



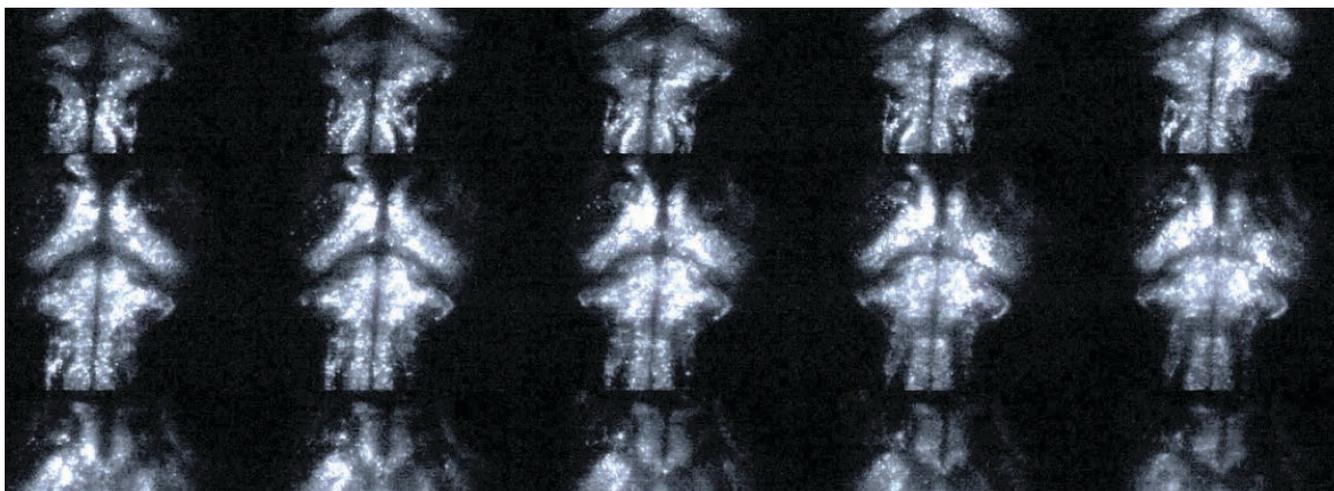
■ caesar



assoziiert
mit der
Max-Planck-
Gesellschaft

JAHRES BERICHT 2018

VORWORT



Als Institut für Neuroethologie beschäftigt sich caesar mit der Frage, wie die kollektive Aktivität der gewaltigen Anzahl miteinander vernetzter Neurone im Gehirn die enorme Bandbreite tierischen Verhaltens hervorruft. Dabei setzen unsere Forschungsgruppen und Abteilungen ein in dieser Kombination einzigartiges Spektrum experimenteller und computerbasierter Methoden ein. Die Forschung bei caesar erstreckt sich zeitlich und anatomisch über mehrere Skalen, von der Abbildung des Gehirns auf der Nanoebene über die großräumige funktionelle Darstellung tausender Nervenzellen im Gehirn bis hin zur Quantifizierung des natürlichen Verhaltens von Tieren verschiedenster Gattungen.

Im vergangenen Jahr haben wir den Umbau caesars zu einem einzigartigen Neuroethologie-Institut weiter vorangetrieben. Ein lebendiges Forschungsumfeld setzt eine kritische Masse an jungen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern voraus, und so haben wir 2018 ein Symposium zur Besetzung zweier Forschungsgruppenleitungsstellen durchgeführt, die durch Hochschulberufungen vakant geworden waren.

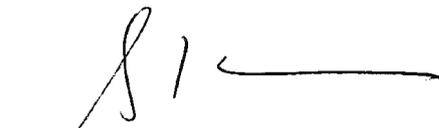
Im Ergebnis konnten wir zwei herausragende Nachwuchsforscherpersönlichkeiten gewinnen, die 2019 zu caesar stoßen werden: Dr. Monika Scholz, bisher am Department of Physics, Princeton University, New Jersey, USA, untersucht das Nahrungssuchverhalten des Fadenwurmes *C. elegans*, um grundlegende Prinzipien der Signalkompression, Aufmerksamkeit und Kontextabhängigkeit in neuronalen Systemen zu erforschen.

Dr. E. Pascal Malkemper vom Institute of Molecular Pathology (IMP) in Wien beschäftigt sich mit den neurobiologischen Grundlagen des Magnetsinnes bei Säugetieren am Modell des unterirdisch lebenden Graumulls (*Fukomys anselli*). Mit der Ankunft der neuen Gruppen werden sich die Zahl der bei caesar erforschten Tierarten erhöhen und das Spektrum der experimentellen Ansätze erweitern. Damit das Institut für die Umsetzung seines ehrgeizigen wissenschaftlichen Konzepts gerüstet ist, wurde ein Plan für die Modernisierung und Erweiterung der wissenschaftlichen Serviceeinrichtungen erarbeitet, dem der Stiftungsrat im Dezember 2018 in vollem Umfang zustimmte.

Eine der größten aktuellen Herausforderungen in den Neurowissenschaften liegt darin, auf unterschiedlichen Ebenen gewonnene Erkenntnisse zusammenzuführen. Vor diesem Hintergrund haben wir eine Gruppe international renommierter Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler mit experimenteller wie auch theoretischer Ausrichtung zu einem Austausch darüber eingeladen, wie die Überbrückung zwischen relevanten Skalen der Hirnstruktur und -funktion sowie zwischen Versuchsdaten, numerischen Simulationen und konzeptionellen Modellen gelingen kann. Dieser Austausch wurde im Rahmen der 7. Internationalen caesar-Konferenz geführt, die am 5. und 6. Juni 2018 unter dem Thema „Missing links in neuroscience: Bridging scales in theory and experiment“ stattfand und auch den Neurowissenschaftlerinnen und -wissenschaftlern der Region eine hervorragende Gelegenheit zum fachlichen Diskurs bei caesar bot.

Die interessierte Öffentlichkeit war am 14. September 2018 zu einem Einblick in unsere Forschungsarbeit eingeladen. An diesem Tag fand bei caesar, ebenso wie bei zahlreichen anderen der über achtzig Max-Planck-Institute, der „Max-Planck-Tag“ statt, der aus Anlass zweier für die Max-Planck-Gesellschaft bedeutender Jubiläen gefeiert wurde: dem 70. Jahrestag der Gründung der Max-Planck-Gesellschaft und dem 100. Jahrestag der Verleihung des Nobelpreises an Max Planck für seine Entdeckung der Energiequanten. Für zwei unserer Nachwuchsgruppen bot diese Veranstaltung eine hervorragende Gelegenheit, einige ihrer Projekte in öffentlichen Vorträgen vorzustellen.

In der Erwartung, dass das kommende Jahr bei caesar ebenso produktiv sein wird wie das vergangene, freuen wir uns darauf, die Erforschung faszinierender Fragen an der Schnittstelle von Gehirn und Verhalten in einem fruchtbaren und kooperativen Forschungsumfeld fortzusetzen.



Prof. Dr. Martin Stratman
Präsident der Max-Planck-Gesellschaft
Vorsitzender des Stiftungsrats



Dr. Kevin Briggman
Geschäftsführender Direktor



Prof. Dr. Jason Kerr
Wissenschaftlicher Direktor



Helmut Kolz
Kaufmännischer Geschäftsführer



Prof. Dr. Martin Stratmann

Präsident der Max-Planck-Gesellschaft
Vorsitzender des Stiftungsrats



Dr. Kevin Briggman

Geschäftsführender wissenschaftlicher Direktor



Prof. Dr. Jason Kerr

Wissenschaftlicher Direktor



Helmut Kolz

Kaufmännischer Geschäftsführer



INHALTSVERZEICHNIS

Herausgeber: Dr. Kevin Briggman (Geschäftsführender wissenschaftlicher Direktor), Helmut Kolz (Verwaltungsdirektor), Prof. Dr. Jason Kerr (Wissenschaftlicher Direktor), Forschungszentrum caesar, Ludwig-Erhard-Allee 2, D-53175 Bonn.

Redaktion: Sebastian Scherrer, Dr. Mia von Scheven

Wissenschaftlicher Koordinator: Dr. Christoph Geisen

Redaktionsassistenz: Alina Gebauer, Maria Lüdecke



FORSCHUNGSBERICHTE	10
Vergrößerung der zellulären Auflösung der gesamten Gehirn-Bildgebung	12
Das Gehirn in Aktion: Untersuchung neuronaler Schaltkreise bei freiem Verhalten	16
Kortex <i>in Silico</i> - Digitalisierung der Netzwerke des Gehirns	24
Neuronale Steuerung der Flugbahn einer Fliege	30
Proteine angeln	36
Kleine Werkzeuge für große Moleküle	42
Tomografie für die Fluoreszenzbildgebung	48
Statistische Inferenz mechanistischer Modelle der neuronalen Dynamik	54
PUBLIKATIONEN	62
EINBLICKE IN CAESAR	68
Neues aus der IMPRS for Brain and Behavior	69
Veranstaltungen aus Wissenschaft, Presse- und Öffentlichkeitsarbeit bei caesar	72
ZAHLEN UND FAKTEN	80
ORGANE DER STIFTUNG	86



UNSERE FORSCHUNG

caesar ist ein Forschungsinstitut für Neuroethologie. Hier untersuchen wir, wie aus der kollektiven Aktivität der Vielzahl miteinander vernetzter Neuronen im Gehirn tierisches Verhalten in seiner ganzen Bandbreite entsteht. Unsere Forschung findet auf verschiedensten Größenebenen statt und reicht von der Darstellung neuronaler Schaltkreise auf einer Nanoskala über deren großräumige, funktionelle Abbildung im Verhaltensprozess bis hin zur Quantifizierung natürlichen tierischen Verhaltens.

Aufgabe des Gehirns ist die Koordination und die Steuerung tierischen Verhaltens. Die Verknüpfung zwischen Gehirn und Verhalten bezeichnet man als „Neuroethologie“. Für diese Disziplin ist eine Kombination verschiedener Forschungsstudien auf unterschiedlichen Detailebenen erforderlich – von der dichten anatomischen Rekonstruktion neuronaler Schaltkreise bis hin zur quantitativen Verhaltensanalyse sich frei bewegender Tiere. 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. Eine der größten aktuellen Herausforderungen der Neurowissenschaften ist es, die Forschungsergebnisse der unterschiedlichen Ebenen zu integrieren, sodass das Verhalten eines Tieres anhand der Aktivität der neuronalen Schaltkreise verstanden werden kann; denn letztlich ist es von Bedeutung, wie ein Tier die Berechnungen im Gehirn nutzt und nicht, wie einzelne Berechnungen unabhängig voneinander stattfinden. 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 rechnerischen 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. Die Forschungsgruppen und Abteilungen stellen eine einzigartige Kombination experimenteller und computerbasierter Herangehensweisen dar, die sich mit der Frage beschäftigen, wie das Gehirn das Verhalten steuert. Unsere Forschung umfasst eine große Bandbreite verschiedener Größenordnungen, von der Abbildung des Gehirns auf einer Nanoskala, über die großräumige, funktionelle Abbildung tausender Nervenzellen im Gehirn, bis hin zur Quantifizierung natürlichen tierischen Verhaltens. Dabei steht unsere wissenschaftliche Kompetenz hinter der Entwicklung neuer Technologien, sowohl in der experimentellen Instrumentierung als auch bei computergestützten Modellierungen und Methoden der Datenanalyse. Zusätzlich zur technologischen Breite der Forschungsgruppen und Abteilungen bei caesar sind unsere neuroethologischen Fragestellungen vergleichender Natur und beziehen sich auf eine Vielzahl verschiedenER Gattungen, wodurch wir ein großes Verhaltensrepertoire im gesamten Tierreich untersuchen können.

ÜBER DIE STIFTUNG

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.

KONTAKT



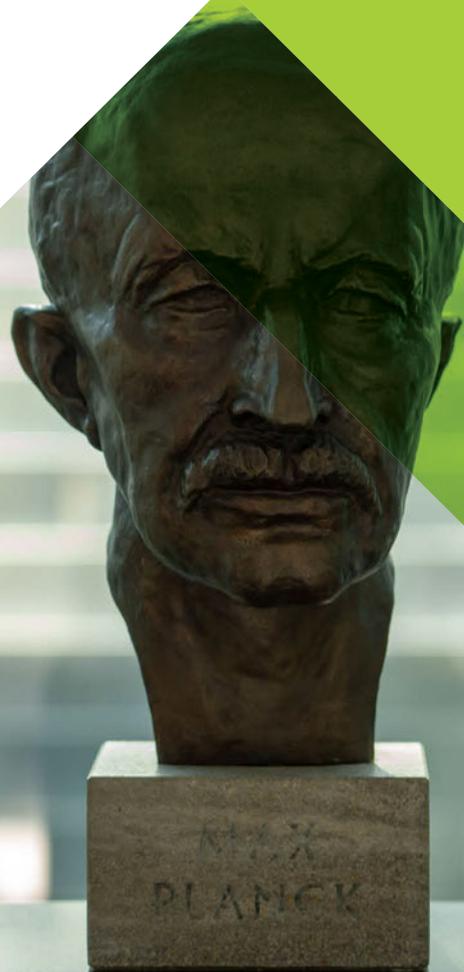
Tel.: +49 (0)228 9656-0
Fax: +49 (0)228 9656-111



office@caesar.de
www.caesar.de



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



FORSCHUNGSBERICHTE

Forschungsgruppen im Jahr 2018

ABTEILUNG FÜR
**COMPUTATIONAL
NEUROETHOLOGY**

ABTEILUNG FÜR
**ORGANISATION DES GEHIRNS
UND VERHALTENS**

MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE
**IN SILICO
BRAIN SCIENCES**

MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE
**NEURONALE
SCHALTKREISE**

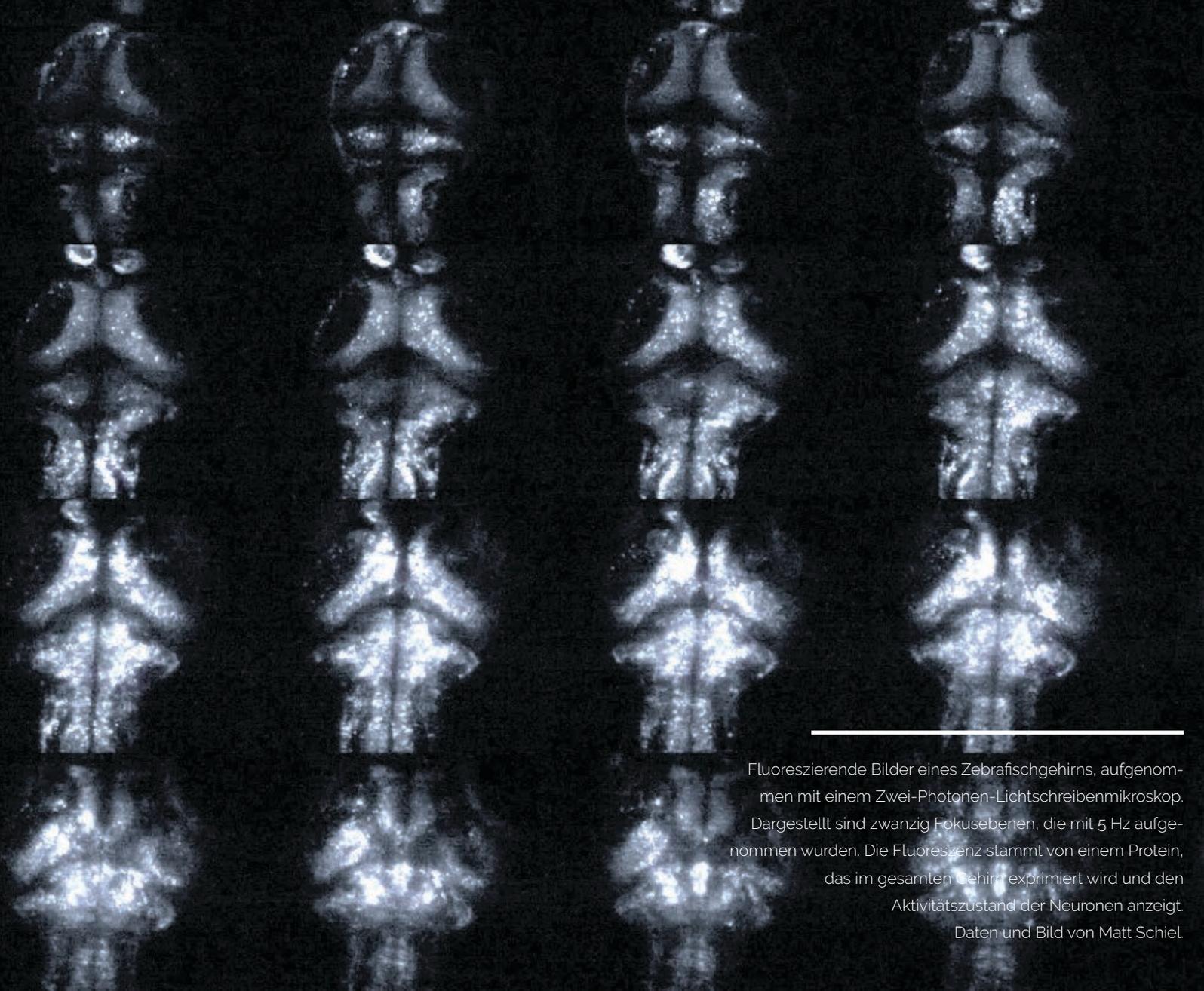
MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE
**NEURONALE
SYSTEMANALYSE**

MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE
**STRUKTURELLE DYNAMIK
VON PROTEINEN**

EMMY-NOETHER-GRUPPE
**NEUROBIOLOGY OF
FLIGHT CONTROL**

EMERITUS-GRUPPE
**MOLEKULARE
NEUROSENSORIK**

MAX-PLANCK-FELLOW
CHEMISCHE BIOLOGIE



Fluoreszierende Bilder eines Zebrafischgehirns, aufgenommen mit einem Zwei-Photonen-Lichtschreibenmikroskop. Dargestellt sind zwanzig Fokusebenen, die mit 5 Hz aufgenommen wurden. Die Fluoreszenz stammt von einem Protein, das im gesamten Gehirn exprimiert wird und den Aktivitätszustand der Neuronen anzeigt.
Daten und Bild von Matt Schiel.

Vergrößerung der zellulären Auflösung der gesamten Gehirn-Bildgebung

Von Kevin Briggman, Computational Neuroethology

Unser Hauptziel besteht darin, die synaptische Konnektivität neuronaler Schaltungen im zentralen Nervensystem mit den von ihnen durchgeführten Berechnungen in Beziehung zu setzen. Die Identifizierung dieser Schaltkreismechanismen würde uns dabei helfen zu verstehen, wie Gehirnetzwerke sensorische Informationen übersetzen und mit geeigneten Verhaltensweisen reagieren.

Besonders interessiert uns die Anfangsphase der sensorischen Verarbeitung im visuellen und olfaktorischen System. Mit einem multidisziplinären Ansatz, der optische Bildgebung, Elektronenmikroskopie, Elektrophysiologie und Computermodellierung umfasst, versuchen wir, die synaptische Konnektivität eines jeden Neurons in einem Schaltkreis abzubilden, nachdem wir zuvor seine funktionellen Eigenschaften erfasst haben. Wir verfolgen einen vergleichenden Ansatz und untersuchen sensorische Pfade in den Nervensystemen von Mäusen, Fischen und Fröschen, um die experimentellen Vorteile der einzelnen Modellsysteme zu nutzen. Wenn wir die Vernetzung bei typischen Wildtieren verstehen, wollen wir schlussendlich eine Vergleichsausgangsbasis bilden, um irgendwann einmal Vernetzungsdefizite unter pathologischen Bedingungen zu untersuchen.

Netzhaut-Konnektomiks

Im Jahr 2018 haben wir unsere gemeinsamen Studien über die detaillierte Konnektivität von Neuronen in der Netzhaut von Säugetieren fortgesetzt. Die Zusammenarbeit mit der Gruppe von Dr. Sebastian Seung an der Princeton University hat zu der bisher vollständigsten Darstellung der Vielfalt morphologischer Typen von retinalen Ganglienzellen in der Mausretina geführt [1]. Wir

haben auch Beiträge zu Studien über die detaillierte synaptische Vernetzung von intrinsisch lichtempfindlichen retinalen Ganglienzellen [2] sowie über den Amakrinzellschaltkreis geleistet, der zwischen Nacht- und Tagessicht vermittelt [3]. Zu unseren laufenden Zielen gehört es, die Entwicklung der Netzhautschaltkreise bei Säugetieren zu untersuchen. In unserer aktuellen Forschungsarbeit [4] haben wir die Netzhaut-Schaltkreise zwischen Kaninchen und Mäusen verglichen, die für die Berechnung der Sehbewegung verantwortlich sind. Wir sind dabei, diesen Ansatz zu erweitern, um die detaillierte Neuroanatomie der Retina von Primaten und der Retina von Fischen zu untersuchen. Wir haben in großem Umfang erfolgreich anatomische Datensätze von der Netzhaut eines Makakenaffen gesammelt und sind derzeit dabei, die Konnektivität der Tausenden von Neuronen zu analysieren, die in den Daten enthalten sind (Abb. 1).

Korrelative Mikroskopie und Bildgebung des ganzen Gehirns

Eine wichtige Komponente zum Verständnis, wie die synaptische Vernetzung mit der Schaltkreisfunktion verbunden ist, besteht in der expliziten Verknüpfung der Funktion der Neuronen mit ihrer Konnektivität. Wir nähern uns diesem Problem sowohl aus physiologischer Sicht, indem

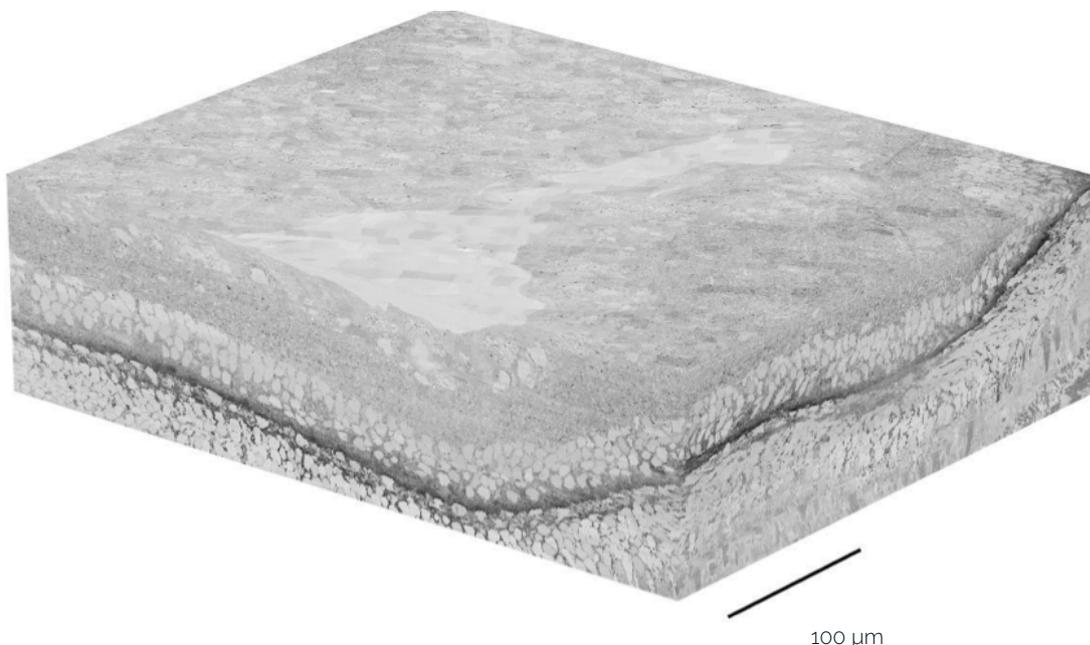


Abbildung 1. Ein 3D-Elektronenmikroskopie-Datenvolumen von der Retina eines Makakenaffen. Dieser Datensatz wurde mit einem neuartigen Verfahren zum Sammeln von Tausenden von seriellen Schnitten erfasst und anschließend mit einem Mehrstrahl-Rasterelektronenmikroskop abgebildet. Wir sind dabei, Neuronen aus diesem Volumen zu rekonstruieren. Daten und Bild von Kara Fulton, Silke Haverkamp und Paul Watkins.

wir die neuronale Aktivität aus großen Neuronenpopulationen erfassen, als auch aus genetischer Sicht, indem wir die Proteine kartieren, die die verschiedenen Neuronentypen zum Ausdruck bringen. Wir haben uns absichtlich auf Wirbeltierarten konzentriert, bei denen das Hirnvolumen so klein ist, dass wir von fast jedem Neuron im Gehirn eine Aufnahme machen können, bevor wir die neuronale Konnektivität abbilden. Unter Verwendung des Zebrafischs als Musterorganismus haben wir ein Mikroskop konstruiert, das es uns ermöglicht, Aufnahmen von Zehntausenden von Neuronen im gesamten Gehirn zu machen, während der Fisch auf äußere Reize reagiert. Dieses Zwei-Photonen-Lichtscheibenmikroskop verwendet Infrarotlicht, um das visuelle System während der Aufnahmen nicht zu stören. Wir tasten in der Regel 20 Fokusebenen schnell ab, um Neuronen über die dorsale bis ventrale Achse des Gehirns zu erfassen (Bild Seite 12). Wir sind derzeit dabei, solche groß angelegten neuronalen Aufzeichnungen zu analysieren, um Neuronen zu identifizieren, die mit der Wahrnehmung externer Reize durch das Tier zusammenhängen sowie Neuronen, die diese Wahrnehmung in eine Verhaltensreaktion umwandeln. Nach jedem funktionalen Aufzeichnungsexperiment konservieren wir das Gehirn und sammeln mit Hilfe der seriellen Elektronenmikroskopie neuroanatomische Daten aus dem gesamten Gehirn, wobei wir ein Mehrstrahl-Rasterelektronenmikroskop einsetzen. Wir haben kürzlich ein neuartiges automatisiertes Verfahren entwickelt, um die Zehntausende von seriellen Gewebeschnitten aus plastisch eingebettetem Hirngewebe zu sammeln, die erforderlich sind, um jedes einzelne Neuron im gesamten Zebrafischhirn abzubilden. Schließlich haben wir eine Computational Pipeline abgeschlossen, um die Datensätze im Terabyte-Bereich, die wir mittlerweile routinemäßig erfassen können, aufeinander abzustimmen.

Parallel dazu haben wir ein Verfahren entwickelt, um die Proteine in Neuronen mit fluoreszierenden Antikörpern zu markieren. Die Herausforderung bestand darin, diesen Ansatz mit einer anschließenden Elektronenmikroskopie des Gewebes zu kombinieren. Antikörper sind relativ große Proteine und frühere Protokolle erforderten die Auflösung von Zellmembranen, damit sie tief in das Gehirn eindringen konnten. Die Auflösung von Membranen beschränkt die Möglichkeit, anschließend mit der Elektronenmikroskopie hochwertige neuroanatomische Daten

zu sammeln. Unser neues optimiertes korrelatives Mikroskopieprotokoll erübrigt die Notwendigkeit, Membrane auflösen zu müssen und verbessert somit die Fähigkeit, zunächst Proteine innerhalb von Neuronen zu markieren und dann zu rekonstruieren, wie die markierten Neuronen miteinander verbunden sind.

Haltung für transgene aquatische Organismen

Schließlich haben wir 2018 in der Abteilung eine Aquarienanlage eingerichtet, in der mehrere Spezies für unsere zukünftigen Studien untergebracht werden. Die Anlage ist für die Aufzucht verschiedener Fischarten und Frösche ausgelegt, so dass wir neuronale Schaltkreise über evolutionäre Zeitskalen hinweg vergleichen können. Wir wenden derzeit die neuesten Verfahren der Gentechnik an, um transgene Tiere zu erzeugen, die Proteine exprimieren, welche es uns ermöglichen, die Aktivität von Neuronen im gesamten Gehirn zu überwachen und die neuronale Aktivität bei sich verhaltenden Tieren zu manipulieren.

Quellenangaben

1. Bae, J.A., Mu, S., Kim, J.S., Turner, N.L., Tartavull, I., Kemnitz, N., Jordan, C.S., Norton, A.D., Silversmith, W.M., Prentki, R., et al. (2018). Digital Museum of Retinal Ganglion Cells with Dense Anatomy and Physiology. *Cell* 173, 1293-1306 e1219.
2. Stabio, M.E., Sabbah, S., Quattrochi, L.E., Ilardi, M.C., Fogerson, P.M., Leyrer, M.L., Kim, M.T., Kim, I., Schiel, M., Renna, J.M., et al. (2018). The M5 Cell: A Color-Opponent Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cell. *Neuron* 97, 150-163 e154.
3. Graydon, C.W., Lieberman, E.E., Rho, N., Briggman, K.L., Singer, J.H., and Diamond, J.S. (2018). Synaptic Transfer between Rod and Cone Pathways Mediated by All Amacrine Cells in the Mouse Retina. *Curr Biol* 28, 2739-2751 e2733.
4. Ding, H., Smith, R.G., Poleg-Polsky, A., Diamond, J.S., and Briggman, K.L. (2016). Species-specific wiring for direction selectivity in the mammalian retina. *Nature* 535, 105-110.



ABTEILUNG FÜR COMPUTATIONAL NEUROETHOLOGY



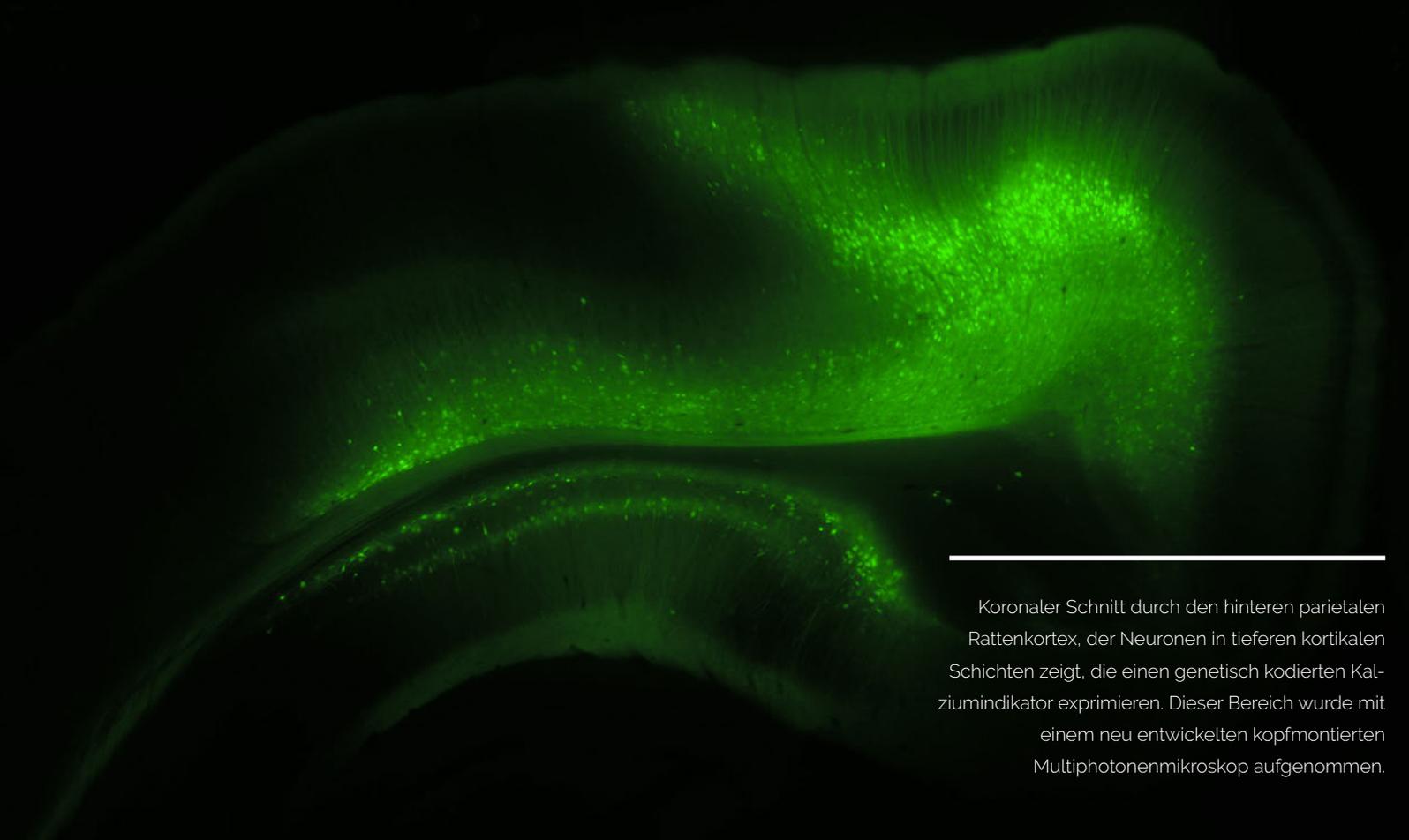
**Kevin
Briggman**

Geschäfts-
führende
wissenschaftlicher
Direktor

Computational
Neuroethology

Das Ziel der Abteilung Computational Neuroethology (CNE) unter der Leitung von Dr. Kevin Briggman besteht in der Entwicklung von Berechnungsmodellen, mit denen zielgerichtetes Verhalten von Tieren prognostiziert werden kann. Um die Daten zu erhalten, die für die Erstellung von biologisch plausiblen Modellen notwendig sind, entwickelt und nutzt CNE eine große Bandbreite von fachübergreifenden experimentellen Verfahren. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler erzeugen Bilder in zellulärer Auflösung von Neuronenpopulationen von Tieren, während diese bestimmte Verhaltensweisen zeigen. Außerdem wird Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt, um die Expressionsmuster bestimmter Proteine zu identifizieren. Schließlich werden mit Hilfe dreidimensionaler Elektronenmikroskopie synaptische Verschaltungen rekonstruiert. Durch die Kombination dieser Methoden und deren Anwendung

auf einzelne Gehirne will die Abteilung CNE die Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion von neuronalen Netzwerken, die das Verhalten steuern, aufdecken. Die Forscherinnen und Forscher wollen verstehen, wie sensorische Reize im Gehirn umgewandelt werden, um letztendlich zu Bewegungsentscheidungen zu führen. Auf Grundlage dieses Verständnisses sollen die Quellen von Varianzmöglichkeiten bei zielgerichteten Verhaltensweisen ermittelt werden. Diese Fragestellungen werden untersucht, indem neuronale Schaltkreise von Säugtieren, Fischen und Amphibien verglichen und analysiert werden, um festzustellen, welche Aspekte der Informationsverarbeitung artenspezifisch sind und welche gattungsübergreifend zutreffen.



Koronaler Schnitt durch den hinteren parietalen Rattenkortex, der Neuronen in tieferen kortikalen Schichten zeigt, die einen genetisch kodierten Kalziumindikator exprimieren. Dieser Bereich wurde mit einem neu entwickelten kopfmontierten Multiphotonenmikroskop aufgenommen.

Das Gehirn in Aktion: Untersuchung neuronaler Schaltkreise bei freiem Verhalten

Von Damian J. Wallace und Jason N. D. Kerr,
Organisation des Gehirns und Verhaltens

Die Funktion des Gehirns besteht darin, das Verhalten von Tieren zu koordinieren und zu steuern. Die Verknüpfung zwischen Hirnfunktion und Verhalten kann nur am sich verhaltenden Tier untersucht werden. Untersuchungen am aktiven Gehirn bringen jedoch erhebliche technische Herausforderungen mit sich. In der Abteilung Organisation des Gehirns und Verhaltens (Behavior and Brain Organization, BBO) entwickeln wir neue bildgebende Verfahren zur Quantifizierung der Gehirnaktivität und des Verhaltens bei sich frei bewegenden Tieren. In diesem Abschnitt des Jahresberichts stellen wir einige der Herausforderungen und Zukunftsperspektiven für die Abbildung der neuronalen Aktivität bei sich frei bewegenden Tieren dar.

Die Entwicklung neuer bildgebender Verfahren ermöglicht es, die Aktivität sowohl großer neuronaler Populationen als auch subzellulärer Komponenten bei sich frei bewegenden Tieren zu erfassen. Mit der Kombination aus genetisch kodierten optischen Sonden [1] und linearen und nichtlinearen Bildgebungsverfahren [2] sind Aktivitätsaufzeichnungen großer neuronaler Populationen und die Manipulation von Schaltkreisen bei sich verhaltenden Tieren zu grundlegenden Methoden der Neurowissenschaft geworden. Herkömmliche Mikroskope mit Multiphotonenanregung ermöglichen die optische Untersuchung von Schaltkreisen, indem sie eine eindeutige Messung von Einzelzellen und subzellulären Strukturen ermöglichen oder – in Kombination mit aktivitätsaufzeichnenden Fluoreszenzsonden – die resultierende Fluores-

zenz eindeutig der emittierenden Struktur zuordnen. Diese Fähigkeit war ein großer Durchbruch für Untersuchungen an Tieren, die in komplexen Verhaltensaufgaben trainiert wurden, da derselbe Schaltkreis über mehrere Tage hinweg mit Einzelzellenspezifität untersucht werden konnte [3]. Obwohl die Neurowissenschaft seit einem Jahrzehnt durch die Fähigkeit bestimmt wird, mit Hilfe optischer Verfahren neuronale Aktivität im arbeitenden Gehirn so detailliert zu erfassen, stellt die Übertragung dieser Methoden auf sich frei bewegende Tiere, wie sie bei intrazellulären und extrazellulären elektrischen Aufzeichnungen erreicht wurde [4,5], nach wie vor eine große technische Herausforderung dar. Dies bezieht sich insbesondere auf die Interpretation der resultierenden Aktivitätstransienten, die mit den riesigen Mengen an unter gleichwertigen Verhal-

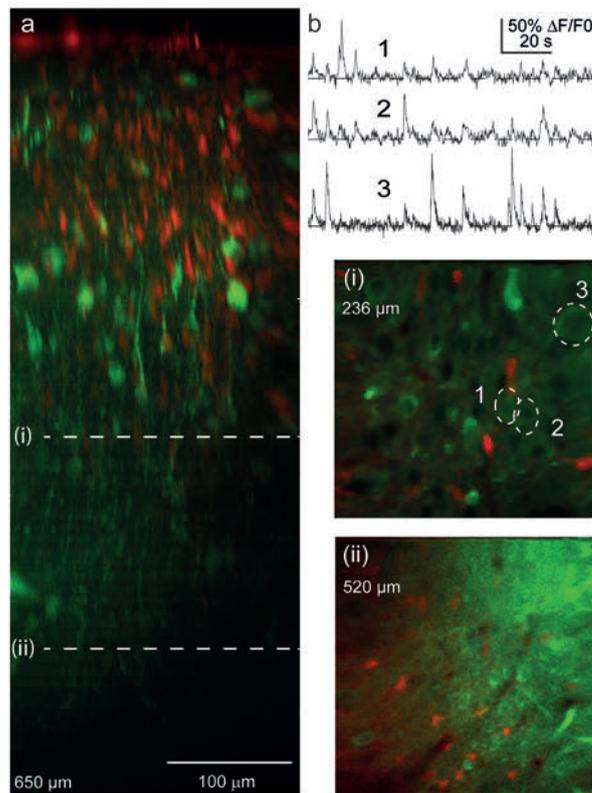


Abbildung 1. a. Seitenprojektion einer Bilderserie, die mit einem kopfmontierten 2-Photonenmikroskop aufgenommen wurde. Sie zeigt den Rattencortex mit einem exprimiertem genetisch kodiertem Ca²⁺-Indikator (GCaMP6s, grün) und Sulforhodamin 101 (rot) für die Astrozytenfärbung. b. Oberes Bild zeigt gleichzeitige Ca²⁺-Transienten der spontanen Aktivität, die von Neuronen aufgenommen wurden, die in b. Mitte gezeigt sind. Mittleres, xy-Bild der gefärbten Neuronen, dargestellt in a., aufgenommen 236 μm unter der Pia-Oberfläche. Unteres xy-Bild der gefärbten Neuronen, dargestellt in a., aufgenommen 520 μm unter der Pia-Oberfläche.

tensbedingungen erfassten elektrischen Aufzeichnungen vergleichbar sein sollten, und auf die Quantifizierung des Verhaltens. In jüngerer Zeit sind die Neurowissenschaften durch die Fähigkeit, die Abstimmung von Neuronen funktionell zu bestimmen und durch Rekonstruktion der neuronalen Schaltkreise im Nanometerbereich ein Modell auf Schaltkreisebene zu bauen [6], dem Ziel eines mechanistischen Verständnisses der neuronalen Schaltkreise näher gekommen [7,8]. Im Folgenden erläutern wir die verfügbaren Bildgebungsverfahren zur Anwendung bei sich frei bewegenden Tieren in Bezug auf das Ziel einer mechanistischen Beschreibung der neuronalen Grundlagen von Tierverhalten. Obwohl die Entwicklung dieser neuen Verfahren es ermöglicht, Zusammenhänge zwischen Gehirnaktivität und komplexem Verhalten zu erforschen, müssen noch viele Herausforderungen überwunden werden, bevor das Potenzial des sich frei bewegenden Tiers voll ausgeschöpft werden kann.

Warum „sich frei bewegende Tiere?“

Bei der Erforschung des sich frei bewegenden Tiers geht es per Definition darum, Zugang zu selbstbestimmten Verhaltensweisen des Tiers zu erlangen, bei denen es dem Tier frei steht, alle verfügbaren Ressourcen (wie etwa sensorische und vestibuläre Systeme) zu nutzen, um fundierte Verhaltensentscheidungen zu treffen. Die Entdeckung von Ortszellen [5], Kopfrichtungszellen [9] und Gitterzellen [10] verdeutlicht die Vorteile dieses Ansatzes. Mit weiteren, sorgfältig kontrollierten Experimenten konnten die ersten Ergebnisse zumindest teilweise auf die verschiedenen selbst generierten Bewegungsimpulse und externen Landmarkenhinweise zurückgeführt werden, die dem Tier zur Verfügung standen. Außerdem weisen sich frei bewegende Nagetiere ständige Augenbewegungen mit großer Amplitude auf, während sie bei Tieren, deren Kopf fixiert ist, wobei das vestibuläre System nicht angeregt wird, so gut wie gar nicht vorhanden sind [11]. Obwohl einige dieser Erkenntnisse auch bei kopffixierten Tieren weiter untersucht werden können, ist es nur schwer vorstellbar, wie man ohne Bewegungsfreiheit zu diesen Erkenntnissen hätte kommen können. Angesichts der Vorteile der Bildgebungsverfahren für die Untersuchung neuronaler Schaltkreise und der durch elektrophysiologische Methoden gewonnenen Erkenntnisse bei nicht fixierten Tieren sind die Gründe für bildgebende Untersuchungen am sich frei bewegenden Tier offensichtlich.

Welche bildgebenden Verfahren stehen zur Verfügung?

Technische Verfahren sollen Zugang zu bisher unerforschtem Terrain verschaffen. Die vielfältigen bildgebenden Verfahren zur Anwendung bei sich frei bewegenden Tieren können als Werkzeuge zur Erforschung des Gehirns während des Verhaltens betrachtet werden. Wie bei allen Werkzeugkästen ist es wichtig, die Grenzen und den Einsatzbereich der verfügbaren Werkzeuge zu kennen, weil nicht jedes Werkzeug für jede Situation geeignet ist und auch die jeweils gewonnenen Daten ihre Grenzen haben. Die heutigen Systeme für die Abbildung von Aktivität im sich frei bewegenden Tier lassen sich grob in drei Kategorien einteilen: Fasersysteme, Einzelphotonen-Miniaturmikroskope und Multiphotonen-Miniaturmikroskope. All diese Verfahren haben Vor- und Nachteile im Hinblick auf Art und Auflösung der zu erfassenden Daten und in Bezug auf die Art und Weise, wie diese Daten mit dem zugrunde liegenden neuronalen Schaltkreis, der sie erzeugt hat, in Beziehung gesetzt werden können.

Beim Fasersystem sind die meisten – wenn nicht sogar alle – Komponenten des Mikroskopoptik- und Erfassungssystems nicht direkt mit dem Tier verbunden. Der direkte Kontakt beschränkt sich auf eine implantierte Glasfaser mit oder ohne GRIN-Linsensystem. In der einfachsten Version dieses Systems wird eine Glasfaser in unmittelbarer Nähe des markierten Untersuchungsgebiets implantiert, die sowohl der Anregung als auch der Detektion dient und es so ermöglicht, die volumengewichteten Fluoreszenzschwankungen im Zeitverlauf aufzuzeichnen. Obwohl es schwierig ist, mit diesem Ansatz Aussagen auf Schaltkreisebene zu treffen, hat diese Technik in Kombination mit selektiver neuronaler Markierung in kleinen, eindeutig identifizierbaren Zellkernen Informationen beispielsweise über die Aktivität von Neuronen-Unterpulationen mit spezifischen Projektionszielen geliefert [12]. Bei einer anderen Anwendung dieser Art von faseroptischen Systemen wird eine holographiebasierte strukturierte Beleuchtung, die die lateralen und axialen Anregungsdimensionen einschränkt und eine gezielte optogenetische Aktivierung ermöglicht, mit gleichzeitiger Ca^{2+} -Bildgebung kombiniert [13]. Mit diesem hochentwickelten System können Bilder mit nahezu zellulärer Auflösung bei gleichzeitiger optogenetischer Manipulation erzeugt werden. Da bei diesem System jedoch auch die Einphotonenanregung verwendet wird, kommen die Vorteile dieses Ansatzes vor allem in kaum markiertem Gewebe zur Geltung.

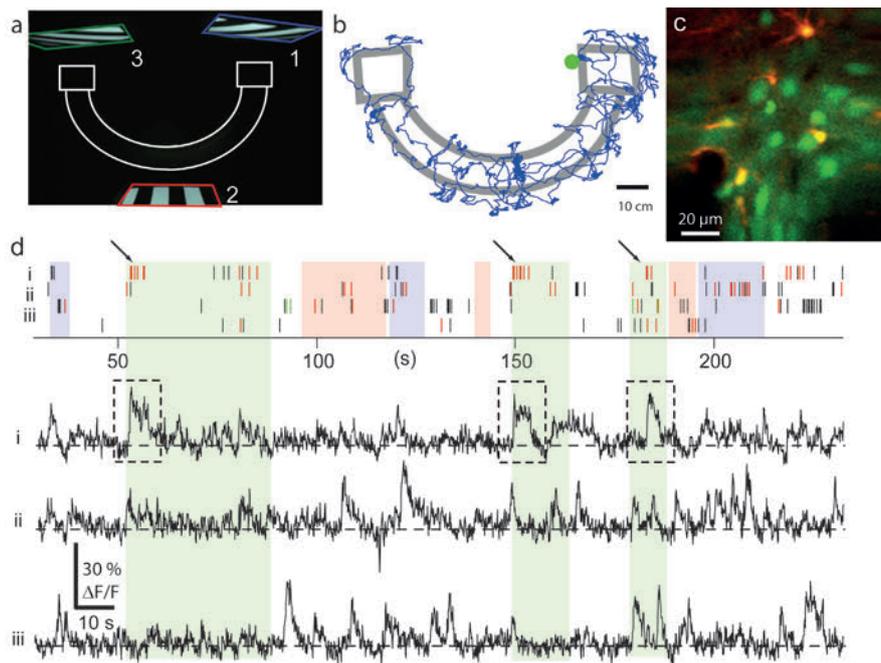


Abbildung 2. Überkopfkamera-Ansicht der erhöhten Halbkreisbahn und der Monitore zur visuellen Stimulation (nummeriert 1-3). b. Übersicht der Tierbewegungen (blau) auf einer Laufbahn (Start am grünen Kreis). c. Übersichtsbild der Neuronen (grün) und Astrozyten (rot, Sulforhodamin 101), die den Ca^{2+} -Indikator (OGB1) exprimieren, aufgenommen in Schicht 2/3 des visuellen Rattenkortex unter Verwendung eines am Kopf montierten 2-Photonen-Mikroskops. d. Oberes Bild, simultane Ca^{2+} -Transienten der spontanen Aktivität, die von drei Neuronen aufgezeichnet wurden, und eine Rastergrafik der daraus resultierenden hergeleiteten Aktionspotentiale (oberes Raster), die von sich frei bewegendem Tier aufgenommen wurden, welche eine neuartige Umgebung erkunden. Farbige Hintergründe zeigen an, wann der Blick des Tieres auf die Monitore mit statischen Bildern (a) gerichtet war. Beachten Sie, dass die neuronale (i) Aktivität (Pfeile und gestrichelte Kästen) mit Perioden zusammenfällt, in denen sich der Blick des Tieres über den Monitor 3 (grün) bewegte.

Kopfmontierte Einphotonen-Miniaturmikroskope haben den Vorteil, dass sie leicht sind, Vollbildaufnahmen über große Flächen ermöglichen und nur minimale Anbindung erfordern, da sowohl die LED-Anregungsquelle als auch der Detektionssensor am Kopf montiert sind [14]. Wenn das Mikroskop in unmittelbarer Nähe des Zielgebiets platziert wird, liefern diese Systeme umfassende zelluläre Aktivitätsdaten. Eine Einschränkung besteht darin, dass die Verwendung von Einzelphotonenbeleuchtung keine Einzelzellenauflösung zulässt, insbesondere in dicht markiertem Gewebe, und dass eine komplexe Nachanalyse der gewonnenen Fluoreszenzdaten erforderlich ist, um die resultierenden Signale zu interpretieren. Dieser Ansatz wurde erfolgreich angewendet, um Aktivität sowohl im Hippocampus (15), wo neuronale Somata dicht in einer einzelnen Schicht vorhanden sind, als auch im Striatum [16], wo zwei verstreut vorhandene Neuronenpopulationen separat markiert wurden, aufzuspüren. Die jüngste Erweiterung dieses Ansatzes, die ein Mikrolinsensystem vor dem De-

tektionssensor vorsieht, ermöglicht in Kombination mit einem speziellen Entmischungsalgorithmus [17] volumetrische Hochgeschwindigkeitsbildgebung (16 Hz) bei sich frei bewegendem Tieren bis hinunter zur Größe einer Maus. Obwohl dieses Verfahren die Aktivität aus einer beeindruckenden Anzahl von mutmaßlichen neuronalen Somata in 3D erkennen kann, weist es nur eine begrenzte optische Schnittdarstellung auf, weshalb der Anteil der Neuronen, von denen Aufzeichnungen gemacht wurden, zumindest im Kortex unklar bleibt. Aus biologischer Sicht bestehen die wichtigsten Einschränkungen der bisher genannten Methoden in der Notwendigkeit einer gezielten Markierung und im Fehlen einer eindeutigen Einzelzellenauflösung. Multiphotonen-Miniaturmikroskope bieten den Vorteil der optischen Schnittdarstellung, die wiederum eine zelluläre Auflösung in einer Tiefe von mehreren hundert Mikrometern von der Objektivlinse [18,19] aus ermöglicht. Der Vorteil dieses Ansatzes besteht in der ein- und subzellulären Auflösung, die eine eindeutige Zuordnung der Aktivität zur

neuronalen Struktur auch in dicht markiertem kortikalem Gewebe ermöglicht (Abb. 1). Das erste der beschriebenen Systeme [18], das eine piezobasierte Scannereinheit verwendet, war jedoch zu schwer, um es auf einer Maus anzubringen, und das zweite, das einen mikroelektromechanischen Scanner [19] verwendet, hat zwar ein begrenztes Sichtfeld, dafür aber eine Auflösung auf Ebene der einzelnen dendritischen Dornfortsätze. Obwohl sich die Multiphotonen-Bildgebung zur Extraktion der Aktivität einzelner Zellen in dicht markiertem Gewebe (Abb. 2), wie beispielsweise dem Kortex, eignet, besteht der Nachteil darin, dass komplizierte optische Wege erforderlich sind und das faserbasierte Anbindungssystem die Größe der Verhaltensarena einschränkt, die dem Tier zur Verfügung gestellt werden kann.

Somit befinden sich im Werkzeugkasten der bildgebenden Verfahren eine Vielzahl von Vorgehensweisen mit unterschiedlichen Skalen der zellulären Auflösung. Ob eine Einzelzellenauflösung erforderlich ist, hängt vom experimentellen Aufbau und von den schaltkreisbezogenen Fragestellungen ab. Obwohl Kalziumindikatoren gezielt dazu eingesetzt werden, neuronale Aktivität anzuzeigen, ist die Beziehung zwischen den erfassten Transienten und der zugrunde liegenden Aktivität komplex [1]. Um die Vorteile der Parallelaufzeichnungen voll ausschöpfen zu können [20], muss die Beziehung zwischen Kalziumtransienten und der zugrunde liegenden neuronalen Aktivität bestimmt werden. Die Einphotonen-Methode kann nützliche Detailinformationen liefern, wenn während der Verhaltensepochen genetisch angesteuerte Neuronenpopulationen oder ein isolierter Pfad aktiv sind. Da jedoch nicht alle Neuronen in einem aufgezeichneten Datensatz dargestellt werden, bleibt die Frage offen, wie diese Daten in den Kontext dichter Schaltkreisrekonstruktionen gestellt werden können, wie dies in der Netzhaut erfolgreich erreicht wurde (6). Die dichte Rekonstruktion von neuralem Gewebe mit Synapsengenauigkeit [6,7,21] ist inzwischen für Gewebevolument möglich, die in ihrer Größe mit den Sichtfeldern der Bildgebungssysteme für sich frei bewegende Tiere vergleichbar sind. Diese dichten Rekonstruktionen ermöglichen die Entwicklung von Schaltkreismodellen, mit denen wiederum Prognosen über die Funktion der Schaltkreise angestellt werden können. Die Kombination von dichter Rekonstruktion mit ähnlich dichten funktionellen Aufzeichnungen schafft die Möglichkeit, die neuronalen Grundlagen von Verhalten mechanistisch zu beschreiben.

Tierverhalten

Einer der wichtigsten Vorteile der Bildgebung beim sich frei bewegenden Tier besteht in der Tatsache, dass es bei diesem Verfahren keine Einschränkungen für das Verhalten des Tieres gibt. Obwohl einige Verhaltensweisen – zum Beispiel Navigation, Erkundung oder Objekterkennung – durch den Einsatz von Virtual Reality bei fixierten Tieren nachgeahmt werden können [22-24], wird jede Unsicherheit über den Einfluss der Kopffixierung oder die Vollständigkeit der Umweltnachbildung beseitigt, wenn sich das Tier selbstbestimmt bewegen kann. So sind beispielsweise Studien über das Sozialverhalten bei Kopffixierung (25) ebenso begrenzt aussagefähig wie Studien über die neuronalen Grundlagen des Verhaltens beim Beutefang oder beim Ausweichen von Raubtieren. Einer der Kritikpunkte am Paradigma der sich frei bewegenden Tiere ist jedoch die mangelnde Vergleichbarkeit der Versuche, da es selbst bei einem relativ vorhersehbaren Verhalten wie dem Überqueren eines Grabens von Versuch zu Versuch zu geringfügigen Abweichungen im Verhalten des Tieres kommen kann. Diesem Kritikpunkt kann bis zu einem gewissen Grad durch die Anwendung eines ausgeklügelten hochauflösenden Tracking-Systems in Kombination mit der digitalen Rekonstruktion der lokalen Umgebung begegnet werden. Mit einem solchen Ansatz war es möglich, die visuelle Perspektive eines einzelnen Tiers während verschiedener Versuche zum Überqueren eines Grabens zu rekonstruieren, was in Untersuchungen zu visueller Wahrnehmung eine Quantifizierung der visuellen Szene aus Sicht des Tiers von Moment zu Moment ermöglicht (11). Auch wenn bei einem Großteil der Untersuchungen des Verhaltens sich frei bewegender Tiere mit bildgebenden Verfahren vereinfachte Beschreibungen von Position und Geschwindigkeit angewandt wurden, glauben wir, dass das wahre Potenzial im Erforschen der neuronalen Aktivität am sich frei bewegenden Tier noch nicht erreicht worden ist und die Kombination von Bildgebungsverfahren zur Aufnahme von Neuronenpopulationen mit Einzellauflösung mit hochauflösenden und detaillierten Methoden zur Quantifizierung von Verhalten erfordert.

Quellenangaben

1. Chen, T.W., Wardill, T.J., Sun, Y., Pulver, S.R., Renninger, S.L., Baohan, A., Schreiter, E.R., Kerr, R.A., Orger, M.B., Jayaraman, V., et al. (2013). Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature* 499, 295-300.
2. Denk, W., Strickler, J.H., and Webb, W.W. (1990). Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 248, 73-76.
3. Margolis, D.J., Lutcke, H., Schulz, K., Haiss, F., Weber, B., Kugler, S., Hasan, M.T., and Helmchen, F. (2012). Reorganization of cortical population activity imaged throughout long-term sensory deprivation. *Nat Neurosci* 15, 1539-1546.
4. Lee, A.K., Manns, I.D., Sakmann, B., and Brecht, M. (2006). Whole-cell recordings in freely moving rats. *Neuron* 51, 399-407.
5. O'Keefe, J., and Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34, 171-175.
6. Briggman, K.L., Helmstaedter, M., and Denk, W. (2011). Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. *Nature* 471, 183-188.
7. Schmidt, H., Gour, A., Straehle, J., Boergens, K.M., Brecht, M., and Helmstaedter, M. (2017). Axonal synapse sorting in medial entorhinal cortex. *Nature* 549, 469-475.
8. Kornfeld, J., Benezra, S.E., Narayanan, R.T., Svara, 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.
9. Taube, J.S., Muller, R.U., and Ranck, J.B., Jr. (1990). Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J Neurosci* 10, 420-435.
10. Fyhn, M., Molden, S., Witter, M.P., Moser, E.I., and Moser, M.B. (2004). Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science* 305, 1258-1264.
11. Wallace, D.J., Greenberg, D.S., Sawinski, J., Rulla, S., Notaro, G., and Kerr, J.N. (2013). Rats maintain an overhead binocular field at the expense of constant fusion. *Nature* 498, 65-69.
12. Li, Y., Zeng, J., Zhang, J., Yue, C., Zhong, W., Liu, Z., Feng, Q., and Luo, M. (2018). Hypothalamic Circuits for Predation and Evasion. *Neuron* 97, 911-924 e915.
13. Szabo, V., Ventalon, C., De Sars, V., Bradley, J., and Emiliani, V. (2014). Spatially selective holographic photoactivation and functional fluorescence imaging in freely behaving mice with a fiberscope. *Neuron* 84, 1157-1169.
14. Ghosh, K.K., Burns, L.D., Cocker, E.D., Nimmerjahn, A., Ziv, Y., Gamal, A.E., and Schnitzer, M.J. (2011). Miniaturized integration of a fluorescence microscope. *Nat Methods* 8, 871-878.
15. Ziv, Y., Burns, L.D., Cocker, E.D., Hamel, E.O., Ghosh, K.K., Kitch, L.J., El Gamal, A., and Schnitzer, M.J. (2013). Long-term dynamics of CA1 hippocampal place codes. *Nat Neurosci* 16, 264-266.
16. Parker, J.G., Marshall, J.D., Ahanonu, B., Wu, Y.W., Kim, T.H., Grewe, B.F., Zhang, Y., Li, J.Z., Ding, J.B., Ehlers, M.D., and Schnitzer, M.J. (2018). Diametric neural ensemble dynamics in parkinsonian and dyskinetic states. *Nature* 557, 177-182.
17. Skocek, O., Nobauer, T., Weilguny, L., Martinez Traub, F., Xia, C.N., Molodtsov, M.I., Grama, A., Yamagata, M., Aharoni, D., Cox, D.D., et al. (2018). High-speed volumetric imaging of neuronal activity in freely moving rodents. *Nat Methods* 15, 429-432.
18. Sawinski, J., Wallace, D.J., Greenberg, D.S., Grossmann, S., Denk, W., and Kerr, J.N. (2009). Visually evoked activity in cortical cells imaged in freely moving animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 19557-19562.
19. Zong, W., Wu, R., Li, M., Hu, Y., Li, Y., Li, J., Rong, H., Wu, H., Xu, Y., Lu, Y., et al. (2017). Fast high-resolution miniature two-photon microscopy for brain imaging in freely behaving mice. *Nat Methods* 14, 713-719.
20. Pillow, J.W., Shlens, J., Paninski, L., Sher, A., Litke, A.M., Chichilnisky, E.J., and Simoncelli, E.P. (2008). Spatio-temporal correlations and visual signalling in a complete neuronal population. *Nature* 454, 995-999.
21. Ding, H., Smith, R.G., Poleg-Polsky, A., Diamond, J.S., and Briggman, K.L. (2016). Species-specific wiring for direction selectivity in the mammalian retina. *Nature* 535, 105-110.
22. Dombeck, D.A., Harvey, C.D., Tian, L., Looger, L.L., and Tank, D.W. (2010). Functional imaging of hippocampal place cells at cellular resolution during virtual navigation. *Nat Neurosci* 13, 1433-1440.
23. Runyan, C.A., Piasini, E., Panzeri, S., and Harvey, C.D. (2017). Distinct timescales of population coding across cortex. *Nature* 548, 92-96.
24. Zmarz, P., and Keller, G.B. (2016). Mismatch Receptive Fields in Mouse Visual Cortex. *Neuron* 92, 766-772.
25. Lenschow, C., and Brecht, M. (2015). Barrel cortex membrane potential dynamics in social touch. *Neuron* 85, 718-725.



ABTEILUNG ORGANISATION DES GEHIRNS UND VERHALTENS



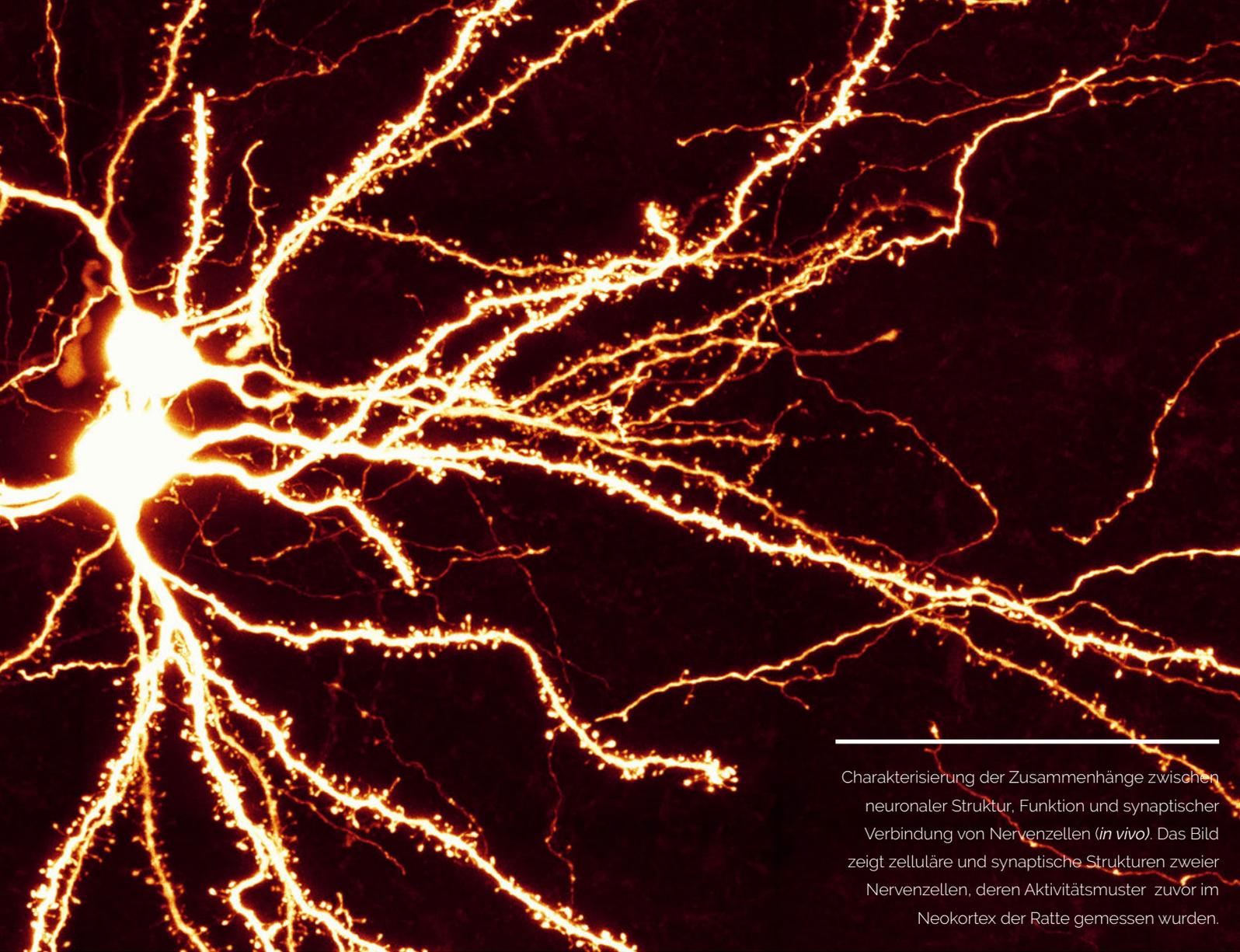
**Jason
Kerr**

Wissenschaftlicher
Direktor

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 bewegenden 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 bewegenden Tier zugrunde liegen. Das erfordert die Entwicklung spezieller Multiphotonenmikroskope sowie optischer Verfahren zur Detektion von Kopf- und Augenbewegungen, die an sich frei bewegenden 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.



Charakterisierung der Zusammenhänge zwischen neuronaler Struktur, Funktion und synaptischer Verbindung von Nervenzellen (*in vivo*). Das Bild zeigt zelluläre und synaptische Strukturen zweier Nervenzellen, deren Aktivitätsmuster zuvor im Neokortex der Ratte gemessen wurden.

Kortex *in Silico* - Digitalisierung der Netzwerke des Gehirns

Von Marcel Oberlaender, In Silico Brain Sciences

Im Jahr 2018 erstellten wir eine anatomisch detaillierte digitale Darstellung der neuronalen Netzwerke innerhalb einer Region im Gehirn der Ratte, welche sensorische Informationen von Tastaaren entlang der Schnauze der Tiere verarbeitet.

Hintergrund

Zu verstehen, wie das Gehirn in der Lage ist, sensorische Informationen in Verhalten umzuwandeln, stellt eine der größten Herausforderungen in den Neurowissenschaften dar. Moderne Verfahren, welche die Aktivität von Nervenzellen im sich verhaltenden Tier vermessen können, haben eine Reihe von möglichen neuronalen Korrelaten verschiedener Aspekte von Verhalten enthüllt. Um zu entschlüsseln, wie diese neuronalen Korrelate im Gehirn implementiert sind und ob diese Korrelate kausal Verhalten auslösen können, ist Gegenstand der Forschung der In Silico Brain Sciences Group. Dazu erstellen wir detaillierte, anatomisch realistische, digitale Netzwerkmodelle der potentiell einem Verhalten unterliegenden Hirnregionen. Kombinationen dieser strukturellen Modelle mit funktionellen Messungen erlauben dann Computersimulationen (*in silico*), welche Untersuchungen der prinzipiell möglichen Mechanismen der neuronalen Informationsverarbeitung im Kontext von Verhalten erlauben.

Unsere Gruppe verwendet zum Aufbau eines solchen Modells beispielhaft das Tasthaarsystem der Ratte und untersucht wie taktile Wahrnehmungen (z.B. das Ertasten

der Form eines Gegenstandes) durch das Zusammenspiel verschiedener zellulärer und Netzwerkmechanismen koordiniert werden. Nagetiere wie Ratten und Mäuse bewegen Tasthaare entlang ihrer Schnauze rhythmisch vor und zurück und erkunden dabei ihre Umgebung. Ziel unserer Arbeit ist es, die neuronalen Netzwerke innerhalb des Gehirns der Ratte zu identifizieren und zu rekonstruieren, welche sowohl mit der Verarbeitung sensorischer Tastsignale als auch mit der Bewegung der Tasthaare assoziiert sind. Dazu haben wir Methoden entwickelt, um Rekonstruktionen einzelner Nervenzellen bzw. von synaptisch verbundenen Nervenzell-Netzwerken in eine digitale Repräsentation des Tasthaarsystems der Ratte zu überführen. Die daraus resultierenden anatomisch und funktionell detaillierten neuronalen Netzwerkmodelle ermöglichen dann die Durchführung von Simulationen. Mittels dieser Simulationen kann somit die Aktivität bzw. der Informationsfluss der von Tasthaaren induzierten sensorischen Stimulation mit zuvor unerreichter subzellulärer Auflösung und Millisekundengenauigkeit im Computer abgebildet werden. Die Simulationen bieten daher einzigartige Möglichkeiten für Untersuchungen, um zu entschlüsseln, wie aufgrund des Zusammenspiels verschiedener zellulärer und Netzwerkeigenschaften, die zuvor im lebenden

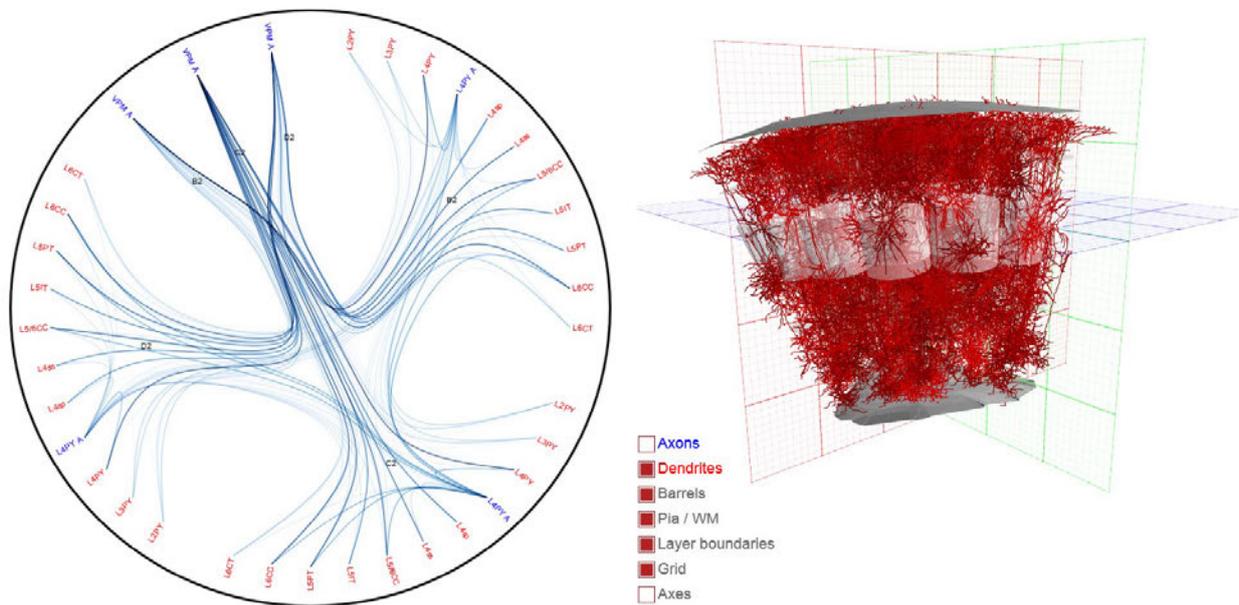


Abbildung 1. Digitales Modell des Tasthaar-Kortex der Ratte, das auf systematisch gemessenen empirischen anatomischen Daten basiert, wie z.B. der Rekonstruktionen der Geometrie des Kortex, dessen zellulärer Zusammensetzung und einer Charakterisierung der Struktur einzelner Nervenzellen. Die Daten und die daraus resultierenden Modelle sind über eine Webschnittstelle öffentlich zugänglich (Udvary et al., in Vorbereitung).

Tier gemessenen neuronalen Korrelate von sensorischer Wahrnehmung oder gar sensorisch induziertem Verhalten entstehen können.

Tasthaar-Kortex *In Silico*

In einer Reihe zuvor veröffentlichter Studien hatten wir die Struktur und die von Tasthaaren ausgelöste Funktion für eine repräsentative Stichprobe einzelner Nervenzellen charakterisiert. Dieser Datensatz umfasst die wesentlichen Klassen von Nervenzellen, welche in den mit Tasthaaren assoziierten Regionen des Thalamus und Kortex zu finden sind. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Studien haben wir vor Kurzem publiziert [1].

Im Jahr 2018 haben wir diesen Datensatz mit genaueren Messungen der Geometrie des Kortex und der darin enthaltenen Verteilung von Nervenzellen kombiniert. Wir konnten zeigen, dass die Kombination dieser verschiedenen und systematisch vermessenen strukturellen Datensätze zu einem digitalen Modell des Tasthaarkortex führt, welches sowohl in seiner Komplexität als auch in seiner

detaillierten Komposition die durch empirische Studien gezeigte Organisation des Nervenzellgewebes reproduziert.

Im Vergleich zu anderen Forschungsgruppen, welche ebenfalls das Ziel verfolgen, detaillierte neuronale Netzwerkmodelle zu erstellen (z.B. das Blue Brain Project), sind die synaptischen Verschaltungsmuster in unseren Modellen nicht explizit durch empirische Messungen bestimmt. Stattdessen werden synaptische Verschaltungen in unseren Modellen - Tasthaar-Kortex *in silico* - mittels mathematischer Regeln statistisch berechnet. Diese Regeln spiegeln Mechanismen der Entstehung synaptischer Verschaltungen wider, welche empirisch während der Entwicklung von neuronalen Netzwerken beobachtet wurden. Synaptische Verschaltungen in unseren Modellen entsprechen somit Vorhersagen, welche wiederum mit Messungen verglichen werden können. Dieser Unterschied zu anderen Ansätzen ist deshalb so wichtig, weil die aktuell zur Verfügung stehenden Messmethoden jeweils nur Teilaspekte synaptischer Verschaltungsmuster erheben können. Die Extrapolation solcher partieller Daten auf das gesamte Netzwerk ist im Allgemeinen nicht gerecht-

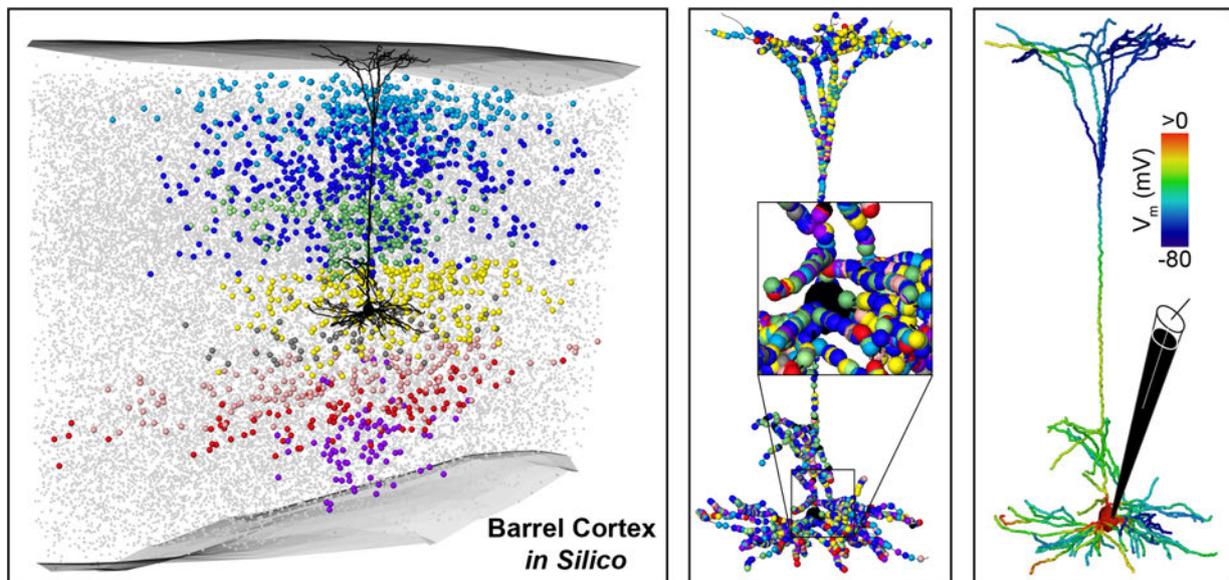


Abbildung 2. Linke Abbildung: Rekonstruktion einer Pyramidal-Tract-Nervenzelle (PTN, schwarz), eingebettet in ein anatomisch realistisches Netzwerkmodell des Tasthaar-Kortex der Ratte. Mittlere Abbildung: Eine von vielen anatomisch möglichen Verteilungen wo entlang der Dendriten des PTNs Nervenzellen des Netzwerkmodells synaptische Verbindungen eingehen können. Rechte Abbildung: Beispielhafte Simulation der durch Tasthaarberührung ausgelösten Netzwerkaktivität, und deren Integration und Transformation durch die Dendriten des PTNs in kortikalen Output.

fertigt. Unser Modell erlaubt es diese partiellen Messungen *in silico* durchzuführen, und somit die regelbasierten Vorhersagen mit allen aktuell zur Verfügung stehenden empirischen Daten zu vergleichen. Unsere Vorhersagen waren konsistent mit all diesen Messungen.

Unser neuartiger Ansatz zur Generierung neuronaler Netzwerkmodelle ist weder auf eine bestimmte Regel der Entstehung von Synapsen noch auf den Tasthaar-Kortex der Ratte beschränkt. Deshalb haben wir eine web-basierte Version unserer Daten und Methoden entwickelt. Diese steht anderen Wissenschaftlern zur Verfügung, um verschiedene Hypothesen der Entstehung von synaptischen Verschaltungsmustern mathematisch zu formulieren, zu testen und mit ihren empirisch gewonnenen Daten zu vergleichen. Die Funktionalitäten von Cortex *in Silico* sind auf der Website folgendermaßen dargestellt (Abbildung 1):

- Erkunden Sie eine digitale Version unserer anatomischen Daten und der daraus entstehenden Modelle des Tasthaar-Kortex der Ratte.
- Erfahren Sie interaktiv mehr über die Struktur und Funktion dieser Hirnregion. Registrierte Benutzer können die Daten und Modelle für ihre eigenen wissenschaftlichen Fragestellungen herunterladen.
- Testen Sie ob Hypothesen über verschiedene Mechanismen der Entstehung synaptischer Verschaltungen mit empirischen Messungen von Verschaltungsmustern konsistent sind. Diese regelbasierten *in silico* Vorhersagen werden als Statistiken zum Download bereitgestellt, welche einen Vergleich mit Daten aller derzeit verfügbaren Messmethoden auf subzellulärer, zellulärer und Netzwerkebene erlauben.
- Entdecken Sie, welche Hypothesen der Synapsenbildung am besten mit Ihren empirischen Daten übereinstimmen. Durch Verwendung der erweiterten Einstellungen können Sie Ihre eigenen mathematischen Regeln für die Synapsenbildung formulieren und die daraus resultierenden Vorhersagen verschiedener Verschaltungsmuster miteinander vergleichen.

„Cortex *in Silico*“ ist daher mehr als „nur“ eine web-basierte Version unseres digitalen Modells des Tasthaar-Kortex. Es bietet eine allgemeine Strategie, notwendige Algorithmen und Analysewerkzeuge, um zu untersuchen, wie Synapsenbildungsmechanismen die Logik und Organisation neokortikaler Netzwerke beeinflussen.

Ausblick

Die anatomisch realistischen Netzwerkmodelle können mit Funktionsmessungen kombiniert werden. Dies ermöglicht die Durchführung von Simulationen, die den Signalfluss der von den Tasthaaren ausgelösten Aktivität auf Ebene einzelner Nervenzellen und auf Netzwerkebene reproduzieren (Abbildung 2). In einer aktuellen Studie haben wir Ergebnisse solcher Simulationen publiziert. Die Vorhersagen der Simulationen über grundlegende zelluläre und Netzwerk Mechanismen welche der Transformation von sensorischem Input in kortikalen Output kasual zugrundeliegen konnten wir direkt empirisch bestätigen. Dazu haben wir mittels optogenetischer und pharmakologischer Manipulationen die sensorisch induzierten Aktivitätsmuster einzelner Nervenzellen in vorhersagbarer Weise verändern können. Diese Kombination von Simulation und Manipulation haben zur Entdeckung eines bisher unbekanntes Prinzips der Verstärkung von sensorischen Signalen in den tiefen Schichten des Neokortex geführt. Diese Verstärkung ist notwendig damit sogenannte Pyramidal-Tract-Nervenzellen - der wichtigste Outputzellentyp des Neokortex - die Ergebnisse kortikaler Berechnungen an andere Hirnregionen weiterleiten können [2].

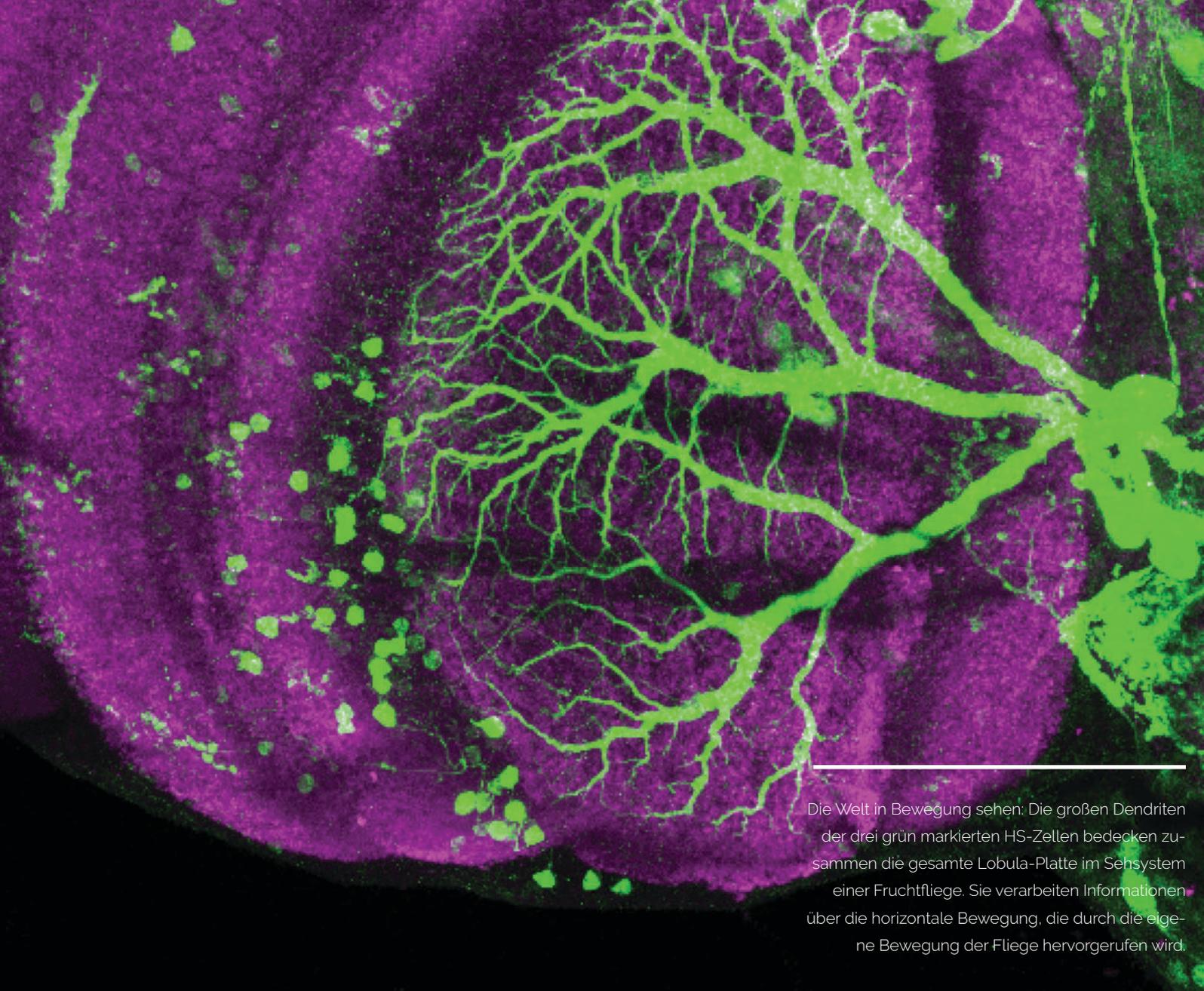
Als langfristiges Ziel wollen wir mit den oben vorgestellten Methoden Simulationen durchführen, welche Aktivitätsmuster während sensorisch induzierter Verhalten reproduzieren, bzw. welche empirisch überprüfbar Vorhersagen über die dem Verhalten potentiell zugrundeliegenden neuronalen Mechanismen machen. Dieses ehrgeizige Ziel erfordert eine quantitative Beschreibung und Rekonstruktion der neuronalen Netzwerke im gesamten Nagetierhirn welche mit dem jeweiligen Verhalten assoziiert sind, und einen physiologischen Zugang welcher Messungen der Funktion dieser Netzwerke während des Verhaltens zulässt. Um diesen großen Herausforderungen zu begegnen, entwickeln wir aktuell verschiedene anatomische [3], funktionelle und theoretische Methoden, die es mittelfristig erlauben werden realistische Modelle der mit Tasthaaren assoziierten Netzwerke im gesamten Hirn zu erstellen: das „Tasthaar-System *in Silico*“.

Im Jahr 2018 haben wir zur Unterstützung unseres „Cortex *in Silico*“-Projekts und unserer Simulationsprojekte von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG-Schwerpunktprogramm: SPP2041 „Computational Connectomics“) und

dem Bundesministerium für Bildung und Wissenschaft (BMBF-Programm zur künstlichen Intelligenz: Automatisierte, datengesteuerte Inferenz in mechanistischen Modellen) Drittmittel angeworben. Darüber hinaus haben wir unsere Zusammenarbeit mit Dr. Michael Long (NYU, New York) fortgesetzt, um unsere Methoden zur Erstellung anatomisch realistischer Netzwerkmodelle auf das Vokalisierungssystem des Singvogels auszuweiten [4,5].

Quellenangaben

1. 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.
2. Egger, R., Narayanan, R. T., Udvary, D., Bast, A., Guest, J. M., Messore, L.F., Das, S., De Kock, C. P. J. & Oberlaender, M. (2019). Cortical output is gated by horizontally projecting neurons in the deep layers. *Neuron*. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.10.011
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.
4. 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* 2017;6:e24364
5. Benezra, S.E., Narayanan, R.T., Egger, R., Oberlaender, M., and Long, M.A. (2018). Morphological characterization of HVC projection neurons in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J Comp Neurol* 526, 1673-1689.



Die Welt in Bewegung sehen: Die großen Dendriten der drei grün markierten HS-Zellen bedecken zusammen die gesamte Lobula-Platte im Sehsystem einer Fruchtfliege. Sie verarbeiten Informationen über die horizontale Bewegung, die durch die eigene Bewegung der Fliege hervorgerufen wird.

Neuronale Steuerung der Flugbahn einer Fliege

Von Bettina Schnell, Neurobiology of Flight Control

Mit den Flugmanövern der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* als Modellsystem untersuchen wir, wie Verhaltensaktionen durch neuronale Schaltkreise gesteuert werden und wie der Verhaltenszustand eines Tieres wiederum die Verarbeitung sensorischer Informationen beeinflusst.

Der optische Fluss ist nützlich zur Steuerung der Fortbewegung

Wahrscheinlich jeder hat dieses Phänomen schon einmal erlebt: Sie sitzen in einem Zug und wenn der Zug auf dem Nachbargleis anfährt, haben Sie das starke Gefühl, dass Sie selbst sich bewegen, obwohl Ihr Körper an Ort und Stelle bleibt. Die optische Bewegung der Umgebung (optischer Fluss) kann als starker Hinweis auf die Eigenbewegung dienen und ist sehr wichtig für die Steuerung der Fortbewegung und für die Bildstabilisierung. Verhaltensreaktionen auf den optischen Fluss sind für eine Vielzahl von Arten gut beschrieben worden. Bei Fliegen kann der optische Fluss den Tieren helfen, Abweichungen von ihrer geplanten Flugbahn zu erkennen. Wenn Sie einer Fliege daher ein rotierendes Muster darbieten, dreht sie sich mit der Bewegungsrichtung des Musters in der sogenannten optomotorischen Reaktion, die zur Stabilisierung einer geraden Flugbahn dient. Diese Reaktion kann sogar bei fixierten Tieren gemessen werden, die sich nicht wirklich drehen können, indem die Amplitudendifferenz des linken und rechten Flügelschlags (L-R WSA) verfolgt wird. Die experimentelle Zugänglichkeit macht Fliegen zu perfekten Modellorganismen für die Untersuchung der Schaltkreise, die dem optomotorischen Verhalten zugrunde liegen.

Große Tangentialzellen in der Fliege verarbeiten optischen Fluss

In der Lobulaplatte der Fliege (ein Teil der optischen Loben) gibt es eine Reihe von großen, visuellen Neuronen, die so genannten Lobula-Platten-Tangentialzellen (LPTZ), die eingehende Informationen von vielen lokalen Bewegungsdetektoren zusammenfassen. Sie haben sehr große rezeptive Felder und reagieren richtungsselektiv auf visuelle Bewegungen. Daher sind sie für das Erkennen des optischen Flusses ideal geeignet. Zellen des Horizontalsystems (HS-Zellen) reagieren beispielsweise am stärksten auf horizontale Bewegungen, wie sie entstehen, wenn sich die Fliege um die vertikale Körperachse dreht. HS-Zellen sollen daher die optomotorische Reaktion auf horizontale Bewegungen vermitteln. HS-Zellen feuern nicht wie die meisten Neuronen von Säugetieren volle Aktionspotenziale ab, sondern kodieren Informationen als abgestufte Veränderungen des Membranpotenzials. Ihr Membranpotenzial steigt (Depolarisa-

tion) bei der Bewegung von vorne nach hinten auf der gleichen Seite und sinkt (Hyperpolarisation) für die Bewegung von hinten nach vorne [1]. Wie Informationen über horizontale Bewegungen auf dem Weg zum motorischen System weiterverarbeitet werden, ist jedoch nicht bekannt.

Postsynaptische Partner von HS-Zellen könnten die visuelle Bewegung zeitlich integrieren

Eines unserer Ziele besteht darin, die absteigenden Wege zu finden und zu beschreiben, auf denen die Informationen von den HS-Zellen im Gehirn an das motorische Flugsystem im Ventralnervenstrang, dem Äquivalent der Fliege zum Rückenmark, übertragen werden. Um zunächst Neuronen zu identifizieren, die für HS-Zellen postsynaptisch sind, verwendeten wir ein neuartiges transgenes Werkzeug namens transTANGO unter Verwendung einer genetischen Treiberlinie, die spezifisch HS-Zellen markiert [2]. Mit transTANGO konnten wir mehrere Neuronen identifizieren, die eine starke Überlappung mit den Axonterminalen von HS-Zellen im Gehirn aufweisen (Abb. 1A). Einige von ihnen steigen bis zum Ventralnervenstrang ab. Im nächsten Schritt werden wir Patch-Clamp-Ableitungen von den Zellkörpern dieser Neuronen vornehmen, um deren Reaktionen auf horizontale Bewegungen während des Flugs im Detail zu untersuchen. Eine Hypothese, die wir testen werden, ist die Frage, ob die Reaktionen der postsynaptischen Neuronen von HS-Zellen das zeitliche Integral des präsentierten visuellen Bewegungsreizes widerspiegeln. Ich habe bereits gezeigt, dass zwar die optomotorische Reaktion der Fliege mit zunehmender Dauer der visuellen Bewegung stark zunimmt, das Membranpotential von HS-Zellen aber nicht [3]. Als wir jedoch den Anstieg der Kalziumkonzentration im Terminal von HS-Zellen mit einem genetisch kodierten Kalziumindikator gemessen haben, fanden wir heraus, dass der Anstieg der Fluoreszenz in Antwort auf horizontale Bewegung mit zunehmender Dauer ganz ähnlich der Verhaltensreaktion stark zunimmt. Die Kalziumakkumulation in den Terminals von HS-Zellen könnte somit als Mechanismus zur Berechnung des zeitlichen Integrals dienen, das nach unserer Hypothese dann über chemische Synapsen auf nachgeschaltete Neuronen übertragen wird. Wir würden daher erwarten, dass postsynaptische Neuronen, die über chemische Synapsen mit HS-Zellen verbunden sind, das zeitliche Integral des visuellen Bewegungsreizes kodieren, während Neuronen, die nur elektrische Synapsen

mit HS-Zellen bilden, dies nicht tun. Die zeitliche Integration in das optomotorische System dient wahrscheinlich dazu, wahrgenommene Fehlersignale (in diesem Fall als visuelle Drehung der Umgebung erkannt) vollständig zu kompensieren, wie bei proportional-integralen Rückkopplungssteuerungssystemen, die im Ingenieurwesen weit verbreitet sind.

Flugverarbeitung beeinflusst die Informationsverarbeitung in HS-Zellen

Die optomotorische Reaktion ist eine reflexartige Reaktion, die Abweichungen von einer geraden Flugbahn korrigiert. Wie kann eine Fliege dann Richtungsänderungen durchführen, ohne dass die optomotorische Reaktion dem Wendemanöver entgegenwirkt? HS-Zellaufzeichnungen während des ortsfixierten Fluges haben kürzlich gezeigt, dass das HS-Zellmembranpotential während schneller Wendungen durch eine Efferenzkopie beeinflusst wird [4]. Dieser Effekt hängt von der Richtung des Wendemanövers ab. Bei einer Rechtswende, die zu einer Bewegung nach links führt, werden die HS-Zellen im linken optischen Lobus hyperpolarisiert und die HS-Zellen rechts depolarisiert. Die Efferenzkopie hat somit das richtige Zeichen, um

die Reaktionen der HS-Zellen auf den Reiz zu unterdrücken, der durch die Eigenbewegung der Fliege verursacht würde. Dies ist jedoch noch nicht abschließend nachgewiesen worden. Eines unserer Ziele besteht darin, den Einfluss von Sakkaden auf die Verarbeitung der visuellen Bewegung in HS-Zellen genauer zu untersuchen. Dazu präsentieren wir schnell anwachsende (expandierende) Reize, die sich nähernde Objekte, wie z.B. Raubtiere, auf der linken oder rechten Seite einer fixierten Fliege nachahmen. Diese Reize lösen schnelle, ausweichende Wendemanöver weg von der stimulierten Seite aus, die wir als Veränderungen in der Flügelschlagamplitude messen können (Abb. 1B,C). Gleichzeitig messen wir das Membranpotential von HS-Zellen mit Hilfe von Patch-Clamp-Ableitungen [5]. Vorläufige Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich die Wirkung von Wendemanövern, die durch bedrohlich auftauchenden Reizen ausgelöst wurden, von spontanen Sakkaden unterscheidet. Bei expandierenden Reizen werden HS-Zellen hyperpolarisiert, unabhängig davon, ob der Reiz auf der rechten oder linken Seite präsentiert wurde, aber nur während des Fluges und nicht im Ruhezustand (Abb. 1D,E). Es werden weitere Experimente erforderlich sein, um festzustellen, ob diese Wirkung durch den Reiz selbst verursacht wird oder ob er von der Verhaltensreaktion der Fliege auf den Stimulus abhängt.

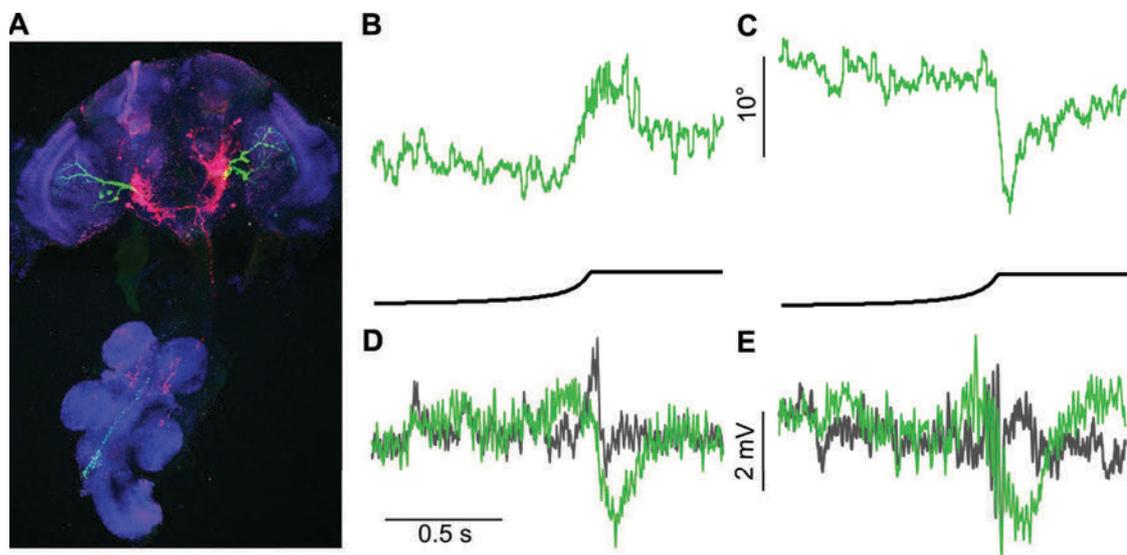


Abbildung 1. Z-Projektion eines *Drosophila*-Gehirns und Ventralnervensystems, in dem tranSTANGO in HS-Zellen (grün) exprimiert wurde. Potenzielle postsynaptische Partner von HS-Zellen sind rot markiert. B/C) Wendereaktion (L-R WSA) einer Fliege auf einen bedrohlich auftauchenden Reiz, der links/rechts präsentiert wird. Eine Erhöhung des L-R WSA entspricht einer Rechtswende. Die Winkelausdehnung des Reizes ist schwarz dargestellt. D/E) Membranpotential von HS-Zellen als Reaktion auf den gleichen Reiz wie in B/C, jeweils im Ruhezustand (grau) und im Flug (grün).

Fazit

Insgesamt deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass die Verarbeitung sensorischer Informationen sehr spezifisch vom Verhaltenszustand abhängt. Dies gilt bereits in der frühen Verarbeitungsphase, so dass nicht benötigte Informationen frühzeitig verworfen werden können. Diese Flexibilität in der Informationsverarbeitung könnte erklären, wie das Fliegenhirn mit seinen nur ca. 10.000 Neuronen solche anspruchsvollen Verhaltensweisen wie Flugmanöver steuern kann.

Quellenangaben

1. Schnell, B., Joesch, M., Forstner, F., Raghu, S.V., Otsuna, H., Ito, K., Borst, A., and Reiff, D.F. (2010). Processing of horizontal optic flow in three visual interneurons of the *Drosophila* brain. *J. Neurophysiol.* 3, 1646-1657.
2. Talay, M., Richman, E.B., Snell, N.J., Hartmann, G.G., Fisher, J.D., Sorkac, A., Santoyo, J.F., Chou-Freed, C., Nair, N., Johnson, M. et al. (2017). Transsynaptic Mapping of Second-Order Taste Neurons in Flies by trans-Tango. *Neuron* 4, 783-795.e4.
3. 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.* 15, 5700-5705.
4. Kim, A.J., Fitzgerald, J.K., and Maimon, G. (2015). Cellular evidence for efference copy in *Drosophila* visuomotor processing. *Nat. Neurosci.* 9, 1247-1255.
5. Maimon, G., Straw, A.D., and Dickinson, M.H. (2010). Active flight increases the gain of visual motion processing in *Drosophila*. *Nat. Neurosci.* 3, 393-399.



EMMY-NOETHER-
FORSCHUNGSGRUPPE
**NEUROBIOLOGY OF
FLIGHT CONTROL**



**Bettina
Schnell**

Gruppenleiterin

Neurobiology of
Flight Control

Die Forschungsgruppe „Neurobiology of Flight Control“ interessiert sich dafür, wie das winzige Gehirn der *Drosophila* komplexe Verhaltensweisen steuert, die von sensorischen Informationen gelenkt werden. Um diese Frage zu beantworten, nutzen wir modernste Technologie, die es uns ermöglicht, die Aktivität einzelner Neuronen in kopffixierten, aber fliegenden Fliegen zu messen. Außerdem nutzen wir den umfangreichen genetischen Werkzeugkasten, der für *Drosophila* zur Verfügung steht, um die Funktion bestimmter Neuronen zu manipulieren. Wir kombinieren diese Techniken, um einzelne Neuronen, 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.



Der Schlüssel zum Angeln nach Proteinen ist nicht Geduld, sondern die Wahl des richtigen Hakens. Um mit Proteinen arbeiten und sie abbilden zu können, müssen wir sie zunächst auf unsere Probenträger bringen. Bei verdünnten Proteinlösungen ist das alles andere als ein Kinderspiel - zumal Proteine, ähnlich wie Fische, die Grenzfälle zwischen Luft und Wasser nicht mögen.

Proteine angeln

Von Elmar Behrmann, Strukturelle Dynamik von Proteinen

Jüngste Fortschritte in Technologie und Methodik haben der Elektronenmikroskopie (EM) den Zugang zum Bereich der nahezu atomaren Auflösung ermöglicht [1]. Selbstverständlich bleibt dennoch die Herausforderung bestehen, zuerst das Protein zu beschaffen, das untersucht werden soll und es dann auf einen Probenträger zu bringen [2].

Untersuchung immer kleinerer Proteine

Die Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM) musste sich vor allem aufgrund des schlechten Kontrasts von Proteinen, die in eine amorphe (vitrifizierte) Eisschicht eingebettet waren, lange Zeit auf die Auflösung von Strukturen großer Komplexe wie Virenkapseln, Ribosomen und Chaperonen beschränken. Technische und rechnerische Durchbrüche haben in jüngster Zeit die Grenze vom Megadalton-Bereich auf mehrere Dutzend Kilodalton gesenkt. Damit ist die Mehrheit aller Proteine zu einem potenziellen Ziel geworden, das mit Kryo-EM untersucht werden kann. Es überrascht daher nicht, dass viele Forscher*innen hohe Erwartungen an die Kryo-EM stellen, in der Hoffnung, dass durch sie langjährige Fragen für Proteine gelöst werden, die für die Proteinkristallographie schwer zugänglich sind - wie Ionenkanäle, die elektrischen Torwächter unserer Zellen. Während jedoch viele technische Herausforderungen in Bezug auf Bildgebung und Datenverarbeitung gemeistert werden konnten, hat der Trend zu immer kleineren Zielproteinen unerwartete Probleme aufgeworfen.

Wenn der Kontrast also kaum noch ein Problem darstellt, warum wurden dann im Jahr 2018 immer noch mehr als

10 Mal mehr Strukturen durch Röntgenproteinkristallographie (9901) gelöst als durch Kryo-EM (849)? Eine Herausforderung besteht darin, dass kleinere Proteine viel mobiler sind als größere, da der Diffusionskoeffizient mit der Masse eines Proteins zusammenhängt. Infolgedessen kommen kleinere Proteine häufiger mit der Luft-Wasser-Grenzfläche [3] in Berührung, d.h. mit der oberen Schicht des Probetropfens, der auf dem Probenträger dünn aufgetragen wird. Die Ergebnisse dieser Kontakte können für das Protein schädlich sein - man bedenke die Auswirkungen, die das Rühren von Eiweiß hat, um Luft in diese Proteinlösung zu bringen.... Außerdem hat selbst die teilweise Denaturierung einer begrenzten Oberfläche auf ein kleines Protein viel schwerwiegendere Auswirkungen als die gleiche Fläche, die auf einem riesigen Proteinkomplex denaturiert wird - ganz einfach deshalb, weil diese Fläche einen wesentlich größeren relativen Teil der Gesamtstruktur darstellt. Membranproteine, wie beispielsweise Ionenkanäle, sind besonders anfällig für eine teilweise oder vollständige Entfaltung an der Luft-Wasser-Grenzfläche. Der Grund dafür besteht darin, dass sie auf ihrer Oberfläche hydrophobe Bereiche enthalten, die für die Einbettung in Lipidmembranen erforderlich sind. Ein gängiger Ansatz ist die Verwendung von Tensiden zur Abdeckung dieser Bereiche, um die Membranproteine in

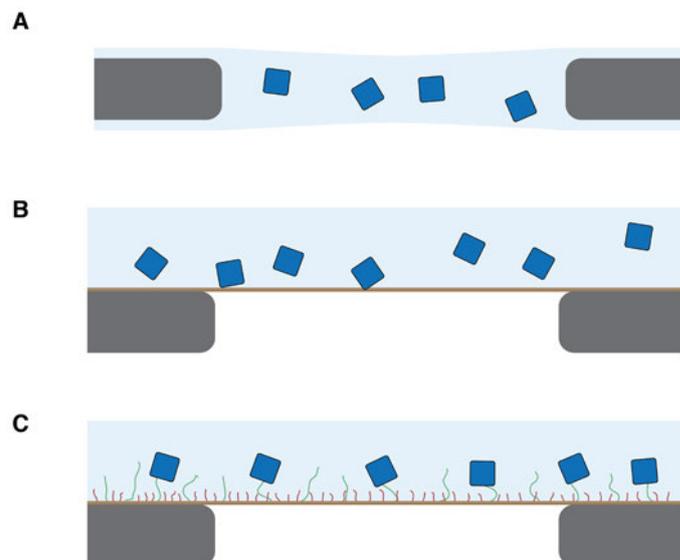


Abbildung 1. Konventionelle und funktionalisierte Probenträger. Cartoons, die (a) Kohlenstoff-Lochgitter (Eis in Hellblau, Trägerkohlenstoff in Dunkelgrau), (b) Kohlenstoff-Lochgitter mit einem unveränderten kontinuierlichen Kohlenstofffilm (braun dargestellt) und (c) Gitter mit einem funktionalisierten Kohlenstofffilm (Fanggruppen in Grün, Passivierungsgruppen in Rot) darstellen. Protein ist in Dunkelblau dargestellt.

wässrigen Puffern löslich zu machen. Waschmittel werden jedoch stark von der Luft-Wasser-Grenzfläche angezogen und neigen dazu, an der Grenzfläche dünne Schichten zu bilden - auf Kosten des Proteins, das jetzt seinen Tensidgürtel verliert. Die Verwendung anderer Mittel zur Solubilisierung, wie Nanodisks oder Amphipole, kann dieses Problem zwar lindern, ideal wäre aber ein Mittel, das Kontakte des Proteins mit der Luft-Wasser-Grenze verhindert oder zumindest minimiert.

Wie dünn ist dünn? Und wie viel ist genug?

Routineprobenträger in der Kryo-EM umfassen einen Kohlenstoffträgerfilm mit definierten, mikrometergroßen Löchern, die die Bildgebungsbereiche bilden. Die Proteine werden in diesen Löchern in einen dünnen Film aus wässrigem Puffer eingebettet, der schnell gefroren wird, bevor er in das Mikroskop übertragen wird, um alle molekularen Bewegungen zu stoppen und um die Probe widerstandsfähiger gegenüber den Bedingungen innerhalb des optischen Systems zu machen. Aber wie dünn ist dünn? Eine gängige Annahme besagt, dass der Flüssigkeitsfilm nicht viel dicker als das Doppelte oder höchstens das Dreifache des Durchmessers des untersuchten Proteins sein sollte - um den Kontrast zu maximieren. So kann der Flüssigkeitsfilm zur Abbildung von Ribosomen bis zu 100 nm dick sein, kleinere Proteine benötigen jedoch noch deutlich dünnere Schichten. Dünn ist also tatsächlich dünn, und jedes beliebige Protein in einem solchen Flüssigkeitsfilm hat in seiner nächsten Nähe nicht nur eine, sondern zwei Wasser-Luft-Grenzflächen (Abb. 1a). Der Einsatz einer zusätzlichen, 2 bis 5 nm dicken, kontinuierlichen Kohlenstoffschicht blockiert den Zugang zu einer der Luft-Wasser-Schnittstellen (Abb. 1b) und erhöht darüber hinaus die mechanische Stabilität des Flüssigkeitsfilms. Da sich Proteine nicht überlappen dürfen, um echte Transmissionsbilder aufnehmen zu können, und weil das typische Sichtfeld im Bereich von 200² bis 400² nm² liegt, können schätzungsweise zwischen 25 und 250 einzelne Partikel auf einem einzigen Mikrograph erhalten werden. Das klingt zwar nicht nach viel, allerdings muss bedacht werden, dass sich die Proteine nicht nur in einem einzigen Abbildungsbereich befinden, sondern über die gesamte Probenträgeroberfläche verteilt sind. Noch entscheidender ist die Tatsache, dass mit Routinetechniken kein Flüssigkeitsfilm aufgetragen werden kann, der dünner ist als 100 nm. Daher besteht das gängige Verfahren

darin, einen relativ großen Tropfen auf das Probenträgergitter aufzutragen und überschüssige Flüssigkeit mittels Abtupfen zu entfernen. Alles in allem muss das Zielprotein für Kryo-EM-Experimente tatsächlich auf eine recht hohe Konzentration angereichert werden. Auch das kann eine enorme Herausforderung für in geringer Stückzahl vorkommende Membranproteine wie Ionenkanäle darstellen.

Mit Molekülketten Proteine angeln

Der Hauptvorteil der Verwendung von kontinuierlichen Kohlenstoffschichten als zusätzlicher Trägerfilm auf den Probenträgern besteht darin, dass diese Schichten (a) einfach vorzubereiten sind, (b) sehr gut an der löchrigen Kohlenstoffträgerfolie des Gitters haften bleiben und (c) nicht zu viel zusätzliches Hintergrundrauschen einbringen. Diese Schichten sind jedoch ziemlich inert: Sie sind weder in der Lage, die meisten Proteine anzureichern noch sie zu immobilisieren, um eine Interaktion mit der Luft-Wasser-Grenzfläche zu verhindern. Auch wenn ein Protein an amorphem Kohlenstoff haftet, z.B. durch hydrophobe Bereiche auf seiner Oberfläche, ist diese Wechselwirkung schlecht definiert und führt oft zu (teilweiser) Denaturierung. Die organische Chemie bietet eine Fülle von funktionellen Gruppen, mit denen auf definierte und kontrollierte Weise mit spezifischen funktionellen Gruppen auf der Oberfläche eines Proteins interagiert werden kann. Ein gutes und weit verbreitetes Beispiel ist das Ni-NTA-System: Nitrilotriessigsäure (NTA) und Histidine an der Oberfläche eines Proteins haben eine hohe Affinität zueinander, wenn sie durch ein Nickelion überbrückt werden. Bereits vor 10 Jahren wurden die Vorteile dieses Systems bei der Funktionalisierung von Probenträgern erkannt [4]. Die Präparationsmethode war jedoch so umständlich, dass diese in der Praxis kaum Anwendung fand.

Während unserer jüngsten Bemühungen, molekulare Gerüste für lipidverformende Proteine zu entwerfen, haben wir ein einfach anzuwendendes chemisches Verfahren (wieder) entdeckt, das es uns ermöglicht, modifiziertes Polyethylenglykol (PEG) auf Kohlenstoffoberflächen zu verankern. Die Anwendung besteht in einer simplen „Pipettieren und Inkubieren“-Reaktion, die direkt auf dem Probenträger durchgeführt werden kann, was diesen Ansatz sehr benutzerfreundlich macht. Indem wir PEG an der Gitteroberfläche verankern, schaffen wir allerdings noch keine molekularen Bindungen, die es uns ermöglichen würden, nach Proteinen zu „angeln“, da PEG bekanntlich

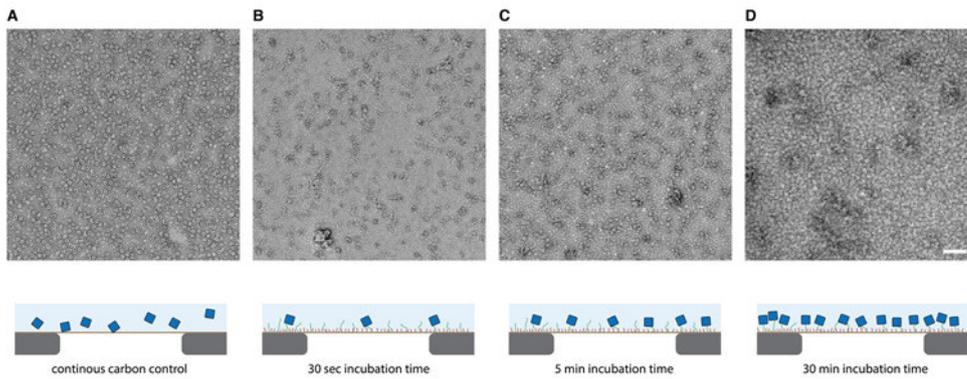


Abbildung 2. Einfangen von Apoferritin auf funktionalisierten Probenträgern. Negativ-kontrastierte Probenträger einer verdünnten Apoferritinprobe. (a) Kontrolle der Proteindichte auf einem nicht-funktionalisierten, kommerziellen Proben-trägergitter. (b-d) Proben, die nach (b) 30 Sekunden, (c) 5 Minuten und (d) 30 Minuten Inkubationszeit auf kovalenten Linker-funktionalisierten Probenträgern aufgenommen wurden. Der Zeitverlauf zeigt deutlich eine starke Anreicherung auf der Oberfläche.

ziemlich inert gegenüber Proteinen ist - und in der Tat verwenden wir Molekülketten dieser Art, um die Kohlenstoffoberfläche bei Bedarf zu blockieren. Stattdessen setzen wir auf bifunktionale PEG: Eine Seite trägt die molekulare Schnittstelle, die für die Bindung an die Kohlenstoffoberfläche verantwortlich ist, die andere Seite trägt eine funktionale Fanggruppe - wie beispielsweise Nitrilotriessigsäure - als Haken und Köder zum Einfangen von Proteinen. Durch die Verwendung von Mischungen aus bifunktionalem PEG mit Haltegruppe und Fanggruppe und PEG nur mit der Haltegruppe können wir sogar die Anzahl der auf der Oberfläche des Probenträgers vorhandenen Fanggruppen festlegen (Abb. 1c) und so die Proteindichte auf der Oberfläche regeln.

Obwohl das Ni-NTA-System weit verbreitet ist, ist es weder in allen Szenarien anwendbar noch ist es immer die beste Option. Deshalb haben wir auch eine vielseitige, generische PEG-Angelschnur entwickelt, die anstelle von NTA eine Azidgruppe aufweist und somit die Einführung jeder beliebigen Fang-Gruppe durch Click-Chemie ermöglicht, die mit einem Alkin modifiziert werden kann. Wir nutzen dies beispielsweise, um bekannte Liganden von Ionenkanälen an die Oberfläche des Probenträgergitters zu binden.

Weitere Vorteile der Angeltour

Nicht-kovalente Fanggruppen, wie oben beschrieben, haben den Nachteil, dass sie zumindest bei häufig beobachteten Affinitäten die Probe aus der Bulklösung nicht wirklich auf der Gitteroberfläche anreichern - sie erhöhen

nur die Verweildauer an der Oberfläche und reduzieren so die Kontakte mit der Luft-Wasser-Grenzfläche. Deshalb haben wir auch eine molekulare Angelschnur entwickelt, die kovalent mit jeder primären Aminogruppe auf der Oberfläche der Proteine reagiert und diese dauerhaft mit der Kohlenstoffoberfläche verbindet. Pilotexperimente mit verdünnten Proben von Apoferritin, einem häufig verwendeten Referenzprotein in der Kryo-EM, zeigen das Potential unseres Systems (Abb. 2). Wichtig ist, dass an der Oberfläche von Proteinen Lysine, die ein primäres Amin enthalten, in den meisten Proteinen vorkommen, was unsere molekulare Angelrute zu einem generischen Werkzeug macht.

Quellenangaben

1. Kuhlbrandt, W. (2014). Biochemistry. The resolution revolution. *Science* 343, 1443-1444.
2. Takizawa, Y., Binshtein, E., Erwin, A.L., Pyburn, T.M., Mittendorf, K.F., and Ohi, M.D. (2017). While the revolution will not be crystallized, biochemistry reigns supreme. *Protein Sci* 26, 69-81.
3. Glaeser, R.M., and Han, B.G. (2017). Opinion: hazards faced by macromolecules when confined to thin aqueous films. *Biophys Rep* 3, 1-7.
4. Kelly, D.F., Abeyrathne, P.D., Dukovski, D., and Walz, T. (2008). The Affinity Grid: a pre-fabricated EM grid for monolayer purification. *J Mol Biol* 382, 423-433.



MAX-PLANCK-
FORSCHUNGSGRUPPE
**STRUKTURELLE DYNAMIK
VON PROTEINEN**



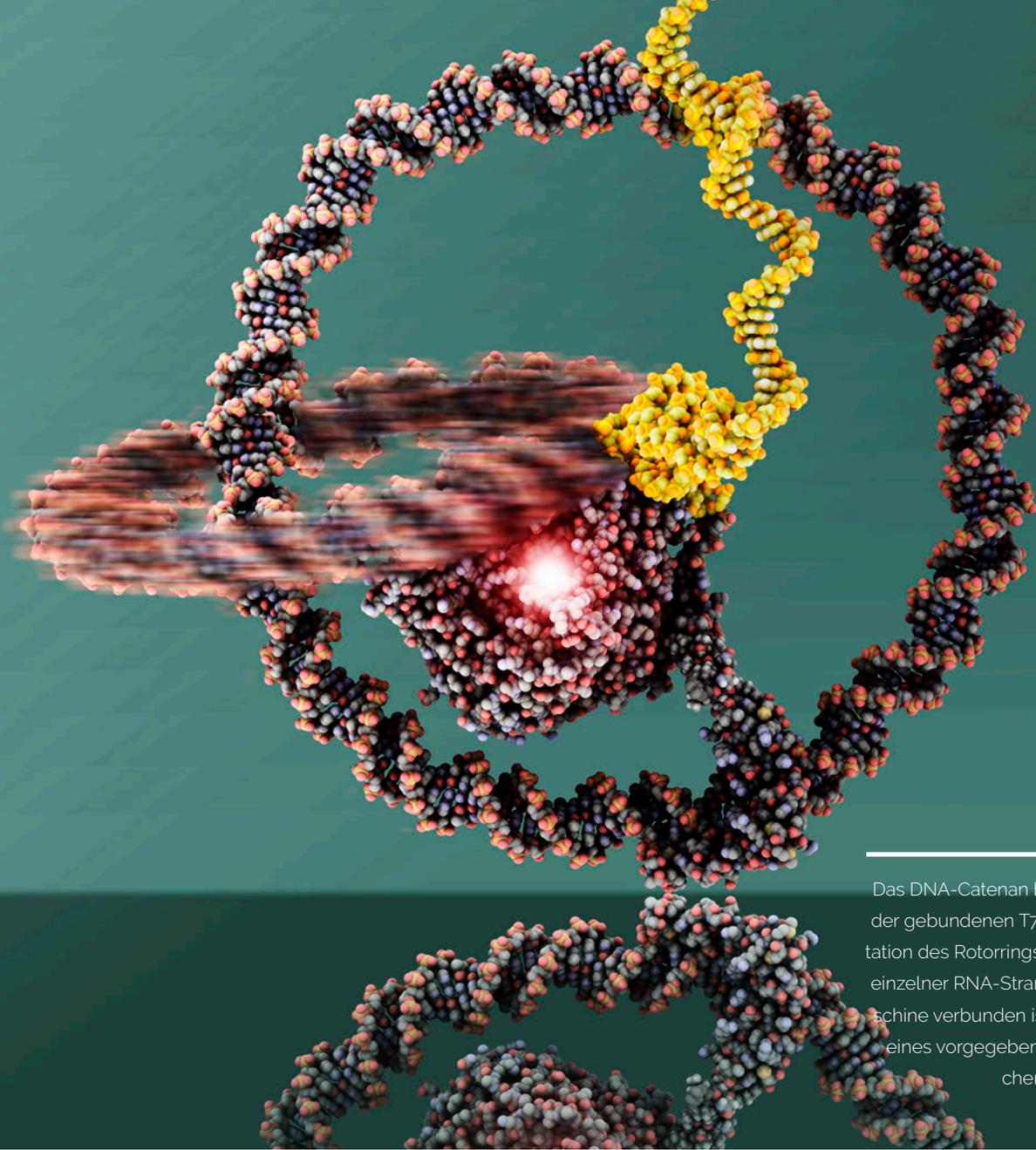
**Elmar
Behrmann**

Gruppenleiter

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. Unser strukturelles Verständnis dieser mikroskopischen Maschinen beschränkt sich jedoch oft auf einen oder bestenfalls wenige statische Schnappschüsse.

Wir konzentrieren uns auf die Anwendung der Elektronenmikroskopie, um solche dynamischen Entitäten in einer nativen Umgebung zu visualisieren, um die strukturellen Pfade im Zentrum biologischer Prozesse abzuleiten. Unser Hauptinteresse gilt den Proteinen, die in die Lipidmembranen unserer Zellen eingebettet sind. Die strukturelle Grundlage, wie Proteine Membranen vielfältige Funktionen verleihen können, fehlt noch weitgehend, insbesondere im Hinblick auf das dynamische Zusammenspiel von Lipiden und Proteinen. Um solche dynamischen Entitäten in ihrer nativen Umgebung visualisieren zu können, entwickeln wir Proben-Präparationsstrategien, die es uns ermöglichen, Membranproteine in bestimmten Funktionszuständen zu untersuchen.



Das DNA-Catenan besteht aus dem Statorring mit der gebundenen T7-RNA-Polymerase, die die Rotation des Rotorrings antreibt. Dadurch entsteht ein einzelner RNA-Strang (gelb), der mit der Nanomaschine verbunden ist und eine Bewegung entlang eines vorgegebenen Pfads auf einem Nanoröhrchen ermöglicht (nicht dargestellt).

Kleine Werkzeuge für große Moleküle

Von Michael Famulok und Anton Schmitz, Chemische Biologie

Als chemische Biologen nutzen wir chemische Werkzeuge, um biologische Strukturen zu untersuchen, zu modulieren oder zu erzeugen, einschließlich natürlich vorkommender Proteine sowie synthetischer nukleinsäurebasierter Nanoarchitekturen.

Fast alle biologischen Prozesse werden von Makromolekülen ausgeführt, vor allem von Proteinen und Nukleinsäuren. In den meisten Fällen bilden diese Moleküle große Komplexe, die aus zwei bis hundert identischen oder unterschiedlichen Untereinheiten bestehen. Die Stärke der chemischen Biologie liegt in ihrer Fähigkeit, Werkzeuge – in aller Regel kleine Moleküle, die für die chemische Synthese zugänglich sind – zur Verfügung zu stellen, um diese großen Komplexe zu analysieren, zu kontrollieren oder mit neuen Funktionen auszustatten.

Kleines Molekül zur Analyse der Struktur eines Proteinkomplexes

Der Informationsfluss zwischen und in den Zellen, der so genannten zellulären Signalübertragung, beruht auf der transienten Anordnung von Signalkomplexen. Wir wollten einen bestimmten Signalkomplex analysieren, der aus zwei Kopien des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors (EGFR) zusammengesetzt ist. Zu diesem Zweck haben wir ein kleines Molekül synthetisiert, das an eine bestimmte Stelle im EGFR bindet und dadurch eine Markierung spezifisch auf einen einzigen von den über 50 im EGFR enthaltenen Cysteinresten überträgt (Abb. 1). Durch diese präzise Markierung wurde es möglich, mit Hilfe der paramagnetischen Elektronenresonanz-Spektroskopie den Abstand zwischen zwei dieser Markierungen im aus zwei EGFR-Molekülen zusammengesetzten Signalkomplex zu messen. Durch diese Messungen konnten wir Modelle untermauern, die eine bestimmte Geometrie des aktiv signalisierenden EGFR [1] vorhersagen.

Kleines Molekül zur Analyse der Struktur einer Nukleinsäure

Riboschalter, die hauptsächlich in Bakterien vorkommen, sind Ribonukleinsäuren, die die Genexpression in Abhängigkeit davon regulieren, ob ein bestimmter Metabolit vorhanden ist oder nicht. Dies wird durch eine Konformationsänderung im Riboschalter bei Metabolitenbindung erreicht, z.B. bei Bindung des Nukleinsäurevorläufers preQ1. Um diese Konformationsänderung in einem preQ1-erkennenden Riboschalter zu verfolgen, haben wir nicht wie im vorgenannten Fall einen markierten Bindungspartner verwendet, sondern direkt eine modifizierte Version des Riboschalters synthetisiert, die zwei kleine Molekülmarkierungen enthält, welche jeweils kovalent an einer bestimmten Base des Riboschalters befestigt sind. Wie oben beschrieben, haben wir die paramagnetische Elektronen-

resonanz-Spektroskopie verwendet, um den Abstand zwischen den beiden Markierungen zu bestimmen und konnten so das Umlegen des Schalters bei Bindung von preQ1 zeigen [2].

Kleine Moleküle zur Regulierung eines DNAzyms durch Licht

DNAzyme sind Desoxyribonukleinsäuren, die chemische Reaktionen analog zu Proteinenzymen katalysieren. Wir verwendeten ein DNAzym, das, wenn es vollständig gefaltet ist, die Oxidation eines farblosen Substrats zu einem farbigen Produkt katalysiert. Dieses DNAzym wurde durch die Substitution bestimmter Basen durch zwei verschiedene photoschaltbare kleine Moleküle (Azobenzol- oder Azo-pyrazolderivate) schaltbar gemacht. Wenn sie in das DNAzym eingebaut werden, unterstützen diese Moleküle die Faltung des DNAzyms, wenn sie sich in der Trans-Konformation befinden, verhindern sie aber, wenn sie sich in der Cis-Konformation befinden. Der Wechsel von trans zu cis und umgekehrt erfolgt durch Bestrahlung mit Licht unterschiedlicher Wellenlängen, die für jedes Molekül spezifisch sind. So ergeben sich aus der Kombination vier mögliche Konfigurationen des DNAzyms, die sich durch den Grad der katalytischen Aktivität unterscheiden lassen. Der große Vorteil der Verwendung von Licht als Schalter anstelle eines chemischen Schalters (d.h. eines Moleküls, das sich an das DNAzym bindet und dadurch eine Konformationsänderung induziert) besteht darin, dass Licht das System nicht verschmutzt und somit die Umschaltung theoretisch unbegrenzt oft erfolgen kann. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass das DNAzym viele Male ein- und ausgeschaltet werden kann. Da das DNAzym auf verschiedene Kombinationen der verschiedenen Wellenlängen mit unterschiedlicher und unterscheidbarer katalytischer Aktivität reagiert, stellt das DNAzym eine logische Vorrichtung (ein 4:2-Multiplexer) dar, die in DNA-Rechengeräte integriert werden kann [3].

Kleine Moleküle zur Steuerung eines DNA-Walkers

Bereits im letzten Jahresbericht haben wir ein Projekt vorgestellt, das wir im laufenden Berichtszeitraum abschließen konnten. Wir haben eine biohybride Nanomaschine gebaut, die sich unidirektional auf einem bestimmten Weg bewegen kann. Der Nanomotor (siehe Titelbild) wurde aus der Kombination einer DNA-Nanostruktur und eines kraft-erzeugenden Proteins, einer RNA-Polymerase, aufgebaut

und nutzte die Hydrolyse von energiereichen Nucleotiden für die Bewegung (analog zur Energiequelle im Muskel). Er bewegte sich schnell und autonom [4]. Nun berichten wir von einem DNA-Walker, der nur aus DNA besteht und durch Licht gleichzeitig angetrieben und gesteuert wird. Der Walker besteht aus zwei Beinen, die von einem kur-

zen Körper zusammengehalten werden. Jedes Bein enthält zwei verschiedene Basenabschnitte, die sich an komplementäre Abschnitte auf dem Pfad binden können (die dem gleichen Prinzip der Basenpaarung unterliegen wie die Bildung der DNA-Doppelhelix). In den Beinen enthalten die Abschnitte mehrere Basen, die durch zwei unter-

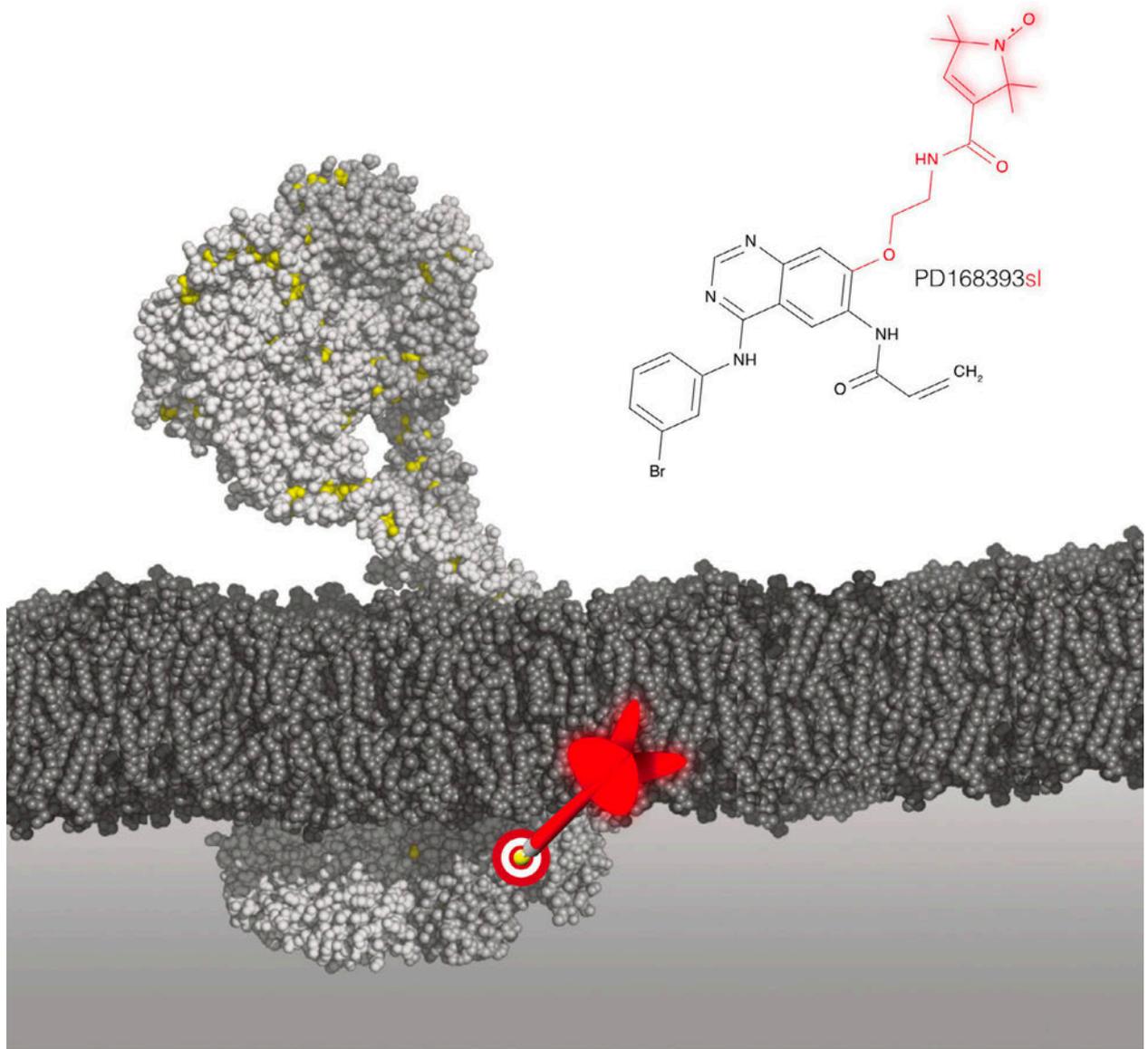
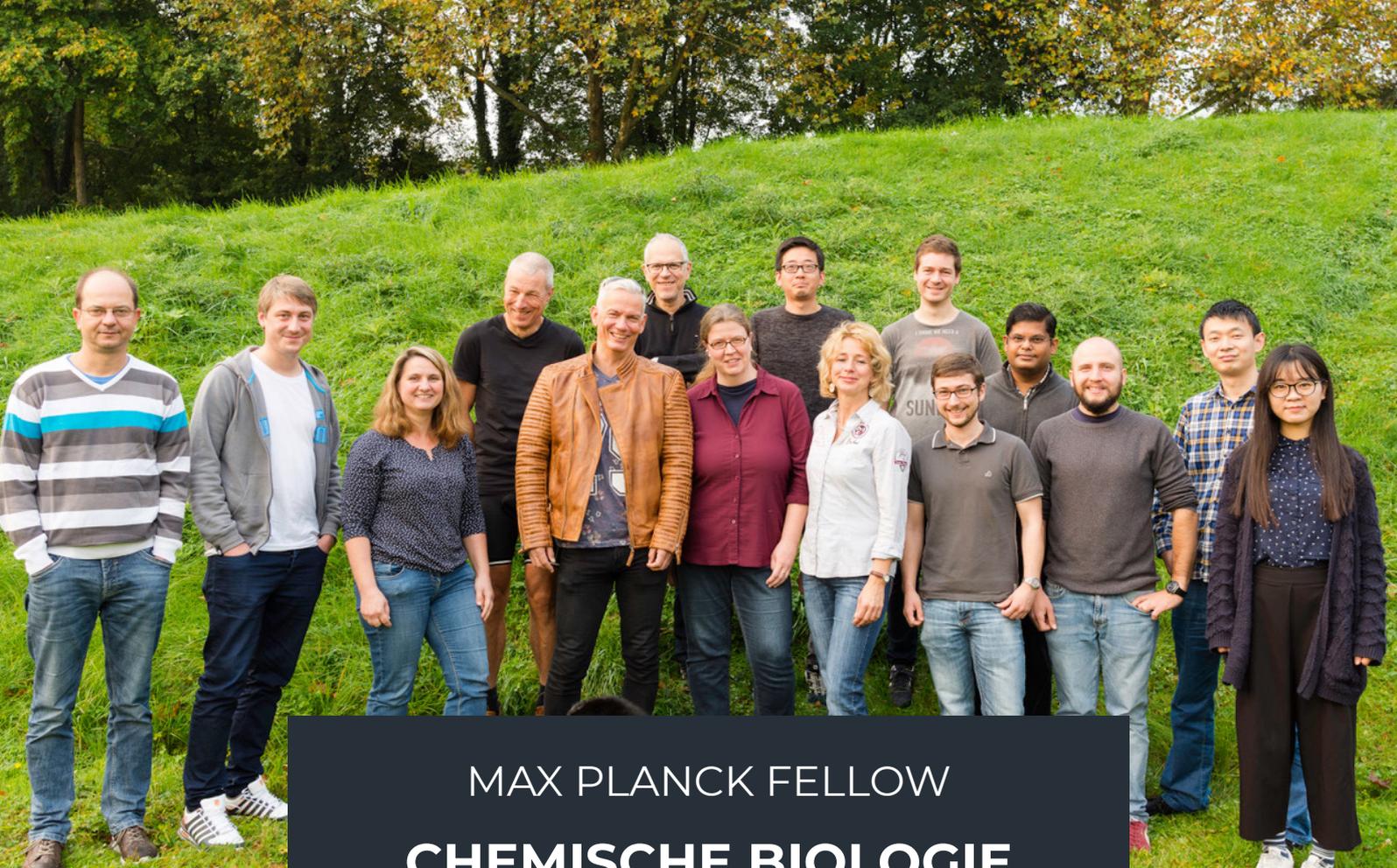


Abbildung 1. Ein kleines Molekül wird verwendet, um eine Markierung (rot) spezifisch auf einen einzelnen Cysteinrest (angezeigt durch den Pfeil) aus über 50 im EGFR-Molekül (hellgrau) vorhandenen Cysteinresten (gelb) zu übertragen. Mit Hilfe von zweien dieser Markierungen kann die Geometrie von zwei EGFR-Molekülen, die den biologisch aktiven Komplex darstellen, analysiert werden. (Aus Yin et al., 2018; mit freundlicher Genehmigung von Dr. G. Hagelueken)

schiedliche, photoschaltbare kleine Moleküle (Azobenzol-Derivate) ersetzt sind, die sich ähnlich wie die oben beschriebenen verhalten. Der Unterschied besteht darin, dass im DNAzym die Basenpaarung innerhalb des DNAzyms durch die lichtinduzierte cis/trans-Isomerisierung der kleinen Moleküle beeinflusst wurde, während im Walker auf die Basenpaarung zwischen dem Walker und dem Pfad gezielt wird. Daher kann der Bediener durch die Wahl der Bestrahlungswellenlänge bestimmen, wohin sich der Walker bewegen muss. Im Gegensatz zum biohybriden Nanomotor ist der DNA-Walker also nicht autonom. Jeder Schritt muss vom Bediener ausgelöst und kann vom Bediener gesteuert werden. Ebenfalls im Gegensatz zum biohybriden Nanomotor verbraucht der DNA-Walker keine energiereichen Nukleotide, sondern nutzt die Energie der Basenpaarung für die Bewegung. Infolgedessen ist Lichtenergie erforderlich, um die Basenpaarungen zu brechen und den nächsten Schritt zu ermöglichen. Damit stellt der DNA-Walker einen völlig anderen Ansatz dar als die biohybride Nanomaschine – mit deutlichen Vor- und Nachteilen gegenüber dieser. Ein Nachteil besteht darin, dass der Walker für lange Strecken nicht gut geeignet ist, die Nanomaschine dagegen sehr wohl. Wenn jedoch präzise gesteuerte Kurzstreckenbewegungen erforderlich sind, ist der DNA-Walker der Nanomaschine überlegen. Dementsprechend könnte man sich als zukünftige Anwendung eine nanoskalige Montageplattform vorstellen, bei der mehrere individuell gesteuerte Walker chemische Bausteine räumlich-zeitlich geordnet zusammenbringen, die dann zu einem definierten Produkt reagieren [3].

Quellenangaben

1. Yin, D.M., Hammmer, D., Peter, M.F., Marx, A., Schmitz, A., and Hagelueken, G. (2018). Inhibitor-Directed Spin Labelling-A High Precision and Minimally Invasive Technique to Study the Conformation of Proteins in Solution. *Chemistry* 24, 6665–6671.
2. Kerzhner, M., Matsuoka, H., Wuebben, C., Famulok, M., and Schiemann, O. (2018). High-Yield Spin Labeling of Long RNAs for Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Biochemistry* 57, 2923–2931.
3. Haydell, M.W., Centola, M., Adam, V., Valero, J., and Famulok, M. (2018). Temporal and Reversible Control of a DNAzyme by Orthogonal Photoswitching. *J Am Chem Soc* 140, 16868–16872.
4. Valero, J., Pal, N., Dhakal, S., Walter, N.G., and Famulok, M. (2018). A bio-hybrid DNA rotor-stator nanomotor that moves along predefined tracks. *Nat Nanotechnol* 13, 496–503.
5. Škugor, M., Valero, J., Murayama, K., Centola, M., Asanuma, H., and Famulok, M. (2019). Orthogonally Photocontrolled Non-Autonomous DNA Walker. *Angew Chem Int Ed Engl* 58, 6948–6951.



MAX PLANCK FELLOW CHEMISCHE BIOLOGIE

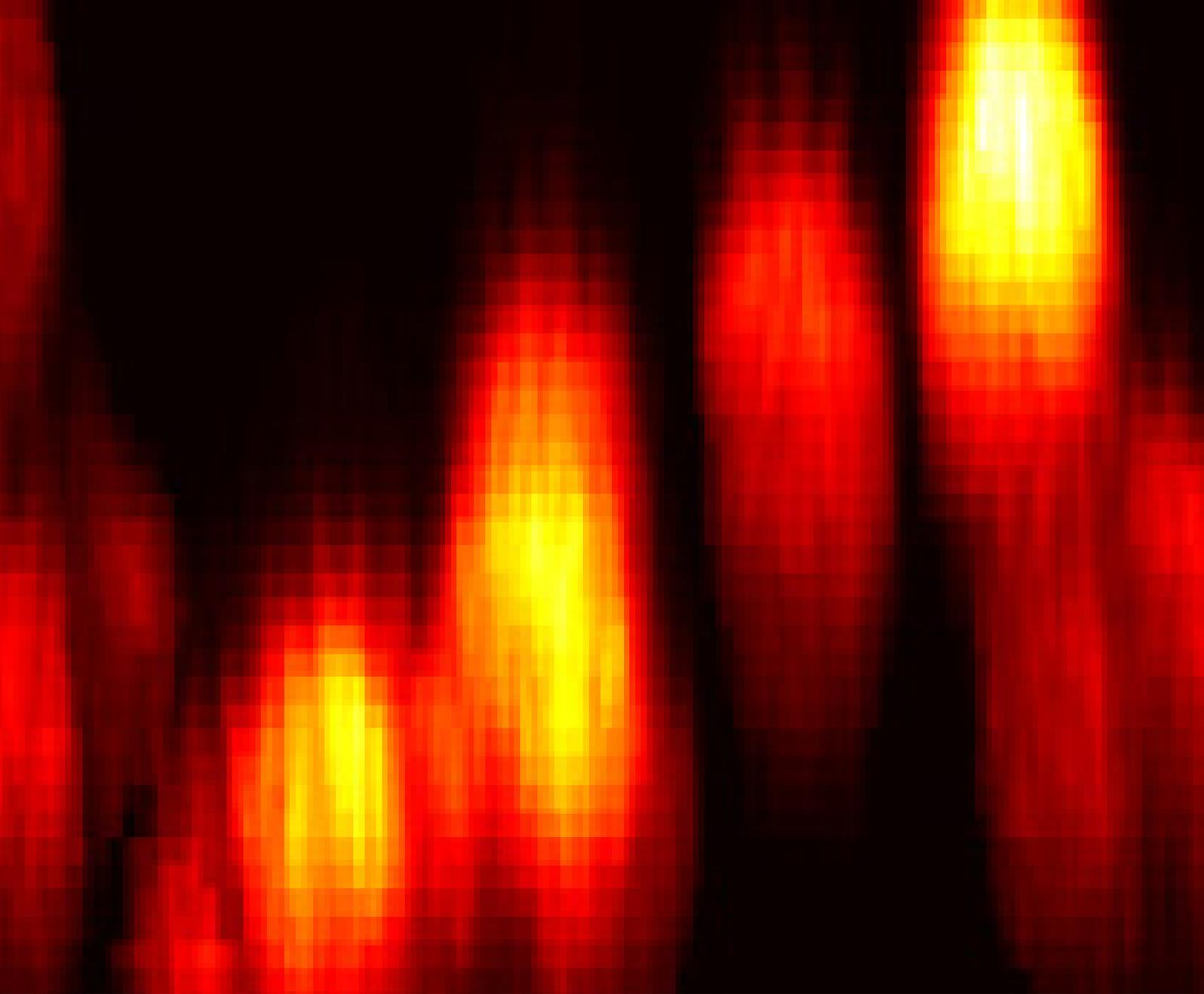


**Michael
Famulok**

Max Planck
Fellow

Chemische
Biologie

Die Hauptaktivitäten der Max-Planck-Fellow-Gruppe Chemische Biologie lassen sich in zwei Interessengebiete unterteilen. Auf der einen Seite nutzen wir chemische Werkzeuge, um analytische Reagenzien zur Verfügung zu stellen und biologische Prozesse im weitesten Sinne zu untersuchen. Diese Werkzeuge reichen von kleinen organischen Molekülen bis hin zu Aptameren auf Nukleinsäurebasis und werden durch chemische Synthese, durch biochemische enzymkatalysierte Synthese oder durch eine Kombination aus beidem gewonnen. Andererseits verwenden wir chemische Werkzeuge, um nukleinsäurebasierte Nanoarchitekturen und Nanomaschinen sowie biohybride Nanomotoren zu konstruieren. Ein besonderer Schwerpunkt liegt darauf, diese Nanobauteile so zu gestalten, dass ihre Eigenschaften und Funktionen durch Licht gesteuert werden können.



Tomografie für die Fluoreszenzbildgebung

Von Johannes Seelig, Neuronale Schaltkreise

Viele biologische Systeme, wie beispielsweise neuronale Schaltkreise im Gehirn, zeigen eine Dynamik, die über ein Volumen verteilt ist. Wir haben ein lichtmikroskopisches Verfahren entwickelt, das auf eine schnelle Bildgebung von volumetrischen Proben abzielt.

Neuronen und neuronale Schaltkreise im Gehirn sind dreidimensional verteilt. Laserscanning-Mikroskope, die zur Untersuchung der Dynamik solcher Schaltkreise verwendet werden, bilden jedoch in aller Regel nur eine einzelne Fokusebene ab. Dieser Ansatz liefert zwar hochauflösende, beugungsbegrenzte Bilder, schränkt aber andererseits die Geschwindigkeit ein, mit der die Aktivität von mehreren Neuronen aufgezeichnet werden kann, welche in verschiedenen Fokusebenen verteilt sind. Um die neuronale Aktivität aus Volumen aufzunehmen, muss die Fokusebene des Mikroskops nacheinander in verschiedene Positionen bewegt werden, was die Aufzeichnungsgeschwindigkeit einschränkt. Eine weitere Einschränkung der Bildgebungsgeschwindigkeit ergibt sich aus der Anforderung, in jedem Pixel ein ausreichendes Signal zu erfassen, d.h. eine ausreichende Anzahl von Fluoreszenz-Photonen in jedes gescannte Pixel zu integrieren, um ein Bild zu erzeugen.

Bildgebung mit erweiterten Fokussierpunkten

Um den durch die Pixel-Integrationszeit vorgegebenen Grenzwert zu überwinden, wurden verschiedene Strategien entwickelt, um parallel von mehreren Pixeln gleichzeitig aufzunehmen. Eine Möglichkeit, eine solche Parallelisierung zu erreichen, besteht darin, dass anstelle eines einzigen Fokuspunktes für die Fluoreszenzanregung ausgedehnte Fokuslinien, so genannte Bessel-Strahlen, verwendet werden. Man kann sich dies so vorstellen, dass man ein Bild mit vielen dicht übereinander gestapelten Brennpunkten macht; da in dieser Situation auch Licht aus dieser gesamten Brennlinie gleichzeitig erfasst wird, wird das Signal entlang der Richtung des Bessel-Strahls summiert und führt zu einer Projektion des gesamten beleuchteten Volumens ohne axiale Auflösung. Dieser Ansatz eignet sich daher am besten für Proben, nur einen kleinen Teil des aufgenommenen Volumens ausfüllen, um

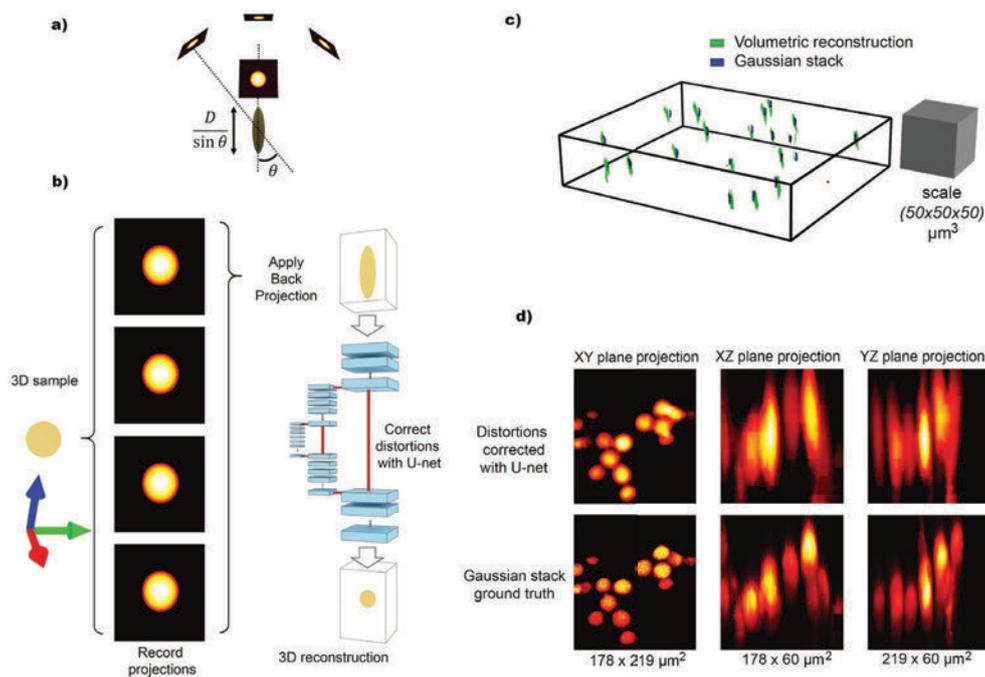


Abbildung 1. a) Vier verschiedene Projektionen werden durch das Scannen von vier geeigneten Bessel-Strahlen erzeugt. Der Neigungswinkel des Bessel-Strahls führt zu einer Verzerrung eines kugelförmigen Objekts mit dem Durchmesser D .
 b) Es werden künstliche neuronale Netze verwendet, um diese Verzerrung teilweise umzukehren.
 c) Bei kleinen Objekten, wie z.B. kleinen fluoreszierenden Kügelchen, kann die axiale Auflösung mit Hilfe von Standardtomographieverfahren, die für die Bessel-Strahlabtastung geeignet sind, wiederhergestellt werden.
 d) Bei größeren Objekten, wie z.B. Pollenkörnern, können axiale Informationen durch eine Kombination aus Standardtomographieverfahren und künstliche neuronalen Netzen wiederhergestellt werden.

die Überlappung von Objekten in verschiedenen Ebenen des projizierten Bildes zu begrenzen.

Tomografische Bildgebung

Um dennoch auch axiale Informationen aus der Bessel-Strahlabbildung zu erhalten, können geneigte Bessel-Strahlen genutzt werden. Mit zwei Bessel-Strahlen, die in leicht unterschiedliche Richtungen zeigen, können zwei Ansichten in unterschiedlichen Winkeln aufgenommen werden [1]. Generell bildet die Aufzeichnung von Projektionen unter verschiedenen Blickwinkeln die Grundlage der Tomographie, wie zum Beispiel die Röntgen-Computertomographie (CT). In diesem Fall werden viele Projektionen aus verschiedenen Richtungen aufgezeichnet, und unter Ausnutzung der bekannten Bildgeometrie ermöglicht die Umkehrung dieser Projektionen die Rekonstruktion von Volumeninformationen.

Wird dieser Tomographieansatz auf die Fluoreszenzmikroskopie mit Proben übertragen, die nur von einer Seite zugänglich sind, wie es bei der Bildgebung im Gehirn *in vivo* die Regel ist, stellen sich mehrere Herausforderungen: Der mit einem Bessel-Strahl durch ein Mikroskopobjektiv erreichbare Winkelbereich und damit die Anzahl der verschiedenen Projektionen, die aufgenommen werden können, sind sehr begrenzt. Darüber hinaus müssen die Projektionen aufgrund der schnellen Dynamik der Proben nahezu gleichzeitig und nicht sequentiell aufgezeichnet werden.

Um das letztgenannte Problem zu lösen, haben wir ein Verfahren eingesetzt, mit dem das Fluoreszenzsignal mit dem entsprechenden Anregungslaserimpuls verknüpft werden kann [2]. Auf diese Weise können mehrere Strahlen mit jeweils einer bestimmten zeitlichen Verzögerung verwendet werden, um gleichzeitig unabhängige Projektionen aufzunehmen. Mit diesem Ansatz zeichnen wir gleichzeitig vier Projektionen von vier verschiedenen Seiten auf (siehe Abb. 1a), um einen Großteil der unter Beleuchtung verfügbaren Informationen bei den gegebenen kleinen Projektionswinkeln zu extrahieren [3].

Volumenrekonstruktion durch maschinelles Lernen

Das erste oben genannte Problem, der begrenzte Winkelbereich, der mit Bessel-Strahlen zugänglich ist, begrenzt die axiale Auflösung unseres Abbildungsansatzes für ausgedehnte Objekte, wenn diese mit herkömmlichen Tomographietechniken rekonstruiert werden. Um diesen

Effekt abzuschwächen, haben wir das maschinelle Lernen genutzt, das sich in anderen bildgebenden Verfahren für die tomographische Bildrekonstruktion mit flachen Projektionswinkeln gut bewährt hat [4]. Das maschinelle Lernen für die Bildrekonstruktion in der Mikroskopie nutzt typischerweise große Datensätze von Paaren von Bildern derselben Probe. Das Training von Modellen künstlicher neuronaler Netze auf einem solchen Datensatz ermöglicht es dann, hochaufgelöste Bilder aus bisher unbekannt Bildern mit niedriger Auflösung abzuleiten. Für unsere Anwendung haben wir eine große Zahl von Probenvolumina simuliert, die denen ähneln, die wir in Experimenten aufgenommen haben, und haben auch die entsprechenden tomographisch rekonstruierten Volumina basierend auf der gemessenen Abbildungskonfiguration simuliert. Diese Art der Bildrekonstruktion führte in der Tat zur (Abb. 1b) Wiederherstellung der axialen Auflösung für ausgedehnte Objekte, wie z.B. den in Abbildung 1d dargestellten Pollenkörnern.

Bildgebung bei sich verhaltenden Tieren

Wir planen, diese Methode zum Messen der neuronalen Aktivität im Gehirn von Fruchtfliegen einzusetzen, die in einer Virtual-Reality-Umgebung navigieren. In dieser Situation läuft die Fliege auf einem frei rotierenden Ball, der als Laufband dient. Die Laufbandbewegung wird typischerweise mit optischen Mäusen ausgelesen; diese optischen Mäuse müssen jedoch sorgfältig kalibriert werden, was besonders bei kleinen Bällen wie dem für Verhaltensexperimente eingesetzten Ball schwierig ist. Deshalb haben wir ein System zur Ballverfolgung auf Basis einer hochauflösenden Kamera entwickelt, das die volle Kontrolle über die Bildgebungs- und Bildverarbeitungsparameter ermöglicht [5]. Die Ballverfolgung ist in ein Open-Source-Virtual-Reality-System integriert, das es uns ermöglicht, beliebige virtuelle Umgebungen mit einer kurzen Latenzzeit von 30 ms von der Bewegungsinitiierung bis zur Aktualisierung der projizierten virtuellen Realität darzustellen. Wir setzen diese Techniken nun dazu ein, um neuronale Schaltkreise zu untersuchen, die dem Navigationsverhalten von Fliegen zugrunde liegen.

Quellenangaben

1. Thériault, G., Cottet, M., Castonguay, A., McCarthy, N., and De Koninck, Y. (2014). Extended two-photon microscopy in live samples with Bessel beams: steadier focus, faster volume scans, and simpler stereoscopic imaging. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 139.
2. Amir, W., Carriles, R., Hoover, E. E., Planchon, T. A., Durfee, C. G., and Squier, J. A. (2007). Simultaneous imaging of multiple focal planes using a two-photon scanning microscope. *Opt. Lett.* 32, 1731-1733.
3. Valle, A.F. and Seelig, J.D., (2019). Two-photon Bessel beam tomography for fast volume imaging. *Optics express*, 27(9), 12147-12162.
4. Goy, A. , Roghoobur, G., Li, S., Arthur, K., Akinwande, A. I. and Barbastathis, G. (2018). High-resolution limited-angle phase tomography of dense layered objects using deep neural networks. *Proc Natl Acad Sci USA*; 116(40):19848-19856.
5. Vishniakou, I., Plöger, P. G., and Seelig, J. D. (2019) Virtual reality for animal navigation with camera-based optical flow tracking. *J Neurosci Methods*. 327:108403.



MAX-PLANCK- FORSCHUNGSGRUPPE

NEURONALE SCHALTKREISE



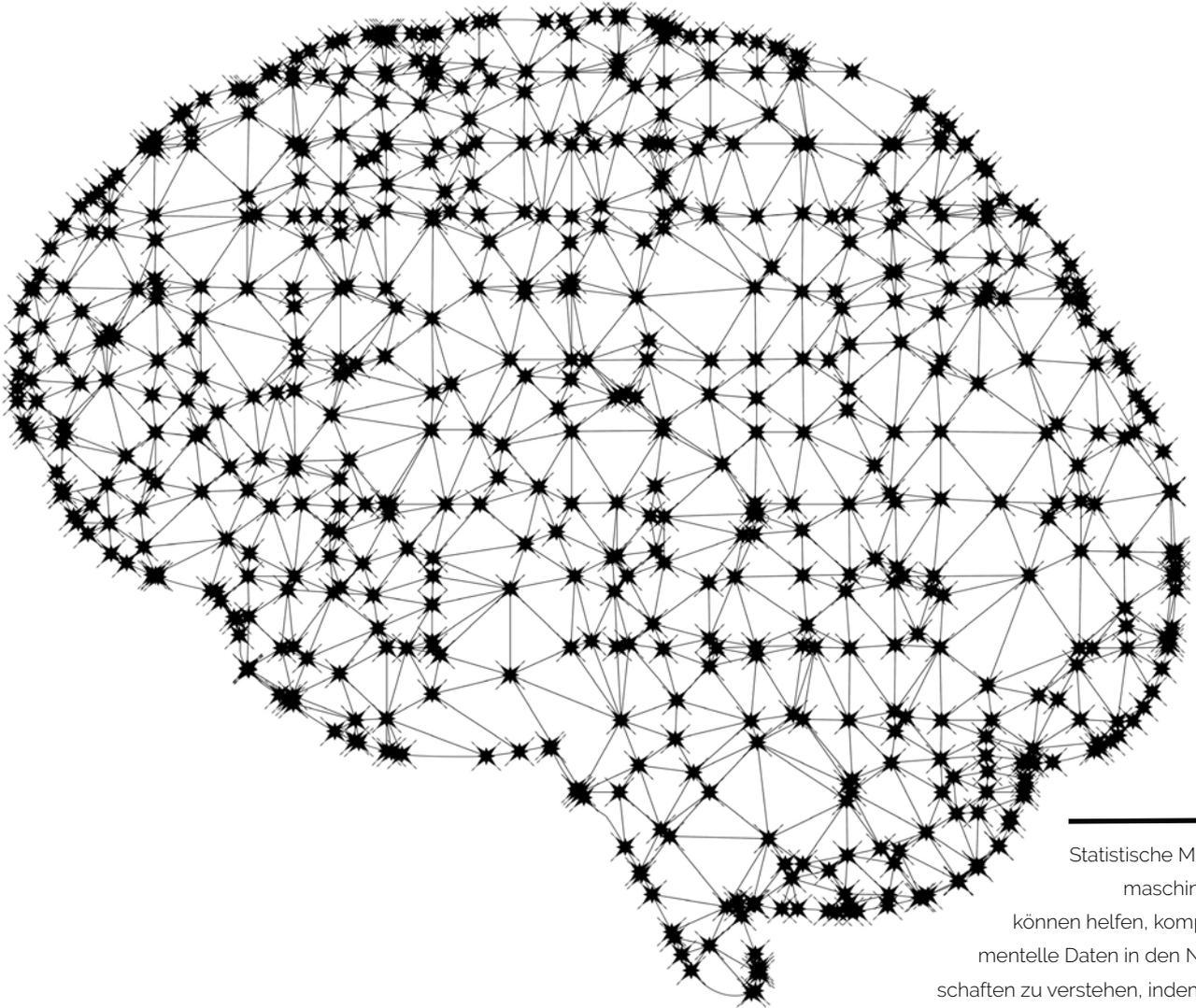
**Johannes
Seelig**

Gruppenleiter

Neuronale
Schaltkreise

Wir verwenden optische Mikroskopietechniken, wie die Zwei-Photonen-Kalzium-Bildgebung um zu verstehen, wie sich neuronale Netzwerke im Gehirn von einzelnen Synapsen zu ganzen Schaltkreisen verändern, und wie diese Veränderungen mit dem Verhalten in Beziehung stehen. Für unsere Forschung verwenden wir den Modellorganismus *Drosophila melanogaster*, in dem neuronale Netzwerke, auf denen adaptives Verhalten beruht, untersucht werden können. Wir interpretieren unsere Experimente mit Hilfe von rechnergestützten Modellen. Molekulare, strukturelle und funktionelle Ähnlichkeiten zwischen neuronalen Schaltkreisen bei verschiedenen Arten weisen darauf hin, dass im Fliegenhirn gewonnene Erkenntnisse auch zu unserem Verständnis des Säugetiergehirns beitragen werden.

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.



Statistische Methoden und maschinelles Lernen können helfen, komplexe experimentelle Daten in den Neurowissenschaften zu verstehen, indem sie mechanistische Modelle der neuronalen Dynamik mit experimentellen Beobachtungen verbinden.

Statistische Inferenz mechanistischer Modelle der neuronalen Dynamik

Von Pedro Goncalves und Jakob Macke, Neuronale Systemanalyse

Wie können wir aus den 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 neuronaler Dynamik und Berechnung zu setzen.

Einleitung

Fortschritte in experimentellen Techniken ermöglichen es, die Aktivität vieler Neuronen 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. Ein Mangel an solchen maschinellen Lernansätzen ist jedoch die Tatsache, dass sie in aller Regel auf generischen und sehr komplexen Modellen aufbauen, die mitunter schwer zu interpretieren sind. Wie können die Stärken der klassischen, 'mechanistischen' Modellierung in den Neurowissenschaften mit diesen datengesteuerten maschinellen Lernansätzen kombiniert werden? Wir berichten hier über zwei zentrale Fragen, mit denen wir uns in Zusammenarbeit mit den Versuchslaboren befassen: Erstens: Wie können wir Modelle neuronaler Dynamik mit elektrophysiologischen Aufzeichnungen und Daten aus der Bildgebung verbinden [1, 2, 3]? Zweitens: Wie können wir aktuelle Ansätze für die statistische Inferenz auf große Anwendungen skalieren [4]?

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: Insbesondere haben wir eine Methode für statistische Inferenz bei simulationsbasierten Modellen entwickelt, die als Blackbox auf eine große Bandbreite von neurowissenschaftlichen Modellen angewendet werden kann [1]. 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). 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 neurowissenschaftlichen Problemen anwenden, von der Funktion einzelner Kanäle, über die Dynamik von Neuronenpopulationen und die Berechnungen des zugrunde liegenden Verhaltens: an all diesen Anwendungen arbeiten wir derzeit zusammen mit einer Vielzahl von Versuchslabors. Wir erweitern derzeit unsere Methodik der statistischen Inferenz in mechanistischen Modellen, um Ansätze zur Modellemulation [2] und zum Modellvergleich [5].

Wie können wir die statistische Inferenz auf große Anwendungen skalieren?

Wenn bei herkömmlichen statistischen Inferenzansätzen die Inferenz für bestimmte Messdaten durchgeführt wurde, erfordern neue Messdaten ein komplett neues Inferenzverfahren (Abb. 2A). Dieser Prozess ist in der Regel rechnerisch aufwendig und schränkt die Verwendung statistischer Inferenz in zeitkritischen und durchsatzintensiven Umgebungen ein, z.B. wenn große Repositorien von Messdaten verfügbar sind und es wünschenswert wäre, das gleiche Modell an eine große Anzahl von Datensätzen anzupassen.

Unser Ansatz kann auf natürliche Weise an solche Anwendungen angepasst werden. Anstatt wie im klassischen Szenario ein Netzwerk pro einzelner Messdaten zu trainieren, wird ein großes Netzwerk auf einen großen Datensatz von Simulationen trainiert, die nicht auf bestimmte Messdaten abgestimmt sind (Abb. 2B). Angesichts der Netzwerkgröße und der großen Anzahl von Simulationen ist das Netzwerktraining langsam. Sobald das Netzwerk jedoch trainiert ist, kann die Inferenz schnell mit neuen Messdaten durchgeführt werden, die aus einer direkten Überprüfung der Ausgangsverteilung des Netzwerks anhand der eingegebenen Messdaten bestehen. In einem solchen Szenario amortisiert sich die Inferenz - wir nutzen die Erfahrung aus früheren Inferenz-Aufgaben, um neue schnell zu lösen.

Wir zeigen eine groß angelegte, vollautomatische Anwendung der amortisierten Inferenz im Kontext von Ionen-

kanalmodellen, die für eine realistische biophysikalische Modellierung in den Neurowissenschaften von zentraler Bedeutung sind. Angesichts der Vielzahl der vorliegenden Reaktionen eines Satzes von 370 nicht inaktivierenden Kaliumkanalmodellen aus der Datenbank IonChannelGenealogy (ICG) [6] führen wir die Inferenz einer allgemeinen Formel eines nicht inaktivierenden Kaliumkanalmodells (das „Omnimodell“) durch (Abb. 2C).

Zu diesem Zweck simulieren wir die Stromreaktionen des Omnimodells auf Spannungsklemmenprotokolle für eine Vielzahl von Omnimodellparametern. Mit diesen Daten wird dann ein gemeinsam genutztes Inferenznetzwerk trainiert. Nach dem Training ermöglicht unser Ansatz die Inspektion und Probenahme von posterioren Verteilungen mit originalen ICG-Stromantworten (Abb. 2D-F).

Um unseren Ansatz zu validieren, untersuchen wir die posterioren Omnimodell-Verteilungen anhand der ursprünglichen aktuellen Reaktionen aus dem großen und vielfältigen Satz von Ionenkanalmodellen von ICG. Die hohe Ähnlichkeit zwischen den ursprünglichen Modellreaktionen und den Omnimodellreaktionen in den jeweiligen posterioren Modi veranschaulicht den Erfolg des Ansatzes: Die niedrigste Korrelation zwischen beiden Re-

aktionen ist 0,91 (Kanal 86537_kdr in Abb. 2G), und für 94% der Kanäle sind die Korrelationskoeffizienten größer als 0,98.

Der Ansatz wird es Neurowissenschaftler*innen ermöglichen, skalierbare statistische Inferenzen an groß angelegten Datensätzen und komplexen Modellen durchzuführen, ohne modellspezifische Algorithmen entwerfen zu müssen, wodurch die Lücke zwischen mechanistischen und statistischen Ansätzen zur neuronalen Dynamik geschlossen wird.

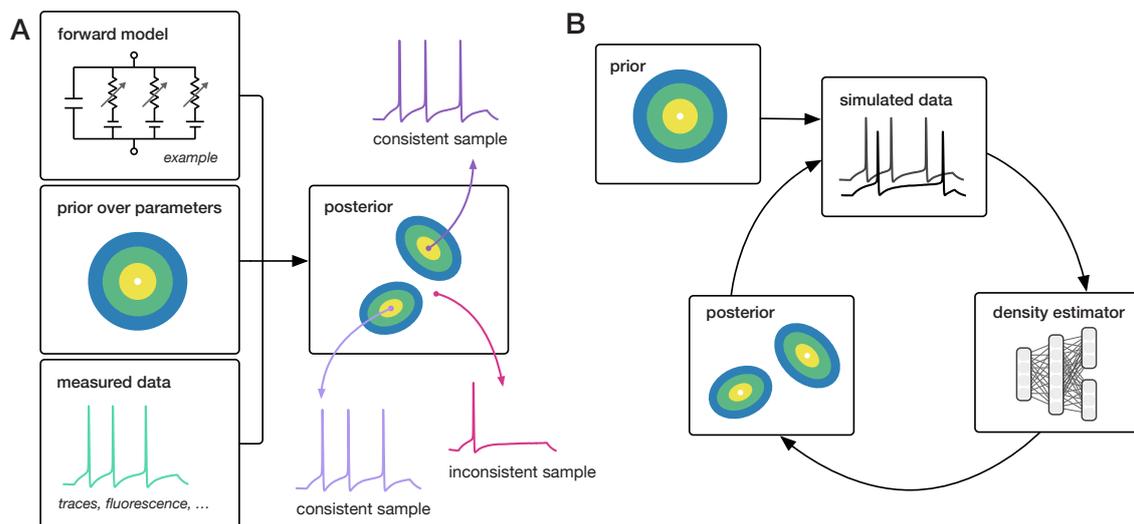


Abbildung 1. Verknüpfung mechanistischer Modelle mit experimentellen Daten durch simulationsbasierte statistische Inferenz. (A) Angesichts eines Kandidatenmodells zur Erklärung der Daten, des Vorwissens über die Modellparameter und der beobachteten Daten wollen wir den gesamten Raum der mit den Daten konsistenten Parameter wiederherstellen, d.h. die posteriore Verteilung. Je höher die Wahrscheinlichkeit der Parameter, desto näher liegt die Ausgabe des Modells an den Messdaten. (B) Unser Verfahren besteht darin, ein neuronales Netzwerk zu verwenden, um Inferenzen auf simulierte Daten durchzuführen. Der Ansatz erfolgt sequentiell bis zur Konvergenz.

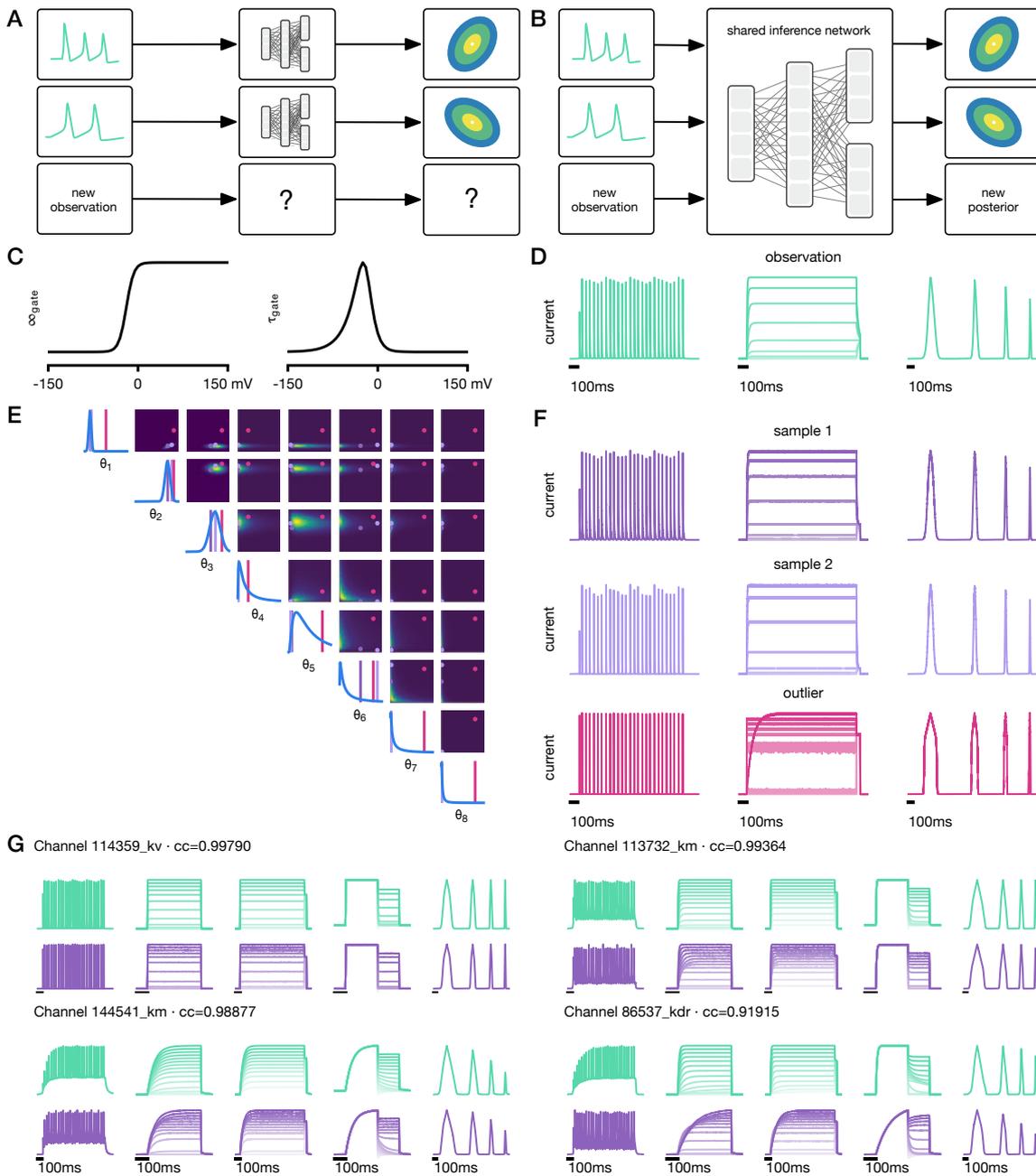


Abbildung 2. Inferenz von Ionenkanalmodellen.

(A) Klassischer Ansatz: Inferenznetzwerk für jede Beobachtung.

(B) Amortisierte Inferenz: gemeinsam genutztes Netzwerk.

(C) Wir führen Inferenz über Kanalmodellparameter durch. Die Kanalkinetik wird durch stationäre Aktivierungskurven, ∞_{gate} und zeitkonstante Kurven τ_{gate} beschrieben.

(D) Reaktionen eines Kanals auf drei Spannungsklemmenprotokolle.

(E) Posteriore Verteilung über acht Modellparameter 1 bis 8.

(F) Spuren, die durch Zeichen aus der posterioren Verteilung in E gewonnen wurden. Lila Spuren sind Proben aus dem posterioren Bereich. Die rosa Spuren entsprechen Parametern mit geringer Wahrscheinlichkeit.

(G) Beobachtungen (blaugrün) und Spuren, die durch posteriore Proben (lila) erzeugt wurden, werden für vier Modelle aus der ICG-Datenbank dargestellt.

Quellenangaben

1. Lueckmann J., Gonçalves P. J., Bassetto G., Öcal K., Nonnenmacher M., Macke J. H. (2017). Flexible statistical inference for mechanistic models of neural dynamics. *Advances in Neural Information Processing Systems* 30, 1289–1299.
2. Lueckmann, J.-M., Bassetto, G., Karaletsos, T., Macke, J. H. (2018). Likelihood-free inference with emulator networks. *Symposium on Advances in Approximate Bayesian Inference*.
3. Greenberg, D. S., Nonnenmacher, M., Macke, H. H. (2019). Automatic Posterior Transformation for Likelihood Free Inference, *International Conference on Machine Learning*, Long Beach, accepted.
4. Lueckmann, J.-M., Gonçalves, P. J., Chintaluri, C., Podlaski, W. F., Bassetto, G., Vogels, T. P., Macke, J. H. (2019). Amortised inference for mechanistic models of neural dynamics. *Computational and Systems Neuroscience Meeting (COSYNE)*, Lisbon, Portugal.
5. Boelts, J., Lueckmann, J.-M., Gonçalves, P. J., Sprekeler, H., Macke, J. H. (2018). Model selection via neural density estimation. *Conference in Cognitive Computing*, Herhausen, Hannover.
6. Podlaski, W.F., Seeholzer, A., Groschner, L.N., Miesenbock, G., Ranjan, R., and Vogels, T.P. (2017). Mapping the function of neuronal ion channels in model and experiment. *eLife* 6:e22152.



MAX-PLANCK- FORSCHUNGSGRUPPE NEURONALE SYSTEMANALYSE



**Jakob
Macke**

Gruppenleiter

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 computergestützte Werkzeuge zur Interpretation neuronaler und verhaltensbezogener Daten. Unser Ziel besteht in der Erstellung von Werkzeugen, 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 Versuchsgruppen bei caesar Bonn und aus anderen Forschungseinrichtungen zusammen.

PUBLIKATIONEN

Mit caesar assoziierte Veröffentlichungen im Jahr 2018

Adam, V., Prusty, D.K., Centola, M., Skugor, M., Hannam, J.S., Valero, J., Kloeckner, B., and Famulok, M. (2018). Expanding the Toolbox of Photoswitches for DNA Nanotechnology Using Arylazopyrazoles. *Chem. Eur. J.* 24, 1062-1066.

Bae, J.A., Mu, S., Kim, J.S., Turner, N.L., Tartavull, I., Kemnitz, N., Jordan, C.S., Norton, A.D., Silversmith, W.M., Prentki, R., Sorek, M., David, C., Jones, D.L., Bland, D., Sterling, A.L.R., Park J., Briggman K.L., Seung, H.S., Eyewirers (2018). Digital Museum of Retinal Ganglion Cells with Dense Anatomy and Physiology. *Cell* 173, 1293-1306 e19.

Balaji, V., Kaniyappan, S., Mandelkow, E., Wang, Y., and Mandelkow, E.-M. (2018). Pathological missorting of endogenous MAPT/Tau in neurons caused by failure of protein degradation systems. *Autophagy* 14, 2139-2154.

Balbach, M., Beckert, V., Hansen, J.N., and Wachten, D. (2018). Shedding light on the role of cAMP in mammalian sperm physiology. *Mol Cell Endocrinol* 468, 111-120.

Bassetto, G., Macke, J.H., Lueckmann, J.-M., and Karaletsos, T. (2018). Likelihood-free inference with emulator networks. *arXiv:1805.09294*

Benezra, S.E., Narayanan, R.T., Egger, R., Oberlaender, M., and Long, M.A. (2018b). Morphological characterization of HVC projection neurons in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J. Comp. Neurol.* 526, 1673-1689.

Berens, P., Freeman, J., Deneux, T., Chenkov, N., McColgan, T., Speiser, A., Macke, J.H., Turaga, S.C., Mineault, P., Rupprecht, P., et al. (2018). Community-based benchmarking improves spike rate inference from two-photon calcium imaging data. *PLoS Comput. Biol.* 14, e1006157.

Bernal Sierra, Y.A., Rost, B.R., Pofahl, M., Fernandes, A.M., Kopton, R.A., Moser, S., Holtkamp, D., Masala, N., Beed, P., Tukker, J.J., Oldani, S., Bönigk, W., Kohl, P., Baier, H., Schneider-Warme, F., Hegemann, P., Beck, H., Seifert, R., Schmitz, D. (2018). Potassium channel-based optogenetic silencing. *Nat. Commun.* 9, 4611.

Brenker, C., Rehfeld, A., Schiffer, C., Kierzek, M., Kaupp, U.B., Skakkebaek, N.E., and Struenker, T. (2018a). Synergistic activation of CatSper Ca²⁺ channels in human sperm by oviductal ligands and endocrine disrupting chemicals. *Hum. Reprod.* 33, 1915-1923.

Brenker, C., Schiffer, C., Wagner, I.V., Tüttelmann, F., Röpke, A., Rennhack, A., Kaupp, U.B., and Strünker, T. (2018b). Action of steroids and plant triterpenoids on CatSper Ca²⁺ channels in human sperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115, E344-E346.

Caballero, B., Wang, Y., Diaz, A., Tasset, I., Juste, Y.R., Stiller, B., Mandelkow, E., Cuervo, A.M., and Mandelkow, E.M. (2018). Interplay of pathogenic forms of human tau with different autophagic pathways. *Aging Cell* 17, e12692.

Choudhary, B., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., and Pir, G.J. (2018). Glutamatergic nervous system degeneration in a C-elegans Tau(A152T) tauopathy model involves pathways of excitotoxicity and Ca²⁺ dysregulation. *Neurobiol. Dis.* 117, 189-202.

Djordjevic, V., Ansuini, A., Bertolini, D., Macke, J.H., and Zoccolan, D. (2018). Accuracy of Rats in Discriminating Visual Objects Is Explained by the Complexity of Their Perceptual Strategy. *Curr. Biol.* 28, 1005-1015.

Domenyuk, V., Gatalica, Z., Santhanam, R., Wei, X., Stark, A., Kennedy, P., Toussaint, B., Levenberg, S., Wang, J., Xiao, N., et al. (2018). Poly-ligand profiling differentiates trastuzumab-treated breast cancer patients according to their outcomes. *Nat. Commun.* 9, 1219.

Eftekhazadeh, B., Daigle, J.G., Kapinos, L.E., Coyne, A., Schiantarelli, J., Carlomagno, Y., Cook, C., Miller, S.J., Dujardin, S., Amaral, A.S., Grima, J., Bennett, R.E., Tepper, K., DeTure, M., Vanderburg, C.R., Corjuc, B.T., DeVos, S.L., Gonzalez, J.A., Chew, J., Videnyky, S., Gage, F.H., Mertens, J., Troncoso, J., Mandelkow, E., Salvatella, X., Lim, R.Y.H., Petrucelli, L., Wegmann, S., Rothstein, J.D., Hyman, B.T. (2018). Tau Protein Disrupts Nucleocytoplasmic Transport in Alzheimer's Disease. *Neuron* 99, 925-940 E7.

Faivre, E., Coelho, J.E., Zornbach, K., Malik, E., Baqi, Y., Schneider, M., Cellai, L., Carvalho, K., Sebda, S., Figeac, M., Eddarkaoui, S., Caillierez, R., Chern, Y., Heneka, M., Sergeant, N., Müller, C.E., Halle, A., Buée, L., Lopes, L.V., Blum, D. (2018). Beneficial Effect of a Selective Adenosine A(2A) Receptor Antagonist in the APP^{swE}/PS1dEg Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Front Mol Neurosci* 11, 235.

Fuelle, L., Offermann, N., Hansen, J.N., Breithausen, B., Erazo, A.B., Schanz, O., Radau, L., Gondorf, F., Knoepper, K., Alferink, J., Abdullah, Z., Neumann, H., Weighardt, H., Henneberger, C., Halle, A., Förster, I. (2018). CCL17 exerts a neuroimmune modulatory function and is expressed in hippocampal neurons. *Glia* 66, 2246-2261.

Graydon, C.W., Lieberman, E.E., Rho, N., Briggman, K.L., Singer, J.H., and Diamond, J.S. (2018). Synaptic Transfer between Rod and Cone Pathways Mediated by All Amacrine Cells in the Mouse Retina. *Curr. Biol.* 28, 2739-2751 e3.

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.

Haydell, M.W., Centola, M., Adam, V., Valero, J., and Famulok, M. (2018). Temporal and Reversible Control of a DNAzyme by Orthogonal Photoswitching. *J. Am. Chem. Soc.* 140, 16868-16872.

Kadavath, H., Fontela, Y.C., Jaremko, M., Jaremko, L., Overkamp, K., Biernat, J., Mandelkow, E., and Zweckstetter, M. (2018). The Binding Mode of a Tau Peptide with Tubulin. *Angewandte Chemie, International Edition* 57, 3246-3250.

Kaniyappan, S., Chandupatla, R.R., and Mandelkow, E. (2018). Purification and Characterization of Low-n Tau Oligomers. In *Amyloid Proteins: Methods and Protocols*, E.M. Sigurdsson, M. Calero, and M. Gasset, eds. (New York, NY: Springer New York), pp. 99-111.

Kerzhner, M., Matsuoka, H., Wuebben, C., Famulok, M., and Schiemann, O. (2018). High-Yield Spin Labeling of Long RNAs for Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Biochemistry* 57, 2923-2931.

Kiss, R., Csizmadia, G., Solti, K., Keresztes, A., Zhu, M., Pickhardt, M., Mandelkow, E., and Toth, G. (2018). Structural Basis of Small Molecule Targetability of Monomeric Tau Protein. *ACS Chem Neurosci* 9, 2997-3006.

Ludwig, A.K., De Miroshedji, K., Doeppner, T.R., Boerger, V., Ruesing, J., Rebmann, V., Durst, S., Jansen, S., Bremer, M., Behrmann, E., et al. (2018). Precipitation with polyethylene glycol followed by washing and pelleting by ultracentrifugation enriches extracellular vesicles from tissue culture supernatants in small and large scales. *J Extracell Vesicles* 7, 1528109.

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.

Mari, S.A., Wegmann, S., Tepper, K., Hyman, B.T., Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., and Mueller, D.J. (2018). Reversible Cation-Selective Attachment and Self-Assembly of Human Tau on Supported Brain Lipid Membranes. *Nano Lett.* 18, 3271-3281.

Oroz, J., Chang, B.J., Wysoczanski, P., Lee, C.-T., Perez-Lara, A., Chakraborty, P., Hofele, R.V., Baker, J.D., Blair, L.J., Biernat, J., Urlaub, H., Mandelkow, E., Dickey, C.A., Zweckstetter, M. (2018). Structure and pro-toxic mechanism of the human Hsp90/PPIase/Tau complex. *Nat. Commun.* 9, 4532.

Pichlo, C., Toelzer, C., Chojnacki, K., Oecal, S., Uthoff, M., Ruegenberg, S., Hermanns, T., Schacherl, M., Denzel, M.S., Hofmann, K., et al. (2018). Improved protein-crystal identification by using 2,2,2-trichloroethanol as a fluorescence enhancer. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun* 74, 307-314.

Pir, G.J., Choudhary, B., Kaniyappan, S., Chandupatla, R.R., Mandelkow, E., Mandelkow, E.M., and Wang, Y. (2018). Suppressing Tau Aggregation and Toxicity by an Anti-Aggregant Tau Fragment. *Mol. Neurobiol.*, doi: 10.1007/s12035-018-1326-z. [Epub ahead of print]

Plescher, M., Seifert, G., Bedner, P., Hansen, J.N., Steinhäuser, C., and Halle, A. (2018). Plaques-dependent morphological and electrophysiological heterogeneity of microglia in an Alzheimer's disease mouse model. *Glia* 66, 1464-1480.

Prusty, D.K., Adam, V., Zadeegan, 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.

Qureshi, B.M., Behrmann, E., Schoeneberg, J., Loerke, J., Buerger, J., Mielke, T., Giesebrecht, J., Noe, F., Lamb, T.D., Hofmann, K.P., et al. (2018). It takes two transducins to activate the cGMP-phosphodiesterase 6 in retinal rods. *Open Biol* 8, 180075.

Qureshi, B.M., Schmidt, A., Behrmann, E., Buerger, J., Mielke, T., Spahn, C.M.T., Heck, M., and Scheerer, P. (2018b). Mechanistic insights into the role of prenyl-binding protein PrBP/delta in membrane dissociation of phosphodiesterase 6. *Nat. Commun.* 9, 90.

Remmler, D., Schwaar, T., Pickhardt, M., Donth, C., Mandelkow, E., Weller, M.G., and Boerner, H.G. (2018). On the way to precision formulation additives: 2D-screening to select solubilizers with tailored host and release capabilities. *J Control Release* 285, 96-105.

Rennhack, A., Schiffer, C., Brenker, C., Fridman, D., Nitao, E.T., Cheng, Y.-M., Tamburrino, L., Balbach, M., Stoelting, G., Berger, T.K., et al. (2018). A novel cross-species inhibitor to study the function of CatSper Ca²⁺ channels in sperm. *British Journal of Pharmacology* 175, 3144-3161.

Schmoele, A.-C., Lundt, R., Toporowski, G., Hansen, J.N., Beins, E., Halle, A., and Zimmer, A. (2018). Cannabinoid Receptor 2-Deficiency Ameliorates Disease Symptoms in a Mouse Model with Alzheimer's Disease-Like Pathology. *J. Alzheimers Dis.* 64, 379-392.

Stabio, M.E., Sabbah, S., Quattrochi, L.E., Ilardi, M.C., Fogerson, P.M., Leyrer, M.L., Kim, M.T., Kim, I., Schiel, M., Renna, J.M., Briggman, K.L., and Berson, D.M. (2018). The M5 cell: A color-opponent intrinsically photosensitive retinal ganglion cell. *Neuron* 97, 150-163.

Tabor, K.M., Smith, T.S., Brown, M., Bergeron, S.A., Briggman, K.L., and Burgess, H.A. (2018). Presynaptic Inhibition Selectively Gates Auditory Transmission to the Brainstem Startle Circuit. *Curr. Biol.* 28, 2527-2535 e8.

Turpin, A., Vishniakou, I., and Seelig, J.D. (2018). Light scattering control in transmission and reflection with neural networks. *Opt. Express* 26, 30911-30929.

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.

Wegmann, S., Eftekharzadeh, B., Tepper, K., Zoltowska, K.M., Bennett, R.E., Dujardin, S., Laskowski, P.R., MacKenzie, D., Kamath, T., Commins, C., et al. (2018). Tau protein liquid-liquid phase separation can initiate tau aggregation. *EMBO J.* 37, e98049.

Windler, F., Bönigk, W., Körschen, H.G., Grahn, E., Strünker, T., Seifert, R., and 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.

Yin, D.M., Hammler, D., Peter, M.F., Marx, A., Schmitz, A., and Hagelueken, G. (2018). Inhibitor-directed spin labelling – a high precision and minimally invasive technique to study the conformation of proteins in solution. *Chem. Eur. J.* 24, 6665-6671.

Dissertationen

Tan, Z. (2018). Supramolecular Structure of Visual Pigments in Chicken Photoreceptors, Dissertation: Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität zu Köln.

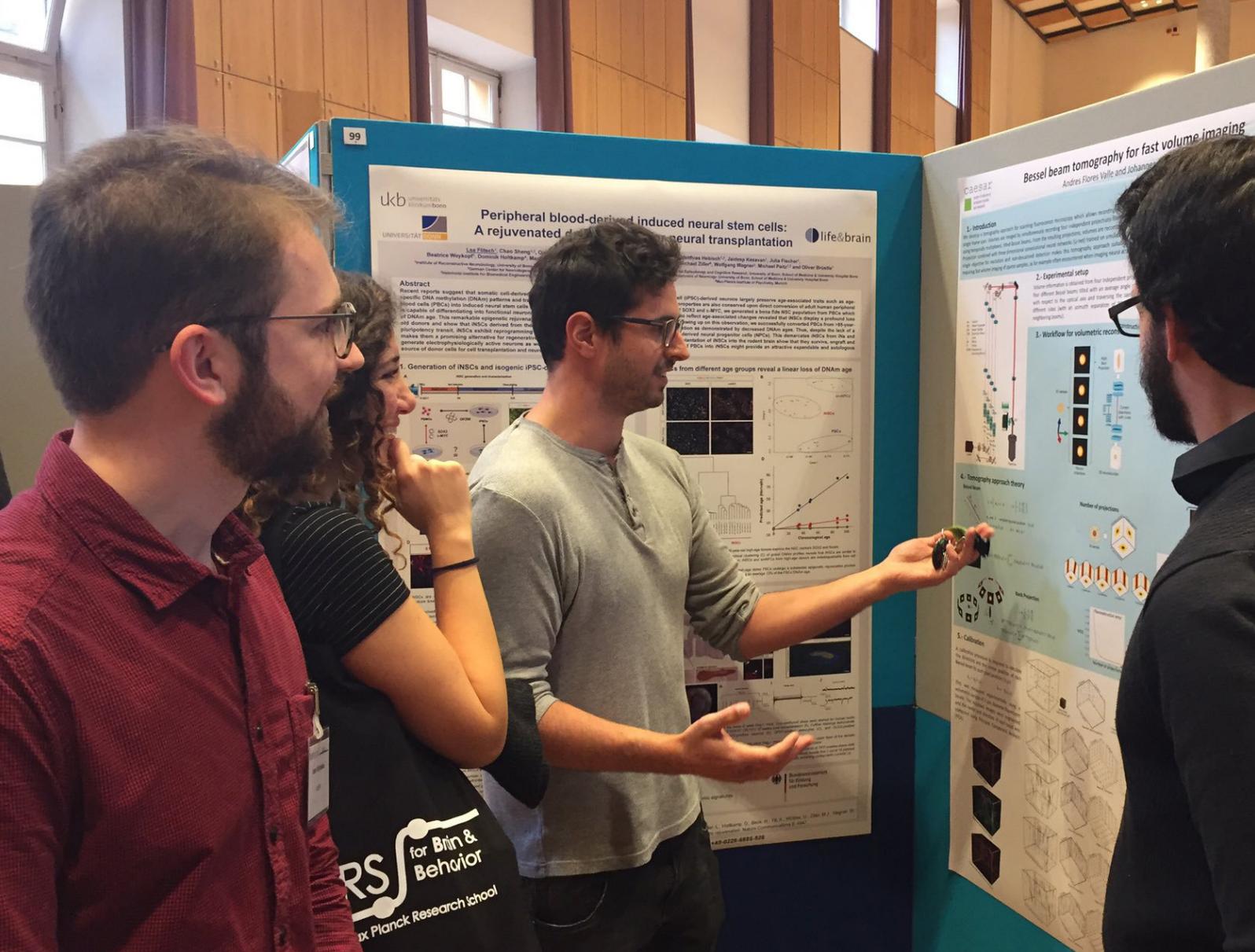
Windler, F. (2018). Funktionelle Charakterisierung eines spermienspezifischen Na⁺/H⁺ Austauschers, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Woeste, M.A. (2018). The role of GBA2 in controlling locomotor activity, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Yin, D. (2018). Biophysical studies of EGFR conformation and interaction, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Dokani Khesroshahi, N. (2018). pH-gradient sensing in the voltage-gated proton channel Hv1, Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

EINBLICKE IN CAESAR



Neues aus der IMPRS for Brain and Behavior

Von Ezgi Bulca, IMPRS Koordinatorin

Die International Max Planck Research School (IMPRS) for Brain and Behavior hat 2018 ihr drittes 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.

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).

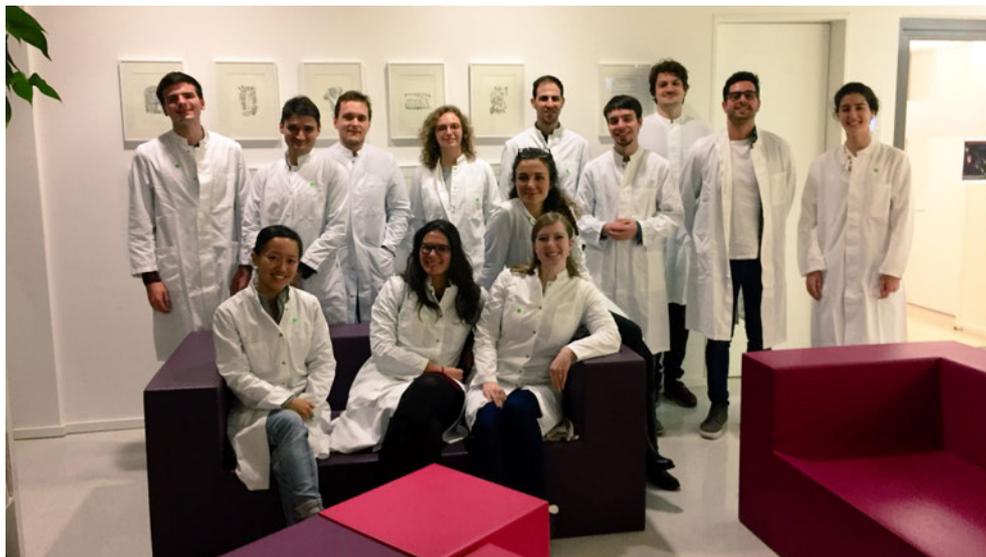
Das Programm wird in erster Linie durch die IMPRS-Förderung der Max-Planck-Gesellschaft finanziert. Weitere Unterstützung für Positionen für Studierende sowie Forschungs- und Betriebskosten kommt von den beteiligten Einrichtungen. Weiterhin werden im Rahmen des Programms Stipendien für einzelne Forscher vergeben. Die Koordinationsbüros der Schule befinden sich bei caesar in Bonn und bei dem MPFI in Florida.

Im Jahr 2018 wurden bei caesar und am MPFI neue IMPRS-Koordinator*innen eingestellt, um scheidende Koordinator*innen zu ersetzen. Ezgi Bulca ist die neue IMPRS-Koordinatorin bei caesar, die Erfahrung aus dem IMPRS for Translational Psychiatry Coordination Office in München mitbringt, Dr. Paul Evans ist der neue IMPRS-Koordinator am MPFI, der Erfahrung aus dem Abschluss seiner Post-Doc-Ausbildung im Ryohei Yasudas Labor mitbringt.

Im Jahr 2018 wurden 7 neue Doktorand*innen aufgenommen, von denen 3 bei caesar eingesetzt werden. Unsere neuen Studierenden kommen aus 5 Ländern: 1 aus Italien, 1 aus China, 1 aus Israel, 1 aus Spanien und 3 aus Deutschland. Insgesamt haben wir in unserer IMPRS 24 Studierende aus 14 verschiedenen Ländern: 13 Männer, 11 Frauen. Die Aufnahme erfolgt jährlich mit einer Ausschreibung vom 1. September bis 1. Dezember und einem Auswahl-symposium Mitte März. Das Auswahl-symposium fand vom 12. bis 13. März 2018 im caesar statt.

Der Lehrplan des Programms umfasst sowohl theoretische als auch praktische Ausbildungselemente. Um die Vorteile der internationalen Bildung zu maximieren, nehmen die Studierenden an Workshops und Symposien sowohl am caesar als auch am MPFI teil, damit sie mit einer breiten Gruppe internationaler Wissenschaftler*innen interagieren können.

IMPRS-Student*innen in Bonn hatten vom 29. November bis 1. Dezember 2018 ihre Klausurtagung in Frankfurt am Max-Planck-Institut für Hirnforschung. Jede/r Student*in hatte die Möglichkeit, sein/ihr Forschungsprojekt vorzustellen und Feedback von den Kolleg*innen zu erhalten. Wir hatten drei Gastreferent*innen, die Chalk-Talks über



eine Vielzahl von neurowissenschaftlichen Themen und das Leben in der Wissenschaft im Allgemeinen hielten. Der Direktor des MPI für Hirnforschung Gilles Laurent sprach über die Forschung seiner Gruppe zu olfaktorischen und visuellen Bereichen im Reptiliengehirn, in deren Rahmen Experimente, quantitative Analysen und Modellierungstechniken kombiniert werden. Johannes Letzkus stellte dann die Forschung seiner Gruppe über neokortikale Schaltkreise vor, und Julijana Gjorgjieva erklärte, wie ihre Gruppe Computermodelle zur Untersuchung der Dynamik neuronaler Netze einsetzt. Alle Gastredner*innen sprachen gerne über die individuellen Herausforderungen, mit denen sie im Laufe ihrer Karriere konfrontiert waren, und wie Beharrlichkeit sie zum Erfolg geführt hat. Die Student*innen fanden diese Diskussionen sehr hilfreich für die Gestaltung ihrer eigenen Karrieren. Es gab

eine wissenschaftliche Poster-Session, an der auch Gaststudent*innen des MPI für Hirnforschung teilnahmen. Am Ende des zweiten Tages besuchten IMPRS-Student*innen einige der Labore am Institut und hatten mehr Zeit, sich mit anderen Doktorand*innen zu treffen.

Erfahren Sie mehr über die IMPRS unter:

www.imprs-brain-behavior.mpg.de/





Veranstaltungen aus Wissenschaft, Presse- und Öffentlichkeitsarbeit bei caesar

Von Mia von Scheven und Sebastian Scherrer

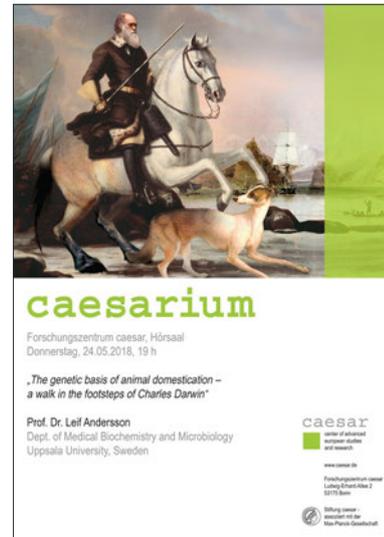
caesarium

2018 war wieder ein großer Erfolg für unsere beliebte öffentliche Vorlesungsreihe, das „caesarium“. Die Vorträge richten sich an ein interessiertes Laienpublikum und decken ein breites Spektrum an aktuellen wissenschaftlichen Themen ab. Sie regten zu allerhand spannenden Diskussionen an und erfreuten sich durchgängig großer Beliebtheit beim Publikum..

24.05.2018

„The genetic basis of animal domestication
– a walk in the footsteps of Charles Darwin“

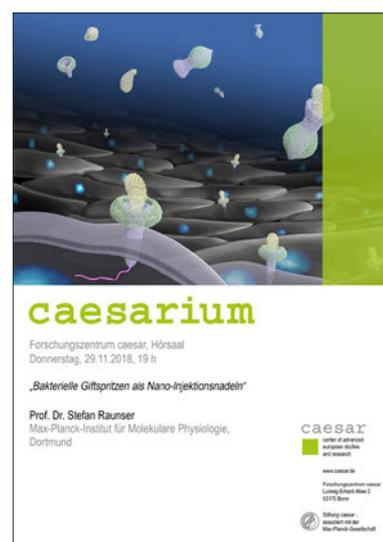
Prof. Leif Andersson, Abteilung für Medizinische
Biochemie und Mikrobiologie,
Universität Uppsala, Schweden



28.06.2018

„Wer kontrolliert mein Gewicht? - Das Gehirn als Schaltzentrale des Stoffwechsels“

Prof. Dr. Jens Brüning, Max-Planck-Institut für Stoffwechselforschung, Köln



29.11.18

„Bacterial injections on a nano scale“

Prof. Dr. Stefan Raunser, Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Dortmund.



caesar Konferenz 2018 (05.06. - 06.06.2018)

Vom 5. bis 6. Juni 2018 veranstaltete caesar die 7. Internationale caesar-Konferenz. Der Titel lautete: „Missing links in Neuroscience: Bridging scales in theory and experiment“. Herausragende Wissenschaftler*innen aus den experimentellen und theoretischen Neurowissenschaften trafen sich, um darüber zu sprechen, wie zwischen den verschiedenen Größenordnungen in Gehirnstruktur und -funktion sowie zwischen experimentellen Daten, numerischen Simulationen und konzeptionellen Modellen eine Brücke geschlagen werden kann.

Neuroscience Seminar Series

Im November 2018 starteten wir unsere neue „Neuroscience Seminar Series“. Ihre Besonderheit: Postdocs und Doktoranden sind in die Betreuung unserer Gäste eingebunden. Dies bietet Nachwuchswissenschaftlern die hervorragende Möglichkeit zum Networking mit bedeutenden Forschungspersonlichkeiten. Im Jahr 2018 fanden die folgenden Vorträge statt:



26.11.18

„Experience-dependent synapse reorganization in the living brain“

Prof. Yi Zuo, Sinsheimer Laboratories,
Universität von Kalifornien, Santa Cruz

26.11.18

„Brain-computer interfaces for basic science“

Prof. Byron Yu, Carnegie Mellon University, Pittsburgh

Bonner Wissenschaftsnacht (17.05. - 18.05.2018)

Im Zweijahrestakt präsentiert Bonn bei der „Bonner Wissenschaftsnacht“ seine wissenschaftliche Seite. Mit fast 20.000 Besuchern war die 11. Wissenschaftsnacht zum Thema „Schaltkreise“ ein großer Erfolg. caesar beteiligte sich im Wissenschaftszelt am Münsterplatz und gab einen Einblick in das Gebiet der Neuroethologie. Unser Forschungszentrum präsentierte einen virtuellen Rundgang über die Netzhaut und bot die Möglichkeit zum Blick unters Fluoreszenzmikroskop. Weitere Aktivitäten - wie die stark nachgefragten Bastelmöglichkeiten für Kinder, oder 3D-Drucke verschiedener Tiergehirne - rundeten den Infostand ab.



Max-Planck-Tag (14.09.2018)

Am 14. September feierten wir den Max-Planck-Tag, zusammen mit den übrigen Instituten der Max-Planck-Gesellschaft in ganz Deutschland. Die Veranstaltung führte Wissenschaft und Öffentlichkeit anlässlich des Jubiläums der Person Max Plancks zusammen und öffnete Einblicke in unser Forschungsgebiet.



Forscher*innen und Mitarbeiter des caesar präsentierten ihre Arbeit einer breiten Öffentlichkeit. Den Auftakt bildete eine Einführung zum Leben und zur Person von Max Planck. Unsere Forschungsgruppenleiter*innen hielten wissenschaftliche Vorträge in einem voll besetzten Hörsaal und gewährten Einblicke in aktuelle Erkenntnisse.

Spiele, bei denen die eigenen Sinne getestet und Gehirnmodelle, welche den entsprechenden Spezies zugeordnet werden mussten, inspirierten Besucher aller Altersgruppen. Auch die zahlreichen Kinder, die an jenem Tag unser Institut besuchten, kamen auf ihre Kosten. Sie hatten die Möglichkeit, einen Gehirnhut zu basteln oder ein buntes Neuron herzustellen.

caesar Science Slam (20.09.2018)

Der jährliche caesar Science Slam am 20. September 2018, den wir in Zusammenarbeit mit dem iGEM-Team in Bonn durchführten, war erneut ein voller Erfolg. Die Slammer luden das Publikum zu einer lustigen Wissenschaftsveranstaltung mit viel Kuriosem und Humor ein.

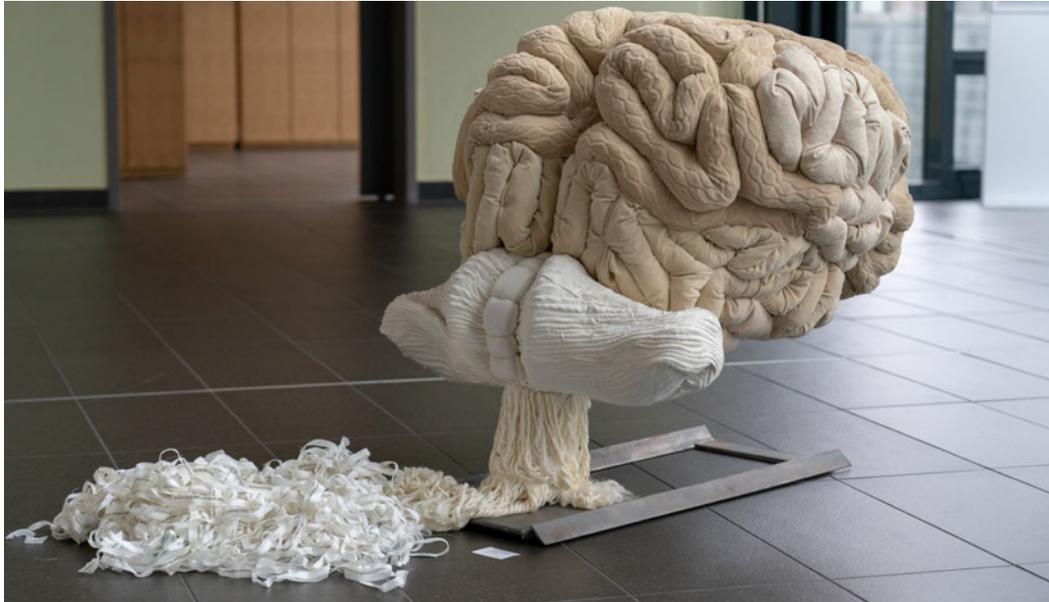
Am Science Slam 2018 nahmen teil:

- Ulrike Neumann, Bioökonomin aus Hohenheim, präsentierte: „Entzündung - was tun, wenn es brennt?“
- Lars Dittrich. Der Neurowissenschaftler und Schlaf-forscher sprach über: „Sind Sie wirklich müde oder schlafen Sie schon?“
- Ann-Charlott Schneider, enthüllte in ihrem Vortrag „Warum Blutgefäße schlecht für die Hornhauttransplantation sind“ die Geheimnisse der Hornhaut.
- Stefan Schneider zog in seinem Vortrag „Was wäre passiert, wenn Jesus an Demenz gelitten hätte?“ Parallelen zwischen Neurowissenschaft und Religion.
- Der siegreiche Vortrag: Stefan Maders Slam auf „Das Unsichtbare sehen - Nanopartikel erkennen“



Kunstaussstellung: „Exploring the senses in art and brain“ (28.9. - 29.11. 2018)

2018 beherbergte caesar die Kunstaussstellung „Exploring the senses in art and brain“. 13 Künstler*innen aus Belgien, Deutschland und den Niederlanden präsentierten Gemälde, Skulpturen und Objektkunst in verschiedenen Stilen und luden die Besucher zu einem visuellen Rundgang durch eine vielfältige und inspirierende Welt ein.



Firmenlauf (13.09. 2018)

Perfekte Wetterbedingungen für den 12. Firmenlauf in der Bonner Rheinaue. Tausende von Teilnehmern, 5,7 km, eine fantastische Atmosphäre und viel Teamgeist. Auch dieses Mal nahm ein kleines caesar-Team teil.



Workshop in Zusammenarbeit mit dem „Deutschen Museum“ (7.11.2018)

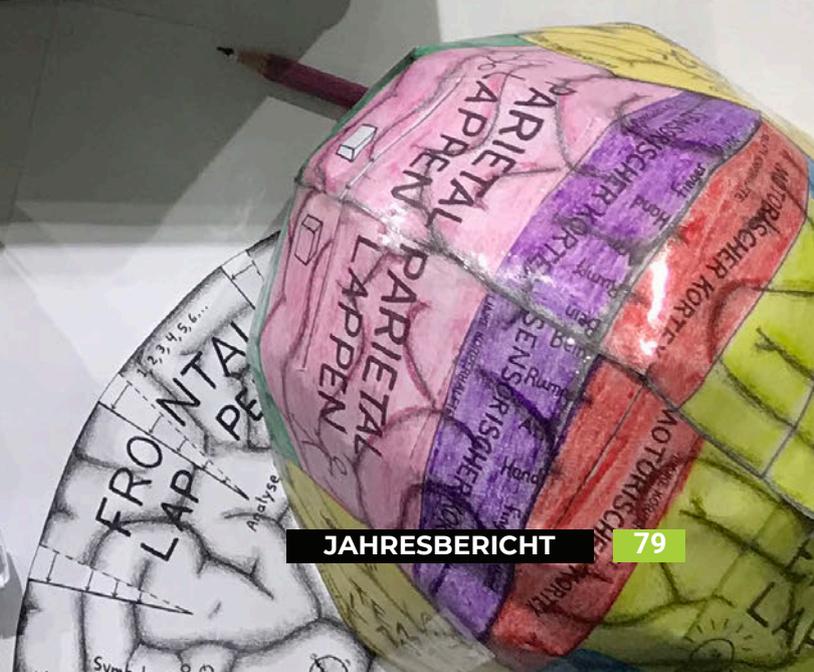
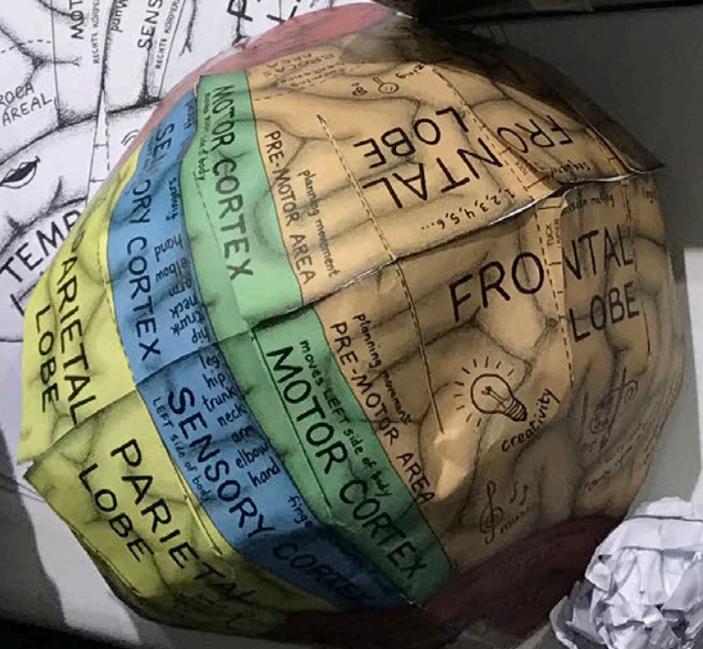
Vom 7. bis 9. November 2018 fand in Bonn die jährliche Kommunikationskonferenz „Forum Wissenschaftskommunikation“ statt. Im Rahmen des Satellitenprogramms und in Zusammenarbeit mit dem „Deutschen Museum Bonn“ veranstaltete caesar einen Workshop mit dem Titel „Learning by doing - alte Philosophie, neue Ansätze“. Der interaktive Workshop bot eine hervorragende Gelegenheit, um weitere Kontakte zu knüpfen, sowie für den Kontakt mit professionellen Wissenschaftskommunikatoren aus ganz Deutschland. .

Weitere Aktivitäten im Jahr 2018

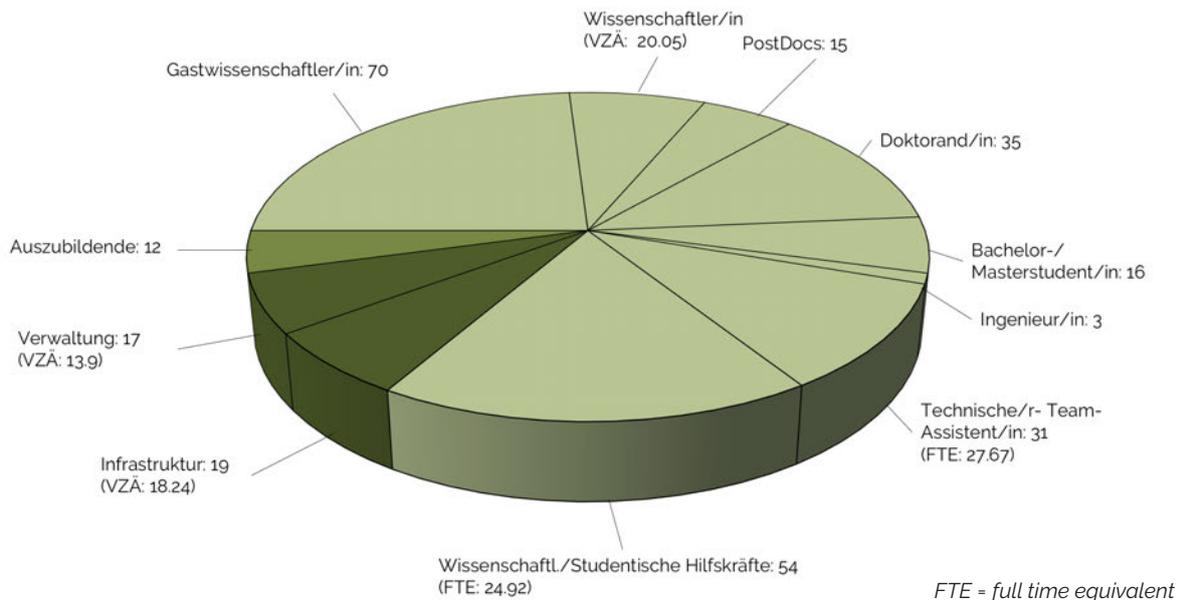
caesar führte verschiedene Veranstaltungen und Aktivitäten für Schulkinder durch und pflegte dadurch seine Beziehungen zu lokalen Schulen und unterstützte deren MINT-Aktivitäten.

- Girls' Day/Boys' Day (26.04.2018)
- Begabtenförderung - Intensivpraktikum - Elektronenmikroskopie (25.-29.06.2018)
- Besuche von Schulklassen
- Karriere- und Wissenschaftsvorträge in Schulen
- Praktikum für Gewinner des Wettbewerbs „Jugend forscht“ (02.-06.07.2018)
- Weitere Praktika in Wissenschaft und Verwaltung



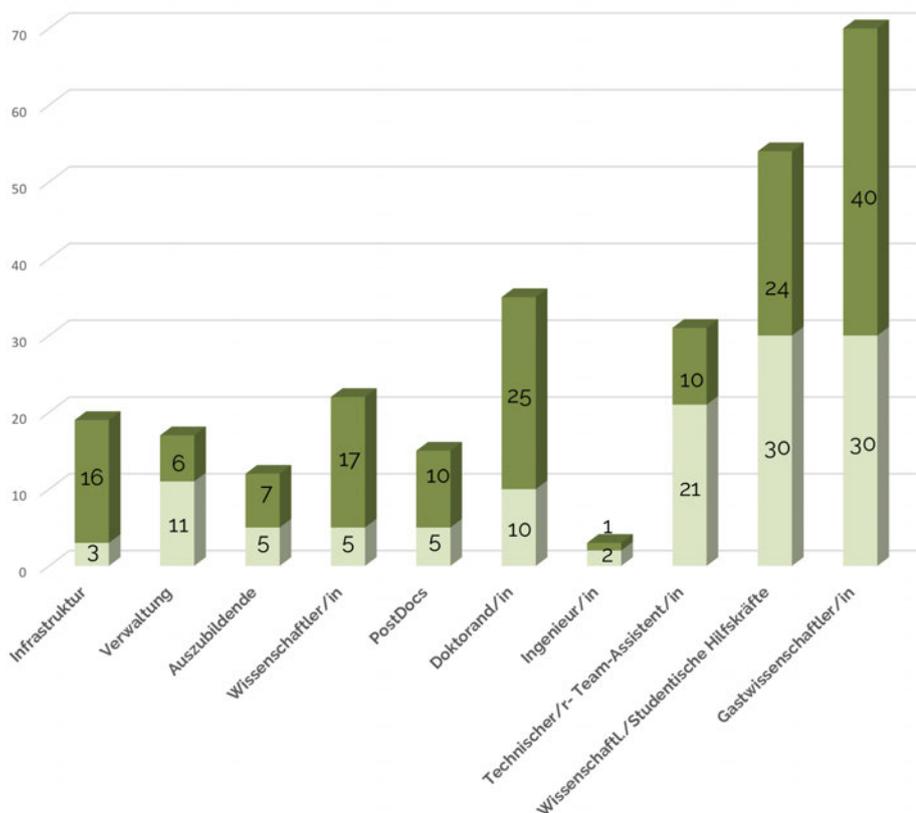


ZAHLEN UND FAKTEN



Zum 31. Dezember 2019 beschäftigte das Forschungszentrum caesar 224 Mitarbeiter/-innen und 70 Gastwissenschaftler/-innen. Ihre Verteilung innerhalb der Abteilungen und Bereiche geht aus dem obenstehenden Diagramm hervor. In Vollzeitstellen umgewandelt, waren 139 in der Verwaltung und

18,24 im Bereich der Infrastruktur tätig. Zusätzlich bildete caesar 12 Auszubildende in 6 Bereichen aus: Werkzeugmechaniker/innen, Laborassistent/-innen in den Bereichen Biologie und Chemie, in der Verwaltung und im Bereich der Tierpflege.



44% der Mitarbeiter caesars sind Frauen. Die Verteilung der Mitarbeiter nach Geschlecht in den einzelnen Abteilungen und

Einheiten geht aus der obenstehenden Grafik hervor.

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. EUR plus 6,6 Mio. EUR Grundstückswert, den caesar von der Stadt Bonn erhalten hat.

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

VERMÖGEN 2018

Sachanlagen	83.578.551 EUR
Finanzanlagen	301.736.604 EUR
Sonstiges	24.368.078 EUR
Bilanzsumme	409.683.233 EUR

ERTRÄGE 2018

Erträge aus Umsatzerlösen und Förderprojekten	4.753.365 EUR
Erträge aus Wertpapieren und Zinsen	13.630.797 EUR
Erträge insgesamt	18.384.162 EUR

AUFWENDUNGEN 2018

Personalaufwand	8.959.344 EUR
Sachaufwand	5.427.030 EUR
Abschreibungen	3.652.498 EUR
Aufwendungen insgesamt	18.038.872 EUR

Bilanz

Bilanzabschluss zum 31. Dezember 2018

AKTIVA	31.12.2018	31.12.2017
A. Anlagevermögen		
I. Immaterielle Vermögensgegenstände	105,008 EUR	139,286 EUR
II. Sachanlagen		
Grundstücke und Bauten	68.769.854 EUR	69.969.487 EUR
Andere Anlagen, Betriebs- und Geschäftsausstattung	13.868.729 EUR	13.829.248 EUR
Geleistete Anzahlungen & Anlagen im Bau	939,968 EUR	712,387 EUR
Summe aus II.	83.578.551 EUR	84.511.122 EUR
III. Finanzanlagen		
Beteiligungen	330,000 EUR	330,000 EUR
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Anlage des Stiftungsvermögens	290.575.021 EUR	290.575.021 EUR
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Gebäudewiederbeschaffung	10.831.583 EUR	10.831.583 EUR
Summe aus III.	301.736.604 EUR	301.736.604 EUR
Summe für A.	385.420.163 EUR	386.387.012 EUR

Bilanzabschluss zum 31. Dezember 2018

	31.12.2018	31.12.2017
B. UMLAUFVERMÖGEN		
I. Vorräte	382,325 EUR	316,950 EUR
II. Forderungen und sonstige Vermögensgegenstände		
Forderungen aus Lieferungen und Leistungen	485,070 EUR	599,357 EUR
Forderungen gegen Unternehmen, mit denen ein Beteiligungsverhältnis besteht	0 EUR	0 EUR
Sonstige Vermögensgegenstände	1.587.701 EUR	2.033.002 EUR
Summe aus II.	2.072.770 EUR	2.632.359 EUR
III. Wertpapiere	0 EUR	0 EUR
IV. Kassenbestand und Guthaben bei Kreditinstituten	21.618.692 EUR	19.797.225 EUR
Summe für B.	24.073.787 EUR	22.746.534 EUR
C. Rechnungsabgrenzungsposten	189,283 EUR	285,626 EUR
Gesamtes Vermögen	409.683.233 EUR	409.419.172 EUR

Bilanzabschluss zum 31. Dezember 2018

PASSIVA	31.12.2018	31.12.2017
A. Eigenkapital		
I. Stiftungsvermögen		
Stiftungskapital	286.323.453 EUR	286.323.453 EUR
Stiftungskapital Investitionskapital	97.145.457 EUR	97.145.457 EUR
Zustiftung der Stadt Bonn	6.681.051 EUR	6.681.051 EUR
Zuführung aus der Rücklage gem. § 62 Abs. 1 Nr. 3 AO	1.283.957 EUR	1.283.957 EUR
Summe aus I.	391.433.918 EUR	391.433.918 EUR
II. Rücklagen		
Freie Rücklage gemäß § 62 Abs.1 Nr. 3 AO	8.716.424 EUR	8.371.133 EUR
Instandhaltungsrücklage	4.943.789 EUR	4.943.789 EUR
Summe aus II.	13.660.213 EUR	13.314.922 EUR
III. Ergebnis		
Jahresüberschuss / -fehlbetrag	0 EUR	0 EUR
Summe III.	0 EUR	0 EUR
Summe für A.	405.094.131 EUR	404.748.840 EUR
B. Sonderposten für Investitionszuschüsse	2.770.722 EUR	3.207.721 EUR
C. Rückstellungen	831,496 EUR	511,007 EUR
D. Verbindlichkeiten		
Erhaltene Anzahlungen	175.000 EUR	0 EUR
Verbindlichkeiten aus Lieferungen und Leistungen	681,691 EUR	793,619 EUR
Sonstige Verbindlichkeiten	129,806 EUR	157,985 EUR
Summe für D.	986,497 EUR	951,604 EUR
E. Rechnungsabgrenzungsposten	387 EUR	0 EUR
Gesamtes Vermögen	409.683.233 EUR	409.419.172 EUR

ORGANE DER STIFTUNG

Organe der Stiftung

Stiftungsrat

Am 31. Dezember 2018 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 Prof. Dr. Veronika von Messling
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 2018 bestand der Vorstand aus:

- Dr. Kevin Briggman
Geschäftsführender wissenschaftlicher Direktor
der Abteilung "Computational Neuroethology"
- Prof. Dr. Jason Kerr
Wissenschaftlicher Direktor
der Abteilung "Organisations des Gehirns und Verhaltens"
- Helmut Kolz
Kaufmännischer Geschäftsführer

KONTAKT



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



office@caesar.de
www.caesar.de



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