, basiert auf der Verwendung von Licht mit einer längeren Wellenlänge, das weniger stark streut. Alternative und ergänzende Techniken, die auf Licht aller Wellenlängen angewandt werden können, werden unter der Bezeichnung adaptive Optik zusammengefasst. Diese Technik hat ihren Ursprung in der Astronomie – wo die Streuung in der Atmosphäre die Qualität der Bilder von terrestrischen Teleskopen mindert – und wurde mit dem Ziel entwickelt, solche Verzeichnungen zu kompensieren. Dies wird dadurch erreicht, dass die Wellenfront so geformt wird, dass sie die Verzeichnungen ausgleicht, denen sie auf ihrem Weg durch das streuende Material begegnet.

Techniken der adaptiven Optik können der Stärke des Streuungseffekts angepasst werden, den sie kompensieren sollen. Man kann grob zwischen zwei Kategorien unterscheiden – schwache und starke Streuung – für die normalerweise unterschiedliche Ansätze erforderlich sind, um eine geeignete Korrektur der Wellenfront zu bestimmen. Während bei leichter Streuung ein Fokus im Wesentlichen erhalten bleibt und Licht aus dem Fokusbereich gesammelt werden kann, führt eine starke Streuung zu einem verbreiteten

körnigen Störmuster, einem so genannten Specklemuster, das keine räumlich oder zeitlich lokalisierte Lichtverteilung widerspiegelt, die für Anwendungen aus der Bildgebung geeignet ist. Dennoch enthalten solche gestreuten Lichtverteilungen Informationen über den ihnen zugrunde liegenden Streuungsprozess. Die größte Herausforderung im Bereich der adaptiven Optiken liegt darin, die geeignete Form der Wellenfront für die Streuungskorrektur zu bestimmen. Diesem Thema widmen wir uns derzeit in unserer Forschungsarbeit.

Neuronale Netzwerke für die Lichtkontrolle in streuenden Materialien

Wir haben untersucht, ob Werkzeuge aus dem Bereich des maschinellen Lernens und insbesondere Techniken aus dem Bereich neuronaler Netzwerke, die sich in den vergangenen Jahren als effiziente Werkzeuge für die Bildverarbeitung in vielen unterschiedlichen Situationen bewährt haben, für die Analyse von Specklemustern genutzt wer-

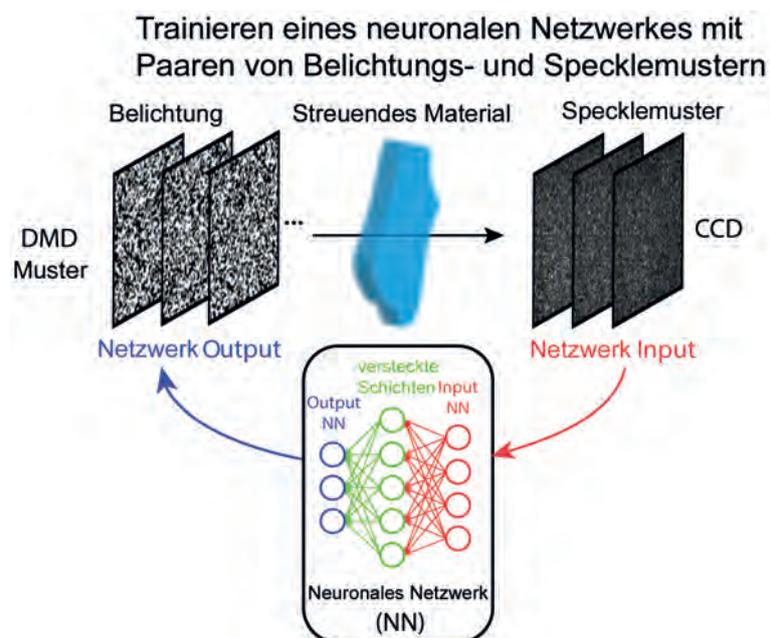


Abbildung 1: Ein neuronales Netzwerk (NN) wird mit Paaren von Belichtungs- und Specklemustern trainiert. Das Specklemuster wird als Input des Netzwerkes und die Belichtung als Output verwendet. Sobald das NN trainiert ist, wird es verwendet um die Belichtung zu ermitteln, die erforderlich ist, um ein Zielmuster nach dem streuenden Material zu erzeugen (nach [4]).

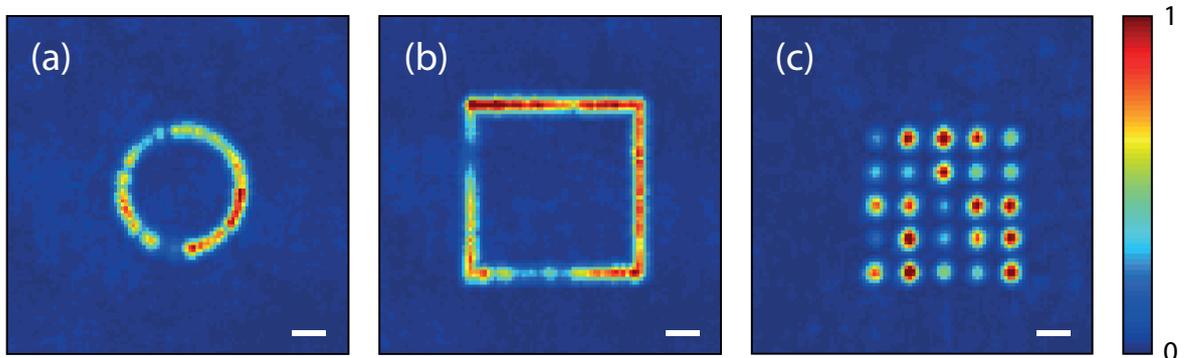


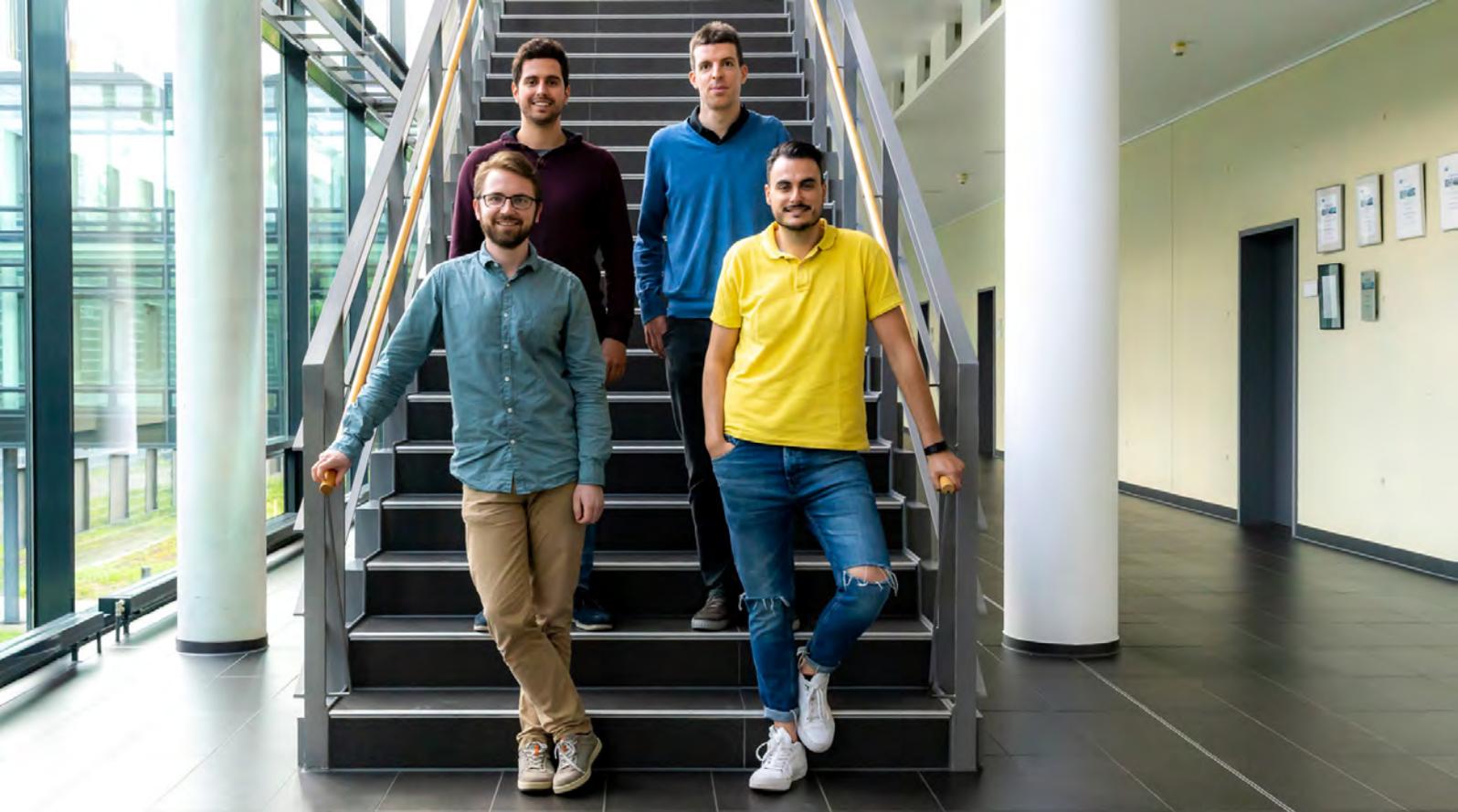
Abbildung 2: Projektionen eines einzelnen Brennpunkts mit maximaler Intensität, mit trainiertem SLNN durch einen streuenden Glas-Diffusor gescannt, in Form von (a) einem Kreis, (b) einem Quadrat und (c) einem Raster von 5 x 5 Punkten.

den können. Für diesen Ansatz mit neuronalen Netzwerken belichten wir die Probe des streuenden Materials mit vielen zufällig erzeugten Belichtungsmustern und zeichnen die entstehenden Speckle-Bilder auf (siehe Abb.1, nach [4]). Diese Datensätze haben wir in neuronale Netzwerke einfließen lassen, um eine funktionale Beziehung zwischen dem ursprünglichen Belichtungsmuster und der gestreuten Lichtverteilung herzuleiten. Hierbei haben wir festgestellt, dass Modelle zur Lichtstreuung mit einer Reihe von Netzwerkarchitekturen erstellt werden können [4]. Für unsere Experimente haben wir zwei übliche Netzwerke, neuronale Einschichtnetze (SLNN) und gefaltete neuronale Mehrschichtnetze (CNN), verwendet. Die SLNN-Modelle zu trainieren hat nur einige zehn Sekunden gedauert, während für die CNN eine zusätzliche Vortrainingsphase von etwa 20 Minuten erforderlich war. Es stellte sich heraus, dass lineare Netzwerke für die Streuungskontrolle ideal sind, da sie bei den verwendeten Proben die linearen Eigenschaften der Streuung nutzen (siehe Abb. 2, nach [4]), während CNN

geringeren Einschränkungen durch Annahmen über die Art des zugrundeliegenden physikalischen Prozesses unterliegen, was sich in der Praxis als vorteilhaft herausstellen könnte. Diese Experimente zeigen die vielseitigen Möglichkeiten von neuronalen Netzwerken für die Streuungskontrolle und wir werden diese Techniken nun weiter verbessern, um sie für die Bildgebung im Gehirn einsetzen zu können.

Literatur

1. Seelig, J.D., and Jayaraman, V. (2015). Neural dynamics for landmark orientation and angular path integration. *Nature* 521, 186-191.
2. Ji, N. (2017). Adaptive optical fluorescence microscopy. *Nat Methods* 14, 374-380.
3. Rotter, S., and Gigan, S. (2017). Light fields in complex media: Mesoscopic scattering meets wave control. *Rev Mod Phys* 89.
4. Turpin, A., Vishniakou, I., and Seelig, J.D. (2018). Light control through scattering media with neural networks. *under review*.



Über die Max-Planck-Forschungsgruppe: Neuronale Schaltkreise

Wir setzen optische Mikroskopieverfahren, wie zum Beispiel die Zwei-Photonen-Kalzium-Bildgebung, sowie Patch-Clamp-Aufnahmen ein, um zu verstehen, wie sich neuronale Netzwerke im Gehirn – von einzelnen Synapsen bis hin zu ganzen Schaltkreisen – im Laufe der Zeit verändern und inwiefern solche Veränderungen im Zusammenhang zu Verhalten stehen. Für unsere Forschung konzentrieren wir uns auf den Modellorganismus *Drosophila melanogaster*, in dem wir umfangreiche neuronale Netzwerke untersuchen können, auf denen adaptives Verhalten beruht. Wir werten die Daten aus unseren Experimenten mit Hilfe von Berechnungsmodellen der Dynamik einzelner Zellen und neuronaler Netzwerke aus. Molekulare, strukturelle und funktionelle Ähnlichkeiten zwischen neuronalen Schaltkreisen bei verschiedenen Arten weisen darauf hin, dass im Fliegenhirn gewonnene Erkenntnisse zu unserem Verständnis des Säugetiergehirns beitragen.

In einem zweiten Forschungsschwerpunkt nutzen und entwickeln wir neuartige Verfahren der optischen Mikroskopie mit dem Ziel, die zeitliche und räumliche Auflösung funktioneller Bildgebung bei Tieren während des Verhaltens im virtuellen Umfeld zu optimieren.

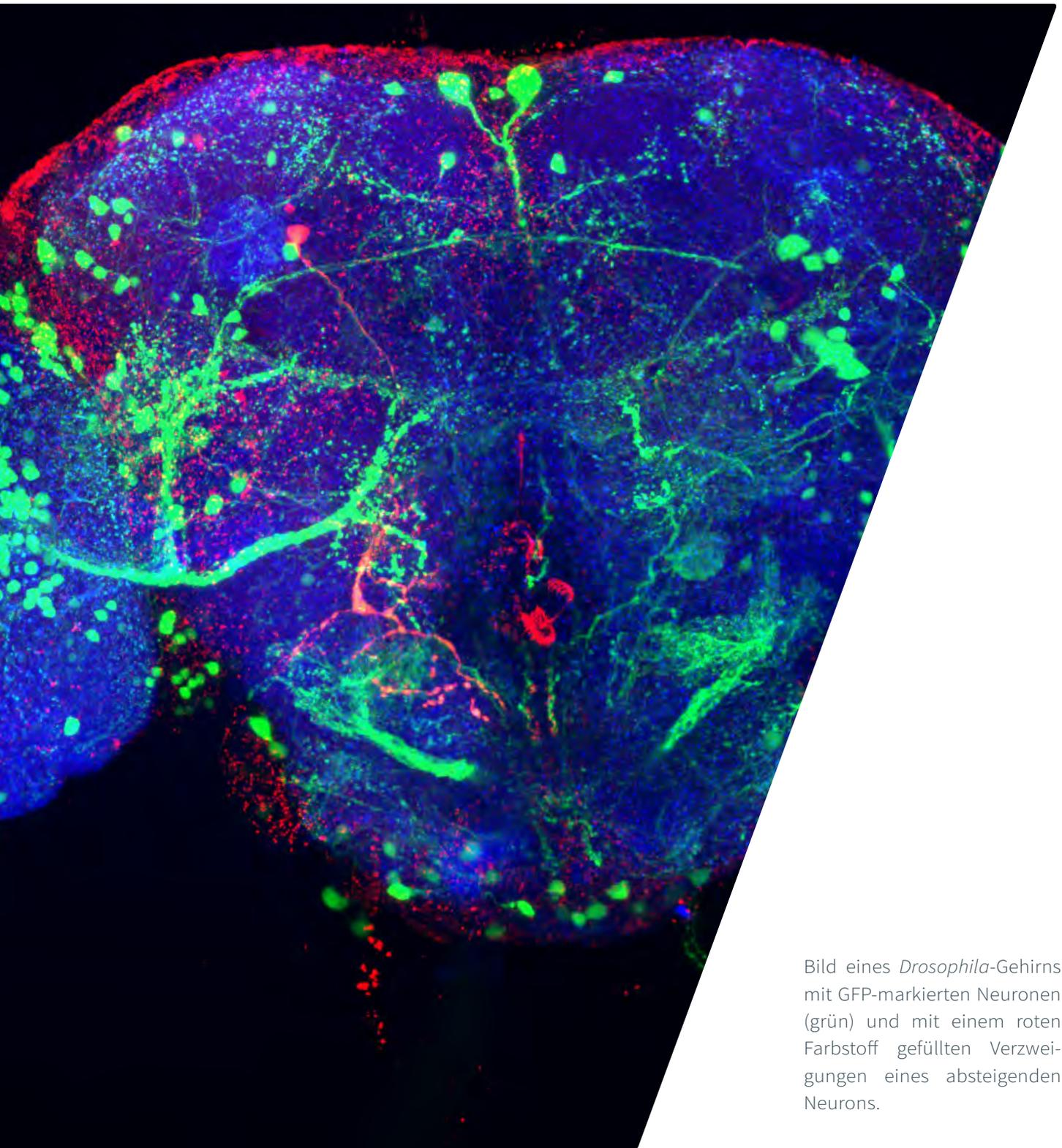


Bild eines *Drosophila*-Gehirns mit GFP-markierten Neuronen (grün) und mit einem roten Farbstoff gefüllten Verzweigungen eines absteigenden Neurons.

Wenden oder nicht wenden, das ist hier die Frage

Zu verstehen, wie Verhalten durch das Gehirn gesteuert wird, ist eines der Hauptziele der Neurowissenschaften. Diese Frage untersuchen wir an der Fruchtfliege *Drosophila*, indem wir die Neurone analysieren, die an der Steuerung von Lenkmanövern im Flug beteiligt sind.

von Dr. Bettina Schnell | Emmy-Noether-Gruppe: Neurobiology of Flight Control

Um durch die Welt zu navigieren, sind Tiere stark auf sensorische Reize angewiesen, die z. B. auf Hindernisse, Nahrungsquellen, potenzielle Paarungspartner oder Raubtiere hinweisen können. Wie ein Tier auf solche Reize reagiert, hängt stark von seinem Verhaltens- und Motivationszustand ab. Das Hauptinteresse der Forschungsgruppe „Neurobiology of Flight Control“ besteht darin herauszufinden, wie das Nervensystem eine angemessene Reaktion auf sensorische Reize auswählt und steuert. Wir verwenden die Flugmanöver der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* als Modellsystem, um diese Frage zu untersuchen.

Visuell hervorgerufene Flugmanöver

Fliegen haben einen besonderen Flugstil aus Strecken geraden Flugs mit eingestreuten, schnellen Richtungswechseln, die man Sakkaden nennt. Um eine gerade Flugbahn auch bei Störungen (z. B. Wind) zu stabilisieren,

stützen sich Fliegen stark auf visuelle Informationen, die durch ihre eigene Flugbewegung entstehen, den so genannten optischen Fluss. Mit Hilfe optomotorischer Reaktionen gleichen Fliegen Abweichungen von der geraden Flugbahn aus, indem sie in Richtung der großflächigen visuellen Bewegung wenden. Drehungen um die vertikale Körperachse als Reaktion auf horizontale Bewegung können im stationären Flug gemessen werden, indem man den Unterschied zwischen der Amplitude des Flügelschlags des linken und rechten Flügels beobachtet (L-R WSA).

Auch Richtungsänderungen können durch visuelle Reize hervorgerufen werden. Größer werdende Balken oder Kreise können zum Beispiel die Annäherung möglicher Raubtiere oder eine bevorstehende Kollision nachahmen und ausweichende Wendemanöver hervorrufen. Fliegen führen aber auch spontane Sakkaden durch, die nicht direkt durch sensorische Reize hervorgerufen werden.

Das visuelle System der Fliege

Große Teile des Fliegengehirns, die optischen Loben, sind der Verarbeitung visueller Informationen gewidmet [1]. Tangentialzellen in den optischen Loben der Fliege, die so genannten Lobula-Platten-Tangentialzellen (LPTZ), wurden bereits umfangreich untersucht. Sie verfügen über große rezeptive Felder und reagieren auf richtungsselektive Weise auf großflächige Bewegungen. Es wird daher angenommen, dass auf ihnen die ausgleichenden optomotorischen Reaktionen basieren. Zu ihnen gehören die Zellen des Horizontalsystems (HS), die auf horizontale Bewegung reagieren. Neuere Forschungsarbeiten haben den Einfluss einer Efferenzkopie auf das Membranpotential von HS-Zellen während freiwilliger Wendemanöver gezeigt [2, 3]. Dieser Effekt bewirkt das richtige Signal, um Reaktionen auf die visuellen Bewegungsreize zu unterdrücken, die durch das gewollte Verhalten der Fliege erzeugt werden. LPTZs bilden Synapsen mit absteigenden Neuronen, die innerhalb des Strickleiternervensystems Informationen vom Gehirn an die Flugmuskulatur weiterleiten [4]. Es konnten jedoch bislang nur wenige absteigende Neurone der Fliege funktional beschrieben werden, darunter die DNOVS-Zellen, die auf vertikale Bewegung reagieren und die Riesenfaser, die Fluchtmanöver einleitet. Da absteigende Neurone die Ausgabeneurone des Gehirns darstellen, sind ihre Eigenschaften in Hinblick auf die durch die präsynaptischen Schaltkreise durchgeführten Berechnungen äußerst informativ.



Meine Gruppe untersucht die neuronalen Schaltkreise, die an der Steuerung der Flugbahn der *Drosophila melanogaster* beteiligt sind. Dafür verwenden wir gleichzeitig erstellte Aufzeichnungen von neuronaler und verhaltensbezogener Aktivität im fixierten Flug sowie genetische Manipulationen.

Neuronale Schaltkreise, auf denen Flugmanöver basieren

Meine Gruppe möchte die neuronalen Schaltkreise untersuchen, die an der Steuerung der Flugbahn der *Drosophila melanogaster* beteiligt sind. Dafür verwenden wir gleichzeitig erstellte Aufzeichnungen von neuronaler und verhaltensbezogener Aktivität im stationären Flug sowie genetische Manipulationen. Wir werden uns insbesondere auf absteigende Neurone konzentrieren, die an der Steuerung der Lenkmanöver im Flug beteiligt sind. Diese werden wir beschreiben, indem wir elektrophysiologisch mittels der Patch-Clamp-Technik von den Zellen ableiten. Während der Ableitung werden wir eine Reihe von sensorischen Reizen präsentieren, wie unter anderem visuelle Muster, um ihre Reaktionseigenschaften im Einzelnen zu beschreiben. Absteigende Neurone könnten entweder Informationen über sensorische Reize (z. B. Drehung der visuellen Szenerie entlang einer bestimmten Achse), beabsichtigen Verhaltens-Output (z. B. eine Drehung um

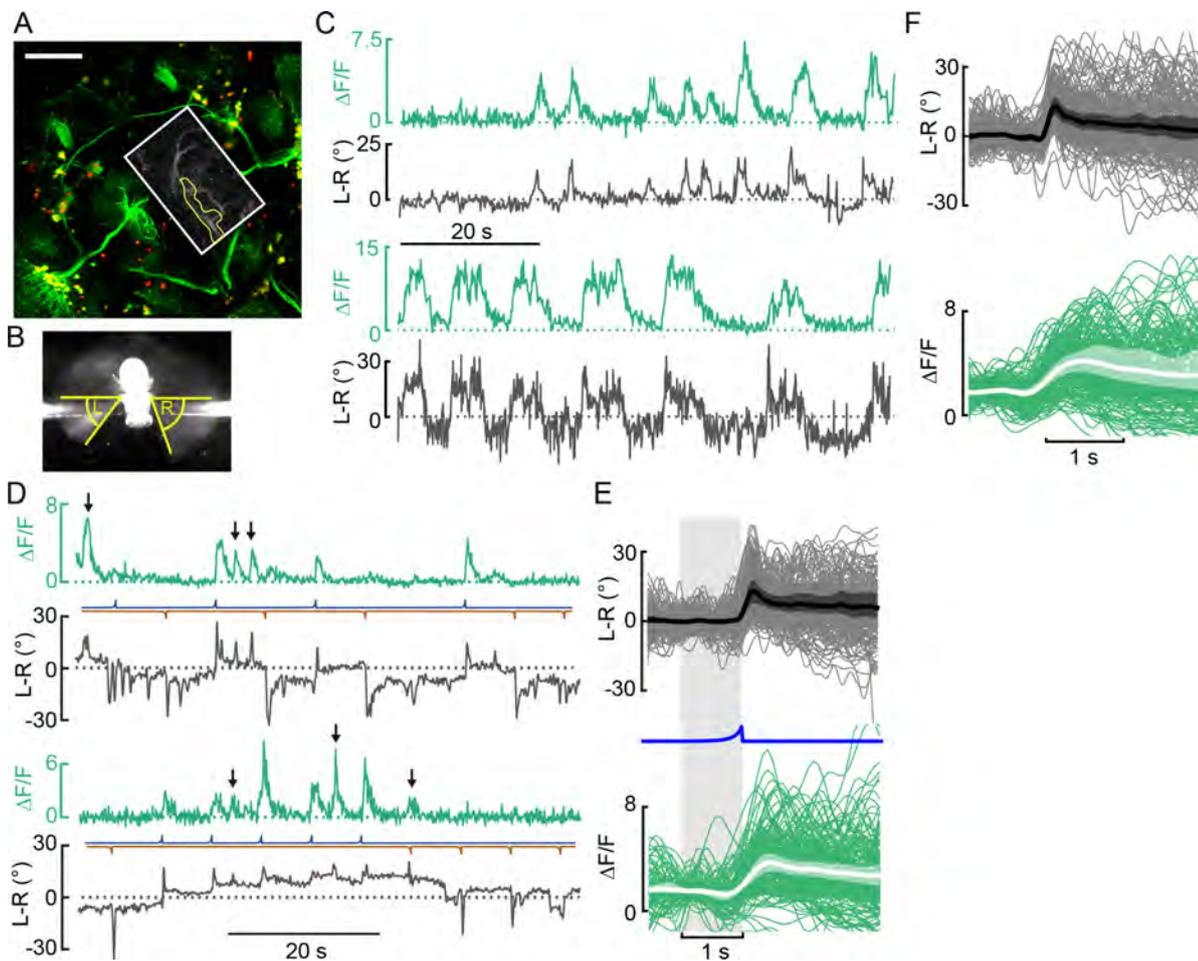


Abbildung 1: a. Maximum-Intensitäts-Projektion der GFP-Expression im ganzen Gehirn bewirkt durch das Transgen der Linie R56G08-Gal4. (Maßstabsleiste, 50 μ m). Der ungefähre Bereich der Bildgebung ist mit einem weißen Rahmen gekennzeichnet. Ein Beispielbild mit dem Bereich von Interesse ist gelb gekennzeichnet und als Einschub gezeigt. b. Von unten aufgenommenes Bild einer Fliege, das die Messung der Flügelschlag-Amplitude des linken (L) und rechten (R) Flügels zeigt (WSA). c. Repräsentative Darstellung von spontanen Änderungen von L-R WSA (L-R) und GCaMP6f -Fluoreszenz im absteigenden Neuron (Δ F/F) in Abwesenheit eines visuellen Reizes. d. Zwei beispielhafte Aufzeichnungen von Veränderungen von L-R und Δ F/F während bedrohliche Reize links (blau) oder rechts (braun) gezeigt werden. Diverse spontane Sakkaden (schwarze Pfeile) treten zwischen den bedrohlichen Reizen auf. e. Mittelwerte L-R und Δ F/F (dicke Linie) und individuelle Reaktionen (dünne Linien) auf bedrohliche Reize auf der linken Seite (blaue Linie). N = 13. f. Wie e. mit L-R und Δ F/F für spontane Sakkaden. Nach [5].

eine bestimmte Körperachse) oder bestimmte motorische Befehle (z. B. Vergrößerung der Flügelschlagsamplitude eines Flügels) kodieren. Wir werden diese Möglichkeiten unterscheiden können, indem wir neuronale Aktivität und motorischen Output während verschiedener sensorischer Reize vergleichen und indem wir genetische Techniken verwenden, die die Funktion bestimmter Neurone während des Verhaltens regulieren.

Ein absteigendes Neuron steuert Sakkaden

Während meiner Postdoktorandentätigkeit im Labor von Michael Dickinson habe ich mit der Arbeit an der Bestimmung absteigender Neurone, die an der Flugsteuerung beteiligt sind, begonnen. Mit Hilfe der Zwei-Photonen-Kalzium-Bildgebung und von elektro-physiologischen Aufnahmen der *Drosophila* im fixierten Flug habe ich ein bislang noch nicht beschriebenes absteigendes Neuron identifiziert, dessen Aktivität im Zusammenhang mit fiktiven Wendungen im fixierten Flug steht (Abb. 1) [5]. Die Aktivität der Zelle deutet darauf hin, dass sie nicht der Stabilisierung optomotorischer Reaktionen dient, sondern sakkadische Wendungen steuert, die zu einer Kursänderung führen. Sie ist sowohl bei spontanen als auch bei visuell ausgelösten Sakkaden aktiv, aber niemals wenn die Fliege gerade kein Wendemanöver durchführt. Die Aktivität dieses Neurons kann die bei der optomotorischen Reaktion beobachtete Variabilität des Verhaltens ein Stück weit erklären und scheint auszureichen, um bei künstlicher Aktivierung Wendungen hervorzurufen. Diese Arbeit stellt einen Anfangspunkt für die Erforschung der Schaltkreise dar, die den verhaltensbezogenen

Entscheidungsprozessen im Fliegengehirn zugrunde liegen.

Die Steuerung der Fortbewegung ist eine zentrale Aufgabe jedes Gehirns, die ein komplexes Zusammenspiel zwischen ausgleichenden Reflexen zur Stabilisierung der Flugbahn und Befehlen, die zu einem Richtungswechsel führen, voraussetzt. Mein Ziel ist es herauszufinden, wie dieses Zusammenspiel bewerkstelligt wird, indem ich analysiere, wie Lenkbefehle auf Ebene der absteigenden Neurone in *Drosophila* kodiert werden und wie sensorische Informationen in die Einleitung spontanen Verhaltens einfließen. Insgesamt wird die Arbeit Einblicke in die Schaltkreise und Mechanismen liefern, auf denen dieser Prozess basiert und sie hat das Potential, generelle Mechanismen aufzuzeigen, die der Steuerung komplexer Verhaltensweisen zugrunde liegen.

Literatur

1. Borst, A. (2014). Fly visual course control: behaviour, algorithms and circuits. *Nat Rev Neurosci* 15, 590-599.
2. Schnell, B., Weir, P.T., Roth, E., Fairhall, A.L., and Dickinson, M.H. (2014). Cellular mechanisms for integral feedback in visually guided behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 5700-5705.
3. Kim, A.J., Fitzgerald, J.K., and Maimon, G. (2015). Cellular evidence for efference copy in *Drosophila* visuomotor processing. *Nat Neurosci* 18, 1247-1255.
4. Hsu, C.T., and Bhandawat, V. (2016). Organization of descending neurons in *Drosophila melanogaster*. *Sci Rep* 6, 20259.
5. Schnell, B., Ros, I.G., and Dickinson, M.H. (2017). A Descending Neuron Correlated with the Rapid Steering Maneuvers of Flying *Drosophila*. *Curr Biol* 27, 1200-1205.

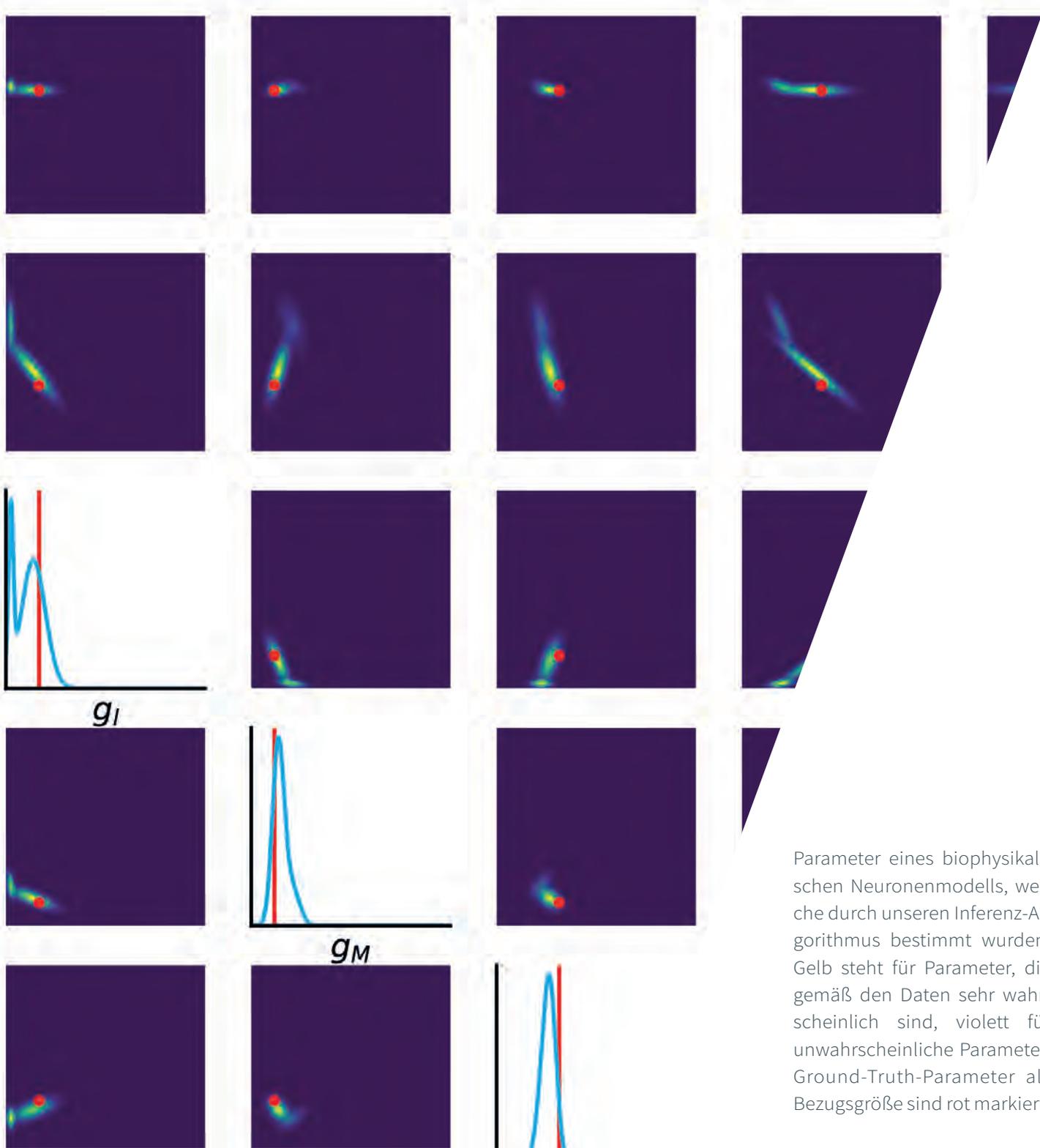


Über die Emmy-Noether-Gruppe: Neurobiology of Flight Control

Die Forschungsgruppe „Neurobiology of Flight Control“ interessiert sich dafür, wie neuronale Schaltkreise Informationen in Bewegungsbefehle integrieren, die den Verhaltens-Output steuern. Aufgrund der quantitativen Einfachheit des Fliegengehirns und seiner genetischen Zugänglichkeit nutzen wir Flugmanöver der Fruchtfliege *Drosophila* als Modellsystem.

Um die Schaltkreise zu untersuchen, auf denen die Flugsteuerung basiert, bedienen wir uns der neuesten technologischen Entwicklungen, die es uns ermöglichen, die Aktivität einzelner Neurone in Tieren während des Verhaltens zu messen. Wir können beabsichtigte Lenkmanöver beobachten, indem wir die Bewegung der Flügel bei Fliegen beobachten, deren Kopf fixiert ist. Außerdem nutzen wir den umfangreichen genetischen Werkzeugkasten, der für *Drosophila* zur Verfügung steht, um die Funktion bestimmter Neurone zu manipulieren.

Wir kombinieren diese Techniken, um einzelne Neurone, die Lenkmanöver während des Flugs steuern, die Schaltkreise in denen sie eingebettet sind und die Berechnungen, die sie durchführen, zu bestimmen und zu untersuchen. Wir hoffen, dass diese Arbeit Einblicke in die generellen Mechanismen liefern wird, durch die neuronale Schaltkreise Verhalten und Entscheidungen kontrollieren.



Parameter eines biophysikalischen Neuronenmodells, welche durch unseren Inferenz-Algorithmus bestimmt wurden. Gelb steht für Parameter, die gemäß den Daten sehr wahrscheinlich sind, violett für unwahrscheinliche Parameter. Ground-Truth-Parameter als Bezugsgröße sind rot markiert.

Neuronale Systemanalyse

Wie können wir aus komplexen Daten neurowissenschaftlicher Experimente Erkenntnisse gewinnen? Wir erstellen statistische Methoden und Algorithmen für maschinelles Lernen, um hochdimensionale Messungen der neuronalen Aktivitäten und des Verhaltens zu analysieren und in Bezug zu theoretischen Modellen zu neuronaler Dynamik und Berechnung zu setzen.

von Prof. Dr. Jakob Macke | Max-Planck-Forschungsgruppe: Neuronale Systemanalyse

Fortschritte in experimentellen Techniken ermöglichen es, die Aktivität vieler Neurone gleichzeitig zu messen und die Vernetzung von neuronalen Schaltkreisen in nie dagewesener Dimension und Auflösung zu kartieren. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass die Interpretation der komplexen, durch diese Ansätze generierten, Daten eine große Herausforderung darstellt. Gleichzeitig wird der Bereich des maschinellen Lernens durch „Deep Learning“ revolutioniert: Mächtige Algorithmen für die Extraktion von Datenstrukturen können mit Hilfe von künstlichen neuronalen Netzwerken erstellt werden. So entstehen praktische Werkzeuge und konzeptuelle Rahmen für die Analyse neuronaler Daten. Hinzu kommt, dass sich durch den Erfolg der neuronalen Netzwerke die Frage stellt, wie Erkenntnisse über die Prinzipien biologischer Berechnungseinheiten für den Entwurf von künstlichen genutzt werden können.

Wir berichten hier über zwei zentrale Fragen, mit denen wir uns in Zusammenarbeit mit

den experimentell arbeitenden Arbeitsgruppen befassen: 1. Wie können wir Modelle neuronaler Dynamik mit elektrophysiologischen Aufzeichnungen und Daten aus der Bildgebung verbinden [1]? 2. Wie können wir Messungen der Aktivität neuronaler Netzwerke auswerten [2]? Wir versuchen außerdem, die von Tieren genutzten Wahrnehmungsstrategien zu verstehen, indem wir ihr Verhalten quantitativ analysieren [3].

Wie können wir mechanistische Modelle neuronaler Dynamik mit experimentellen Beobachtungen verbinden?

Wissenschaftler aus dem Bereich der Computational Neuroscience haben eine Fülle von Modellen entwickelt, die neuronale Dynamik abbilden und Einblicke in die ihr zugrunde liegenden Mechanismen geben sollen. Eine gemeinsame Herausforderung bei der Arbeit mit diesen Modellen besteht jedoch darin, dass es in der Regel schwierig ist, sie quantitativ mit Daten zu verbinden. Es kann

sehr schwierig sein, festzustellen, welche mechanistischen Modelle mit empirischen Daten übereinstimmen. Um diese zu finden, verwenden wir künstliche neuronale Netzwerke.

Insbesondere entwickeln wir eine Methode für statistische Inferenz bei simulationsbasierten Modellen, die als Blackbox auf eine große Bandbreite von neurowissenschaftlichen Modellen angewendet werden kann. Die grundlegende Idee besteht darin, zunächst aus einem Modell Simulationen zu generieren und dann ein künstliches neuronales Netzwerk so zu trainieren, dass es Parameter erkennt, die mit den Daten übereinstimmen (Abb. 1 a). Nachdem wir diese Parameter beschrieben haben, können wir Modelle präzisieren oder abschätzen, welche zusätzlichen Daten besonders nützlich sein werden, um die Modelle einzugrenzen oder zu vergleichen. Unser Ansatz lässt sich auf ein breites Spektrum von neurowissenschaft-

Es kann sehr schwierig sein, festzustellen, welche mechanistischen Modelle mit empirischen Daten übereinstimmen. Um diese zu finden, verwenden wir künstliche neuronale Netzwerke.

lichen Modellen anwenden. Zum Beispiel kann er genutzt werden, um das rezeptive Feld eines Neurons schnell zu schätzen: Auf Grundlage der festgestellten Daten (hier der so genannte spike-triggered Average, also der durchschnittliche Stimulus, der einen Spike hervorruft) können wir den Ort und die Ausrichtung eines rezeptiven Felds herleiten (Abb. 1 b). Mit unserem Ansatz bestimmen wir mit Daten konsistente Modell-Parameter (Abb. 1 c). Mit Hilfe von Simulationen können wir überprüfen, dass die Ground-Truth-Parameter (rot) mit hoher Wahrscheinlichkeit zutreffen (Abb. 1 c).

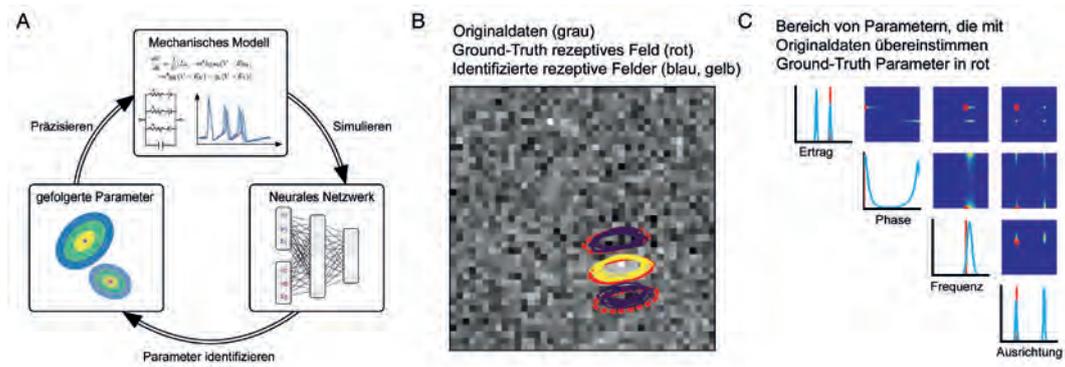


Abbildung 1: a. Inferenz-Ansatz: Ein neuronales Netzwerk wird trainiert, um Inferenz aus simulierten Daten zu ziehen. b. Originaldaten (spike-triggered Average), Ground-Truth-Parameter zum rezeptiven Feld und bestimmte rezeptive Felder. c. Bereich von Parametern, die mit Originaldaten übereinstimmen. Ground-Truth-Parameter (rot) verfügen über eine höhere Erfüllungswahrscheinlichkeit und illustrieren somit den Erfolg unserer Vorgehensweise.

Diese Methoden ermöglichen es, effizient Inferenz-Aufgaben zu lösen: Wenn das neuronale Netzwerk einmal trainiert ist, können Parameter für neue Daten zu sehr geringen Berechnungskosten bestimmt werden. Diese Effizienz steht im Kontrast zu den meisten konventionellen statistischen Inferenz-Ansätzen, bei denen für jeden neuen Datensatz teure Berechnungen durchgeführt werden müssen. Ähnliche Ansätze entwickeln wir auch für statistische Inferenz bei mechanistischen Modellen, um aus Bildgebungsdaten die ihnen zugrundeliegenden Ereignisse herzuleiten [4]. In Zusammenarbeit mit Marcel Oberlaenders Forschungsgruppe haben wir damit begonnen, unsere statistische Inferenz anzuwenden, um nach Konnektivitäts-Regeln zu suchen, mit denen sich die statistische Struktur der neuronalen Vernetzung in kortikalen Netzwerken erklären lässt.

Wie können wir die kollektive Aktivität von großen neuronalen Populationen beschreiben?

Methoden für umfangreiche Aufzeichnungen ermöglichen es, die Aktivität großer neuronaler Populationen zu messen. Ein vielversprechender Ansatz für die Analyse dieser Daten bestand darin, für die Suche nach zugrundeliegenden Prinzipien Konzepte aus anderen Bereichen, wie z. B. der statistischen Physik, zu übernehmen. Eine Hypothese, die durch diese Vorgehensweise entstanden ist, ist die, dass neuronale Populationen dafür optimiert sind an einem so genannten „thermodynamischen kritischen Punkt“ zu stehen [5]. In der Nähe von kritischen Punkten weisen physikalische Systeme ein interessantes Verhalten auf. Deshalb kann eine Beschreibung ihrer kritischen Punkte zu wertvollen Erkenntnissen führen. Zum Beispiel ist Null Grad Celsius ein kritischer

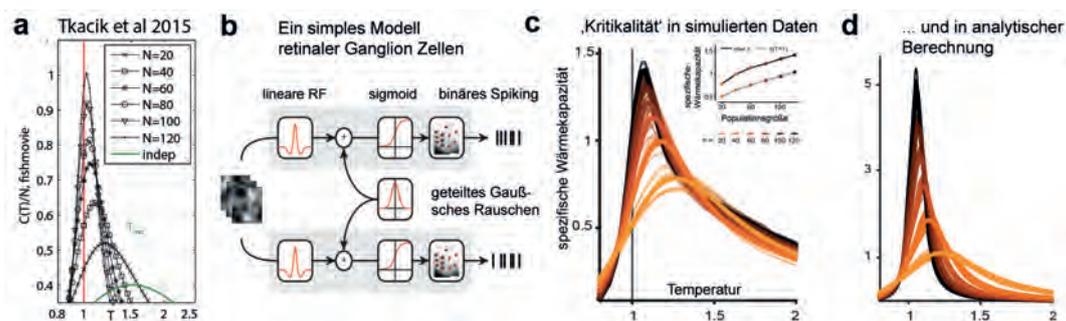


Abbildung 2: a. In der Literatur beschriebene Signaturen von Kritikalität in neuronalen Populationen: die spezifische Wärmekapazität (ein Wert, der die Varianz von Aktivitätsschwankungen beschreibt) wächst mit der Größe der Population, reproduziert aus [5]. b. Simulationen einfacher Populationsmodelle reproduzieren diese Signaturen. c. Wachstum der spezifischen Wärme kann auch analytisch vorhergesagt werden.

Punkt für Wasser, da ein Absinken der Temperatur bewirkt, dass es friert und seine Eigenschaften sich somit drastisch verändern. Deshalb ist die Hypothese, dass neuronale Systeme ähnliche Übergänge aufweisen könnten, faszinierend und wirft die Frage auf, welche Mechanismen das System an dem kritischen Punkt halten.

Eine aktuelle Forschungsreihe, bei der so genannte „Signaturen der Kritikalität“ in aufgezeichneter Aktivität von Populationen retinaler Ganglienzellen festgestellt wurde (siehe Abb. 2 a), untermauert die Hypothese der Kritikalität in neuronalen Systemen. Sind diese früheren Ergebnisse aber wirklich aussagekräftig, wenn es um die Prinzipien der neuronalen Kodierung geht? Welche Mechanismen können diese Signaturen erklären? Mit Hilfe von numerischen Simulationen und analytischen Berechnungen haben wir gezeigt, dass in der Vergangenheit identifizierte Signaturen der Kritikalität auch in einfachen Modellen von Neuronen-Populationen zu finden sind (Abb. 2 b) – sogar in solchen, die keine kritischen Systeme darstellen. Wir haben gezeigt, dass Signaturen von Kritikalität durch übliche Datenauswertungstechniken fälschlicherweise entstehen (Abb. 2 c) und dass sie zudem an analytisch lenkbaren Modellen reproduziert und untersucht werden können (Abb. 2 d). Vorangegangene Berichte über Kritikalität in neuronalen Systemen sind demnach nicht aussagekräftig und es ist wahrscheinlicher, dass sie Schwächen des analytischen Ansatzes aufzeigen, als biologische Phänomene.

Um hilfreichere Vorgehensweisen für die Analyse zu liefern, entwickeln wir Algorithmen für mechanistische neuronale Populations-

modelle, indem wir unsere bisherige Arbeit im Bereich der statistischen Inferenz für dynamische Systeme weiter ausbauen [6]. Diese Modelle erfassen genau die Mess- und Datenanalyseprozesse für Aufzeichnungen über neuronale Populationen und überwinden so die Einschränkungen der üblicherweise genutzten Analysemethoden.

Literatur

1. Lueckmann, J.M., Goncalves, P., Bassetto, G., Öcal, K., Nonnenmacher, M., and Macke, J. H. (2017). Flexible statistical inference for mechanistic models of neural dynamics. *Adv Neural Inf Process Syst* 30, 1289–1299.
2. Nonnenmacher, M., Behrens, C., Berens, P., Bethge, M., and Macke, J.H. (2017a). Signatures of criticality arise from random subsampling in simple population models. *PLoS Comput Biol* 13, e1005718.
3. Lueckmann, J.M., Macke, J.H., and Nienborg, H. (2018). Can Serial Dependencies in Choices and Neural Activity Explain Choice Probabilities? *J Neurosci* 38, 3495-3506.
4. Speiser, A., Jinyao, Y., Archer, E., Buesing, L., Turaga, S.C., and Macke, J.H. (2017). Fast amortized inference of neural activity from calcium imaging data with variational autoencoders. *Adv Neural Inf Process Syst* 30, 4024–4034.
5. Tkacik, G., Mora, T., Marre, O., Amodei, D., Palmer, S.E., Berry, M.J., 2nd, and Bialek, W. (2015). Thermodynamics and signatures of criticality in a network of neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 11508-11513.
6. Nonnenmacher, M., Srinivas, T. C., and Macke, J. H. (2017b). Extracting low-dimensional dynamics from multiple large-scale neural population recordings by learning to predict correlations. *Adv Neural Inf Process Syst* 30, 5702–5712.



Über die Max-Planck-Forschungsgruppe: Neuronale Systemanalyse

Das zentrale Ziel der Gruppe Neuronale Systemanalyse besteht darin zu verstehen, wie Neuronenpopulationen sensorischen Input kollektiv verarbeiten, Berechnungen durchführen und Verhalten steuern. Zu diesem Zweck entwickeln wir statistische Werkzeuge und Algorithmen des maschinellen Lernens, um neuronale und verhaltensbezogene Daten zu interpretieren. Unser Ziel ist es, Werkzeuge zu entwickeln, die es ermöglichen, interpretierbare Beschreibungen aus komplexen hochdimensionalen Daten herzuleiten, und diese Daten mit theoretischen Modellen der neuronalen Dynamik und Berechnung zu kombinieren. Wir stützen uns auf die jüngsten Fortschritte in den Bereichen Bayessche Inferenz und Deep Learning, um statistische Modelle und effiziente Algorithmen zur Herleitung von Parametern zu entwickeln.

Diese Methoden ermöglichen es uns zu erkennen, welche Modelle mit vorliegenden Messwerten übereinstimmen und welche zusätzlichen Messwerte besonders informativ wären, um sie einzugrenzen. Wir arbeiten eng mit Arbeitsgruppen bei caesar Bonn und aus anderen Forschungseinrichtungen zusammen.



Elektronenmikroskopische Bilder von negativ kontrastierten PDE-Komplexen zeigen die hochvariable Bindungsposition von PDE- δ .

Einmal ist keinmal: Wie Rauschen im Auge unterdrückt wird

Der Mensch kann einzelne Photonen registrieren und potentiell wahrnehmen. Kürzlich haben wir einen molekularen Mechanismus identifiziert, welcher die Unterdrückung von thermischem Rauschen an einer entscheidenden Stelle der Signalverstärkung unterstützt.

von Prof. Dr. Elmar Behrmann | Max-Planck-Forschungsgruppe: Strukturelle Dynamik von Proteinen

Das Sehen ist einer unserer wichtigsten Sinne. Entsprechend hat die Evolution eine biologische Kamera erschaffen, die mit den fortschrittlichsten technischen Kameras mithalten kann. Vor allem wenn es um ihre Anpassungsfähigkeit geht. Wir können zum Beispiel Licht über eine sehr große Bandbreite von Stärken wahrnehmen: Vom hellen Tageslicht bis hin zu schwachem Sternenlicht, bei dem nur wenige oder sogar einzelne Photonen auf die Retina treffen [1, 2]. Die Fähigkeit einzelne Photonen wahrzunehmen, ist eine beachtliche Leistung, vor allem, wenn man die thermische Energie im Hintergrund – d. h. unsere Körperwärme – bedenkt, die nur 100-mal geringer ist als die Energie eines einzelnen Photons. Wie bei jedem System, bei dem ein Hochleistungsverstärkersystem im Einsatz ist, ist die Rauschunterdrückung genauso wichtig wie die Signalverstärkung.

Die Teile der Kamera

Die molekularen Bauteile, die man für die Erfassung und Verstärkung eines Ereignisses benötigt, das ein einzelnes Photon betrifft, befinden sich in intrazellulären Membranzustrukturen in unseren photosensitiven Zellen (Abb. 1). Das Antennen-Protein Rhodopsin enthält eine lichtempfindliche Chemikalie, die erregt werden kann, wenn sie ein eingehendes Photon absorbiert. Dies führt wiederum zu Konformationsänderungen des Rhodopsin, die es ihm ermöglichen, ein kleines Molekül auszutauschen, nämlich GDP gegen GTP aus einem assoziierten Protein, dem G-Protein Transducin. Sobald GTP gebunden ist, teilt sich Transducin in seine Teileinheiten auf. Die so entstehende Teileinheit T- α aktiviert wiederum eine in der Membran lokalisierte Phosphodiesterase: PDE6. PDE6 baut nun das chemische Botenmolekül cGMP ab. Dadurch werden Ionenkanäle, die so

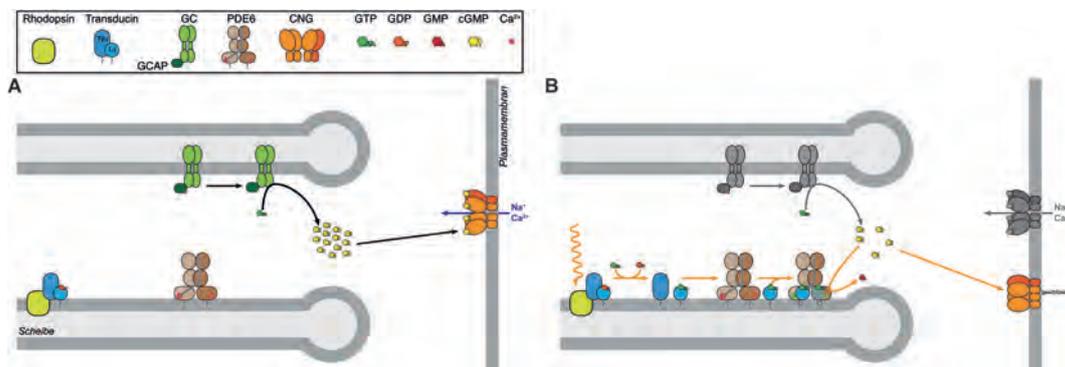


Abbildung 1: Der visuelle Signalfluss. a. Im Ruhezustand bewirken die membrangebundenen Guanylatcyclasen (GC), dass es einen gleichmäßigen Vorrat an GMP (cGMP) gibt. Durch diese basale Konzentration von cGMP wird der Ionenkanal CNG an der Plasmamembran durchgehend offen gehalten. Das bewirkt einen stetigen Zustrom von Natrium und Kalzium, durch den die Plasmamembran in einem depolarisierten Zustand bleibt. b. Die Signalgebung wird durch die Photonen-induzierte Aktivierung des Rhodopsin ausgelöst, das wiederum sein assoziiertes G-Protein Transducin aktiviert, indem der Austausch von GDP und GTP stimuliert wird. Die GTP-gebundene Transducin-Teileneinheit T- α kann wiederum PDE- γ vom PDE6-Komplex verdrängen und so das hydrolytische Zentrum dieser Phosphodiesterase aktivieren. Aktiviertes PDE6 reduziert schnell die Konzentration des verfügbaren cGMP, dadurch werden die CNG-Kanäle geschlossen und eine Hyperpolarisation der Zellmembran hervorgerufen.

genannten CNG-Kanäle, an der Plasma-Membran geschlossen und es wird ein Hyperpolarisationsereignis hervorgerufen, das von assoziierten Nervenzellen erkannt wird.

Das Schicksal des chemischen Botenstoffes

Der chemische Botenstoff cGMP spielt im Signalfluss eine wichtige Rolle, da er sehr mobil ist und damit ermöglicht, dass das Signal aus den intrazellulären Membranzustrukturen an die Plasmamembran weitergeleitet wird. Während cGMP mehr oder weniger ständig durch Guanylatcyclasen

(GC) aus dem Vorläufermolekül GTP produziert wird, ist die Regulierung der PDE6-Aktivität deutlich komplexer. PDE6 ist ein dimerer Komplex aus einer α - und einer β -Teileneinheit, die jeweils aus zwei GAF-Domänen und einer katalytischen Domäne bestehen, die für den Abbau des sekundären Botenstoffes cGMP zuständig ist (Abb. 2 a). Anders als bei anderen PDE, wird bei PDE6 davon ausgegangen, dass es in einer stets aktiven „offenen“ Form vorliegt, aber dadurch deaktiviert wird, dass sich eine zusätzliche Teileneinheit, PDE- γ , an die aktiven Bindungsstellen bindet. Nur wenn PDE- γ durch ein T- α ersetzt wird, wird die aktive Stelle für cGMP zugänglich, sodass

die Hydrolyse stattfinden kann.

Wir haben kürzlich eine weitere Steuerungsebene untersucht, nämlich die Lokalisierung von PDE6 in den intrazellulären Membranstrukturen durch seinen Solubilisierungsfaktor, PDE- δ [3]. Neben weiteren Erkennt-

nissen haben wir mit Hilfe von Elektronenmikroskopie mit negativer Kontrastierung beobachtet, dass die Position von PDE- δ im PDE-Komplex höchst variabel ist (siehe Abb. auf der ersten Seite). Da wir wissen, dass PDE- δ an einer bestimmten Stelle an PDE6 bindet, nämlich an einen

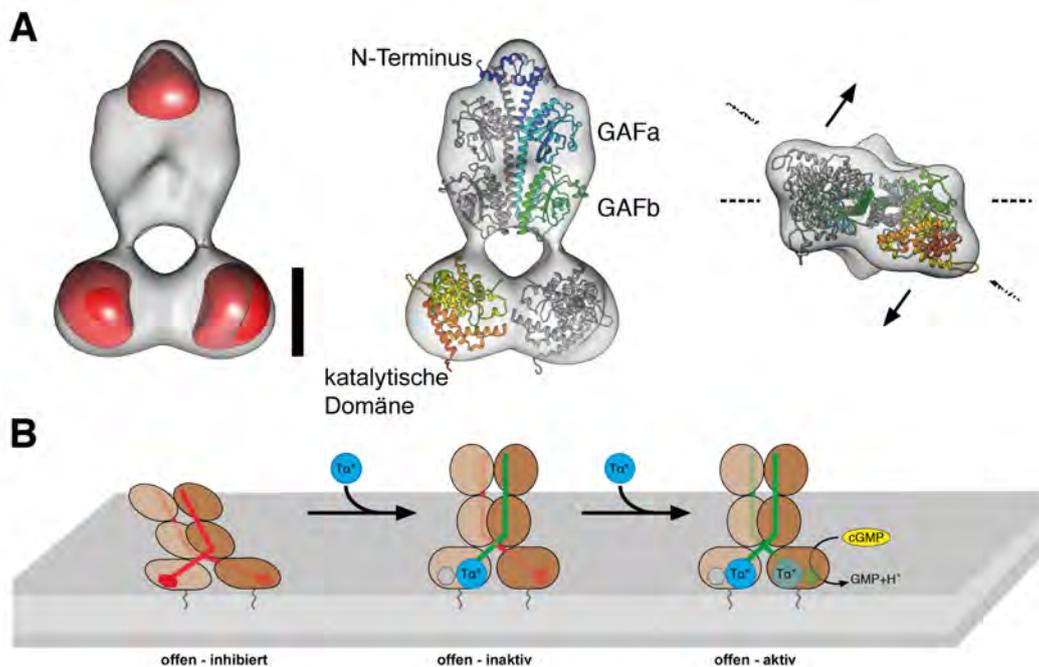


Abbildung 2: Strukturelle Gründe für eine asymmetrische Aktivierung. a. Die Kryo-EM-Analyse des PDE6-Komplexes bestätigt die Variabilität (rot markiert) der katalytischen Domäne. Während der Komplex zwar symmetrisch ist, weisen die beiden aktiven Stellen in unterschiedliche Richtungen des Komplexes (Pfeile in der oberen Abbildung). Der Maßstabsbalken entspricht 5 nm. b. Die asymmetrische Aktivierung von PDE6 in Gegenwart von Membranen könnte damit erklärt werden, dass PDE6 im Ruhezustand eine flache Position auf der Membran einnimmt, die den Zugang zu einer der katalytischen Domänen verhindert. Erst nachdem sich die erste T- α an den Komplex gebunden hat, nimmt PDE6 eine aufrechte Position ein. Dadurch wird zwar noch keine Hydrolyse aktiviert, aber die zweite Bindungsstelle für T- α wird zugänglich – wenn auch mit reduzierter Affinität. PDE6 wird daher nur bei einer hohen örtlichen Konzentration von T- α vollständig aktiviert.

Lipidanker nahe der katalytischen Domäne, weist dies darauf hin, dass die Position der katalytischen Domäne selbst im Verhältnis zum restlichen Komplex variabel sein muss. Interessanterweise haben wir außerdem eine asymmetrische Bindung von PDE- δ an den Komplex beobachtet, was darauf hindeutet, dass die katalytischen Domänen nicht immer die gleichen Positionen einnehmen. Das war recht unerwartet, da bei beiden katalytischen Domänen bislang davon ausgegangen wurde, dass sie gleich sind und sich ihre Aktivität nicht voneinander unterscheidet. Zumindest wenn sie in löslicher Form im Reagenzglas untersucht werden.

Symmetrisch, aber nicht identisch

Daher haben wir entschieden, diese Beobachtung mit weiteren funktionellen Experimenten und strukturellen Charakterisierungen mittels Kryo-Elektronenmikroskopie weiter zu verfolgen [4]. Mittels Kryo-EM konnten wir tatsächlich direkt eine strukturelle Variabilität der katalytischen Domäne beobachten (Abb. 2 a) und somit unsere Ausgangshypothese auf Grundlage der beobachteten Flexibilität von PDE- δ bestätigen. Die Kryo-EM-Struktur zeigt außerdem, dass die zwei katalytischen Positionen zwar symmetrisch, aber in entgegengesetzte Richtungen des PDE6-Komplexes ausgerichtet sind. Funktionelle Untersuchungen haben außerdem deutlich gezeigt, dass diese beiden katalytischen Positionen zwar in löslichem Zustand nicht voneinander zu unterscheiden sind, aber in der Gegenwart von Membranen ungleich werden: Obwohl eine erste T- α mit hoher Affinität an den Komplex gebunden wird, bewirkt dies fast keine

Aktivierung des PDE6-Komplexes. Erst wenn sich eine zweite T- α mit geringerer Affinität an den PDE6-Komplex bindet, wird seine vollständige Aktivierung ausgelöst.

Wie können Membranen eine solche funktionelle Asymmetrie herbeiführen? Im Ruhezustand nimmt PDE6 möglicherweise eine flache Position auf der Membran ein, bei der nur eine der aktiven Stellen für T- α zugänglich ist (Abb. 2 b). Die Bindung der ersten T- α könnte bewirken, dass PDE6 eine aufrechte Position einnimmt, die den Zugang zur zweiten Stelle ermöglicht, was mit zuvor durchgeführten Experimenten zur Lichtstreuung übereinstimmen würde [5]. Da eine solche Umorientierung des Komplexes eine direkte Auswirkung auf die katalytischen Domänen hätte, an denen sich der Membrananker befindet, wäre es nicht überraschend, wenn es im Hinblick auf die Bindung einer zweiten T- α zu einer Veränderung der Affinität und Aktivität käme.

Asymmetrische Rauschfiltrierung

Mit Hilfe von Computersimulationen haben wir die funktionellen Implikationen eines solchen asymmetrischen, zweistufigen Aktivierungsmechanismus untersucht. Interessanterweise haben wir durch diese Simulationen entdeckt, dass dieser Mechanismus die Eigenschaften eines Rauschfilters aufweisen würde: Thermisch aktivierte T- α , die einem Hintergrundrauschen entsprechen, wären in geringer Menge vor Ort vorhanden und könnten nur zu einzelnen besetzten T- α -PDE6-Komplexen führen, die weitgehend inaktiv bleiben. Nur wenn ein aktiviertes Rho-

dopsin-Molekül eine hohe örtliche Konzentration von T- α bewirkt, wird die Schwelle überschritten, die für die Bildung eines mit zwei T- α -Exemplaren besetzten und somit voll katalytisch aktivierten PDE6-Komplexes erforderlich ist.

Literatur

1. Hecht, S., Schlaer, S., and Pirenne, M.H. (1942). Energy, Quanta, and Vision. *J Gen Physiol* 25, 819-840.
2. Tinsley, J.N., Molodtsov, M.I., Prevedel, R., Wartmann, D., Espigule-Pons, J., Lauwers, M., and Vaziri, A. (2016). Direct detection of a single photon by humans. *Nat Commun* 7, 12172.
3. Qureshi, B.M., Schmidt, A., Behrmann, E., Bürger, J., Mielke, T., Spahn, C.M.T., Heck, M., and Scheerer, P. (2018). Mechanistic insights into the role of prenyl-binding protein PrBP/delta in membrane dissociation of phosphodiesterase 6. *Nat Commun* 9, 90.
4. Qureshi, B. M., Behrmann, E., Schöneberg, J., Loerke, J., Bürger, J., Mielke, T., ... & Spahn, C. M. (2018). It takes two transducins to activate the cGMP-phosphodiesterase 6 in retinal rods. *Open Biology* 8, 180075.
5. Heck, M., and Hofmann, K.P. (1993). G-protein-effector coupling: a real-time light-scattering assay for transducin-phosphodiesterase interaction. *Biochemistry* 32, 8220-8227.



Über die Max-Planck-Forschungsgruppe: Strukturelle Dynamik von Proteinen

Das Leben ist nicht statisch und das gleiche gilt für die meisten Proteine, die für die Funktionen unserer Zellen wichtig sind. Ähnlich wie winzige Maschinen, müssen Proteine viele verschiedene strukturelle Anordnungen annehmen können, die so genannten Konformationen, um ihre Funktionen in den Zellen ausüben zu können. Wir konzentrieren uns auf die Elektronenmikroskopie, um diese strukturelle Dynamik von Proteinen zu untersuchen. Die Elektronenmikroskopie ist für diesen Zweck ideal, da sie es uns ermöglicht, laufende Reaktionen innerhalb des Bruchteils einer Millisekunde festzuhalten. In Kombination mit komplexen Bildverarbeitungstechniken können wir so die wichtigsten Konformationen bestimmen, die an einer Reaktion beteiligt sind, und außerdem flexible Regionen innerhalb der Proteinstruktur ermitteln. Wir interessieren uns vor allem für die Proteine, die mit den Lipidmembranen unserer Zellen assoziiert oder in ihnen eingebettet sind. Membranen sind für die Identität einer Zelle von entscheidender Bedeutung, da sie ihr Inneres von der Umgebung abschirmen, aber nicht statisch sein dürfen, da ein kontrollierter Durchfluss von Molekülen und Informationen durch diese biologischen Barrieren lebenswichtig ist. Eine strukturelle Basis dafür, wie Proteine Membranen mit unterschiedlichen Funktionen ausstatten können, vor allem in Hinblick auf das dynamische Zusammenspiel zwischen Lipiden und Proteinen, liegt weitgehend noch nicht vor. Die Erforschung von dynamischen Proteinen im Membranumfeld ist jedoch eine herausfordernde Aufgabe, die viele experimentelle Problemstellungen aufwirft. Um diesen Problemen zu begegnen, entwickeln wir spezialisierte Methoden zur Vorbereitung von Proben. Diese reichen von neuartigen Lipiddoppelschicht-Imitationen bis hin zu funktionalisierten Raster-Probenträgern.



Das Catenan besteht aus dem Stator DNA Ring, an den die T7 RNA Polymerase gebunden ist, die die Rotation des verzahnten Rotor-DNA Ringes antreibt. Dadurch wird ein einzelner RNA-Strang (gelb) produziert, der fest mit der Nanomaschine verbunden ist und für eine zielgerichtete Laufbewegung entlang einer vorgegebenen Strecke auf einer DNA Nanoröhre (nicht gezeigt) verwendet werden kann.

Nanostrukturen: von Aptamer-Nanokapseln zu Bio-Hybrid-Motoren

Unsere Forschung konzentriert sich auf nukleinsäurebasierte Nanostrukturen. Wir haben aptamerbasierte Nanokapseln für den gezielten Transport von molekularer Fracht an Zellen entwickelt, sowie einen biohybriden Rotationsmotor konstruiert, der sich entlang einer definierten Strecke fortbewegt.

von Prof. Dr. Michael Famulok, Dr. Deepak K. Prusty, Dr. Stephan Irsen,
Dr. Julian Valero | Max-Planck-Fellow-Gruppe: Chemische Biologie

Die Max Planck Fellow-Gruppe „Chemische Biologie“ am Forschungszentrum caesar beschäftigt sich mit Nanostrukturen, die aus Nukleinsäuren aufgebaut sind.

In einem der Projekte haben wir supramolekulare Nanokapseln aus mit Lipid-Gruppen versehenen DNA-Aptameren aufgebaut. Diese wurden durch die Erkennung eines Zelloberflächen-Rezeptors für den Angriff auf Krebszellen verwendet. Die Nanokapseln sind so konstruiert, dass eine Licht-induzierte Freisetzung eines Chemotherapeutikums in den Krebszellen erfolgt, wodurch diese selektiv gegenüber norma-

len Zellen am Wachstum gehindert werden. Im zweiten Projekt haben wir Bio-hybride supramolekulare DNA Nanostrukturen hergestellt, bei denen eine Stator-Einheit einen mechanisch verknüpften Ring aus DNA in eine unidirektionale Rotationsbewegung versetzt. Dadurch ergibt sich ein künstlicher Rotationsmotor, dessen kontinuierliche Drehung durch den Verbrauch von chemischer Energie bewerkstelligt wird. Als Abfallprodukt entstehen lange RNA Ketten, die fest mit dem Rotationsmotor verbunden sind. Dies erlaubt es, die RNA als Anker zu verwenden, um eine Nano-Laufmaschine zu erzeugen, die einen vorgegebenen Weg zurück legt.

Supramolekulare Aptamer-Nanokapseln für den zielgerichteten Angriff auf Krebszellen unter lichtinduzierter Freisetzung von Chemotherapeutika

Aptamere sind spezifisch Liganden-bindende Nukleinsäuren, die, ähnlich wie Antikörper, für den Angriff bestimmter Zellen verwendet werden, wenn diese ein Rezeptormolekül auf ihrer Oberfläche enthalten, das vom Aptamer erkannt wird. Diese Eigenschaften machen Aptamere zu interessanten Komponenten für den gezielten Transport von Medikamenten zu solchen Zellen. Voraussetzung dafür sind ausreichende Stabilität im Blutserum, gezielte und effiziente Aufnahme in die Zielzellen, und eine schaltbare Freisetzung des Medikaments. Wir haben in diesem Projekt mehrere Strukturmodelle lipidierter Aptamere in eine Nanokapsel integriert, die den Hepatocytin-Wachstumsfaktor Rezeptor cMet auf Lungenkrebszellen erkennen.

Die Nanokapseln bestehen aus einem lipidierten anti-cMet Aptamer und einem DNA Haarnadel-Motiv, das mit dem toxischen Chemotherapeutikum Doxorubicin beladen ist. Dieses Motiv enthält lichtempfindliche Moleküle, die durch Photo-Isomerisierung eine Freisetzung des Doxorubicin erlauben. Die mit Lipidgruppen versehenen Aptamer-Einheiten ordnen sich von selbst in sphärische Nanokapseln, die spezifisch cMet auf der Oberfläche der Krebszellen erkennen und somit gezielt von diesen Zellen aufgenommen werden (Abb. 1). Durch die Selbstanordnung in Nanokapseln erhöht sich zudem die Resistenz gegenüber Nukleasen, sowie die Effizienz der Aufnahme in die Zellen. Durch



Die Einfachheit des Designs kann leicht an andere biologische Nanoarchitekturen angepasst werden, was die Konstruktion komplexer bio-hybrider NTP-getriebener Nanomaschinen erleichtern sollte.

kurze Lichteinstrahlung erfolgt eine selektive Freisetzung des Doxorubicins und somit die Sterblichkeit der angegriffenen Zellen [1]. Dieser modulare Ansatz öffnet neue Möglichkeiten für Aptamer-basierte Therapeutika und für neuartige, zielgenaue Werkzeuge für die Forschung.

Die Beschaffenheit der Nanokapseln haben wir mit Hilfe der Elektronenmikroskopie bei caesar in Zusammenarbeit mit Stephan Irsen untersucht. Der größte Teil der Arbeit wurde von Deepak K. Prusty im Rahmen einer Anstellung bei caesar durchgeführt. Weitere Prinzipien zur Lichtschaltung von Biomolekülen wurden ebenfalls untersucht [2].

Ein bio-hybrider DNA Nanomotor, der sich entlang vorgegebener Wege bewegt

Biologische Motoren sind hoch komplexe Anordnungen von Proteinen, die eine lineare oder rotierende Bewegung erzeugen, angetrieben durch chemische Energie. Synthetische Motoren, die auf DNA Nanostrukturen, Bio-Hybrid-Konstruktionen, oder synthetischer Organischer Chemie basieren sind bereits erfolgreich beschrieben worden [3]. Unidirektional rotierende biomimetische Motoren mit Rotor/Stator-Einheiten, die durch

den Verbrauch chemischer Energie angetrieben werden waren jedoch nicht bekannt.

In diesem Projekt haben wir eine bio-hybride Nanomaschine konstruiert, die aus einem katalytischen Stator und einem damit verzahnten DNA-Rad besteht, dessen Rotation durch die Hydrolyse von Nukleotid-triphosphaten (NTPs) angetrieben wird. Die Nanomaschine

enthält eine biotechnisch veränderte T7 RNA Polymerase, welche fest an dem DNA-Ring des Stators verbunden ist, der mit dem Rotor DNA-Ring in einer Catenan-Struktur verzahnt ist. Das rotierende Rad produziert lange, sich wiederholende Transkripte aus RNA, die fest mit der gesamten Nanomaschine verbunden sind (Abb. 2). Diese RNA verwendeten wir, um eine zielgerichtete Laufbewegung entlang

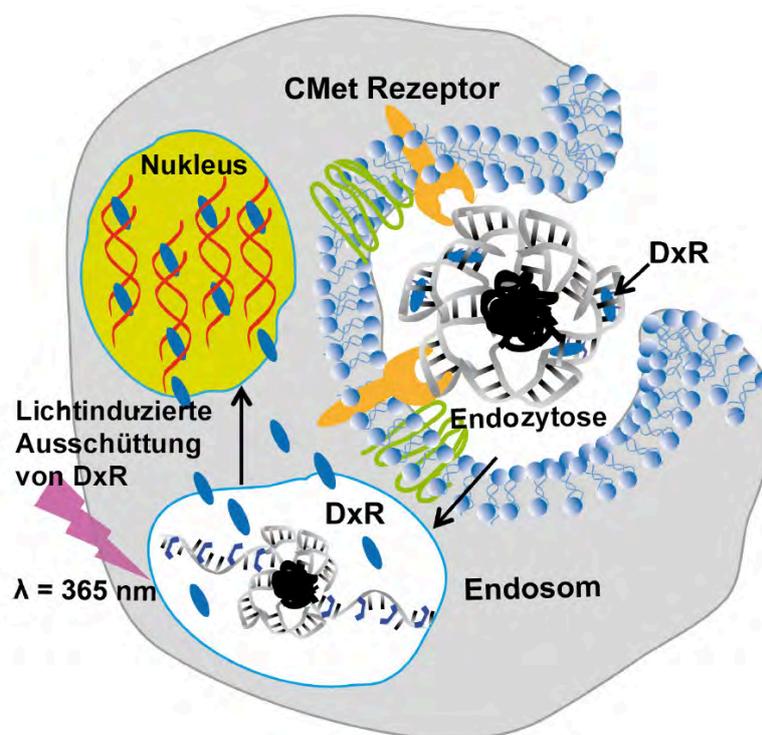


Abbildung 1: Schema der Assemblierung und des Wirkmechanismus der Aptamer Nanokapseln. Die lipidierten anti-cMet- und Doxorubicin (DxR)-bindenden Aptamere bilden durch Selbstanordnung Micellen-artige Nanokapseln, die über den cMet Rezeptor durch Endozytose internalisiert werden. Nach Bestrahlung bei 365 nm erfolgt eine Licht-induzierte Strukturänderung des DxR-Aptamers, so dass das DxR im Zellinneren freigesetzt wird, wodurch die angegriffenen Zellen absterben.

einer vorgegebenen Strecke auf einer DNA Nanoröhre durchzuführen. Dadurch gelang es, eine Rotationsbewegung in eine Laufbewegung zu überführen [4]. Die Einfachheit des Designs kann leicht an andere biologische Nanoarchitekturen angepasst werden, was die Konstruktion komplexer bio-hybrider NTP-getriebener Nanomaschinen erleichtern sollte.

In dem Projekt haben wir mit der EM-Gruppe von Elmar Behrmann innerhalb von caesar kollaboriert. Wir konnten die DNA Nanoröhren sichtbar machen, nicht jedoch die darauf befindliche Nanomaschine. Dies erreichten wir mittels Rasterkraft-Mikroskopie. Der größte Teil der Arbeit wurde von Julián Valero im Rahmen einer Anstellung bei caesar durchgeführt.

Literatur

1. Prusty, D.K., Adam, V., Zadegan, R.M., Irsen, S., and Famulok, M. (2018). Supramolecular aptamer nano-constructs for receptor-mediated targeting and light-triggered release of chemotherapeutics into cancer cells. *Nat. Commun.* 9, 535.
2. Adam, V., Prusty, D.K., Centola, M., Škugor, M., Hannam, J.S., Valero, J., Klöckner, B., and Famulok, M. (2018). Expanding the Toolbox of Photoswitches for DNA Nanotechnology Using Arylazopyrazoles. *Chemistry* 24, 1062-1066.
3. von Delius, M. and Leigh, D.A. (2011). Walking molecules. *Chem. Soc. Rev.* 40, 3656-3676.
4. Valero, J., Pal, N., Dhakal, S., Walter, N.G., and Famulok, M. (2018). A bio-hybrid DNA rotor-stator nanoengine that moves along predefined tracks. *Nat Nanotechnol.* 13, 496-503.



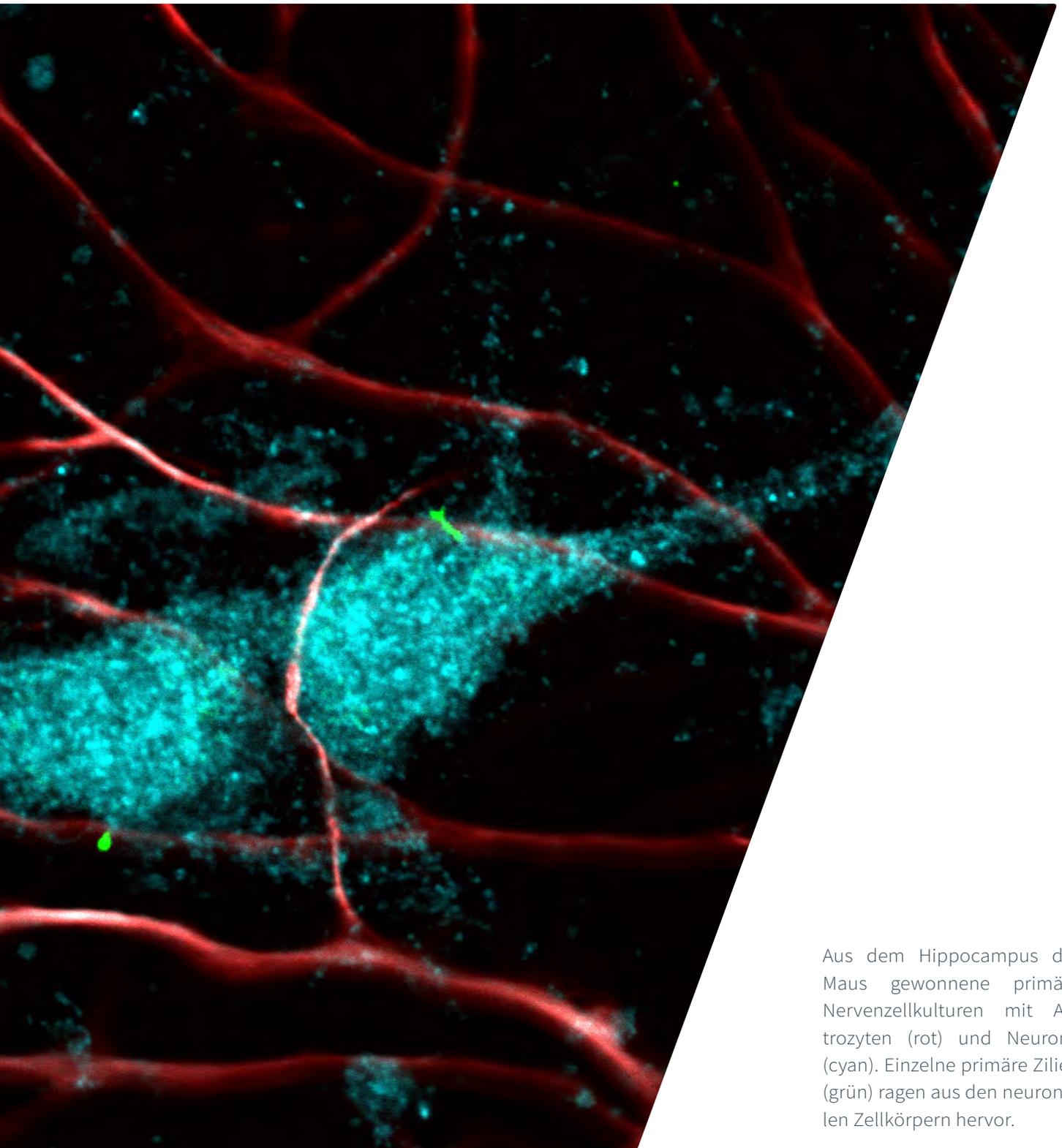
Über die Max-Planck-Fellow-Gruppe: Chemische Biologie

Wir konzentrieren uns auf die strukturelle Analyse von Biomolekülen und auf photoaktivierbare Stoffe. Synthetische Chemie wird in der chemischen Biologie oft verwendet, um Werkzeuge zu erstellen, mit denen man die Mechanismen der Biologie oder Biomedizin untersuchen kann. Zum Beispiel können Proteine chemisch modifiziert oder die Effekte von Biomolekülen verändert werden. Cytohesine sind Proteine, die die Signalbahnen der Zellen regulieren. Ihre genaue Funktionsweise ist jedoch noch weitgehend unbekannt.

Ein besseres Verständnis könnte zu Erkenntnissen über die Mechanismen von Krankheiten führen und zu der Entwicklung von Heilverfahren beitragen. Wir erforschen die Funktionen von Cytohesinen in Zellen, indem wir chemische Verfahren und strukturelle Biologie miteinander kombinieren.

Wir interessieren uns dafür, wie Cytohesine und Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK) einander beeinflussen, z. B. während der Signalgebung des Insulin-Rezeptors (IR) und im Zusammenhang mit ihrem RTK-Aktivierungsmechanismus.

Außerdem entwickeln wir DNA-Nanomaschinen, die bestimmte Funktionen ausführen können, und Aptamer-Nanokapseln für die intrazelluläre Lieferung unterschiedlicher Arten molekularer Fracht.



Aus dem Hippocampus der Maus gewonnene primäre Nervenzellkulturen mit Astrozyten (rot) und Neurone (cyan). Einzelne primäre Zilien (grün) ragen aus den neuronalen Zellkörpern hervor.

Die Funktion der Zilien: Wie Licht ins Dunkel kommt

Primäre Zilien wurden bereits vor 150 Jahren entdeckt und man nahm an, sie hätten keine Funktion. Dank aktueller Fortschritte in Hinblick auf wissenschaftliche Verfahren konnte gezeigt werden, dass primäre Zilien als Knotenpunkte der Signalgebung für viele Signalprozesse eine entscheidende Rolle spielen.

von Prof. Dr. Dagmar Wachten | Minerva-Forschungsgruppe: Molekulare Physiologie

Zilien – was sind sie und was tun sie?

Zilien sind Membranfortsätze, die es in zwei verschiedenen Arten gibt – motil und immotil. Mit motilen Zilien werden Flüssigkeitsströmungen über die Zelloberfläche bewegt, z. B. bei Epithelzellen in der Lunge, oder Zellen vorwärts bewegt, z. B. Spermien. Immotile Zilien nennt man auch primäre Zilien und fast alle Zellen unseres Körpers verfügen über eine primäre Zilie. Und dennoch verstehen wir ihre Funktionsweise nicht wirklich. Es wurde vermutet, dass sie als Antennen der Zellen fungieren, die extrazelluläre Informationen empfangen, die sie dann in eine Zellreaktion übertragen. Der Verlust der Zilienfunktion scheint schädlich zu sein und eine Reihe von Krankheitsbildern hervorzurufen, die häufig als Ziliopathien bezeichnet werden. Einige Beispiele hierfür sind Zystenieren, Erblinden, geistige Retardierung und Fettleibigkeit [1].

Primäre Zilien stellen, auch in Neuronen, ein einzigartiges Zellkompartiment dar

Um als Zellantennen zu fungieren, enthalten Zilien a) Rezeptoren, die das Signal aus der Umgebung empfangen und die Information ins Innere der Zelle übermitteln und b) einen Verstärker, meist in Form eines Enzyms, das einen Botenstoff produziert, der die Information in eine intrazelluläre Reaktion überträgt [2]. Alle Zelltypen in unserem Körper scheinen jedoch in Hinblick auf die Struktur der molekularen Komponenten, die diese Zellantenne bilden, unterschiedlich zu sein. Dadurch können unterschiedliche Zellen auf unterschiedliche Reize reagieren und diese übertragen. Wir haben uns die primären Zilien im Gehirn näher angesehen, insbesondere im Hypothalamus (Abb. 1). Neurone des Hypothalamus verfügen über eine primäre Zilie am Zellkörper und sie exprimieren bestimmte Rezeptoren (NPY2R) und Verstärker

des Signals (AC3) (Abb. 1).

Wie kann man die Signalweiterleitung und Funktion der primären Zilien analysieren?

Die primäre Zilie macht nur einen winzigen Bruchteil des Zellvolumens aus (ca. 1/2000). Sie ist 5-10 µm lang, 400 nm breit und hat ein Volumen von unter 1 fl. Die Auswertung der Signalprozesse dieses winzigen subzellulären Kompartiments, unabhängig vom Rest der Zelle, stellt eine große Herausforderung dar. Unser Ansatz, dieses Problem anzugehen, besteht in der Anwendung von Licht, um die Signalwege manipulieren und analysieren zu können. Der Grund hierfür lautet wie folgt: Man muss die Signalprozesse in der Zelle mit hoher zeitlicher und räumlicher Präzision manipulieren. Licht ist für diese Aufgabe besonders gut geeignet, da man es schnell ein- und ausschalten oder auf sehr kleine Punkte innerhalb einer Zelle fokussieren kann, und es keinen Einfluss auf andere Prozesse innerhalb der Zelle hat. Zellen werden genetisch verändert, so dass sie lichtempfindliche Proteine produzieren und dann mit Licht gesteuert werden können. Dieses biologische Verfahren nennt man Optogenetik. Wir setzen eine Kombination von Methoden der Optogenetik und genetisch kodierten Biosensoren ein, um die Signalprozesse der Zilien mit räumlicher und zeitlicher Auflösung *in vitro* und *in vivo* zu manipulieren und zu messen [3, 4, 5]. Um unsere Werkzeuge gezielt in das primäre Zilium einbringen zu können, bedienen wir uns der endogenen

Transportmaschinerie, die für den An- und Abtransport von Proteinen zu und aus dem Zilium zuständig ist. Dieser Ansatz ist in Abbildung 2 beispielhaft illustriert. Hier haben wir einen Biosensor im primären Zilium lokalisiert.

cAMP – ein wichtiger Botenstoff für die Signalgebung der Zilie

Mit dem zweiten Botenstoff cAMP kann ein von außen gegebenes, an der Zellmembran empfangenes Signal innerhalb der Zelle in eine entsprechende Reaktion umgewandelt werden. Es wurde bereits ein Zusammenhang zwischen Störungen der cAMP-Signalgebung und dem Auftreten von Ziliopathien hergestellt. Es wurde die These aufgestellt, dass cAMP für die Umwandlung externer Reize in der primären Zilie in intrazelluläre Reaktionen eine entscheidende Rolle spielt. In diesem Modell stellt die Zilie einen einzigartigen, separaten cAMP-regulierten Sensor dar, durch den Funktionen der gesamten restlichen Zelle gesteuert werden. Mit unserem Ansatz möchten wir die Rolle der cAMP-Signalprozesse der Zilien für die Steuerung von Zellfunktionen enträtseln und erklären, inwiefern Störungen der cAMP-Signalprozesse in Zilien zum Entstehen von Ziliopathien führen können.

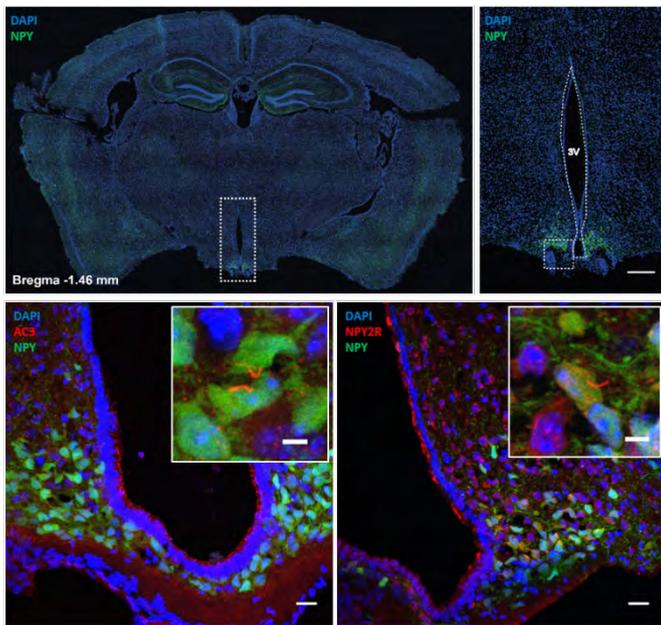
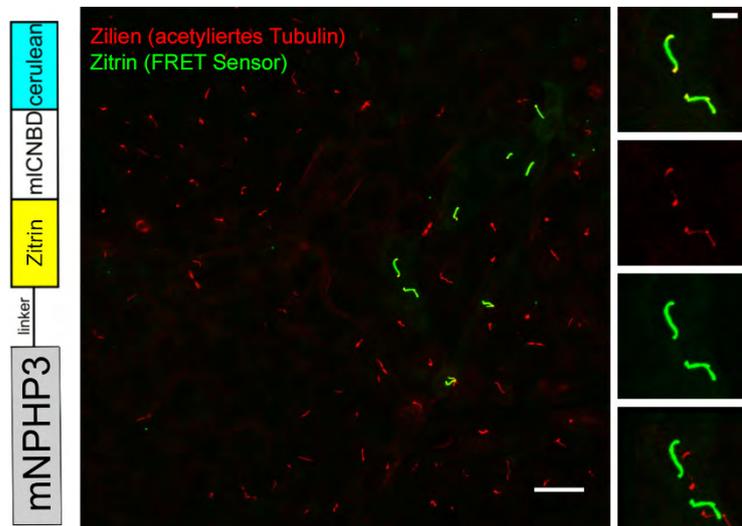


Abbildung 1: Primäre Zilie im Gehirn. Ein Bereich des Hypothalamus, der Nucleus arcuatus, ist grün markiert (NPY). In diesem Bereich weisen die Neurone primäre Zilien auf, die bestimmte Rezeptoren (rechts: rot, NPY2R) und Enzyme (links: rot, AC3) exprimieren. Maßstabsbalken: oben: 200 pxs; unten: 20 μ m; Einschub: 5 μ m.

Abbildung 2: Expression eines Biosensors in primären Zilien von Zellen aus Mäusenieren (IMCD-3). Zilien sind rot markiert, der Sensor ist grün markiert. Fast jede Zelle weist eine primäre Zilie auf und der Sensor ist ausschließlich in primären Zilien lokalisiert. Maßstabsbalken: 20 μ m, Einschub: 5 μ m.



Literatur

1. Reiter, J. F. and Leroux, M. R. (2017). Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 18, 533-547.
2. Pazour, G. J. and Witman, G. B. (2003). The vertebrate primary cilium is a sensory organelle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 15, 105-110.
3. Jansen, V., Alvarez, L., Balbach, M., Strünker, T., Hegemann, P., Kaupp, U. B., and Wachten, D. (2015). Controlling fertilization and cAMP signaling in sperm by optogenetics. *ELife* 4, e05161.
4. Jansen, V., Jikeli, J. F., and Wachten, D. (2017). How to control cyclic nucleotide signaling by light. *Curr. Opin. Biotechnol.* 48, 15-20.
5. Mukherjee, S., Jansen, V., Jikeli, J. F., Hamzeh, H., Alvarez, L., Dombrowski, M., Balbach, M., Strünker, T., Seifert, R., Kaupp, U. B., and Wachten, D. (2016). A novel biosensor to study cAMP dynamics in cilia and flagella. *ELife* 5, e1405.



Über die Minerva-Forschungsgruppe: Molekulare Physiologie

Wir möchten die Funktion und Funktionsweise von Zilien verstehen. Zilien sind subzelluläre Kompartimente, die aus der Oberfläche fast aller Säugetierzellen herausragen. Man kann Zilien in zwei Hauptgruppen unterteilen: a) Primäre Zilien, die immotil sind und b) motile Zilien, die man auch als Geißeln bezeichnet. Ein bekanntes Beispiel für Letztere sind die Geißeln von Spermien. Störungen der Zilien führen zu schweren Krankheiten, so genannten Ziliopathien. Dazu gehören unter anderem Zystennieren, Fettleibigkeit, Erblinden und Unfruchtbarkeit. Die Signalwege, die die Funktion der Zilien steuern, sind jedoch kaum erforscht. Um die Signalprozesse der Zilien mit hoher räumlicher und zeitlicher Präzision zu untersuchen, kombinieren wir Methoden der Optogenetik und genetisch kodierte Biosensoren mit hochauflösender Mikroskopie, der Genetik der Maus und der Biochemie. Dieser multidisziplinäre Ansatz ermöglicht es uns nicht nur die Signalprozesse der Zilien zu untersuchen, sondern er kann auf alle subzellulären Kompartimente übertragen werden, um deren Funktion mit räumlicher und zeitlicher Auflösung zu erforschen.

PUBLIKATIONEN

Publikationen

Veröffentlichungen im Zusammenhang mit caesar im Jahr 2017

- Alvarez, L. (2017). The tailored sperm cell. *J Plant Res* 130, 455-464.
- Ambadipudi, S., Biernat, J., Riedel, D., Mandelkow, E., and Zweckstetter, M. (2017). Liquid-liquid phase separation of the microtubule-binding repeats of the Alzheimer-related protein Tau. *Nat Commun* 8, 275.
- Baker, J.D., Shelton, L.B., Zheng, D., Favretto, F., Nordhues, B.A., Darling, A., Sullivan, L.E., Sun, Z., Solanki, P.K., Martin, M.D., et al. (2017). Human cyclophilin 40 unravels neurotoxic amyloids. *PLoS Biol* 15, e2001336.
- Balbach, M., Beckert, V., Hansen, J.N., and Wachten, D. (2017). Shedding light on the role of cAMP in mammalian sperm physiology. *Mol Cell Endocrinol.*, 468, 111-120.
- Berger, T.K., Fuschöller, D.M., Goodwin, N., Bönigk, W., Müller, A., Dokani Khesroshahi, N., Brenker, C., Wachten, D., Krause, E., Kaupp, U.B., et al. (2017). Post-translational cleavage of Hv1 in human sperm tunes pH- and voltage-dependent gating. *J Physiol* 595, 1533-1546.
- Centola, M., Valero, J., and Famulok, M. (2017). Allosteric Control of Oxidative Catalysis by a DNA Rotaxane Nanostructure. *J Am Chem Soc* 139, 16044-16047.
- Collu, G., Farci, D., Esposito, F., Pintus, F., Kirkpatrick, J., and Piano, D. (2017). New insights into the operative network of FaEO, an enone oxidoreductase from *Fragaria x ananassa* Duch. *Plant Mol Biol* 94, 125-136.
- Domyenyuk, V., Zhong, Z., Stark, A., Xiao, N., O'Neill, H.A., Wei, X., Wang, J., Tinder, T.T., Tonapi, S., Duncan, J., et al. (2017). Plasma Exosome Profiling of Cancer Patients by a Next Generation Systems Biology Approach. *Sci Rep* 7, 42741.
- Farci, D., Esposito, F., El Alaoui, S., and Piano, D. (2017a). S-layer proteins as a source of carotenoids: Isolation of the carotenoid cofactor deinoxanthin from its S-layer protein DR_2577. *Food Res Int* 99, 868-876.
- Farci, D., Kirkpatrick, J., and Piano, D. (2017b). A new procedure for fast soft staining of BN-PAGEs on photosynthetic complexes. *Electrophoresis* 38, 441-446.
- Fontela, Y.C., Kadavath, H., Biernat, J., Riedel, D., Mandelkow, E., and Zweckstetter, M. (2017). Multivalent cross-linking of actin filaments and microtubules through the microtubule-associated protein Tau. *Nat. Commun.* 8, 1981.
- Handa, T., Unno, S., and Mikami, A. (2017). Temporal property of single-cell activity in response to motion-defined shapes in monkey dorsal and ventral cortical areas. *Neuroreport* 28, 793-799.
- Hernández-García, C., Turpin, A., San Román, J., Picón, A., Drevinskas, R., Cerkauskaite, A., Kazansky, P.G., Durfee, C.G., and Sola, I.J. (2017). Extreme ultraviolet vector beams driven by infrared lasers. *Optica* 4, 520-526.

- Jansen, V., Jikeli, J.F., and Wachten, D. (2017). How to control cyclic nucleotide signaling by light. *Curr Opin Biotechnol* 48, 15-20.
- Joseph, M., Anglada-Huguet, M., Paesler, K., Mandelkow, E., and Mandelkow, E.M. (2017). Anti-aggregant tau mutant promotes neurogenesis. *Mol Neurodegener* 12, 88.
- Kaniyappan, S., Chandupatla, R.R., Mandelkow, E.M., and Mandelkow, E. (2017). Extracellular low-n oligomers of tau cause selective synaptotoxicity without affecting cell viability. *Alzheimers Dement* 13, 1270-1291.
- Kaupp, U.B., and Strünker, T. (2017). Signaling in Sperm: More Different than Similar. *Trends Cell Biol* 27, 101-109.
- Kim, E.S., Ackermann, C., Toth, I., Dierks, P., Eberhard, J.M., Wroblewski, R., Scherg, F., Geyer, M., Schmidt, R.E., Beisel, C., et al. (2017). Down-regulation of CD73 on B cells of patients with viremic HIV correlates with B cell activation and disease progression. *J Leukoc Biol* 101, 1263-1271.
- Kornfeld, J., Benezra, S.E., Narayanan, R.T., Svava, F., Egger, R., Oberlaender, M., Denk, W., and Long, M.A. (2017). EM connectomics reveals axonal target variation in a sequence-generating network. *Elife* 6, e24364.
- Körschgen, H., Kuske, M., Karmilin, K., Yiallourous, I., Balbach, M., Floehr, J., Wachten, D., Jahnen-Dechent, W., and Stöcker, W. (2017). Intracellular activation of ovastacin mediates pre-fertilization hardening of the zona pellucida. *Mol Hum Reprod* 23, 607-616.
- Lawatscheck, C., Pickhardt, M., Grafl, A., Linkert, K., Polster, F., Mandelkow, E., and Borner, H.G. (2017). Gaining Insights into Specific Drug Formulation Additives for Solubilizing a Potential Anti-Alzheimer Disease Drug B4A1. *Macromol Biosci* 17, 1700109.
- Lim, E., Johnson, S.F., Geyer, M., Serra, V., and Shapiro, G.I. (2017). Sensitizing HR-proficient cancers to PARP inhibitors. *Mol Cell Oncol* 4, e1299272.
- Lu, R., Sun, W., Liang, Y., Kerlin, A., Bierfeld, J., Seelig, J.D., Wilson, D.E., Scholl, B., Mohar, B., Tanimoto, M., et al. (2017). Video-rate volumetric functional imaging of the brain at synaptic resolution. *Nat Neurosci* 20, 620-628.
- Lueckmann, J.M., Goncalves, P., Bassetto, G., Öcal, K., Nonnenmacher, M. and Macke, J.H. (2017). Flexible statistical inference for mechanistic models of neural dynamics. *Adv Neural Inf Process Syst* 30, 1289-1299.
- Manrique, S., Sauter, D., Horenkamp, F.A., Lulf, S., Yu, H., Hotter, D., Anand, K., Kirchhoff, F., and Geyer, M. (2017). Endocytic sorting motif interactions involved in Nef-mediated down-modulation of CD4 and CD3. *Nat Commun* 8, 442.
- Mudher, A., Colin, M., Dujardin, S., Medina, M., Dewachter, I., Alavi Naini, S.M., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., Buee, L., Goedert, M., et al. (2017). What is the evidence that tau pathology spreads through prion-like propagation? *Acta Neuropathol Commun* 5, 99.
- Narayanan, R.T., Udvary, D., and Oberlaender, M. (2017). Cell Type-Specific Structural Organization of the Six Layers in Rat Barrel Cortex. *Front Neuroanat* 11, 91.
- Nonnenmacher, M., Behrens, C., Berens, P., Bethge, M., and Macke, J.H. (2017a). Signatures of criticality arise from random subsampling in simple population models. *PLoS Comput Biol* 13, e1005718.
- Nonnenmacher, M., Srinivas, T.C., and Macke, J.H. (2017b). Extracting low-dimensional dynamics from multiple large-scale neural population recordings by learning to predict

- correlations. *Adv Neural Inf Process Syst* 30, 5702-5712.
- Pickhardt, M., Biernat, J., Hubschmann, S., Dennissen, F.J.A., Timm, T., Aho, A., Mandelkow, E.M., and Mandelkow, E. (2017a). Time course of Tau toxicity and pharmacologic prevention in a cell model of Tauopathy. *Neurobiol Aging* 57, 47-63.
 - Pickhardt, M., Lawatscheck, C., Borner, H.G., and Mandelkow, E. (2017b). Inhibition of Tau Protein Aggregation by Rhodanine-based Compounds Solubilized Via Specific Formulation Additives to Improve Bioavailability and Cell Viability. *Curr Alzheimer Res* 14, 742-752.
 - Pir, G.J., Choudhary, B., and Mandelkow, E. (2017). *Caenorhabditis elegans* models of tauopathy. *FASEB J* 31, 5137-5148.
 - Rennhack, A., Grahn, E., Kaupp, U.B., and Berger, T.K. (2017). Photocontrol of the Hv1 Proton Channel. *ACS Chem Biol* 12, 2952-2957.
 - Rojas-Piloni, G., Guest, J.M., Egger, R., Johnson, A.S., Sakmann, B., and Oberlaender, M. (2017). Relationships between structure, *in vivo* function and long-range axonal target of cortical pyramidal tract neurons. *Nat Commun* 8, 870.
 - Saggiorato, G., Alvarez, L., Jikeli, J.F., Kaupp, U.B., Gompper, G., and Elgeti, J. (2017). Human sperm steer with second harmonics of the flagellar beat. *Nat Commun* 8, 1415.
 - Said, N., Krupp, F., Anedchenko, E., Santos, K.F., Dybkov, O., Huang, Y.H., Lee, C.T., Behrmann, E., Bürger, J., Mielke, T., Loerke, J., Urlaub, H., Spahn, C.M.T., Weber, G., and Wahl, M.C. (2017). Structural basis for λ N-dependent processive transcription antitermination. *Nat. Microbiol.* 2, 17062.
 - Schelle, J., Häslner, L.M., Göpfert, J.C., Joos, T.O., Vanderstichele, H., Stoops, E., Mandelkow, E.M., Neumann, U., Shimshek, D.R., Staufienbiel, M., et al. (2017). Prevention of tau increase in cerebrospinal fluid of APP transgenic mice suggests downstream effect of BACE1 inhibition. *Alzheimers Dement* 13, 701-709.
 - Schonauer, S., Körschen, H.G., Penno, A., Rennhack, A., Breiden, B., Sandhoff, K., Gutbrod, K., Dörmann, P., Raju, D.N., Haberkant, P., et al. (2017). Identification of a feedback loop involving beta-glucosidase 2 and its product sphingosine sheds light on the molecular mechanisms in Gaucher disease. *J Biol Chem* 292, 6177-6189.
 - Sethuramanujam, S., Yao, X., deRosenroll, G., Briggman, K.L., Field, G.D., and Awatramani, G.B. (2017). "Silent" NMDA Synapses Enhance Motion Sensitivity in a Mature Retinal Circuit. *Neuron* 96, 1099-1111 e3.
 - Sotiropoulos, I., Galas, M.C., Silva, J.M., Skoulakis, E., Wegmann, S., Maina, M.B., Blum, D., Sayas, C.L., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., et al. (2017). Atypical, non-standard functions of the microtubule associated Tau protein. *Acta Neuropathol Commun* 5, 91.
 - Speiser, A., Jinyao, Y., Archer, E., Buesing, L., Turaga, S.C., and Macke, J.H. (2017). Fast amortized inference of neural activity from calcium imaging data with variational autoencoders. *Adv Neural Inf Process Syst* 30, 4024-4034.
 - Stutz, A., Kolbe, C.C., Stahl, R., Horvath, G.L., Franklin, B.S., van Ray, O., Brinkschulte, R., Geyer, M., Meissner, F., and Latz, E. (2017). NLRP3 inflammasome assembly is regulated by phosphorylation of the pyrin domain. *J Exp Med* 214, 1725-1736.
 - Tafazoli, S., Safaai, H., De Franceschi, G., Rosselli, F. B., Vanzella, W., Riggi, M., et al. (2017). Emergence of transformation-tolerant representations of visual objects in rat lateral extras-

triate cortex. *eLife*, 6: e22794.

- Turner-Evans, D., Wegener, S., Rouault, H., Franconville, R., Wolff, T., Seelig, J.D., Druckmann, S., and Jayaraman, V. (2017). Angular velocity integration in a fly heading circuit. *Elife* 6, e23496.
- Turpin, A., Rego, L., Picon, A., San Roman, J., and Hernández-García, C. (2017). Extreme Ultra-violet Fractional Orbital Angular Momentum Beams from High Harmonic Generation. *Sci Rep* 7, 43888.
- Valero, J., Lohman, F., and Famulok, M. (2017). Interlocked DNA topologies for nanotechnology. *Curr Opin Biotechnol* 48, 159-167.
- von Gerichten, J., Schlosser, K., Lamprecht, D., Morace, I., Eckhardt, M., Wachten, D., Jenne-mann, R., Gröne, H.J., Mack, M., and Sandhoff, R. (2017). Diastereomer-specific quantification of bioactive hexosylceramides from bacteria and mammals. *J Lipid Res* 58, 1247-1258.
- Wachten, D., Jikeli, J.F., and Kaupp, U.B. (2017). Sperm sensory signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9, a028225.
- Wang, Y., Balaji, V., Kaniyappan, S., Krüger, L., Irsen, S., Tepper, K., Chandupatla, R., Maetzler, W., Schneider, A., Mandelkow, E., et al. (2017). The release and trans-synaptic transmission of Tau via exosomes. *Mol Neurodegener* 12, 5.
- Weber, T., Kiel, T., Irsen, S., Busch, K., and Linden, S. (2017). Near-field study on the transition from localized to propagating plasmons on 2D nano-triangles. *Opt Express* 25, 16947-16956.
- Wischhof, L., Maida, S., Piazzesi, A., Gioran, A., Barragan Sanz, K., Irsen, S., Beyer, M., Schultze, J.L., Dyer, M.J., Salomoni, P., et al. (2017). The SWI/SNF subunit Bcl7a contributes to motor coordination and Purkinje cell function. *Sci Rep* 7, 17055.
- Woeste, M.A., and Wachten, D. (2017). The enigmatic role of GBA2 in controlling locomotor function. *Front Mol Neurosci* 10, 386.
- Xiang, S., Kulminkaya, N., Habenstein, B., Biernat, J., Tepper, K., Paulat, M., Griesinger, C., Becker, S., Lange, A., Mandelkow, E., et al. (2017). A two-component adhesive: Tau fibrils arise from a combination of a well-defined motif and conformationally flexible interactions. *J Am Chem Soc* 139, 2639-2646.
- Yin, D.M., Hannam, J.S., Schmitz, A., Schiemann, O., Hagelueken, G., and Famulok, M. (2017). Studying the conformation of a receptor tyrosine kinase in solution by inhibitor-based spin labeling. *Angew Chem Int Ed Engl* 56, 8417-8421.
- Zanello, M., Poulon, F., Pallud, J., Varlet, P., Hamzeh, H., Abi Lahoud, G., Andreiuolo, F., Ibrahim, A., Pages, M., Chretien, F., et al. (2017). Multimodal optical analysis discriminates freshly extracted human sample of gliomas, metastases and meningiomas from their appropriate controls. *Sci Rep* 7, 41724.
- Zempel, H., Dennissen, F.J.A., Kumar, Y., Luedtke, J., Biernat, J., Mandelkow, E.M., and Mandelkow, E. (2017a). Axodendritic sorting and pathological missorting of Tau are isoform-specific and determined by axon initial segment architecture. *J Biol Chem* 292, 12192-12207.
- Zempel, H., Luedtke, J., and Mandelkow, E.M. (2017b). Tracking tau in neurons: How to transfect and track exogenous tau into primary neurons. *Methods Mol Biol* 1523, 335-340.
- Zempel, H., and Mandelkow, E.M. (2017c). Tracking Tau in Neurons: How to grow, fix, and stain primary neurons for the investigation of tau in all developmental stages. *Methods Mol*

Biol 1523, 327-334.

- Zhong, W., Ciatipis, M., Wolfenstetter, T., Jessberger, J., Müller, C., Ponsel, S., Yanovsky, Y., Brankack, J., Tort, A.B.L., and Draguhn, A. (2017). Selective entrainment of gamma subbands by different slow network oscillations. Proc Natl Acad Sci U S A 114, 4519-4524.

Dissertationen

- Balbach, M. (2017): Action of zona pellucida glycoproteins in mouse and human sperm, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
- Farci, D. (2017): Spatial organization of a chemoreceptor guanylate cyclase in the flagellum of *Arbacia punctulata* sperm, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität zu Köln
- Fridman, D. (2017): Temperaturwahrnehmung in menschlichen Spermien, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität zu Köln
- Hamzeh, H. (2017): Organization and function of signaling molecules in sperm, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

EINBLICKE IN CAESAR



Neues aus der IMPRS

Die International Max Planck Research School (IMPRS) for Brain and Behavior hat 2017 ihr zweites volles Betriebsjahr abgeschlossen. Das Ziel des Programms besteht darin, hervorragende Doktorand/innen zu gewinnen und ihnen die Möglichkeit zu geben, in ein stimulierendes Umfeld einzutauchen, in dem ihnen innovative Technologien zur Verfügung stehen, um die Funktionen der Schaltkreise des Gehirns von der Molekülebene bis hin zu Tierverhalten aufzuklären.

von Denise Butler | IMPRS Koordinationsbüro

Die Graduiertenschule ist die erste transatlantische Kooperation im Bereich der Neurowissenschaften zwischen zwei neurowissenschaftlichen Instituten der Max-Planck-Gesellschaft (caesar und dem Max Planck Florida Institute of Neuroscience) sowie zwei Universitäten (Universität Bonn und Florida Atlantic University). Das Programm wird in erster Linie durch die Förderung der IMPRS der Max-Planck-Gesellschaft finanziert. Weitere Unterstützung für Positionen für Studierende sowie Forschungs- und Betriebskosten kommt von den beteiligten Einrichtungen. Weiterhin werden im Rahmen des Programms Stipendien für einzelne Forscher vergeben. Das Koordinationsbüro der Schule befindet sich bei caesar.

Der Lenkungsausschuss berät den Sprecher und dessen Vertreter in allen Punkten, die für einen erfolgreichen Betrieb der IMPRS wichtig sind. Alle Vorschläge für grundsätzliche Veränderungen, darunter auch die Einstellung weiterer Lehrkörper für die IMPRS und die Berufung von Ausschussmitgliedern müssen durch einen Mehrheitsbeschluss bewilligt werden. Im Jahr 2017 kamen Dr. Kevin Brigg-

man (caesar) und Dr. Robert Stackman (Florida Atlantic University) dazu, während Prof. Dr. U. Benjamin Kaupp (caesar) und Dr. Elizabeth Matthews (Universität Bonn) den Lenkungsausschuss verließen. Der Ausschuss hat 2017 die folgenden wichtigen Entscheidungen getroffen: Erhöhung der Anzahl durch die IMPRS finanzierten Doktorand/innen-Stipendien von 3 auf 4, Einführung von 4 Stipendien für Masterstudenten in Zusammenarbeit mit dem Studiengang MSc Neurowissenschaften der Uni Bonn und die Schaffung eines Programms für Reisetstipendien. Außerdem hat der Ausschuss zwei neue Fakultätsmitglieder eingesetzt: Prof. Dr. Jens Brüning (Max-Planck-Institut für Stoffwechselforschung) im März und Dr. Kevin Briggman (caesar) im September.

Forschungsrahmen

Eine der zentralen Fragen der Biologie besteht darin zu verstehen, wie die Gehirne von Tieren die Informationen der Außenwelt kodieren und wie ihnen dadurch die Interaktion mit ihrem Umfeld ermöglicht wird. Obwohl dieses Thema bereits seit Jahrzeh-

ten erforscht wird, entstehen erst jetzt die erforderlichen Werkzeuge, um das Thema endlich in Angriff nehmen zu können. Diese Werkzeuge basieren auf optischen, elektro-physiologischen und genetischen Verfahren, deren Kombination nie da gewesene Einblicke in die neuronalen Schaltkreise des gesamten Gehirns ermöglicht und die den Weg für entscheidende Fortschritte im Bereich der Neurowissenschaften ebnet. Der Forschungsschwerpunkt der IMPRS for Brain and Behavior besteht deshalb darin, Methoden aus den traditionellen Disziplinen Biologie, Mathematik und Physik zu kombinieren, um sich mit dieser Frage auf diversen Ebenen zu befassen – von der Definition der Rolle von Molekülen, die an Signalprozessen an der Synapse beteiligt sind bis hin zum Verständnis, wie Tiere sensorische Informationen nutzen, um Entscheidungen zu treffen.

Bewerbungen und Auswahl-Symposium

Das Auswahlkomitee nutzt ein zweistufiges Onlinesystem, um Bewerbungen zu prüfen und zu bewerten. Dieser Prozess hat sich als erfolgreich erwiesen und der Ausschuss hat dafür gestimmt, das Verfahren so fortzuführen. Der Bewerberpool wurde auf 15 Bewerber reduziert, die eingeladen wurden und von denen 12 am Auswahl-Symposium bei caesar am 13. und 14. März 2017 teilgenommen haben. Aufgrund von Rückmeldungen wurde das Format des Symposiums verändert und besteht nun aus einer Poster-Session gefolgt von Bewerbungsgesprächen mit jedem der drei Gremien des Ausschusses. Sechs der zwölf Kandidat/innen wurde ein Platz an der IMPRS angeboten. Die drei besten Student/innen erhielten Stipendien für

die Dauer von 3 Jahren. Der zweite Tag wurde der Suche nach einem Mentor aus den 27 verfügbaren finanzierten Stellen gewidmet, deren Forschungsinteressen zu denen der Kandidaten passen. Das Symposium wurde mit einem Abendessen und einem internationalen Austausch/Event abgerundet, das von derzeitigen Student/innen der IMPRS organisiert wurde.

Student/innen

2017 haben wir unseren zweiten Jahrgang mit 4 Student/innen zugelassen. Insgesamt gibt es 19 Student/innen aus 10 verschiedenen Ländern: 21 % aus den USA und 26 % aus Deutschland; 11 Männer, 8 Frauen; 7 in den USA und 12 in Deutschland. Student/innen werden einmal im Jahr aufgenommen und das Verhältnis zwischen Bewerbern und Zusagen lag 2017 bei 1:17. Es wird erwartet, dass die Jahrgangsgröße zukünftig bei 12 Studierenden liegen wird. Von einem 3-jährigen Programm ausgehend, werden also ca. 36 Student/innen am Programm teilnehmen. Das Auswahlkomitee hat entschieden, dass herausragende Leistungen wichtiger sind als jedes Jahr eine konstante Jahrgangsgröße zu gewährleisten. Ab dem Jahr 2017 wurde beschlossen, dass hervorragende Student/innen anderer Disziplinen wie Physik oder Informatik eine Bereicherung für das Programm darstellen und diese nicht aufgrund des fehlenden neurobiologischen Hintergrunds ausgeschlossen werden. Unsere Partneruniversitäten bieten hierfür Förderunterricht in Biologie und Neurowissenschaften an. Im März haben Vertreter der Studierenden den Lenkungsausschuss über Anliegen der Student/innen informiert. Unter anderem haben sie vorgeschlagen: Reise-

stipendien für die Teilnahme an Workshops oder Kursen an den Partnerinstituten und bei internationalen Konferenzen, Beteiligung von Fakultätsmitgliedern aus Florida und/oder Bonn in den Thesis Advisory Committees (TAC) der Student/innen. Im September hat der Ausschuss ein neues Programm für Reiestipendien bewilligt. Mögliche Regelungen für einen verstärkten Austausch zwischen Bonn und Florida wurden geprüft und im TAC eines Studierenden befindet sich mindestens je ein Mitglied aus Bonn und Florida.

Entwicklungen

In den vergangenen zwei Jahren haben sich die Student/innen der IMPRS erfolgreich in die örtliche Wissenschaftsgemeinschaft integriert. Wir haben nun ein gewähltes Mitglied im BIGS Neuroscience Student Council und mehrere Student/innen der IMPRS haben im Oktober am BIGS Retreat teilgenommen. Während der BonnBrain³, die im März bei caesar stattgefunden hat, hat die Mehrzahl der Student/innen Poster ihrer laufenden Arbeit ausgestellt. Im September hat die IMPRS an der Universität Bonn eine gut besuchte Informationsveranstaltung für Masterstudent/innen durchgeführt, die Studierende aus den Bereichen Neurowissenschaften und anderen relevanten Masterstudienrichtun-

gen von Universitäten in der Umgebung ange lockt hat. Dr. Jason Kerr in seiner Rolle als Sprecher und Dr. Kevin Briggman haben dem Publikum das Programm der IMPRS und die Forschungsthemen vorgestellt. Beim Jahrestreffen der Society for Neuroscience (SfN) in Washington im November 2017 hatten wir einen Infostand bei der Graduate School Fair und wir waren außerdem an den Ständen der NeuroSchools-Germany und der DFG vertreten. Die stellvertretende Sprecherin Dr. McLean Bolton (MPFI) hat die Gelegenheit genutzt, unsere IMPRS bei der SfN in einem Interview für einen Artikel vorzustellen. Der Artikel soll in der Mitgliederpublikation Neuroline erscheinen. Der Schwerpunkt des Interviews war die Entwicklung von Lehrplänen, die in einem sich entwickelnden Bereich mithalten können, sowie Ratschläge für zukünftige und derzeitige Graduierte. Im Dezember 2017 hat unser erster Studierender (Daniel Wilson, MPFI) seine Doktorarbeit erfolgreich verteidigt.





Der Vortrag „Den Kampf zwischen Immun- und Krebszellen sichtbar machen“ (Prof. Dr. Hidde Ploegh) fand beim Publikum großen Anklang.

Veranstaltungen bei caesar

caesarium

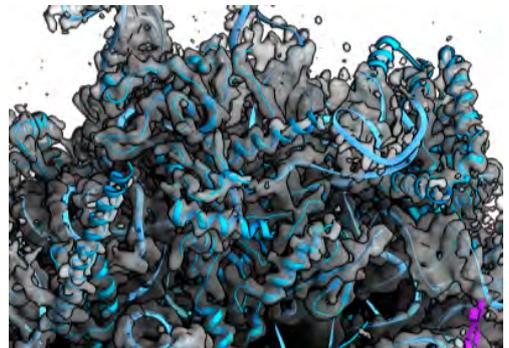
Unsere öffentliche Vortragsreihe „caesarium“ konnte 2017 erfolgreich fortgesetzt werden. Renommierete Wissenschaftler haben ein breites Spektrum an Themen für ein Laienpublikum vorgestellt. Die ausgewählten Themen hatten aktuelle Bezüge oder gesellschaftliche Relevanz und haben zu inspirierenden öffentlichen Diskussionen geführt. So gibt das „caesarium“ weitere Einblicke in den spannenden und faszinierenden Bereich der Wissenschaft und Forschung.

Die folgenden Sprecher haben ihre Arbeit 2017 im Rahmen des „caesarium“ vorgestellt:

- **Prof. Dr. Jeffrey Friedman**
Rockefeller University, New York, USA
„Leptin and the Biologic Basis of Obesity“
16.02.2017
- **Prof. em. Dr. Dr. h.c. mult. Wolf Singer**
Emeritus am Max-Planck-Institut für Hirnforschung und Senior-Fellow am Ernst-Strüngmann-Institut, Frankfurt
„Wissen wollen, eine ethische Verpflichtung?“
06.04.2017
- **Prof. Dr. Philippe Bastiaens**
Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie, Dortmund
„Können unsere Zellen denken und dürfen sie das?“
05.10.2017
- **Prof. Dr. Hidde Ploegh**
Harvard Medical School, Boston, USA
„Den Kampf zwischen Immun- und Krebszellen sichtbar machen“
09.11.2017

caesar Konferenz (12.09. - 15.09. 2017)

Die 6. internationale caesar Konferenz „Grenzen überwinden: Atomare Auflösung und darüber hinaus“ vereinte die führenden Wissenschaftler in molekularer Cryo-Elektronen Mikroskopie in einem Fachgespräch über die neuesten Entwicklungen in dieser schnell voranschreitenden Forschungsdisziplin. Die Diskussionen thematisierten die jüngsten Fortschritte sowohl in technologischer als auch in methodologischer Hinsicht und deren Anwendbarkeit auf fundamentale biologische Fragen. Die Konferenz wurde mit dem Hauptvortrag von Prof. Dr. Richard Henderson (der ein paar Wochen später den Nobelpreis für seine Arbeit erhielt) eröffnet und erfreute sich eines Publikums aus 150 Wissenschaftlern jeden Alters. Bereits vor der Konferenz fanden bei caesar außerdem zwei praktische Workshops mit 30 Teilnehmern statt, die die neuen Vorgehensweisen vorstellten.



Science Slam (11.05. 2017)

Ein fantastischer Weg, um Wissenschaft auf verständliche und unterhaltsame Art und Weise zu kommunizieren. In einer Reihe von Kurzvorträgen erklärten leidenschaftliche Wissenschaftler ihre Arbeit einem nicht-spezialisierten, öffentlichen Publikum. Der zugrundeliegende Wettbewerb erlaubte es den Zuhörern anschließend für ihren Favoriten zu stimmen, der die Herausforderung Forschung mit Witz und Verstand über die Bühne zu vermitteln am besten gemeistert hat. Es war ein wirklich fesselndes und interaktives Ereignis, das Begeisterung für die Wissenschaft bewiesen und das Publikum inspiriert hat.

Kunstaustellung ARTenVielfalt (10.04. – 09.06. 2017)

Vom 10. April bis zum 09. Juni stellten 12 mehrheitlich regionale Künstler ihre Werke im Rahmen der „ARTenVielfalt“ aus. Die Ausstellung öffnete sich für diverse künstlerische Disziplinen und Stile: Malerei, Bildhauerei, Photographie, Installation, Objektkunst, Medien, Kunst mit Klebeband und Neo-Pop. Die Herangehensweisen der Künstler waren ebenso vielfältig und abwechslungsreich, wie die Stilrichtungen und kreativen Prozesse.

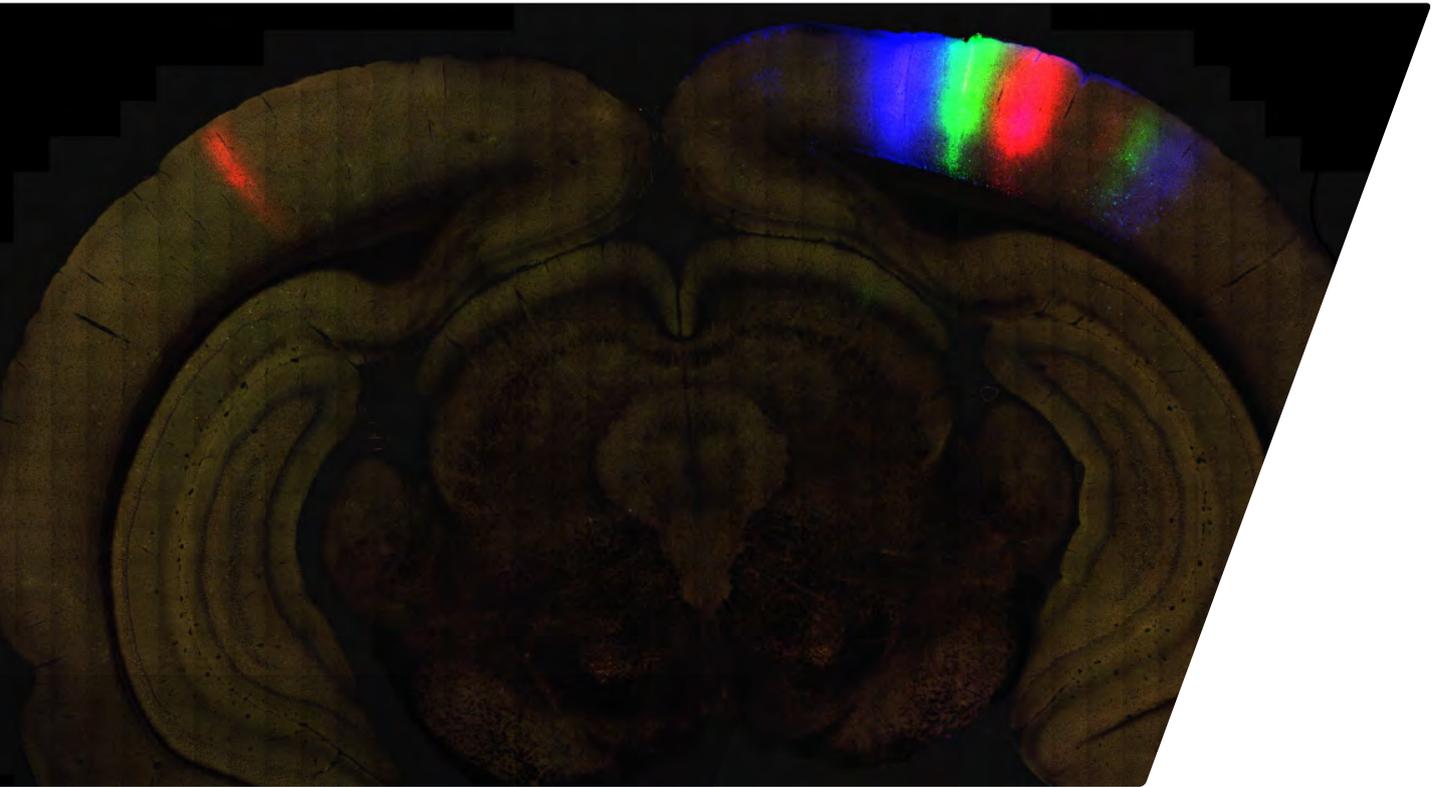
Firmenlauf (14.09. 2017)

Auf ein Neues verwandelte sich Bonn in eine Rennstrecke entlang des Rheins für den 11. Firmenlauf am 14. September 2017. Zusammen mit über 12.400 Läufern aus mehr als 450 verschiedenen Unternehmen und Instituten trotzten die Mitglieder von caesar dem Regenwetter und überschritten erfolgreich die Ziellinie nach einer stolzen Strecke von 5,7 km.



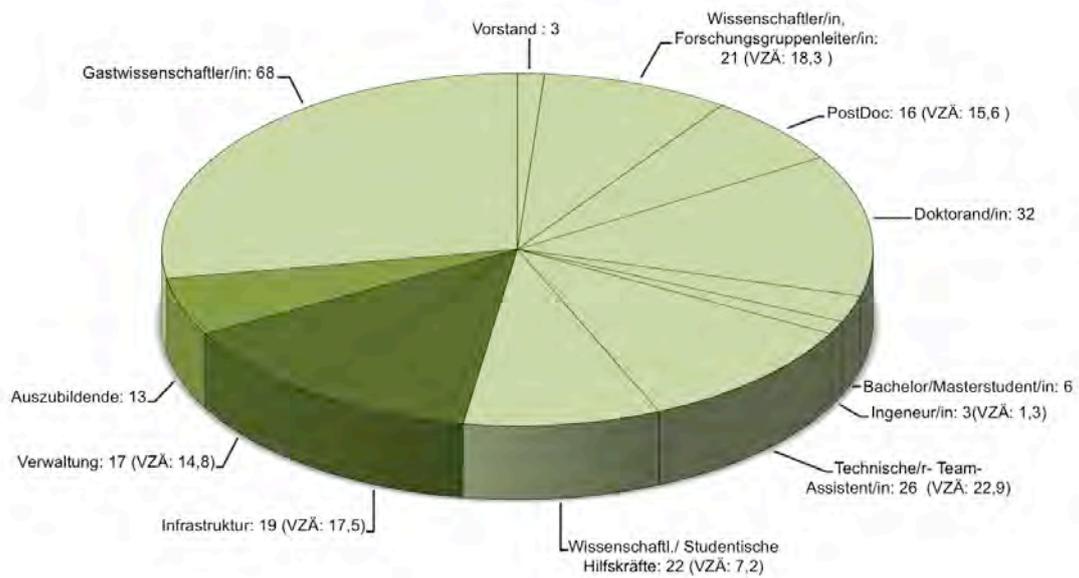
ZAHLEN & FAKTEN

Zahlen und Fakten



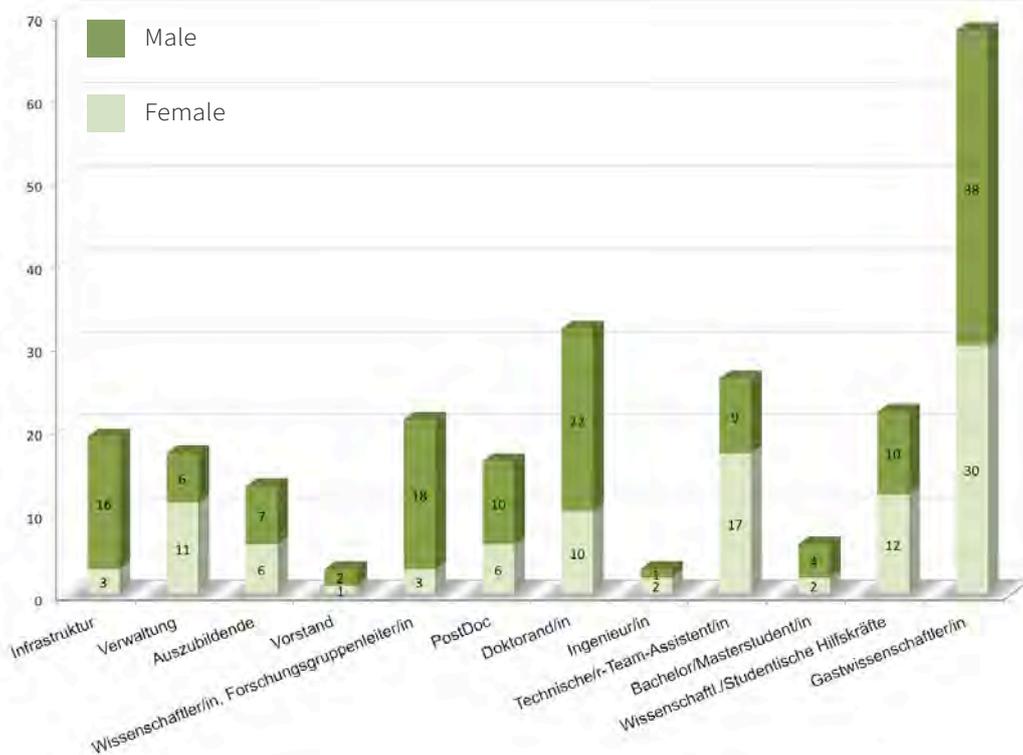
Am 1. Januar 2017 waren am Forschungszentrum caesar insgesamt 175 Mitarbeiter/innen sowie 68 Gastwissenschaftler/innen tätig. Die Verteilung der Mitarbeiter/innen auf die Abteilungen und Funktionen ergibt sich aus dem folgenden Diagramm. In Vollzeitstellen umgerechnet waren 14,8 Personen im Bereich Verwaltung und 17,5 Personen im Bereich Infrastruktur beschäftigt. Dem wissenschaftlichen Bereich und dem dazugehörigen

Bereich der wissenschaftlichen Infrastruktur sind 194 Mitarbeiter/innen zugeordnet. Zum Jahreswechsel forschten 68 Gastwissenschaftler/innen im Rahmen einer wissenschaftlichen Zusammenarbeit bei caesar. Außerdem werden bei caesar 13 Auszubildende in 6 Abteilungen betreut: Werkzeugmechaniker/innen, Biologie- und Chemielaborant/innen, Kaufleute für Büromanagement und Tierpfleger/innen.



Der Anteil von weiblichen Mitarbeitern beträgt im wissenschaftlichen Bereich 42 %. Die Verteilung von weiblichen und männlichen

Mitarbeitern nach den unterschiedlichen Funktionsbereichen ist in folgendem Diagramm dargestellt.



Finanzen

Grundstock der Stiftung caesar

caesar wurde als gemeinnützige Stiftung des privaten Rechts von der Bundesrepublik Deutschland und dem Land Nordrhein-Westfalen, im Rahmen des Bonn-Berlin-Ausgleichs, gegründet.

Das Stiftungsvermögen beträgt 383,4 Mio. € plus 6,6 Mio. € Grundstückswert, den caesar von der Stadt Bonn erhalten hat.

286,3 Mio. € des Stiftungskapitals wurden langfristig am Kapitalmarkt angelegt. Die Erträge finanzieren unter anderem die Forschung bei caesar.

VERMÖGEN

Sachanlagen	84.511.122 €
Finanzanlagen	301.736.604 €
Sonstige	23.171.446 €
Bilanzsumme	409.419.172 €

ERTRÄGE 2017

Erträge aus Umsatzerlösen und Förderprojekten	5.130.675 €
Erträge aus Wertpapieren und Zinsen	13.628.916 €
Erträge insgesamt	18.759.591 €

AUFWENDUNGEN 2017

Personalaufwand	8.235.874 €
Sachaufwand	5.065.418 €
Abschreibungen	3.594.483 €
Aufwendungen insgesamt	16.895.775 €

Jahresbilanz

Bilanzschluss zum 31.12.2017 (Angaben in €)

AKTIVA	31.12.2017	31.12.2016
A. Anlagevermögen		
I. Immaterielle Vermögensgegenstände	139.286 €	229.160 €
II. Sachanlagen		
Grundstücke und Bauten	69.969.487 €	71.163.312 €
Andere Anlagen	13.289.248 €	10.070.155 €
Geleistete Anzahlungen & Anlagen im Bau	712.387 €	681.875 €
Summe aus II.	84.511.122 €	81.915.342 €
III. Finanzanlagen		
Beteiligungen	330.000 €	330.000 €
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Anlage des Stiftungsvermögens	290.575.021 €	290.575.021 €
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Gebäude- wiederbeschaffung	10.831.583 €	10.831.583 €
Summe aus III.	301.736.604 €	301.736.604 €
Summe für A.	386.387.012 €	383.881.106 €

Bilanzschluss zum 31.12.2017 (Angaben in €)

B. UMLAUFVERMÖGEN	31.12.2017	31.12.2016
I. Vorräte	319.950 €	273.946 €
II. Forderungen und sonstige Vermögensgegenstände		
Forderungen aus Lieferungen und Leistungen	599.357 €	936.514 €
Forderungen gegen Unternehmen, mit denen ein Beteiligungsverhältnis besteht	0 €	0 €
Sonstige Vermögensgegenstände	2.033.002 €	1.061.860 €
Summe aus II.	2.632.359 €	1.998.374 €
III. Wertpapiere	0 €	1.000.000 €
IV. Kassenbestand, Bundesbankguthaben, Guthaben bei Kreditinstituten und Schecks	19.797.225 €	20.788.813 €
Summe für B.	22.746.534 €	24.061.133 €
C. Rechnungsabgrenzungsposten	285.626 €	317.941 €
Gesamtes Vermögen	409.419.172 €	408.260.181 €

Bilanzschluss zum 31.12.2017 (Angaben in €)

PASSIVA	31.12.2017	31.12.2016
A. Anlagevermögen		
I. Stiftungsvermögen		
Finanzierungskapital	286.323.453 €	286.323.453 €
Investmentkapital	97.145.457 €	97.145.457 €
Unterstützung der Stadt Bonn	6.681.051 €	6.681.051 €
Verwendungsrücklagen	1.283.957 €	1.283.957 €
Summe aus I.	391.433.918 €	391.433.918 €
II. Rücklagen		
Freie Rücklagen in Abgleich mit § 58 Nr. 7a AO	8.371.133 €	6.507.317 €
Wartungsrücklagen	4.943.789 €	4.943.788 €
Summe aus II.	13.314.922 €	11.451.105 €
III. Ergebnis		
Jährlicher Überschuss / Defizit	0 €	0 €
Summe aus III.	0 €	0 €
Summe aus A.	404.748.840 €	402.885.023 €
B. Sonderposten für Investitionszuschüsse	3.207.721 €	3.646.087 €
C. Provisionen	511.007 €	€608.030 €
D. Forderungen		
Forderungen aus Lieferungen	793.619 €	929.315 €
Andere Forderungen	157.985 €	190.675 €
Summe aus D.	951.604 €	1.119.990 €
E. Rechnungsabgrenzungsposten	0 €	1.051 €
Gesamtanlagen	409.419.172 €	408.260.181 €

Organe der Stiftung

Stiftungsrat

Am 31. Dezember 2017 bestand der Stiftungsrat aus:

Vorsitzender

- Prof. Dr. Martin Stratmann
Präsident der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.,
München

Mitglieder

- Prof. Dr. Philippe Bastiaens
Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie,
Dortmund
- Prof. Dr. Jens Brüning
Max-Planck-Institut für Stoffwechselforschung,
Köln
- MinDir'in Bärbel Brumme-Bothe
Leiterin der Abteilung 6 im Bundesministerium für Bildung und Forschung,
Berlin
- Prof. Dr. Winfried Denk
Max-Planck-Institut für Neurobiologie,
Martinsried
- Prof. Dr. Pascal Fries
Direktor am Ernst Strüngmann Institut gGmbH,
Frankfurt a.M.

- Prof. Dr. Bill Hansson
Vizepräsident der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.,
Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie,
Jena
- Prof. Dr. Michael Hoch
Rektor der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn,
Bonn
- Prof. Dr. Regine Kahmann
Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie,
Marburg
- Tankred Schipanski
Mitglied des Deutschen Bundestages,
Berlin
- Ulrich Schüller
Leiter der Abteilung 4 im Bundesministerium für Bildung und Forschung,
Bonn
- Karl Schultheis
Mitglied des Landtages NRW,
Düsseldorf
- Ashok-Alexander Sridharan
Oberbürgermeister der Bundesstadt Bonn,
Bonn
- Annette Storsberg
Staatssekretärin im Ministerium für Kultur und Wissenschaft des Landes Nordrhein-Westfalen,
Düsseldorf
- Prof. Dr. Heinz Wässle
Max-Planck-Institut für Hirnforschung,
Frankfurt a.M.
- Dr. Norbert Windhab
Evonik Nutrition & Care GmbH,
Darmstadt

Vorstand

Am 31. Dezember 2017 bestand der Vorstand aus:

- Dr. Jason Kerr
Wissenschaftlicher Direktor
Direktor der Abteilung „Organisation des Gehirns und Verhaltens“
- Dr. Kevin Briggman
Direktor der Abteilung „Computational Neuroethology“
- Gertrud Bilski
Kaufmännische Geschäftsführerin

IMPRESSUM

Veröffentlicht durch

Forschungszentrum caesar
Ludwig-Erhard-Allee 2
D-53175 Bonn

Leitung

Dr. Jason Kerr
Dr. Kevin Briggman
Gertrud Bilski

Redakteure

Sebastian Scherrer
Dr. Mia von Scheven
Dr. Christoph Geisen

Kontakt

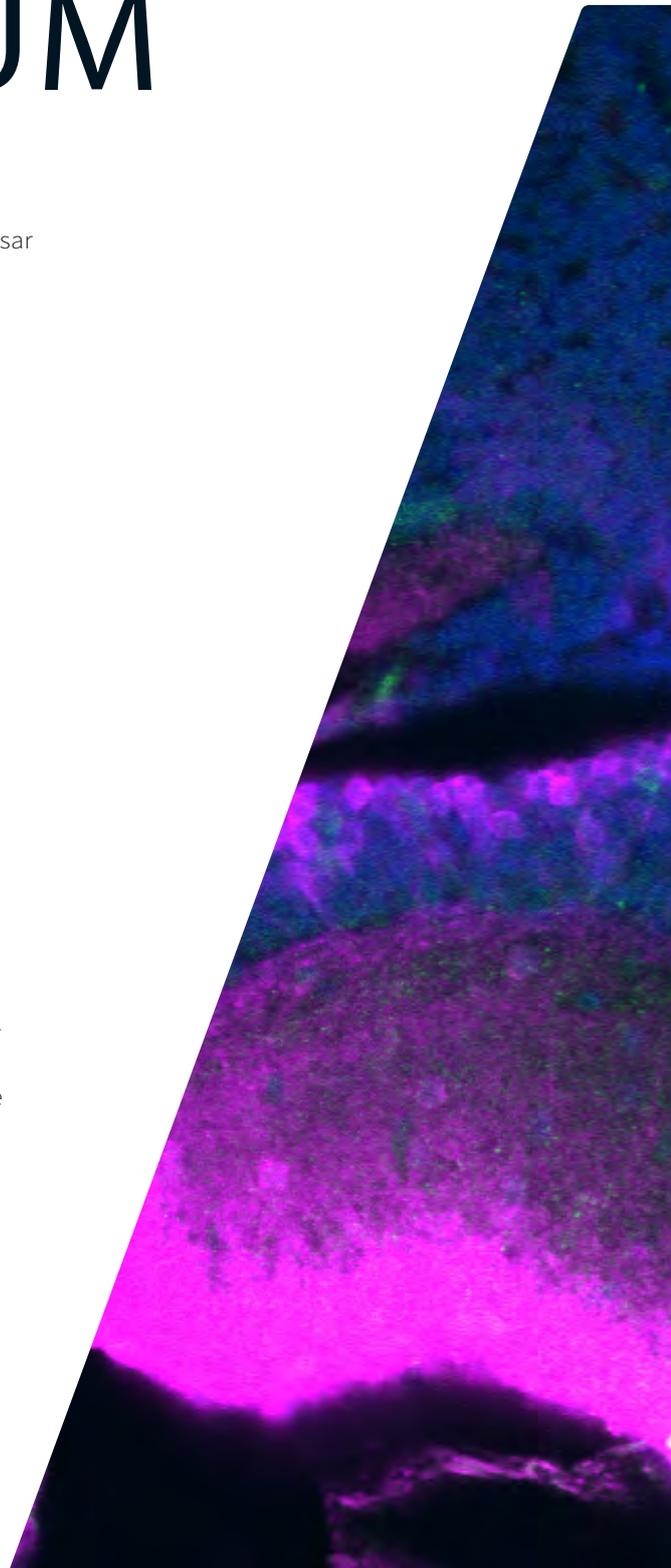
Stiftung caesar
Ludwig-Erhard-Allee 2
D-53175 Bonn

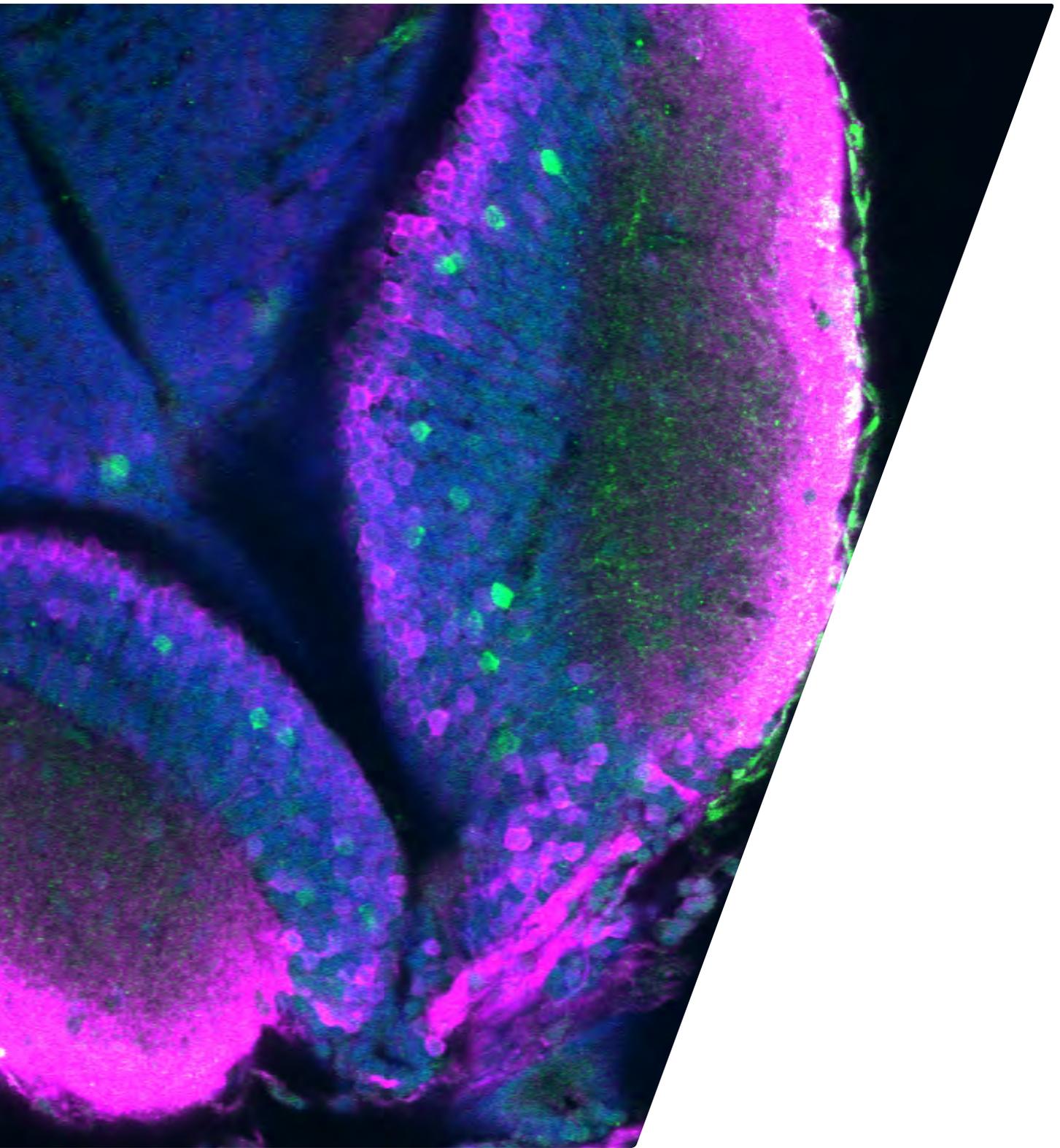
Tel.: +49 (0)228 9656-0
Fax: +49 (0)228 9656-111

E-Mail: office@caesar.de

<http://www.caesar.de>

© 2018





www.caesar.de