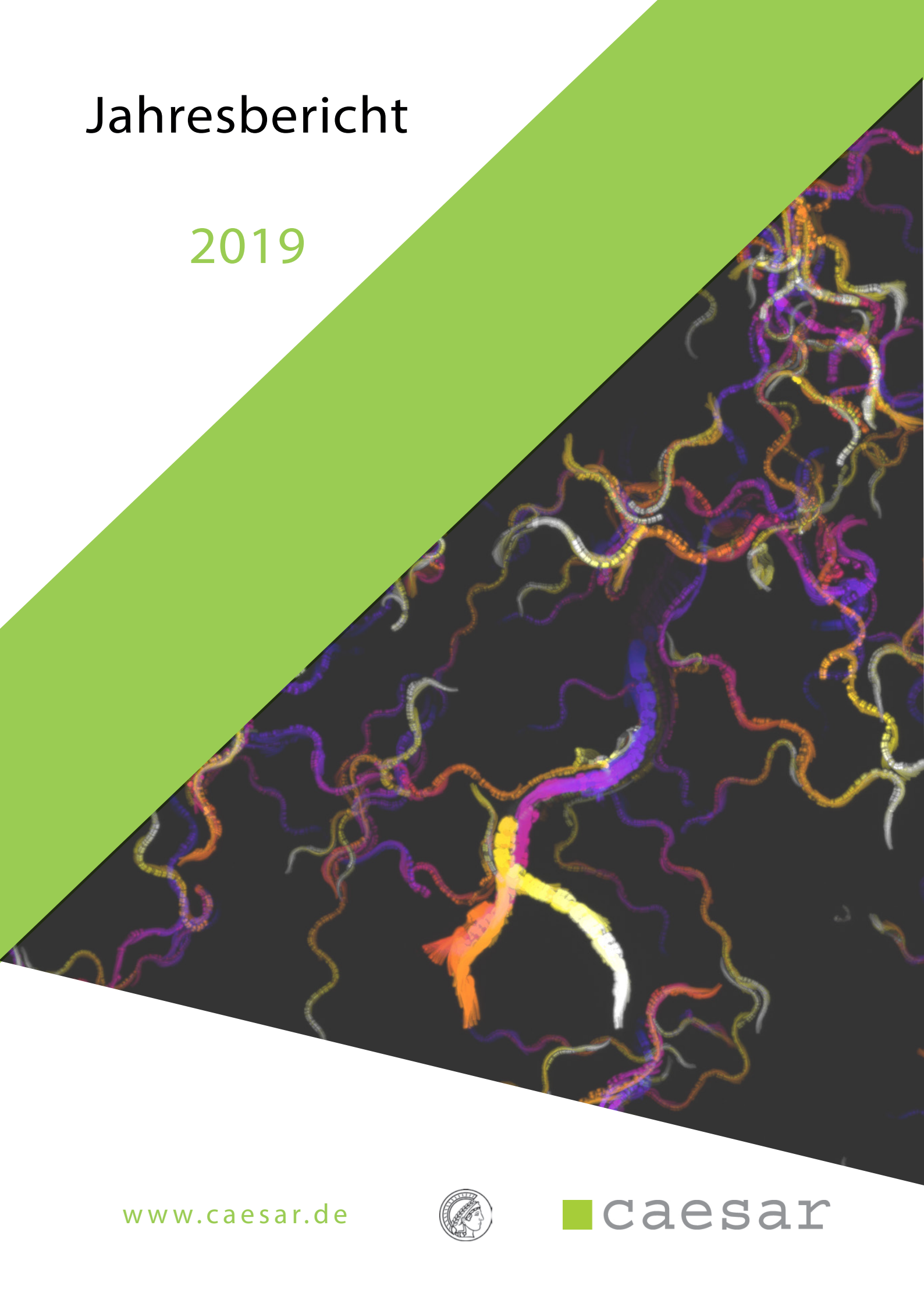


Jahresbericht

2019

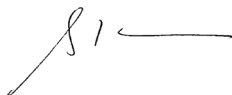


VORWORT

Als Institut für Neuroethologie beschäftigt sich caesar mit den neuronalen Grundlagen von Verhalten. Wie entsteht aus der kollektiven Aktivität der miteinander vernetzten Neurone im Gehirn die Vielfalt tierischer Verhaltensweisen? Um das herauszufinden, 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 natürlichen Tierverhaltens. Im vergangenen Jahr konnten wir weitere unabhängige Forschungsgruppenleiterinnen und -leiter für uns gewinnen und so den Ausbau von caesar zu einem herausragenden Neuroethologie-Institut erfolgreich fortsetzen. So entschied sich Dr. Aneta Koseska, die im Rahmen des Lise-Meitner-Exzellenzprogramms der Max-Planck-Gesellschaft für außergewöhnlich qualifizierte Wissenschaftlerinnen einen Ruf als Gruppenleiterin erhalten hatte, ihre Forschungsgruppe bei caesar anzusiedeln. Als theoretische Physikerin untersucht sie Zellen auf ihre Lern- und Gedächtnisfähigkeit und entwickelt mathematische Modelle zur Darstellung ihrer Versuchsbeobachtungen. Außerdem haben unter der Leitung von Dr. Monika Scholz und Dr. E. Pascal Malkemper zwei neue Max-Planck-Forschungsgruppen ihre Arbeit bei caesar aufgenommen. Dr. Scholz untersucht das Fressverhalten des Fadenwurms *C. Elegans*, um grundlegende Prinzipien der Signalkompression, Aufmerksamkeit und Kontextabhängigkeit in neuronalen Systemen zu ermitteln. Dr. Malkemper erforscht am Modell des unterirdisch lebenden afrikanischen Graumulls die neurobiologischen Grundlagen des Magnetsinns bei Säugtieren. Darüber hinaus konnten wir Dr. James Lightfoot als neuen Gruppenleiter für uns gewinnen. Er war 2019 im Wettbewerb um eine der begehrten Leitungspositionen für themenoffene Max-Planck-Forschungsgruppen erfolgreich. Dr. Lightfoot war bisher am Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie in Tübingen tätig und untersucht, wie ein Selbsterkennungssystem in räuberischen Nematoden Kannibalismus verhindert und es dem Wurm ermöglicht, gezielt nach geeigneter Beute zu suchen. Dr. Lightfoot wird im Januar 2021 zu caesar übersiedeln. Insgesamt beherbergt caesar heute mit zwei wissenschaftlichen Abteilungen und sieben Forschungsgruppen die größte Anzahl unabhängiger Forschungsgruppen in seiner Geschichte.

Vor dem Hintergrund der breiten Palette an Forschungsthemen, die mittlerweile bei caesar bearbeitet werden, und der Aufnahme der neuen Gruppen hielten wir im Oktober unsere erste Klausurtagung mit dem Schwerpunkt Neuroethologie ab. Besonders für unsere Doktorandinnen und Doktoranden war dies eine ausgezeichnete Gelegenheit, sich in wissenschaftlichem Vortragen zu üben. Und schließlich ist 2019 mit der Eröffnung des Schülerlabors eine neue Initiative der Öffentlichkeitsarbeit angelaufen. Über das ganze Jahr verteilt luden wir verschiedene Biologieklassen aus den umliegenden Schulen für einen Tag ins Schülerlabor ein, um ihnen die neuroethologische Forschung bei caesar nahezubringen. Durch praktische Übungen und Verhaltensbeobachtungen an Zebrafischlarven lernten die Schülerinnen und Schüler, wie genetische Mutationen und neuronale Schaltkreise das Verhalten von Tieren beeinflussen können. Das Schülerlabor wurde von den Lehrkräften begeistert aufgenommen, und wir rechnen damit, dass diese Art der Öffentlichkeitsarbeit in Zukunft weiter an Bedeutung gewinnen wird.

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



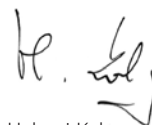
Prof. Dr. Martin Stratmann
Präsident der Max-Planck-Gesellschaft
Vorsitzender des Stiftungsrates



Dr. Kevin Briggman
Geschäftsführender Direktor



Prof. Dr. Jason Kerr
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 (Kaufmännischer Geschäftsführer), Prof. Dr. Jason Kerr (Wissenschaftlicher Direktor), Forschungszentrum caesar, Ludwig-Erhard-Allee 2, D-53175 Bonn.

Redaktion: Julia Schlee & Sebastian Scherrer

Wissenschaftlicher Koordinator: Dr. Christoph Geisen

Redaktionsassistentz: Alina Gebauer

Titelbild: C. elegans Würmer von Dr. Monika Scholz

FORSCHUNGSBERICHTE	9
<i>Motion Encoding</i> in der Säugetierretina	10
Darstellung neuronaler Aktivität im sich frei bewegenden Tier	16
Der Orientierungssinn – Das biologische GPS verstehen	24
Kortex <i>in Silico</i> – Digitalisieren des Gehirnnetzwerks	30
Kontrolle der sakkadischen Wendungen von <i>Drosophila</i>	36
Futtersuche – Den Würmern auf der Spur	42
Adaptive Optik mit reflektierendem Licht und neuronalen Netzwerken	46
Analyse und Kontrolle molekularer Verbände	52
PUBLIKATIONEN	56
EINBLICKE IN CAESAR	60
Neues aus der IMPRS for Brain and Behavior	61
Veranstaltungen aus Wissenschaft, Presse- und Öffentlichkeitsarbeit bei caesar	65
Zahlen und Fakten	76
Finanzen	77
Organe der Stiftung	80



UNSERE FORSCHUNG

caesar ist ein Forschungsinstitut für Neuroethologie. Hier untersuchen wir, wie aus der kollektiven Aktivität der Vielzahl miteinander vernetzter Neurone 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 bewogender 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 2019

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

**NEURONALER
INFORMATIONSFUSS**

MAX-PLANCK-
FORSCHUNGSGRUPPE

**STRUKTURELLE DYNAMIK
VON PROTEINEN**

EMMY-NOETHER-
GRUPPE

**NEUROBIOLOGY OF
FLIGHT CONTROL**

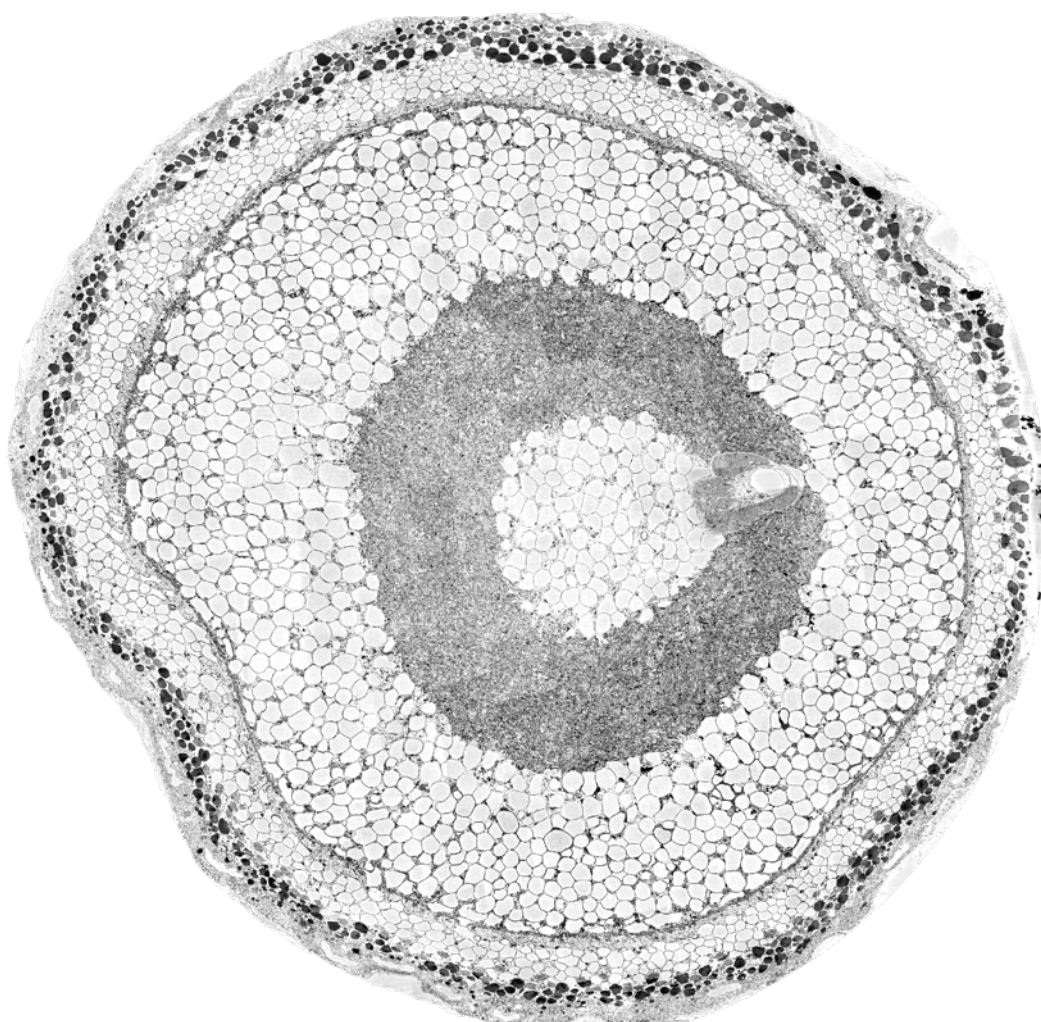
MAX-PLANCK-FELLOW

CHEMISCHE BIOLOGIE

Bewegungsverarbeitung in der Säugetierretina

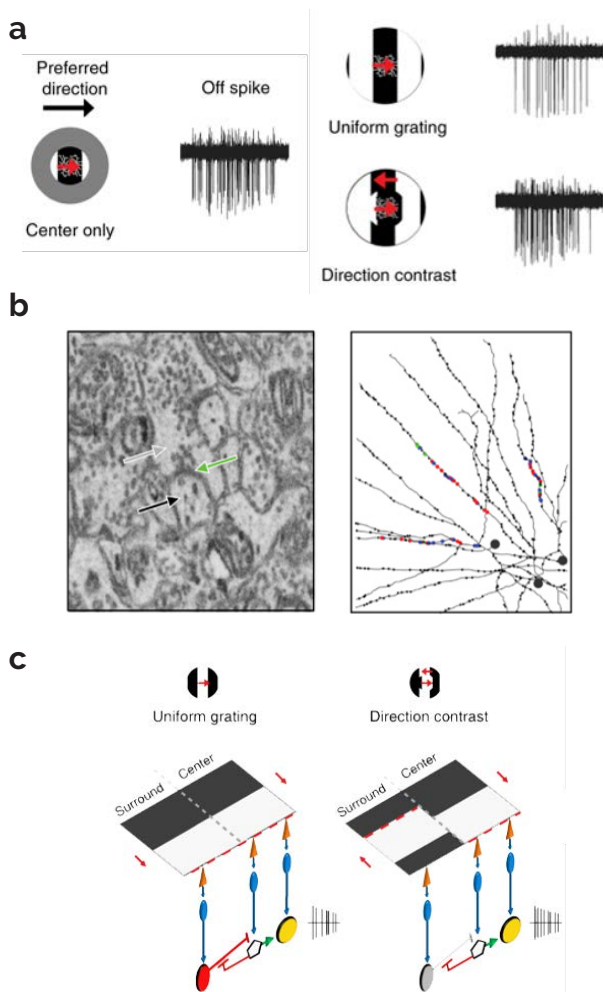
Von Kevin Briggman | Computational Neuroethology

Unser primäres Ziel ist es, die synaptische Konnektivität der neuronalen Schaltkreise im Zentralnervensystem mit den von ihnen ausgeführten Berechnungen in Beziehung zu setzen.



Elektronenmikrografie eines Querschnitts durch das Auge einer Zebrafischlarve. Die verschiedenen informationsverarbeitenden Schichten der Retina sind von den Photorezeptoren (äußere Schicht) bis zu den retinalen Ganglienzellen (innere Schicht) sichtbar. Das Bild wurde mittels Mehrstrahl-Rasterelektronenmikroskopie aufgenommen. Daten und Bild von Kevin Briggman, Silke Haverkamp und Paul Watkins.

Die Identifizierung dieser Schaltkreismechanismen hilft zu verstehen, wie Gehirnnetzwerke sensorische Informationen übersetzen und mit den entsprechenden Verhaltensweisen auf diese reagieren. Wir sind besonders an der Initiierung der sensorischen Verarbeitung im visuellen und olfaktorischen System interessiert. Mit Hilfe eines multidisziplinären Ansatzes, der optische Bildgebung, Elektronenmikroskopie, Elektrophysiologie und rechnergestützte Modellierungen einschließt, versuchen wir, die synaptische Konnektivität jedes Neurons in einem Schaltkreis abzubilden, nachdem wir zuvor ihre funktionellen Eigenschaften aufgezeichnet haben. Wir verfolgen einen komparativen Ansatz, indem wir sensorische Bahnen in den Nervensystemen von Maus, Fisch und Frosch untersuchen, um die experimentellen Vorteile der einzelnen Modellsysteme zu nutzen. Durch das gewonnene Verständnis der neuronalen Vernetzung in gesunden Wildtyp-Tieren wollen wir letztlich eine Vergleichsgrundlage schaffen, um Vernetzungsdefekte unter pathologischen Bedingungen zu untersuchen..



Richtungsselektive retinale Ganglienzellen

Die Bewegungsrichtung über die Netzhaut hinweg wird von richtungsselektiven retinalen Ganglienzellen (RGCs) kodiert, die Informationen über die Bewegungsrichtung an den Rest des Gehirns weiterleiten. Diese Neuronen verstärken ihre elektrische Aktivität als Reaktion auf eine Bewegung in eine bestimmte Richtung – die „bevorzugte“ Richtung – und unterdrücken ihre Aktivität als Reaktion auf die entgegengesetzte „Null“-Richtung. Der grundlegende Mechanismus, durch den die bevorzugte Nullachse festgelegt wird, wurde von uns bereits beschrieben. Er hängt von der spezifischen Vernetzung der Synapsen auf richtungsselektiven RGCs ab [1]. Nichtsdestotrotz bleiben mehrere Aspekte dieser wichtigen neuronalen Berechnung auf mechanistischer Ebene ungeklärt. Im Jahr 2019 identifizierten wir die synaptische Konnektivität, der zwei Schlüsselkomponenten der Richtungsselektivität zugrunde liegen: 1) wie richtungsselektive RGCs ihre Reaktionen abhängig vom umgebenden Kontext in einer visuellen Szene verändern [2] und 2) wie die Geschwindigkeit eines sich bewegendes Stimulus von richtungsselektiven RGCs kodiert wird [3].

Kontextabhängige Modulation richtungsselektiver RGCs

Richtungsselektive RGCs antworten, wie alle RGCs, am stärksten, wenn ein visueller Stimulus auf das Neuron zentriert ist. Die betroffene Region wird als „Zentrum“ des rezeptiven Feldes bezeichnet. Wenn sich ein visueller Reiz über die zentrale Region hinaus in das „Umfeld“ erstreckt, wird die Antwort oft unterdrückt. Dieser „Zentrum-Umfeld-Antagonismus“ dient dem Zweck, die Antworten auf visuelle Stimuli zu verstärken, die sich mit dem rezeptiven Feld einer RGC decken. Es wurde bereits früher berichtet, dass richtungsselektive Reaktionen stark

Abbildung 1: Kontextabhängige Modulation der Richtungsselektivität. a) Elektrische Aktivität der richtungsselektiven RGCs wird von einem das Zentrum umgebenden Bewegungsmuster moduliert. b) Weitfeld-Amakrinzellen, die durch konnektomische Rekonstruktion identifiziert wurden, bilden Kontinuitätsdetektoren. c) Wenn die Bewegung in der Umgebung und dem Zentrum gleichphasig ist, werden Weitfeld-Amakrinzellen aktiviert und richtungsselektive RGC-Reaktionen Antworten unterdrückt. Sind Umgebungs- und Zentrumsrichtung nicht gleichphasig, werden die Weitfeld-Amakrinzellen nicht aktiviert. Entnommen aus [2].

kontextabhängig von der Bewegung in der umgebenden Region von richtungsselektiven RGCs sind [4]. Der zugrundeliegende Mechanismus und die beteiligten Neuronen blieben jedoch unbekannt. Wenn die umgebende Bewegung mit der Bewegung im zentralen rezeptiven Feld übereinstimmt, sind die richtungsselektiven Antworten vermindert (Abb. 1 a, „gleichmäßiges Gitter“). Wenn die umgebende Bewegung allerdings phasenverschoben ist, oder sich in die entgegengesetzte Richtung bewegt, werden die Richtungsantworten nicht beeinflusst (Abb. 1 a, „Richtungscontrast“).

Wir haben mit der Gruppe von Dr. Wei Wei an der Universität von Chicago zusammengearbeitet, um elektrophysiologische und pharmakologische Experimente mit einer Erfassung der Konnektivität der Neuronen und Synapsen zu korrelieren, die an der Bewegungskontextsensitivität beteiligt sind [2]. Wir konnten einen Schlüsselneuronentyp identifizieren, der an der Berechnung beteiligt ist: die Weitfeld-Amakrinzellen (Abb. 1 b). Diese Amakrinzellen erstrecken sich über große Distanzen in der Retina und sind daher in der Lage, Informationen aus dem umgebenden Bewegungskontext zum Zentrum einer richtungsselektiven RGC weiterzuleiten. Wir haben ein synaptisches Ver-

netzungsmuster identifiziert, das erklärt, warum gleichphasige, aber nicht antiphasische bzw. entgegengesetzte Bewegungsrichtungskontexte die Richtungsselektivität beeinflussen: die Weitfeld-Amakrinzellen bilden eine Art „Kontinuitätsdetektor“, der die richtungsselektive Antwort unterdrückt, wenn das Zentrum und die umgebende Bewegung räumlich gleichgerichtet sind. Ähnliche Formen der kontextabhängigen Modulation der Bewegungskodierung werden in den visuellen Schaltkreisen des restlichen Gehirns beobachtet, aber es bleibt abzuwarten, ob der Modulation ähnliche Mechanismen zugrunde liegen.

Asymmetrische Vernetzung unterliegt richtungsselektiver Geschwindigkeitskodierung

Richtungsselektive RGCs kodieren nicht nur die absolute Richtung eines sich bewegenden visuellen Reizes, sondern auch dessen Geschwindigkeit. In einer früheren Arbeit untersuchten wir die Geschwindigkeitseinstellung einer Klasse von RGCs, die als „On-Off-RGCs“ bekannt sind und Bewegungen von mehr als 1 mm/Sek kodieren [5]. Eine zweite Klasse von RGCs, die so genannten „On-RGCs“, kodieren

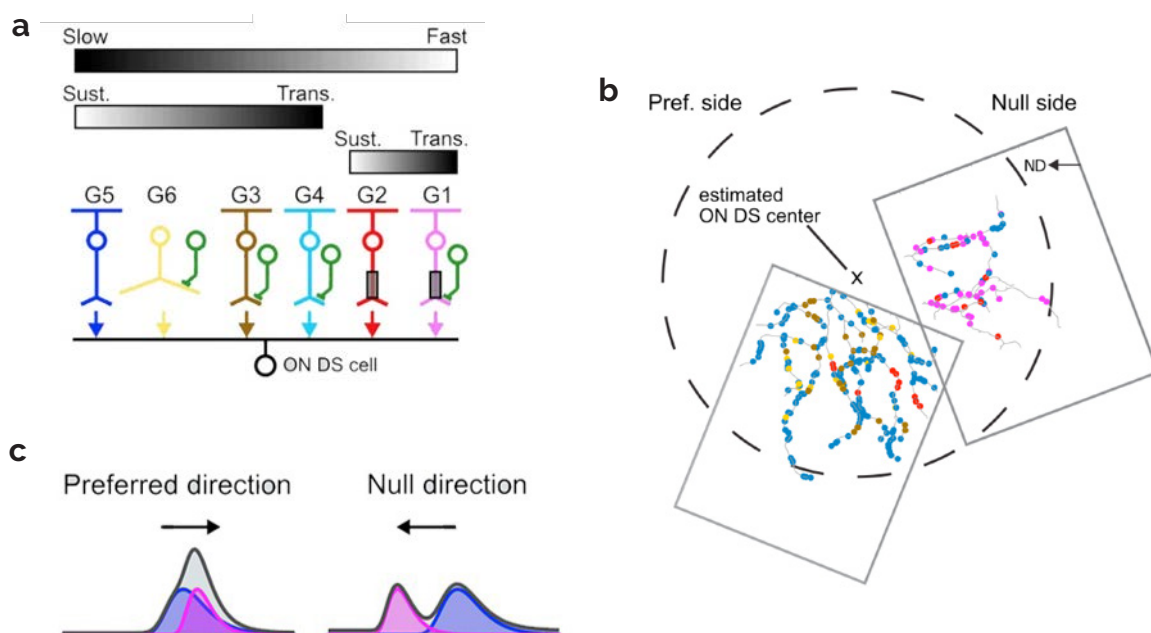
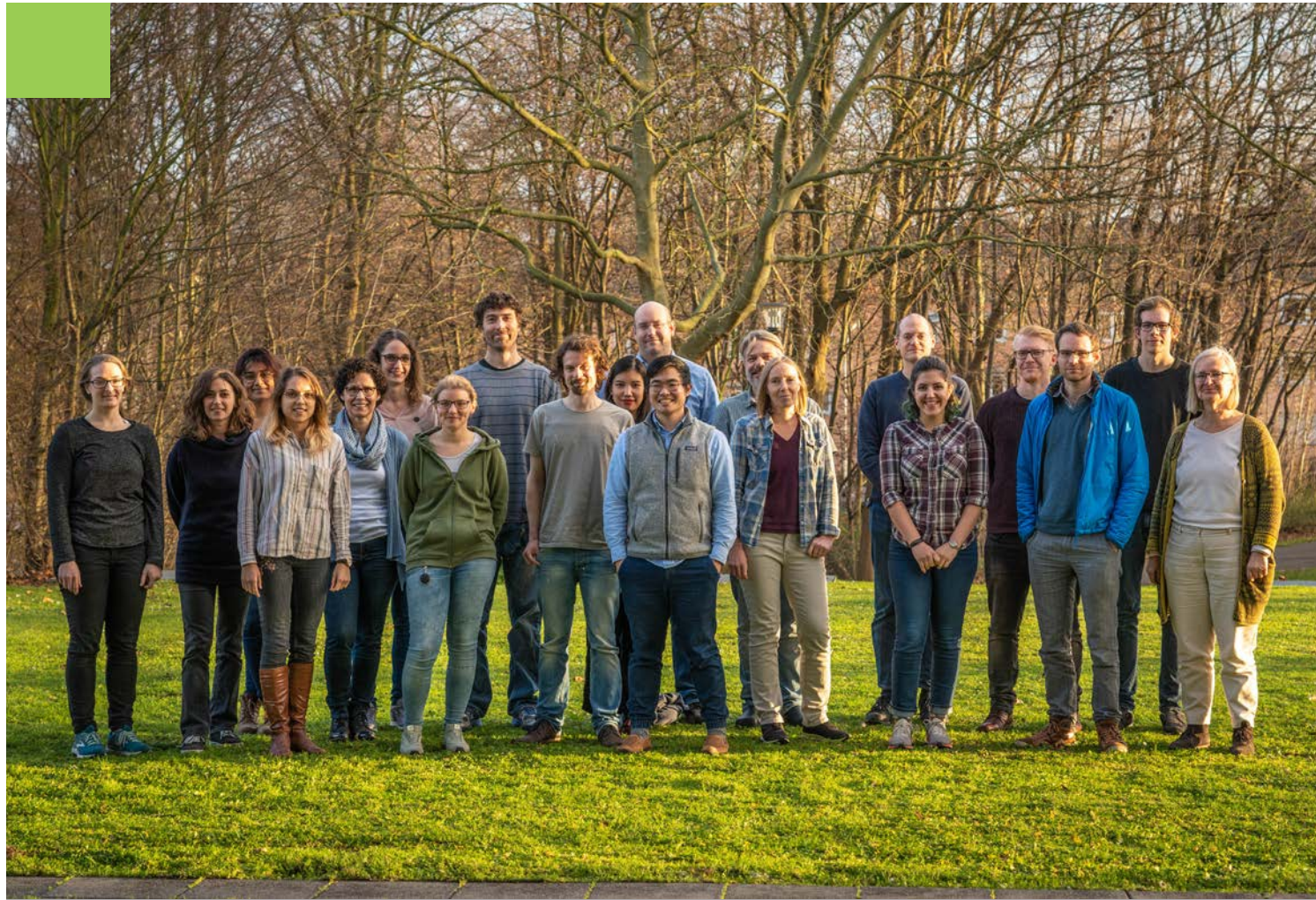


Abbildung 2: Asymmetrische Konnektivität liegt der richtungsselektiven Geschwindigkeitskodierung zugrunde. a) Physiologisch aufgezeichnete synaptische Eingänge für On-RGCs weisen einen Kinetik-Gradienten entlang der bevorzugten Achse auf (von links nach rechts). b) Die konnektomische Abbildung der synaptischen Eingänge offenbart ebenfalls einen Gradienten der verschiedenen Bipolarzellen, die Synapsen (farbkodierte Punkte) auf On-RGCs bildeten. c) Wenn die Bewegung entlang der bevorzugten Richtung erfolgt, werden langsame Eingänge gefolgt von schnellen Eingängen aktiviert, was eine verstärkte Antwort ermöglicht. Wenn die Bewegung entlang der Null-Richtung erfolgt, werden die schnellen Eingänge zu früh aktiviert und die Antworten dadurch unterdrückt. Entnommen aus [3].

langsame Geschwindigkeiten von weniger als 1 mm/Sek. Der Mechanismus, mit dem solch langsame Geschwindigkeiten kodiert werden können, war allerdings noch unbekannt. Man nimmt an, dass die On-RGCs dazu beitragen, das Bild der Außenwelt auf der Netzhaut bei Augen- und Kopfbewegungen zu stabilisieren. In Kollaboration mit der Gruppe von Dr. Keisuke Yonehara an der Universität Aarhus setzten wir physiologische Aufzeichnungen der synaptischen Eingänge der On-RGCs mit konnektomischen Rekonstruktionen der Eingänge in Beziehung [3]. Wir haben entlang der bevorzugten Richtungsachse der RGCs einen Gradienten von anregenden Eingängen, der durch die verschiedenen Bipolarzelltypen entsteht, anatomisch abgebildet (Abb. 2 a, b). Diese verschiedenen Bipolarzellen setzen Neurotransmitter mit unterschiedlicher Kinetik frei. So sind manche z. B. schneller oder langsamer als andere. Die physiologischen Aufzeichnungen zeigten auch einen Gradienten in der Kinetik der Neurotransmitterfreisetzung entlang der Vorzugsachse (Abb. 2 a). Letztendlich waren wir in der Lage, die fünf verschiedenen, anatomisch unterschiedlichen präsynaptischen Zelltypen exakt den physiologisch vorhergesagten Zelltypen zuzuordnen. Mechanistisch nimmt der Gradient von langsamer zu schneller Neurotransmitterfreisetzung entlang der bevorzugten Achse zu, was eine konstruktive Summierung der Bewegung und eine erhöhte Antwort ermöglicht (Abb. 2 c). Die Bewegung entlang der entgegengesetzten Nullachse wird nicht konstruktiv summiert, weshalb die Antwort unterdrückt wird (Abb. 2 c). Ein ComputermodeLL der beobachteten Verschaltungen und Freisetzungskinetiken bestätigte, dass die bevorzugte Achsenverstärkung der Aktivität nur bei langsamen Geschwindigkeiten wirksam ist. Wir kamen daher zu dem Schluss, dass eine Kombination aus detaillierter Verschaltung und zelltypspezifischer Freisetzungskinetik der Einstellung auf langsame Geschwindigkeiten bei richtungsselektiven ON-RGCs zugrunde liegt - ein einzigartiger Mechanismus, der in den On-Off-RGCs nicht vorliegt.

Literatur

1. Briggman, K.L., Helmstaedter, M., and Denk, W. (2011). Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. *Nature* 471, 183-188.
2. Huang, X., Rangel, M., Briggman, K.L., and Wei, W. (2019). Neural mechanisms of contextual modulation in the retinal direction selective circuit. *Nat Commun* 10, 2431.
3. Matsumoto, A., Briggman, K.L., and Yonehara, K. (2019). Spatiotemporally asymmetric excitation supports mammalian retinal motion sensitivity. *Curr Biol* 29, 3277-3288 e3275.
4. Chiao, C.C., and Masland, R.H. (2003). Contextual tuning of direction-selective retinal ganglion cells. *Nat Neurosci* 6, 1251-1252.
5. 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

Geschäftsführender
wissenschaftlicher Direktor

Das Ziel der Abteilung Computational Neuroethology (CNE) besteht in der Entwicklung von Berechnungsmodellen, mit denen zielgerichtetes Verhalten von Tieren prognostiziert werden kann.

Um die Daten zu generieren, die für den Aufbau solcher biologisch plausibler Modelle notwendig sind, entwickeln und verwenden wir eine Reihe von multidisziplinären Versuchsmethoden. Während Tiere ein bestimmtes Verhalten zeigen, erzeugen wir Bilder von Neuronenpopulationen in zellulärer Auflösung. Außerdem verwenden wir Fluoreszenzmikroskopie, um die Expressionsmuster bestimmter Proteine zu identifizieren. Schließlich rekonstruieren wir die synaptische Verschaltung mithilfe von 3D-Elektronenmikroskopie.

Indem wir diese Methoden kombinieren und auf einzelne Gehirne anwenden, wollen wir Zusammenhänge aufdecken zwischen Struktur und Funktion von neuronalen Netzen, die das Verhalten steuern. Als erstes versuchen wir zu verstehen, wie sensorische Reize im Gehirn verarbeitet werden, um schließlich Entscheidungen zu generieren, die einen motorischen Impuls auslösen. Aufbauend auf diesem Verständnis wollen wir die Ursachen für die Variabilität von zielgerichtetem Verhalten identifizieren. Dazu vergleichen und analysieren wir neuronale Schaltkreise bei Säugetieren, Fischen und Amphibien. Auf diese Weise wollen wir herausfinden, welche Aspekte der Informationsverarbeitung spezifisch für eine bestimmte Gattung und welche gattungsübergreifend sind.



“Wir möchten die Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion von neuronalen Netzwerken, die das Verhalten steuern, aufdecken.”

Darstellung neuronaler Aktivität im sich frei bewegenden Tier

Von Jason Kerr | **Organisation des Gehirns und Verhaltens**

Zu verstehen, wie Tiere die Schaltkreise ihres Gehirns nutzen, um Verhalten als Reaktion auf ihre Umwelt zu erzeugen, ist eines der zentralen Ziele der Neurowissenschaft.



Das neue Drei-Photonen-Fiberskop ermöglicht die kontinuierliche Abbildung von neuronalen Populationen tief in der Großhirnrinde von sich frei bewegenden Tieren. Abbildung: J. Kuhl.

Zwar kann man das Verhalten von Tieren erforschen, indem man sie bei der Lösung von Problemen beobachtet, aber um ein Verständnis für die Rolle des Gehirns bei der Erzeugung des Verhaltens zu erlangen, muss gleichzeitig die Aktivität der Schaltkreise des Gehirns gemessen werden. Im Jahr 2009 entwickelte unsere Gruppe in Zusammenarbeit mit der Gruppe von Winfried Denk am Max-Planck-Institut für Neurobiologie (Martinsried) ein miniaturisiertes kopfgetragenes Multiphotonenmikroskop. Es ermöglichte die Aufzeichnung der Aktivität neuronaler Populationen in den oberen kortikalen Schichten sich frei bewegender Ratten in Einzelzellauflösung. Dieses "Zwei-Photonen-Fiberskop" erlaubte zwar die Messung neuronaler Aktivität von sich frei bewegenden Tieren, konnte allerdings die meisten kortikalen Schichten nicht erreichen. In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Philip Russell am Max-Planck-Institut für die

Physik des Lichts haben wir nun ein kleines kopfgetragenes Drei-Photonen-Mikroskop entwickelt, das in der Lage ist, alle kortikalen Schichten in einer sich frei bewegenden Ratte abzubilden [1].

Die Aufzeichnung der kortikalen Aktivität bei sich frei bewegenden Tieren ermöglicht es, die Beziehung zwischen neuronaler Aktivität und komplexen Verhaltensweisen zu erforschen, während das Tier selbstbestimmt mit der Umwelt interagiert. Miniaturisierte kopfgetragene Zwei-Photonen-Mikroskope [2] ermöglichen es, die Aktivität von fluoreszenzmarkierten neuronalen Populationen in den oberen kortikalen Schichten in Einzelzellauflösung [3] und neuerdings auch von einzelnen dendritischen Dornfortsätzen [4] bei sich frei bewegenden Nagetieren abzubilden. In stark markiertem lichtstreuendem Gewebe erreichen diese Geräte eine subzelluläre Auflösung, die entscheidend für die Zuordnung emittierter Fluoreszenz zu ihrer Entstehungsstruktur ist, indem sie die Anregung auf ein räumlich-zeitlich begrenztes Volumen beschränken und so einen optischen Schnitt ermöglichen. Bei der Bildgebung mit Zwei-Photonen-Anregung (engl. two-photon excitation, 2PE) hängen sowohl die räumliche Auflösung als auch die effiziente Fluorophor-Anregung von den räumlichen, spektralen und zeitlichen Eigenschaften der im Nah-Infrarot-Bereich an das Gewebe abgegebenen Impulse ab [5]. Diese Pulseigenschaften begrenzen die maximale Abbildungstiefe konventioneller 2PE-Mikroskope [6], und in Kombination mit der Größenbeschränkung kopfgetragener Mikroskopsysteme ist daher die funktionelle Abbildung bislang nur für die oberen kortikalen Schichten anwendbar. Dadurch bleibt der größte Teil des Kortex, einschließlich der tiefen kortikalen Schichten, die die Ergebnisse der kortikalen Berechnungen an andere Hirnstrukturen weiterleiten, für Mikroskope mit dieser Anregungsmodalität unzugänglich. Im

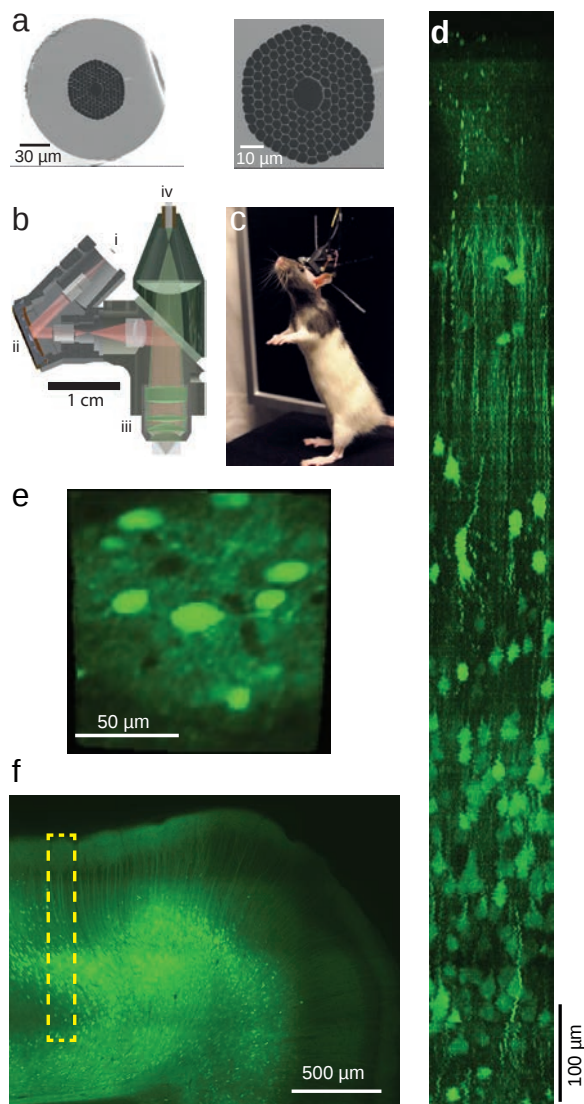


Abbildung 1: Kopfgetragenes Drei-Photonen-Mikroskop: Aufbau und optische Eigenschaften. a) elektronenmikroskopischer Querschnitt der HC-PBGF mit Darstellung der gesamten Faser (links) und Nahaufnahme des zentralen Kerns (rechts). b) Schematischer Querschnitt des Mikroskopbaus mit optischen Elementen, Anregungspfad (rot) und Emissionspfad (grün). i) Befestigungspunkt für die HC-PBGF. ii) MEMS-Scanner. iii) Objektiv. iv) optische Kunststoffaser. c) Fotografie des Mikroskops an einer 120-g-Ratte, mit Stäben zur Positionsbestimmung. d) Seitenansicht von GCaMP6s-markierten kortikalen Neuronen im posterioren parietalen Kortex (PPC) einer betäubten Ratte. e) Markierte Neurone in einer Tiefe von 1120 µm unter der kortikalen Oberfläche. f) Post-hoc histologischer Schnitt von GCaMP6s-markierten Neuronen im PPC. Die Kastenhöhe zeigt die erreichbare Abbildungstiefe (1120 µm).



Vergleich dazu kann die Drei-Photonen-Anregung (engl. three-photon excitation, 3PE) die mögliche Bildgebungstiefe in streuendem Gewebe erheblich steigern [7, 8], indem längere Wellenlängen (>1300 nm) verwendet werden, die die Streuung des Anregungslichts verringern und die Erzeugung von Fluoreszenz außerhalb des Fokusbereichs praktisch eliminieren. Um neuronale Aktivität bei sich frei bewegenden Tieren mit Hilfe der Drei-Photonen-Anregung aufzeichnen zu können, ohne dass es dabei zu Gewebeschäden kommt, müssten kompensierte hochenergetische Ultrakurzpulse durch eine Faser geleitet werden, die die Übertragungseffizienz und den Polarisationszustand auch in gebogenem Zustand aufrechterhält [3]. Bis heute haben diese Anforderungen die Entwicklung eines kopfgetragenen 3PE-Miniaturmikroskops verhindert.

Mikroskop nach Maß

Wir haben eine Hohlkern-Kristallfaser mit photonischer Bandlücke (engl. hollow-core photonic bandgap crystal fiber, HC-PBGF) [9] entwickelt, deren Übertragungseigenschaften auf eine funktionelle Drei-Photonen-Bildgebung in sich frei bewegenden Tieren zugeschnitten sind (Abb. 1). Der Hauptvorteil dieser Faser besteht darin, dass die Übertragungseigenschaften beim Biegen der Faser im Vergleich zu anderen Arten von photonischen Hohlkern-Kristallfasern (engl. hollow-core photonic crystal fiber, HC-PCF) besser erhalten bleiben. Die Aufrechterhaltung der Übertragungseigenschaften war von wesentlicher Bedeutung, da zur Quantifizierung von Veränderungen der emittierten Fluoreszenz von markierten neuronalen Populationen die Intensität und der Polarisationszustand der Anregungsimpulse konstant bleiben müssen, auch wenn das Tier sich bewegt. Eine konstante Anregung ist entscheidend, um Fluktuationen in der Fluoreszenz zu vermeiden, die nicht mit neuronaler Aktivität assoziiert sind, sondern auf Änderungen der Pulseigenschaften durch Faserbiegung zurückzuführen sind. Unsere HC-PBGF hat einen inneren Kerndurchmesser von $14\text{ }\mu\text{m}$, eine bei 1320 nm zentrierte Bandlücke und deckt einen Wellenlängenbereich ab, der das für die Drei-Photonen-Anregung von genetisch kodierten Kalziumindikatoren nachweislich effiziente Spektrum von 1250 - 1400 nm umfasst.

Das am Kopf montierte Mikroskop wiegt insgesamt $5,0$ g und eignet sich damit gut für die kortikale Bildgebung bei Ratten (Abb. 1). Der aus der Faser austretende Strahl wur-

de mit einer achromatischen Linse vor dem Scanner gebündelt, der auf einem mikroelektromechanischen System (MEMS) basiert [10]. Nach dem MEMS-Scanner erzeugt eine handelsübliche asphärische Linse, die als Scan-Linse fungiert, in Kombination mit einer speziell angefertigten Tubuslinse eine Strahlvergrößerung. Das maßgefertigte Wasserimmersionsobjektiv mit hoher numerischer Apertur (NA $0,9$, hintere Apertur $5,4$ mm, Sichtfeld $200\text{ }\mu\text{m}$) wurde für einen telezentrischen Arbeitsabstand von $1,75$ mm optimiert. Wir haben den Arbeitsabstand der Objektivlinse weiter vergrößert, indem wir den Abstand zwischen Scan- und Tubuslinse für einen expandierenden Strahl angepasst haben. Insgesamt erlaubte das System Bildwiederholraten von bis zu $27,78$ Hz bei einer Auflösung von 120×120 Pixeln mit einem maximalen quadratischen Sichtfeld (engl. field of view, FOV) von $140\text{ }\mu\text{m}$ Seitenlänge. Die mit einer Fotodiode an der Objektivbrennebene mit Wasserimmersion gemessene Pulsbreite betrug nach Einstellung des Dispersionsmanagementsystems $52,3$ fs (74 fs nach Autokorrelation zur Bestimmung der vollen Breite bei halber Maximalamplitude (engl. Full Width at Half Maximum, FWHM), unter Annahme der Gaußschen Pulsform). Die Pulse, die das Mikroskop passierten, erzeugten eine Drei-Photonen-Anregung von Fluorescein. Wir synchronisierten die Taktung der einzelnen Pixel im Bild mit der Taktung der am Laser emittierten Pulse, und jeder Pixel enthielt die Fluoreszenz, die sich aus der Anregung durch einen einzelnen Puls ergab. Außerdem haben wir das Photonendetektionssystem so geschaltet, dass es nur über ein Zwanzigstel der Zeit zwischen den Pulsen integriert, was das Signal-Rausch-Verhältnis (engl. signal-to-noise-ratio, SNR) deutlich erhöhte.

Darstellung aller kortikalen Schichten

Mit dem auf einem Mikromanipulator montierten Mikroskop zur Auslotung der erreichbaren Abbildungstiefe konnten wir markierte neuronale Somata und Dendriten bis in eine Tiefe von $1120\text{ }\mu\text{m}$ unter der kortikalen Oberfläche abbilden (Abb. 1). Da wir die durchschnittliche Dicke des hinteren Parietalkortex in dem abzubildenden Bereich auf $1343\pm 12\text{ }\mu\text{m}$ (Mittelwert $\pm$ SD) messen konnten, ist das Mikroskop demzufolge in der Lage, etwa 83% der kortikalen Dicke (Abb. 1) ausgewachsener Ratten (Gewicht $193,5\pm 23,0$ g, Mittelwert $\pm$ SD) funktionell abzubilden. In einer Tiefe von $1120\text{ }\mu\text{m}$ betrug die Infrarot (IR)-Leistung nach dem Objektiv etwa 100 mW. Wir zeichneten deutlich auflösbare spontane Ca^{2+} -Transients in verschiedenen kortikalen Tiefen bis

einschließlich der maximalen Tiefe von 1120 μm auf (Abb. 1). Um das Einzelbild-SNR abzuschätzen, verglichen wir die Soma-Fluoreszenz während inaktiver Perioden mit dem Mittelwert der gleichen Anzahl von Pixeln, die nach dem Zufallsprinzip aus Bildbereichen ohne neuronale Somata ausgewählt wurden. Das durchschnittliche Einzelbild-SNR änderte sich nicht systematisch mit zunehmender Abbildungstiefe, und auch das durchschnittliche SNR für alle Neurone im oberflächlichsten FOV unterschied sich nicht signifikant von dem des tiefsten FOV. Um nachzuweisen, dass wir aussagekräftige funktionelle Daten aufzeichnen konnten, bildeten wir Neuronenpopulationen im visuellen Kortex während der Präsentation von dynamischen Gitterstimuli ab. Wir fanden Neurone mit ausgeprägter Sensitivität für Gitterorientierung, wie zuvor gezeigt [11], die durch die kontinuierliche Bildgebung (50 Minuten Gesamtbildgebung, 17 Neurone) nicht verändert wurde, was beweist, dass die Drei-Photonen-Anregung auch bei längerer Ex-

position die funktionellen Reaktionen nicht beeinträchtigte.

Verhalten

Als nächstes führten wir eine Reihe von funktionellen Bildgebungsexperimenten an sich frei bewegenden Tieren durch, erneut im hinteren parietalen Kortex mit neuronalen Populationen, die GCaMP6s exprimieren (Abb. 2). Um die Eignung des kopfgetragenen 3PE-Mikroskops zur zuverlässigen Aufzeichnung funktioneller Aktivität über ein breites Spektrum von Tierverhaltensweisen zu quantifizieren, haben wir die Position des Tieres [12] während des Erkundungs-, Pflege-, Fress- und Jagdverhaltens mit einem optischen Tracking-System erfasst. Dadurch gewannen wir eine Fülle von Informationen über Bewegungen, Beschleunigungen und Kopfpositionen der Tiere über die kontinuierlichen Bildgebungsperioden. Der Richtungswinkel eines jeden Tieres (Azimut) war zwar stets entlang der Längsachse

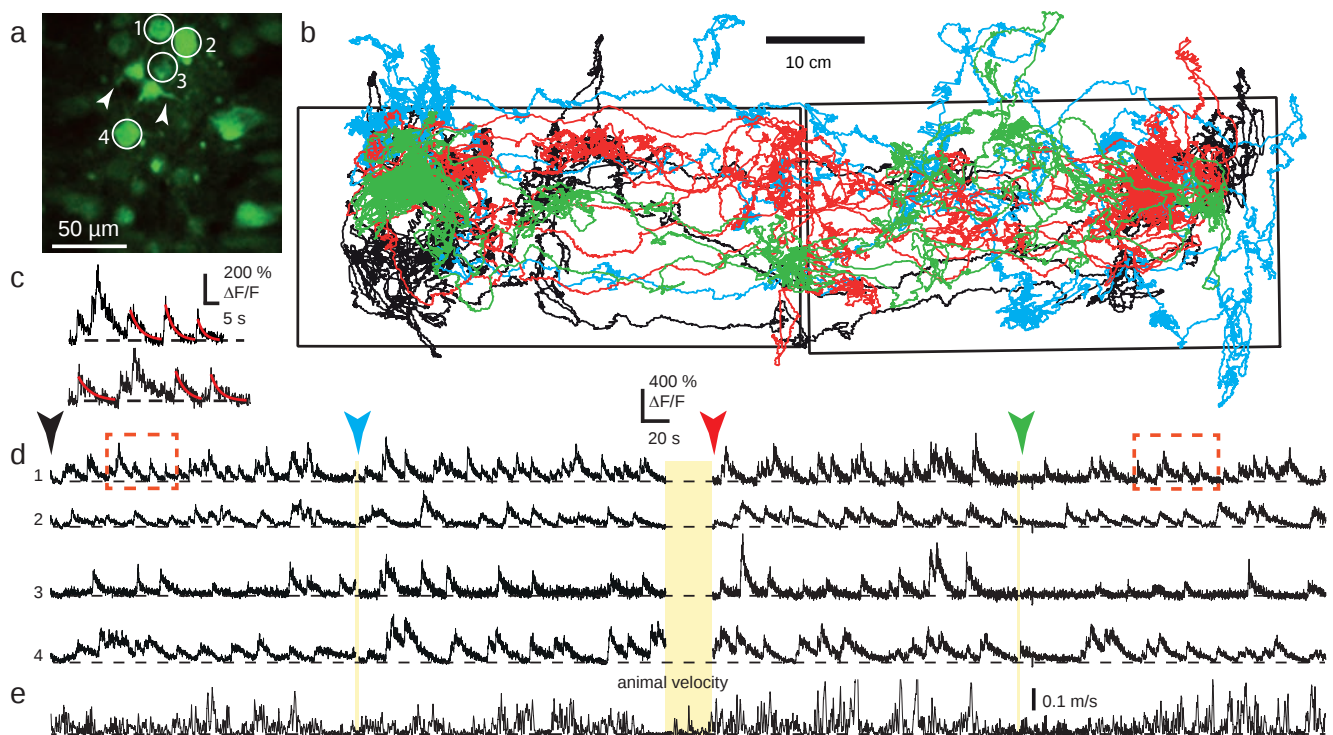


Abbildung 2: Drei-Photonen-Abbildung der neuronalen Aktivität von Korktischschicht 5 in sich frei bewegenden Tieren. a) Übersichtsbild von GCaMP6s-markierten Neuronen und Dendriten, 950 μm unterhalb der kortikalen Oberfläche, (Zahlen entsprechen den Kalziumspuren in d). Basale Dendriten hervorgehoben (Pfeilspitzen). b) Position des Tierkopfes während vier aufeinanderfolgender ~ 3.6 min Bildgebungsperioden (überlagerte Darstellung, jede Farbe kennzeichnet eine andere Periode) auf einer Umrisszeichnung der erhöhten Plattformen (schwarze Rechtecke). Zu beachten ist, dass das Tier regelmäßig den Rand der Bande erreichte oder darüber hinweg spähte, was zu Punkten außerhalb der Begrenzung führte. c) Beispielhafte Ca^{2+} -Transienten aus der anfänglichen und letzten Abbildungsperiode (rot gestrichelte Kästchen für Neuron 1 in d)). Exponentielle Anpassungen an die Abklingzeiten der Transienten, die zur Berechnung der Abklingzeitkonstante als Hinweis auf die Gesundheit der Neurone verwendet werden (rot). d) Ca^{2+} -Spuren der in a) gekennzeichneten Neurone und Dendriten. Das Panel zeigt vier aufeinanderfolgende Abbildungsperioden (Pfeilspitzen zu Beginn jeder Periode, Farben kennzeichnen Perioden in b). Kurze Pausen zwischen den Bildgebungsperioden dienten der Beurteilung des Status des Tieres (gelbe Kästchen). e) Kontinuierliche Spur der Geschwindigkeit des Tieres.



der Bewegungsbahn ausgerichtet, deckte aber alle Bewegungsrichtungen ab, und die Tiere legten lange Strecken zurück (durchschnittlich zurückgelegte Strecke: $22,9 \pm 13,5$ m). Während der Verhaltenstests lag die durchschnittliche Kopfeigung bei etwa -30° und die seitliche Kopfdrehung bei etwa 0° , beides ähnlich wie bei unseren früheren Ergebnissen [12], was darauf hinweist, dass die Haltung des Tieres durch das Mikroskop nicht wesentlich beeinflusst wurde. Neuronale Populationen konnten über eine Stunde lang kontinuierlich abgebildet werden. So konnte die Aktivität von Neuronenpopulationen der kortikalen Schicht 5 (Abb. 2) während freien Verhaltens quantifiziert werden (mittlere Abbildungstiefe $736 \mu\text{m}$). Die Bildgebung in diesem Tiefenbereich war stabil, so dass Ca^{2+} -Signale aus einzelnen neuronalen Somata und Dendriten extrahiert werden konnten. Die seitliche Bildverschiebung korrelierte nicht mit der Bewegung des Tieres oder der Aufnahmetiefe. Nicht korrigierbare Bildverschiebungen in der axialen Ebene traten nur selten auf (etwa 20 Einzelbilder aus 6000). Aus bewegungskorrigierten Einzelbildern zeichneten wir sowohl isolierte stereotype Ca^{2+} -Signale, vermutlich von einzelnen Signalspitzen oder kurzen Salven, als auch anhaltende Ca^{2+} -Signale, vermutlich aus Perioden fortgesetzter Spitzen, sowohl von neuronalen Somata als auch von apikalen Dendriten in allen dargestellten Ebenen auf. Als Nächstes untersuchten wir sich frei bewegende Tiere auf die Auswirkungen der Drei-Photonen-Anregung auf das Gewebe bei längerer Exposition. Nahinfrarot-Anregungsquellen können Lichtschäden verursachen [13, 14]. Lichtschäden induzieren plötzliche Erhöhungen der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration [13], die als progressive Erhöhungen sowohl der Referenzfluoreszenz als auch der Abklingdauer der durch das Aktionspotenzial hervorgerufenen Ca^{2+} -Signale registriert werden [14]. Wir konnten keinen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Soma-Referenzfluoreszenz zwischen der ersten und der letzten Hälfte der Bildgebungs-sitzungen feststellen. Um mögliche Veränderungen in den Abklingzeiten der Transienten zu ermitteln, identifizierten wir zunächst so viele Neurone wie möglich mit isolierten Transienten konsistenter Amplitude. Durch Anpassung einer einzigen Exponentialfunktion an das Abklingen der berechneten mittleren Transiente konnten wir für jedes Neuron eine Abklingzeitkonstante (τ) berechnen. Beim Vergleich einzelner Ca^{2+} -Transienten aus der ersten und letzten Abbildungsperiode desselben Neurons stellten wir keinen signifikanten Unterschied in τ fest.

Ausblick

Wir stellen hier ein kopfgetragenes 3PE-Miniatur-Mikroskop auf Faserbasis vor, das in der Lage ist, die Aktivität von neuronalen Populationen in tiefen Schichten der Großhirnrinde bei sich frei bewegenden Ratten abzubilden. Die Anregungseffizienz unserer maßgefertigten Faser und der verbesserte Kompensationsansatz ermöglichten eine kontinuierliche Bildgebung von neuronalen Populationen, ohne das Gewebe zu schädigen. Unser Mikroskopsystem ermöglichte eine stabile Bildgebung und die Extraktion von Ca^{2+} -Signalen über ein breites Spektrum von Tierverhalten, vom Ruhezustand bis zum schnellen Dauerlauf.

Wir gehen davon aus, dass dieser Ansatz in der Verhaltensforschung umfassend anwendbar sein wird, da frühere Studien an sich frei bewegenden Tieren [12] und Studien, die neuronale Populationen während des Verhaltens von kopffixierten Tieren auf sich bewegenden Laufbändern aufzeichneten [15], wichtige biologische Erkenntnisse lediglich auf der Grundlage von Verhaltensepochen in der Größenordnung von nur einigen Sekunden pro Verhaltensaufgabe erbracht haben.



Literatur

1. Klioutchnikov, A., Wallace, D.J., Frosz, M.H., Zeltner, R., Sawinski, J., Pawlak, V., Voit, K.M., Russel, P.St.J. and Kerr, J.N.D. (2020). Three-photon head-mounted microscope for imaging deep cortical layers in freely moving rats. *Nat. Methods* 17, 509-513.
2. Helmchen, F., Fee, M.S., Tank, D.W., and Denk, W. (2001). A miniature head-mounted two-photon microscope. high-resolution brain imaging in freely moving animals. *Neuron* 31, 903-912.
3. 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.
4. 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.
5. Denk, W., Strickler, J.H., and Webb, W.W. (1990). Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 248, 73-76.
6. Theer, P., and Denk, W. (2006). On the fundamental imaging-depth limit in two-photon microscopy. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 23, 3139-3149.
7. Horton, N.G., Wang, K., Kobat, D., Clark, C.G., Wise, F.W., Schaffer, C.B., and Xu, C. (2013). In vivo three-photon microscopy of subcortical structures within an intact mouse brain. *Nat Photonics* 7, 205-209.
8. Wang, T., Ouzounov, D.G., Wu, C., Horton, N.G., Zhang, B., Wu, C.H., Zhang, Y., Schnitzer, M.J., and Xu, C. (2018). Three-photon imaging of mouse brain structure and function through the intact skull. *Nat Methods* 15, 789-792.
9. Russell, P. (2003). Photonic crystal fibers. *Science* 299, 358-362.
10. Piyawattanametha, W., Barretto, R.P., Ko, T.H., Flusberg, B.A., Cocker, E.D., Ra, H., Lee, D., Solgaard, O., and Schnitzer, M.J. (2006). Fast-scanning two-photon fluorescence imaging based on a microelectromechanical systems two-dimensional scanning mirror. *Opt Lett* 31, 2018-2020.
11. Girman, S.V., Sauve, Y., and Lund, R.D. (1999). Receptive field properties of single neurons in rat primary visual cortex. *J Neurophysiol* 82, 301-311.
12. 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.
13. Hopt, A., and Neher, E. (2001). Highly nonlinear photodamage in two-photon fluorescence microscopy. *Biophys J* 80, 2029-2036.
14. Koester, H.J., Baur, D., Uhl, R., and Hell, S.W. (1999). Ca^{2+} fluorescence imaging with pico- and femtosecond two-photon excitation: signal and photodamage. *Biophys J* 77, 2226-2236.
15. Harvey, C.D., Coen, P., and Tank, D.W. (2012). Choice-specific sequences in parietal cortex during a virtual-navigation decision task. *Nature* 484, 62-68.



ABTEILUNG

ORGANISATION DES GEHIRNS UND VERHALTENS



Jason Kerr

Wissenschaftlicher Direktor

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. Dazu entwickeln wir experimentelle und rechnerische Verfahren, um sowohl das Verhalten des Tieres als auch die zugrunde liegenden Berechnungen, die von den Nervenbahnen durchgeführt werden, zu quantifizieren. Da der Zusammenhang zwischen Gehirnfunktion und Verhalten nur bei einem sich verhaltenden Tier untersucht werden kann und da visuell basierte Verhaltensweisen ein Zusammenspiel von Kopfbewegungen, Augenbewegungen und vestibulär induzierter neuronaler Aktivität voraussetzen, untersuchen wir das sich frei bewegende Tier. Wir entwickeln kopfgetragene Multiphotonenmikroskope zur Abbildung der neuronalen Aktivität über verschiedene kortikale Schichten hinweg sowie Verfahren zur Erfassung von Kopf-, Körper- und Augenbewegungen, die an sich frei bewegenden Tieren einer Reihe von Spezies eingesetzt werden können. Die Untersuchung verschiedener Tierarten ermöglicht zum Beispiel den Vergleich, wie sich deren Augenbewegungen im Hinblick auf Koordination und Beschaffenheit unterscheiden. Das übergeordnete Ziel dieses Ansatzes besteht darin, ein tiefgreifendes Verständnis des Sehens bei Säugetieren und der Organisation der zugrunde liegenden neuronalen Schaltkreise zu gewinnen.



“Wir haben ein kleines, kopfgetragenes Drei-Photonen-Mikroskop entwickelt, das alle kortikalen Schichten in einer sich frei bewegenden Ratte abbilden kann.”

Der Orientierungssinn – Das biologische GPS verstehen

Von Elmar Behrmann | **Strukturelle Dynamik von Proteinen**

Vielen von uns fällt es schwer, sich an unbekannten Orten zurechtzufinden, und unser Orientierungssinn ist bestenfalls lückenhaft. Deshalb sind wir stattdessen auf technische Hilfsmittel, wie z.B. GPS-Geräte, angewiesen. Vögel dagegen haben einen bemerkenswerten Orientierungssinn, der sich auf Proteine statt auf technische Geräte verlässt.



Der Orientierungssinn: Während des Vogelzuges können Vögel das geomagnetische Feld der Erde wahrnehmen und diesem folgen. Wir versuchen, herauszufinden, welche Rolle Proteine bei dieser erstaunlichen Leistung innehaben. Abbildung: caesar.

Der Orientierungssinn

Die kürzlich veröffentlichten Mobilitätsberichte der Google-Community [1] haben deutlich gemacht, wie weit verbreitet der Einsatz mobiler Geräte für Navigationsaufgaben heutzutage ist. Analoge Karten und Kompass werden immer mehr zu historischen Artefakten – oder zumindest zu Werkzeugen für ganz spezifische Situationen. Das Navigieren ohne Hilfsmittel wird weitgehend entweder als Sport oder als Kuriosum angesehen. Es ist bekannt, dass viele Tiere – und sogar einige Bakterien – komplexe Navigationsaufgaben ohne Hilfsmittel, weder digital noch analog, erfolgreich bewältigen. Vögel können erwiesenermaßen nachts bei bewölktem Himmel über Hunderte von Kilometern über dem offenen Ozean zurücklegen – ohne sich dabei visueller Navigationspunkte oder Sternenkarten als Orientierungshilfe bedienen zu können. Anders als bei uns, wo die meisten Navigationsfehler lediglich lästige Umwege oder gelegentliche Staus zur Folge haben, enden Fehler bei der Routenfindung in diesem Szenario mit hoher Wahrscheinlichkeit tödlich. Nichtsdestotrotz erreichen Zugvögel ihr Ziel, was bedeutet, dass sie einen angeborenen Orientierungssinn besitzen. Es ist erwiesen und experimentell bestätigt, dass dieser Orientierungssinn bei Zugvögeln auf dem Magnetsinn beruht. Während Bakterien vermutlich magnetische Partikel verwenden, die ähnlich wie eine nanoskopische Kompassnadel wirken, um Magnetfeldlinien zu erkennen, gibt es vielversprechende Hinweise darauf, dass Zugvögel entweder ausschließlich oder zusätzlich zu magnetischen Partikeln einen rein proteinbasierten Sinn besitzen, der es ihnen erlaubt, geomagnetische Signale in ihre Navigation zu integrieren [2].

Ein biologisches GPS

Das Konzept, dass geomagnetische Information durch Proteine detektiert werden kann, geht auf eine bahnbrechende Arbeit von Klaus Schulten aus dem Jahr 1978 zurück [3]: Wenn die Ausbeute eines photochemisch induzierten Radikalpaares empfindlich auf die relative Richtung des geomagnetischen Feldes reagiert, könnte dies eine messbare Reaktion in dem Protein, das dieses Radikalpaar beherbergt, stimulieren. Ein Radikalpaar entspricht zwei ungekoppelten Elektronen in einer der Aminosäureseitenketten des Proteins, und es ist bekannt, dass diese beiden Radika-

le in zwei Zuständen existieren können: entweder als Singulett oder als Triplett. Vereinfacht ausgedrückt entspricht ersteres zwei antiparallel orientierten Miniatur-Elektromagneten, während letzteres eher zwei parallel orientierten entspricht. Wichtig ist, dass beide Zustände unterschiedlich mit externen Magnetfeldern wechselwirken und je nach der relativen räumlichen Orientierung mehr oder weniger stabil sein können.

Wie hoch ist diese Energiedifferenz? Genügt die Energie, welche durch die Kopplung zwischen diesen beiden Radikalpaarelektronen und dem Magnetfeld entsteht, um das molekulare Schicksal eines ganzen Proteins zu bestimmen, das Tausende von Atomen und ihre assoziierten Elektronen umfasst? Dies hängt natürlich von der Stärke des äußeren Magnetfeldes ab. Bedauerlicherweise ist – aus der Sicht eines Proteins, das Magnetfeldlinien wahrnehmen soll – das geomagnetische Feld unserer Erde eher schwach. Die durchschnittliche Stärke beträgt 50 Mikro Tesla, doch wie schwach ist das? Es ist vergleichbar mit dem Magnetfeld eines Toasters oder einer Mikrowelle aus 30 cm Entfernung, und aus dem Alltag wissen wir, dass keines dieser Haushaltsgeräte starke magnetische Anziehungskräfte aufweist. Alles in allem liegt die Energiedifferenz in der gleichen Größenordnung wie die spontanen Schwankungen, die durch die thermische Energie bei Umgebungstemperatur verursacht werden. Ein zufälliges thermisches Ereignis wäre also eine ebenso wahrscheinliche Ursache für strukturelle Veränderungen im Protein wie ein magnetisches Ereignis – was einen sehr schlechten Detektor der Magnetfeldlinie abgeben würde: Stellen Sie sich vor, eine magnetische Kompassnadel würde auf einem Topf mit kochendem Wasser platziert – dies wäre ebenfalls eine schlechte Orientierungshilfe, da die thermisch eingebrachte Störung, das Sprudeln, jedes Signal einer magnetischen Umorientierung der Nadel überlagern würde.

Der Trick, der die Radikalpaartheorie umsetzbar macht, besteht darin, dass der magnetische Sensorzustand des Proteins kein stabiler Grundzustand ist, sondern ein höchst instabiler, metastabiler Zustand, der durch die Absorption eines hochenergetischen Photons herbeigeführt wird. Peter Hoore hat dies in einer schönen Analogie mit dem Beispiel einer Fliege verglichen, die die Position eines Steinblocks beeinflusst: Wenn dieser Stein flach auf seiner Oberfläche liegt, hat die Fliege nicht genug Energie, um irgendetwas zu beeinflussen. Wenn der Steinblock jedoch

auf einer seiner Ecken balanciert – ein höchst instabiler Zustand – könnte ein Aufprall der Fliege auf die Oberfläche die Fallrichtung beeinflussen [2].

Ein Kandidat für die Erfassung von Magnetfeldern

Vieles deutet darauf hin, dass Cryptochrome, Proteine, die typischerweise an der lichtinduzierten DNA-Reparatur sowie der Steuerung des Tag-Nacht-Rhythmus beteiligt sind, die passenden Sensorproteine sind. Erstens sind sie die einzigen Wirbeltierproteine, von denen bekannt ist, dass sie in der Lage sind, lichtinduzierte Radikalpaare zu bilden, welche langlebig genug sind, um durch magnetische Reize beeinflusst zu werden. Zweitens wurde kürzlich eine vogelspezifische Isoform des Cryptochroms, Cryptochrom 4, in der Netzhaut von Zugvögeln nachgewiesen. Während das Magnetfeld alle biologischen Gewebe gleich gut durchdringt, erfordert die Photoinduktion eine lichtdurchlässige Lokalisierung des Proteins, wofür sich die Augen am besten eignen. Drittens unterscheidet sich das Cryptochrom 4 von anderen Cryptochromen durch eine einzigartige und erweiterte Region am C-Terminus – mit bisher unbekannter Struktur und Funktion. Dennoch bleibt ein damit verbundener Signalweg vor allem aufgrund des Mangels an genetischen Werkzeugen für wild lebende Zugvögel rätselhaft. Darüber hinaus wissen wir nicht, ob es auf molekularer Ebene eine strukturelle Veränderung gibt, welche durch die Bildung des Radikalpaares induziert wird, und

wie dies von einem mutmaßlichen Signalpartner erkannt werden könnte.

Kann Struktur Funktion erklären? Werkzeuge zur Untersuchung der Wirkung von Magnetfeldern

Im Rahmen eines Sonderforschungsbereichs, der von der DFG gefördert wird, begannen wir 2018 mit der Untersuchung der molekularen Architektur von Cryptochrom 4 bei Europäischen Rotkehlchen, einem gut etablierten Modellorganismus für nachaktive Zugvögel. Darüber hinaus entwickelten wir Versuchsaufbauten, um zu untersuchen, ob es strukturelle Veränderungen gibt, die durch magnetische Stimulation herbeigeführt werden. Magnetische Stimuli sind ein gut etablierter Parameter in Experimenten an Vögeln, und den so genannten Emlen-Trichter, der zur Aufzeichnung der Startrichtung von in Gefangenschaft lebenden Vögeln verwendet wird, gibt es bereits seit 1966. Mit Hilfe von Helmholtz-Spulen kann das Magnetfeld, welches der Vogel im Inneren des Trichters erfährt, manipuliert werden. Für Proteine sind diese Techniken jedoch noch lange nicht ausgereift. Ein Hauptproblem ist, dass Proteine sehr klein sind und die Orientierung von Proteinen in Bezug auf das Spulensystem oder auch nur die Aufzeichnung ihrer Orientierung hochkompliziert (Abb. 1 a, b). Glücklicherweise ermöglicht uns die Kryo-Elektronenmikroskopie in Kombination mit unseren kürzlich entwickelten funktionalisierten Probenträgergittern (siehe letzter Jahresbericht)

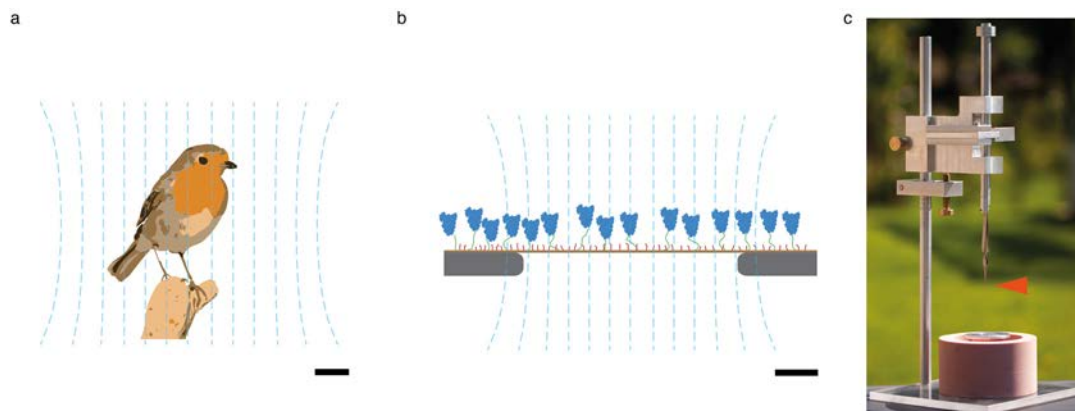


Abbildung 1: (a) Einen Vogel in Bezug auf ein von außen angelegtes Magnetfeld auszurichten oder alternativ seine relative Orientierung aufzuzeichnen, ist angesichts dessen Größe eine triviale Aufgabe. Die Maßstabsleiste misst 2 cm. (b) Proteine andererseits, hier dargestellt in blau, bewegen sich im Größenbereich der Nanometer und sind damit deutlich schwieriger zu manipulieren und zu verfolgen. Unsere funktionalisierten Trägergitter mit einer aktivierten Schicht (braun), die ein passives, löchriges Stützgitter (grau) überspannt, können Proteine in Bezug auf die Ebene des Stützgitters orientieren. Das Gitter selbst hat einen Durchmesser von 3 mm (etwa die Größe des Vogelauges) und kann somit ausgerichtet und manuell gehandhabt werden. Die Maßstabsleiste misst 200 nm, die Proteine sind allerdings nicht maßstabsgetreu. (c) Foto unserer Gefrier Guillotine der zweiten Generation, die mit magnetischen Experimenten kompatibel ist. Die Komponenten wurden aus hochwertigem Aluminium und Teile, die mit dem Kryogen in Berührung kommen, aus speziellen Schaumstoffen gefertigt. Das Probenträgergitter ist an der Spitze der Pinzette angebracht, gekennzeichnet durch die orangefarbene Pfeilspitze.

genau dies: Erstens können wir mit unseren molekularen Hilfsmitteln Proteine zumindest annähernd in Bezug zur Gitteroberfläche und damit auf makroskopisch kontrollierbare Weise orientieren. Zweitens ist die Bestimmung der Orientierungsparameter jedes Proteinbildes ein inhärenter Schritt bei jedem 3D-Rekonstruktionsschema in der Kryoelektronenmikroskopie und Einzelpartikelanalyse (siehe unseren Jahresbericht 2015). Drittens kann die Konformationsdynamik in Subregionen eines Proteins mit rechnergestützten Methoden erfasst und visualisiert werden (siehe unsere Jahresberichte 2016 und 2017).

Für Vogelexperimente wurden Helmholtz-Spulen zur Kontrolle des Magnetfeldes etabliert. Hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Proteine ist es von größter Wichtigkeit, magnetische oder magnetisierbare Instrumente aus dem Inneren der Helmholtz-Spulen zu entfernen. So wird verhindert, dass sie Streufelder erzeugen, welche mit den experimentell gewünschten Feldern interagieren. Experimente an Vögeln werden, soweit möglich, in Holzschuppen durchgeführt, und die Emlen-Trichter sind aus nicht-magnetischen und nicht-magnetisierbaren Materialien konstruiert. Die Kryoelektronenmikroskopie erfordert jedoch die Verwendung von Gefrier Guillotinen, um die dünnen Flüssigkeitsschichten vorzubereiten, die für eine ordnungsgemäße Vitrifizierung erforderlich sind, also die Überführung des Proteins in den festen, glasartigen Zustand, der für die Bildgebung notwendig ist. Bedauerlicherweise sind kommerzielle Gefrier Guillotinen randvoll mit Elektronik und ferromagnetischen Materialien und daher für die Arbeit mit einem mutmaßlichen Magnetosensor-Protein ungeeignet. In Zusammenarbeit mit der Zentralwerkstatt von caesar konnten wir eine Gefrier Guillotine nach Maß entwerfen, die aus nicht-magnetischen und nicht-magnetisierbaren Materialien besteht und dennoch die Tieftemperaturen aushält, welche für die Verfestigung unserer Proteinproben erforderlich sind. In Experimenten wurde bestätigt, dass eine zweite Generation dieses Designs (Abb. 1 c) keine Interferenzen mit angelegten Magnetfeldern verursacht. Es kann also für die Vitrifizierung von Proteinproben verwendet werden.

Der Weg nach vorn

Ein Haupthindernis bei der Arbeit mit Proteinen, die so klein sind wie Cryptochrom 4, ist es, genügend Kontrast in kryoelektronenmikroskopischen Bildern zu erhalten. Wir besitzen vorläufige Daten über ein Nicht-Vogel-Cryptoch-

rom und konnten Vitrifizierungsbedingungen finden, die es uns erlauben, das Protein auf unseren Probenträgern mit dem Titan-Krios-Elektronenmikroskop der caesar Core Facility für Elektronenmikroskopie und Analytik zuverlässig nachzuweisen. Dennoch wird jede technische Lösung, die uns hilft, den Kontrast bei der Bildgebung zu erhöhen, ein wichtiger Zugewinn für unser Projekt sein. Obwohl die Kontrastverstärkung in der Elektronenmikroskopie immer noch ein aktives Forschungsgebiet ist, zu dem auch bei caesar weitergeforscht wird, erreichten auch kommerzielle Lösungen vor einigen Jahren den Markt und befinden sich jetzt in einem ausgereiften Zustand. Der Zugang zu Mikroskopen, die damit ausgestattet sind, würde unsere Suche nach dem Nachweis magnetisch induzierter Strukturveränderungen in Cryptochrom 4 sehr vereinfachen.

Zudem entdeckten Wissenschaftler von caesar, mit denen wir zusammenarbeiten, vor kurzem mutmaßliche Signalfunktion des Europäischen Rotkehlchen-Cryptochrom 4, darunter ein Opsin, das sensitiv auf große Wellenlängen reagiert [4]. Opsine sind die zentralen Sensormoleküle für die Lichtdetektion, was auf die Möglichkeit gemeinsamer Signaltransduktionswege hindeutet, was wiederum impliziert, dass Vögel Magnetfeldlinien tatsächlich visuell wahrnehmen könnten. Experimentell würde die Koexpression dieses Opsins zusammen mit Cryptochrom 4 nicht nur die Erzeugung eines biologisch viel interessanteren Protein-komplexes ermöglichen, sondern auch das Problem der geringen Größe des Cryptochroms lösen, da der Komplex beider Proteine viel größer wäre.

Literatur

1. <https://www.google.com/covid19/mobility/>, 27.05.2020
2. Hore, P.J., and Mouritsen, H. (2016). The radical-pair mechanism of magnetoreception. *Annu Rev Biophys* 45, 299-344.
3. Schulten, K., Swenberg, C. E., & Weller, A. (1978). A bio-magnetic sensory mechanism based on magnetic field modulated coherent electron spin motion. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* 111, 1-5.
4. Wu, H., Scholten, A., Einwich, A., Mouritsen, H., and Koch, K.W. (2020). Protein-protein interaction of the putative magnetoreceptor cryptochrome 4 expressed in the avian retina. *Sci Rep* 10, 7364.



MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE

STRUKTURELLE DYNAMIK VON PROTEINEN



Elmar Behrmann

Max-Planck-
Forschungsgruppenleiter

Das Leben ist nicht statisch und das gleiche gilt für die meisten Proteine, die für die Funktionen unserer Zellen unerlässlich 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 möglichst natürlichen 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.

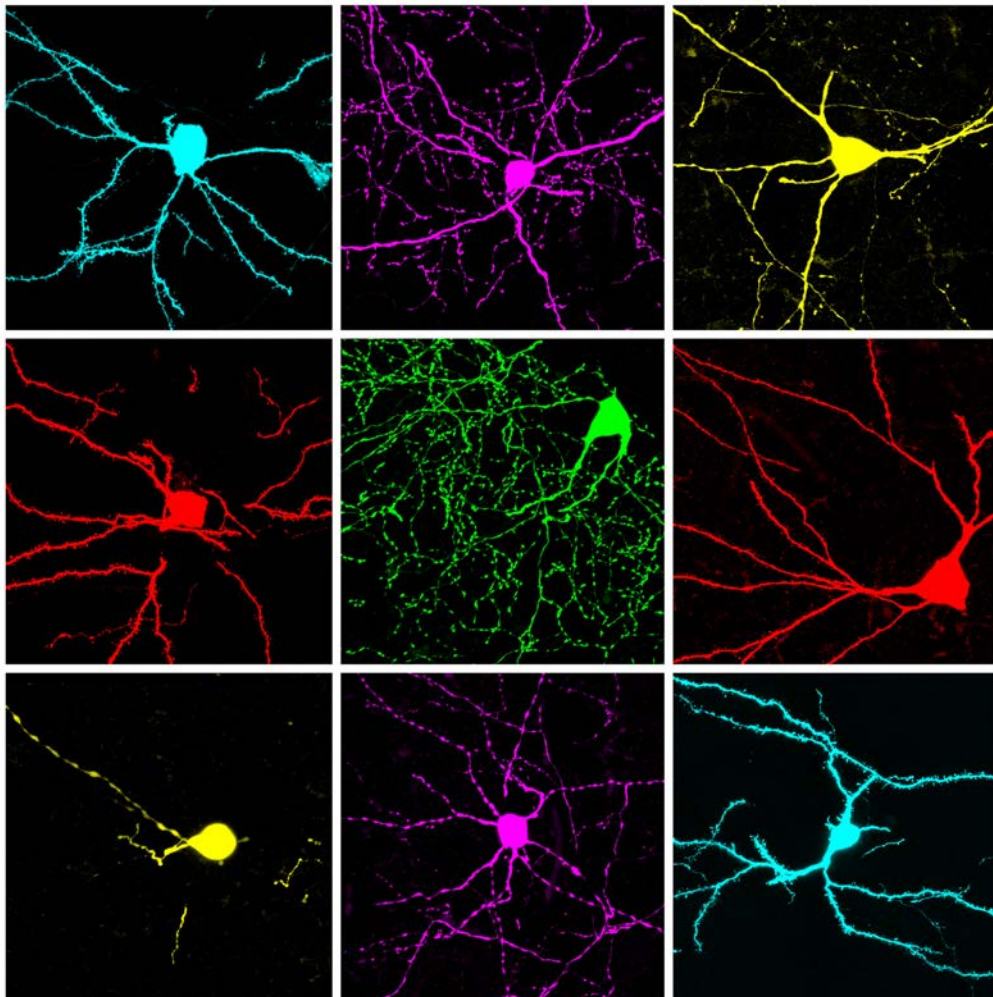


“Das Leben ist nicht statisch und das gleiche gilt für die meisten Proteine, die für die Funktionen unserer Zellen unerlässlich sind.”

Kortex *in Silico* – Digitalisieren Neuronaler Netzwerke

Von Marcel Oberlaender | In Silico Brain Sciences

Im Jahr 2019 sind wir unserem langfristigen Ziel, anatomisch realistische Modelle der Netzwerke des Säugetier-Neokortex zu erstellen, einen großen Schritt näher gekommen. In diesem Bericht werde ich ein Projekt hervorheben, das die Auswirkungen der Neuronenentwicklung auf kortikale Netzwerkarchitekturen untersucht.



Untersuchung der Struktur, Funktion und synaptischen Konnektivität des Neokortex. Neun beispielhafte Neurone aus dem Neokortex der Ratte, deren sensorisch-evozierten synaptischen Inputs und Aktivitätsmuster *in vivo* rekonstruiert bzw. aufgezeichnet wurden. Die Farben weisen auf exzitatorische, dornentragende Neurone in Schicht 4 (cyan) und pyramidale Traktneurone in Schicht 5 (rot) sowie inhibitorische Zelltypen hin: Korbzellen in Schicht 4 (grün), Martinotti- (gelb) und Neurogliaform-Zellen in Schicht 5 (magenta). Abbildung: IBS.



Hintergrund

Zu verstehen, wie das Gehirn in der Lage ist, sensorische Informationen in Verhalten umzuwandeln, ist eine der größten Herausforderungen in den Neurowissenschaften. Obwohl bereits mithilfe von Aktivitätsmessungen im lebenden Tier neuronale Korrelate von Wahrnehmung und Verhalten in verschiedenen Bereichen des Gehirns identifiziert werden konnten, können die elementaren Fragen, 1) wie diese Korrelate innerhalb der zugrundeliegenden neuronalen Netzwerke implementiert sind und 2) wie ihr Output ein Verhalten auslöst, nur dann beantwortet werden, wenn die einzelnen funktionellen Messungen in ein kohärentes Modell aller relevanten neuronalen Schaltkreise integriert werden können.

Meine Gruppe nutzt das Tasthaarsystem der Ratte für die Erstellung eines solchen Modells im Rahmen der Frage, wie eine taktil-vermittelte Wahrnehmung (z.B. Textur) durch das Zusammenspiel verschiedener Zell- und Netzwerkmechanismen kodiert wird. Nagetiere, wie Ratten und Mäuse, bewegen die Tasthaare in ihrem Gesicht, um die Umwelt zu erkunden. Unsere Gruppe hat Ansätze zur Erzeugung eines digitalen (d.h. in silico) Modells der Netzwerke des Tasthaarsystems von Nagetieren entwickelt. Die sich daraus ergebenden anatomisch und funktionell detaillierten neuronalen Netzwerkmodelle ermöglichen die Durchführung von Computersimulationen, die die in vivo Ströme der durch Tasthaare hervorgerufenen Erregung mit subzellulärer Auflösung und Präzision im Millisekundenbereich imitieren. Die Simulationen bieten einzigartige Möglichkeiten, um zu untersuchen, wie das Zusammenspiel zwischen verschiedenen Zell- und Netzwerkeigenschaften zu neuronalen Signalen führen kann, die der sensorischen Informationsverarbeitung [1] und letztendlich sensorisch gesteuertem Verhalten zugrunde liegen.

Der Einfluss der Neuronen- und Neuritenentwicklung auf die kortikale Vernetzung

Der strukturelle Aufbau des Neokortex ist komplexer als der jedes anderen biologischen Gewebes. Jeder Kubikmillimeter enthält hunderte Meter Dendriten und mehrere Kilometer Axone. Diese Neuriten haben ihren Ursprung in Hunderttausenden von Neuronen mit unterschiedlichen strukturellen, funktionellen und/oder genetischen Eigen-

schaften und bilden etwa eine Milliarde synaptischer Verbindungen miteinander. Diese extrem dichte und heterogen zusammengesetzte Struktur des kortikalen Neuropils ist das Ergebnis genetisch induzierter Programme mit unterschiedlichen kritischen Phasen während der embryonalen und postnatalen Entwicklung (Abb. 1). Die Neurogenese in Kombination mit radialer Migration und einigen Neuritenwachstumsmechanismen leiten die Zellkörper (Somata), Dendriten und Axone der Neurone in spezifische Subvolumina des Neokortex. Infolgedessen ist die zelluläre Organisation für jedes Gebiet des Neokortex und jede Spezies hochspezifisch. Darüber hinaus entwickeln Dendriten- und Axonmorphologien Eigenschaften, die – je nach Zelltyp – mit verschiedenen charakteristischen Merkmalen eines Gebietes korrelieren.

Einmal entwickelt, bleiben die Neuronenverteilungen sowie die Dendriten- und Axonmorphologien während der gesamten Lebensdauer weitgehend stabil. Diese Eigenschaften, die die spezifische strukturelle Komposition jedes kortikalen Bereichs definieren, bilden somit lebenslange Randbedingungen, die festlegen, welche Neuriten – und aus welcher neuronalen Population – grundsätzlich synaptische Verbindungen miteinander eingehen können. In welchem Maß die Entwicklung von Neuronen und Neuriten zur Architektur von neokortikalen Netzwerken beitragen könnte, ist allerdings noch unbekannt. Die Beantwortung dieser grundlegenden Frage ist mit mehreren Herausforderungen verbunden. Während der Entwicklung und in einem geringen Ausmaß während des gesamten Lebens eines Tieres werden die Verschaltungen des Neokortex durch Lernen und Erfahrung verändert. Im Gegenzug kann Aktivität auch Teil genetisch induzierter Entwicklungsprogramme sein. Zum Beispiel erfordern Mechanismen, die thalamokortikale Axone leiten, sowohl spontane als auch Peripherie-getriebene neuronale Aktivität. Darüber hinaus können sich Synapsen auf der Grundlage genetisch kodierter Vernetzungsregeln bilden, wobei Verbindungen somit von der subzellulären, zellulären und/oder der Zellidentität abhängen. Diese Fülle von Mechanismen, die an der Erzeugung und Remodellierung synaptischer Verbindungen beteiligt sind, stellt eine große Herausforderung dar, wenn man versucht, post hoc auf den Ursprung empirisch beobachteter Vernetzungsmuster zu schließen: Welche Muster könnten die Resultate der Neuronen- und Neuritenentwicklung widerspiegeln? Welche Lernprozesse, Erfahrungen oder genetisch definierte zelluläre Identität – und Kombinationen daraus?

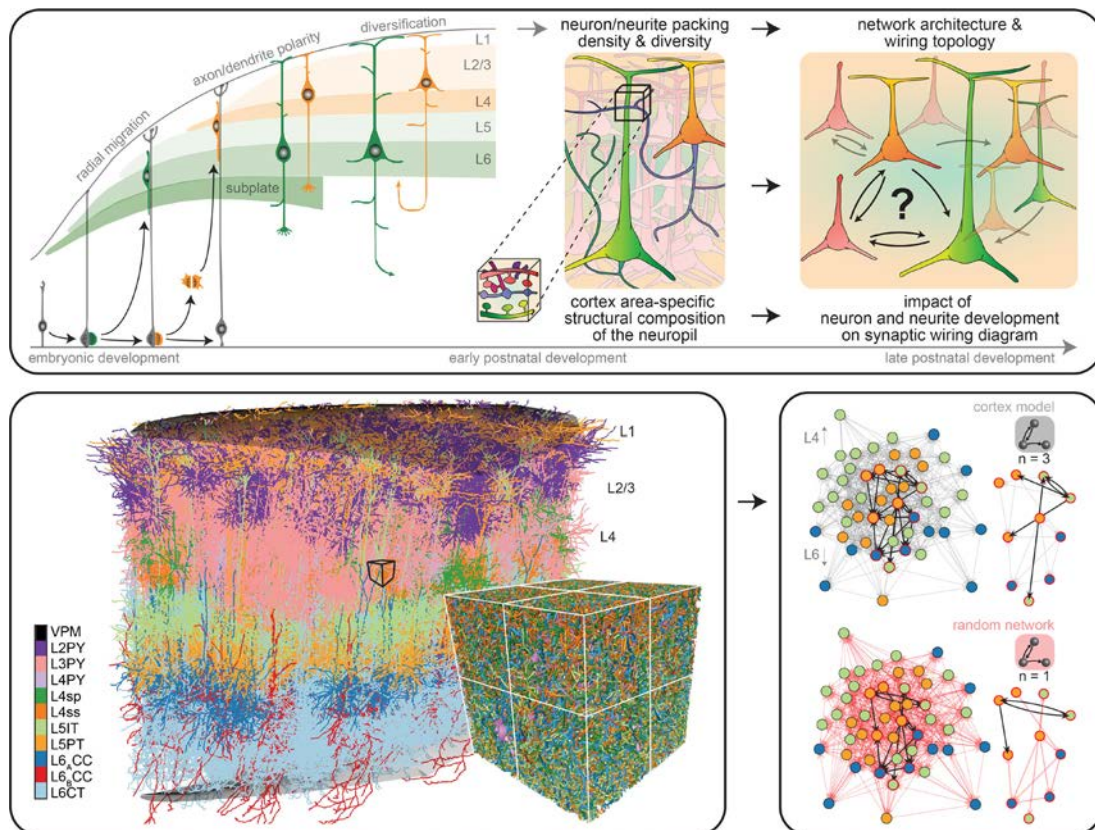


Abbildung 1: Oben: Die Entwicklung der strukturellen Zusammensetzung des Neokortex bildet die Randbedingungen dafür, welche Neuronen synaptische Verbindungen miteinander eingehen können. Unten links: Wir haben ein anatomisch realistisches digitales Modell der Netzwerke des Barrel-Kortex erstellt. Unten rechts: Wir berechnen, wie Vernetzungsdiagramme aussehen würden, wenn sie nur die strukturelle Zusammensetzung widerspiegeln würden. (Udvary et al., in Vorbereitung).

Schließlich beschränken sich die Untersuchungen der Konnektivität im Neokortex

entweder auf Rekonstruktionen kleiner Gruppen von Neuronen oder auf Rekonstruktionen sehr kleiner Volumina. Folglich sind vollständig rekonstruierte Netzwerke und Schaltkreise für ausreichend große Volumina und damit ein quantitativer Vergleich kortikaler Architekturen über Tiere und Entwicklungsstadien hinweg derzeit noch unzugänglich.

Wir befassten uns quantitativ mit diesen Fragen und Herausforderungen, indem wir einen inversen Ansatz entwickelten. Dieser sagt voraus, wie Schaltkreise des Neokortex aussehen würden, wenn sie ausschließlich Entwicklungsprogramme widerspiegeln, die seine strukturelle Zusammensetzung formen – d.h. in Abwesenheit von Lernprozessen und genetisch kodierten Vernetzungsregeln.

Wir haben unseren Ansatz auf den Teil des Neokortex angewandt, der für die Tasthaare relevant ist – den Barrel-Kortex. Im Laufe des letzten Jahrzehnts haben wir syste-

matisch die Verteilung von Neuronen [2] und Neuriten [3] innerhalb des Barrel-Kortex der Ratte und die Innervation dieses kortikalen Bereichs durch Axone aus dem primären thalamischen Kern des Tasthaarsystems [4] – dem VPM – charakterisiert. Wir haben diese Daten nun kombiniert, um ein digitales Modell der strukturellen Zusammensetzung des Barrel-Kortex zu erstellen. Wir zeigen, dass das Modell anatomisch realistische Schätzungen für die Verteilungen der zelltypspezifischen Soma-, Dendriten- und Axon-Packungsdichte über ein Volumen liefert, das groß genug ist, um die zugrunde liegenden Prinzipien zu erfassen, die die zelluläre und morphologische Organisation des Barrel-Kortex charakterisieren (Abb. 1). Das Modell ermöglichte somit die Berechnung aller möglichen Schaltkreise sowie ihrer jeweiligen Wahrscheinlichkeiten, die aus den basierenden Verteilungen der prä- und postsynaptischen Strukturen stammen könnten. Diese Wahrscheinlichkeitsverteilung der Vernetzungsdiagramme – als "statistisches Connectom" bezeichnet – offenbarte direkte Zusammenhänge zwischen der strukturellen Zusammensetzung des

Barrel-Kortex und den daraus entstehenden Netzwerken. Komplexe Netzwerkeigenschaften im Neokortex können daher direkt aus der strukturellen Zusammensetzung des zugrunde liegenden Neuropils entstehen. Diese Theorie sagt Eigenschaften der Netzwerke des Barrel-Kortex voraus, die bemerkenswert konsistent mit den derzeit verfügbaren empirischen Daten sind

Ausblick

Wir entwickeln derzeit neuartige experimentelle und theoretische Ansätze, um zu untersuchen, wie Säugetiere robuste Sinneswahrnehmungen erzeugen können. Insbesondere die Fähigkeit, Objekte unabhängig vom Kontext zu identifizieren – wie etwa Variationen der Position, Größe oder Orientierung des Objektes – wurde im visuellen und somatosensorischen System sowohl bei Primaten als auch bei Nagetieren beobachtet. Die Berechnungen, die zu invarianten neuronalen Darstellungen führen, sind jedoch nach wie vor nur unzureichend verstanden. Wir streben daher an, die zellulären und Schaltkreismechanismen zu untersuchen, die der kontextinvarianten Wahrnehmung von Texturen im Tasthaarsystem von Nagetieren zugrunde liegen. Die taktile Texturunterscheidung ist ein ideales experimentelles Paradigma, mit dem sich Wahrnehmung untersuchen lässt. Nagetiere lernen schnell, willkürliche Texturen zu unterscheiden, selbst wenn Parameter wie Position, Winkel oder Form der präsentierten Texturen va-

riert werden. Zudem kann bereits ein einzelnes Tasthaar ausreichend Informationen für dieses Verhalten liefern, was die Analyse von Bewegung, sensorischem Input und relevanten neuronalen Schaltkreisen vereinfacht.

Wir konzentrieren unsere Untersuchungen auf die pyramidalen Traktneurone. Diese Neurone integrieren thalamokortikale Erregung mit intrakortikalen und top-down kortikokortikalen Inputs und senden die Ergebnisse dieser Integrationsprozesse an verschiedene Zielregionen. Aktuelle [5] und vorläufige Arbeiten aus unserem Labor zeigen, dass thalamokortikale Neurone zwei getrennte Gating-Mechanismen auslösen, die es den pyramidalen Traktneuronen ermöglichen, alle synaptischen Inputs, die gleichzeitig auf ihren Dendriten eingehen, zuverlässig miteinander zu integrieren. Wir stellen daher die Hypothese auf, dass das thalamokortikale Gating es den pyramidalen Traktneuronen ermöglicht,

Informationen über den sensorischen Input und den Kontext, in dem er präsentiert wurde, miteinander zu kombinieren. Um diese Hypothese zu testen, charakterisieren wir derzeit die Verteilungen der thalamokortikalen Synapsen entlang der Dendriten von in vivo aufgezeichneten pyramidalen Traktneuronen mit Hilfe eines optogenetischen Ansatzes, den wir kürzlich in unserem Labor entwickelt haben (Abb. 2). Wir werden diese Daten kombinieren, um unser Barrel-Kortex-Netzwerkmodell weiter zu entwickeln. Wir werden dieses Modell für Simulationen verwenden, in denen wir untersuchen, wie tha-

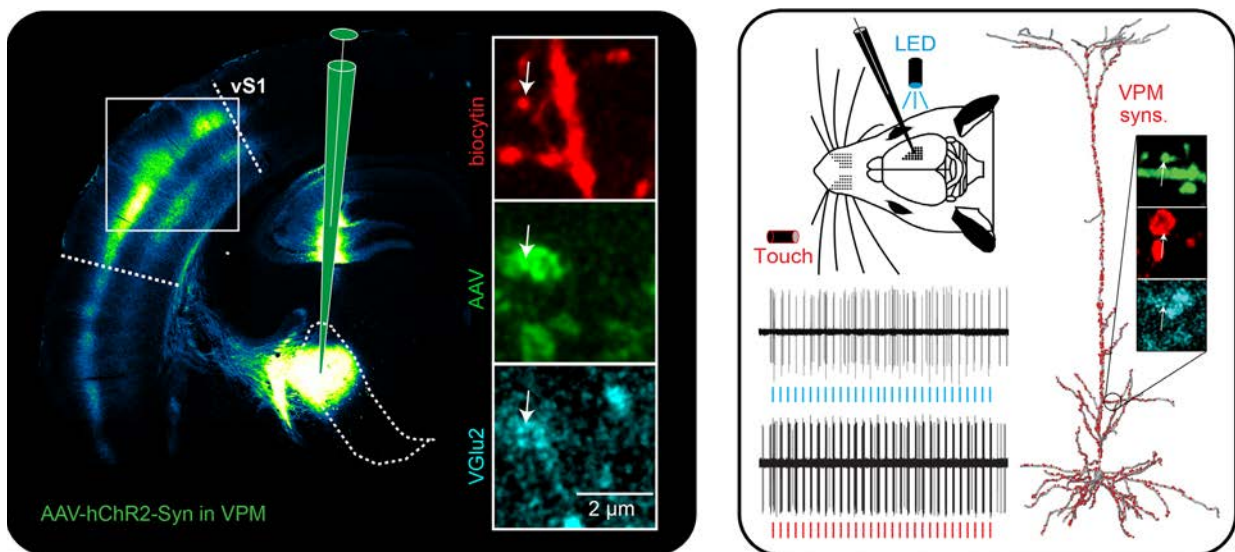


Abbildung 2: Links: Wir kombinieren in-vivo-Aktivitätsmessungen mit Injektionen eines Adeno-assoziierten Virus (AAV) in den VPM-Thalamus, um einen Licht-aktivierbaren Ionenkanal und einen fluoreszierenden Marker innerhalb der thalamokortikalen Synapsen zu exprimieren. Neurone werden rekonstruiert und thalamokortikale Synapsen mit Hilfe super-auflösender Mikroskopie erkannt. Rechts: Vorläufige Daten von VPM-Synapsen entlang der Dendriten der pyramidalen Traktneurone vs. durch Licht und Tasthaare hervorgerufene Reaktionen.



lamokortikales Gating die Integration von intrakortikalen mit top-down kortikokortikalen Inputs regulieren kann. Schließlich werden wir die in silico-Vorhersagen an Ratten testen, die eine Textur-Unterscheidung durchführen.



Literatur

1. Landau, I.D., Egger, R., Dercksen, V.J., Oberlaender, M., and Sompolinsky, H. (2016). The impact of structural heterogeneity on excitation-inhibition balance in cortical networks. *Neuron* 92, 1106-1121.
2. Meyer, H.S., Egger, R., Guest, J.M., Foerster, R., Reissl, S., and Oberlaender, M. (2013). Cellular organization of cortical barrel columns is whisker-specific. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 19113-19118.
3. Narayanan, R.T., Egger, R., Johnson, A.S., Mansvelder, H.D., Sakmann, B., de Kock, C.P., and Oberlaender, M. (2015). Beyond columnar organization: cell type- and target layer-specific principles of horizontal axon projection patterns in rat vibrissa cortex. *Cereb Cortex* 25, 4450-4468.
4. Oberlaender, M., Ramirez, A., and Bruno, R.M. (2012). Sensory experience restructures thalamocortical axons during adulthood. *Neuron* 74, 648-655.
5. Egger, R., Narayanan, R.T., Guest, J.M., Bast, A., Udvary, D., Messore, L.F., Das, S., de Kock, C.P.J., and Oberlaender, M. (2020). Cortical output is gated by horizontally projecting neurons in the deep layers. *Neuron* 105, 122-137 e128.



MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE IN SILICO BRAIN SCIENCES



Marcel Oberlaender

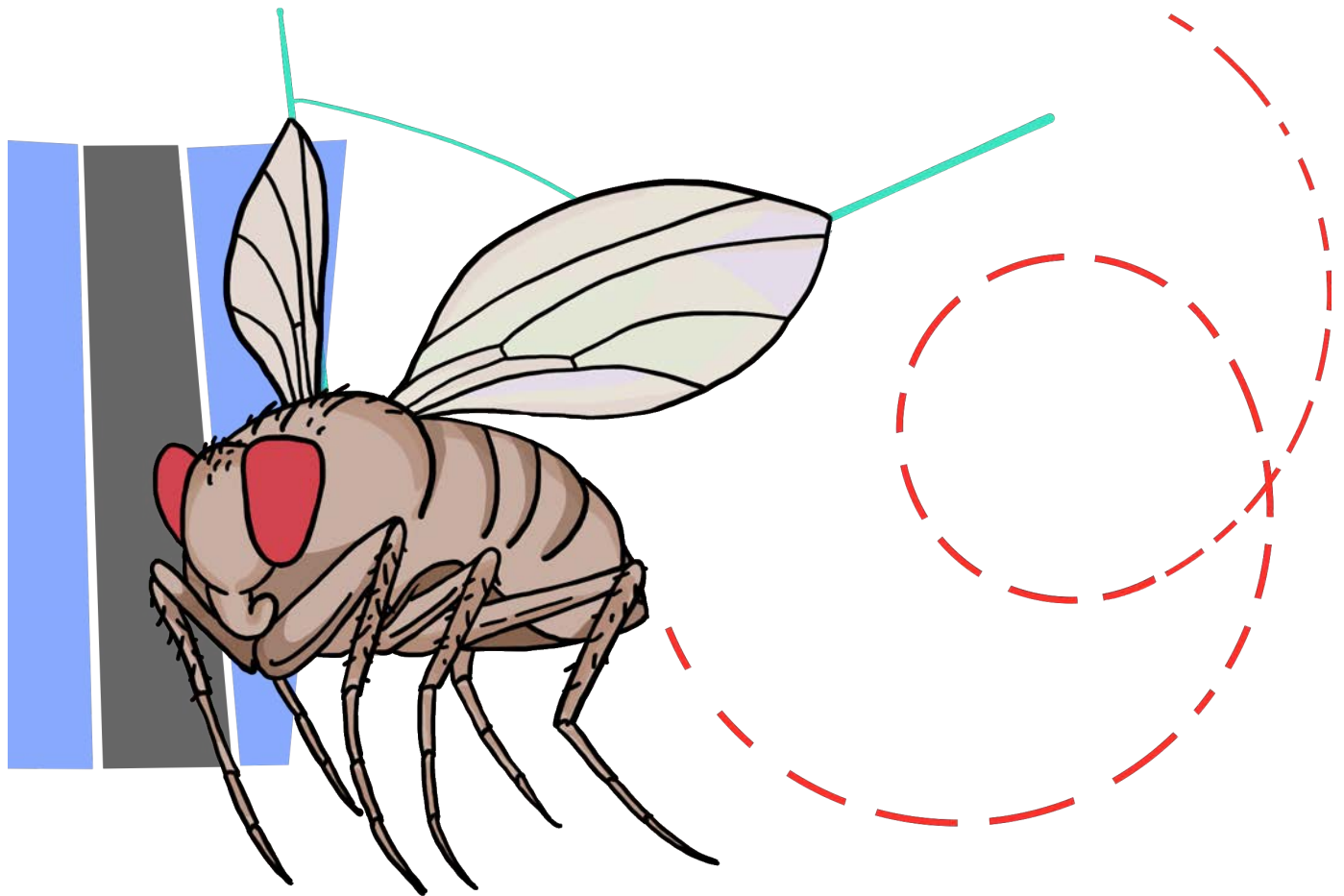
Max-Planck-
Forschungsgruppenleiter

Das übergeordnete Ziel der In Silico Brain Sciences Gruppe ist es, zu verstehen, wie das Zusammenspiel von biophysikalischen, synaptischen, zellulären und Netzwerkmechanismen im Gehirn von Säugetieren die Wahrnehmung kodiert und Verhaltensreaktionen auslösen kann, wie z.B. die Entscheidungsfindung während einer sensorisch-motorischen Aufgabe. Um dieses Ziel zu erreichen, verfolgt meine Gruppe einen multidisziplinären Ansatz, in dessen Rahmen Methoden der Netzwerkanatomie mit denen der Zellphysiologie und der rechnergestützten Modellierung kombiniert werden. Im Rahmen unserer Forschungsarbeit sollen so anatomisch realistische neuronale Netzwerkmodelle generiert und diese *in-silico*-Darstellungen des Säugetiergehirns für Simulationsexperimente genutzt werden, die *in-vivo*-Bedingungen reproduzieren, z.B. während sensorisch induziertem Verhalten, wie dem Unterscheiden von Texturen.

Kontrolle der sakkadischen Wendungen von *Drosophila*

Von Bettina Schnell | **Neurobiology of Flight Control**

Wir nutzen die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* als Modellsystem und untersuchen anhand ihrer Flugmanöver, wie Verhaltensweisen von neuronalen Schaltkreisen kontrolliert werden. Wir ermitteln auch, wie der Verhaltenszustand eines Tieres die Verarbeitung von sensorischen Informationen beeinflusst.



Das Ziel unserer Gruppe ist es, die individuellen Neurone zu identifizieren und zu untersuchen, die die Lenkmanöver der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* während des Fluges kontrollieren. Abbildung: caesar.

Drosophila als Modellsystem

Um sich in der Welt zurecht zu finden, sind Tiere stark auf Sinnesreize angewiesen, die z.B. Hindernisse, Nahrungsquellen, potenzielle Partner oder Raubtiere signalisieren können. Wie ein Tier auf solche Reize reagiert, hängt stark von seinem Verhaltens- und Motivationszustand ab. Das Hauptinteresse meiner Forschungsgruppe besteht darin, herauszufinden, wie das Nervensystem die für die sensorischen Reize angemessene Reaktion auswählt und steuert. Wir nutzen die Flugmanöver der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* als Modellsystem. Sie eignet sich für diese Fragestellung besonders, und das aus verschiedenen Gründen.

Erstens ist es bei kopffixierten Fliegen möglich, die Steuermanöver als Veränderungen der Bewegungsparameter der Flügel zu messen. Wir können auch die Aktivität einzelner Neurone mit der *Whole-Cell Patch-Clamp*-Technik aufzeichnen und so nach neuronalen Korrelaten des beobachteten Verhaltens suchen. Zweitens scheint es uns aufgrund der Einfachheit des Fliegengehirns – es besteht aus nur etwa 100.000 Neuronen – möglich, jene Schaltkreise vollständig zu beschreiben, die ein bestimmtes Verhalten in *Drosophila* auslösen. In der Fliege sind einzelne Neurone beschrieben, die von hoher Relevanz scheinen, da sie für eine bestimmte motorische Aktion notwendig oder ausreichend sind [1]. Drittens wird die Untersuchung der Neurone und der Schaltkreise, die sie bilden, durch das in *Drosophila* bereits vorhandene genetische Toolkit unterstützt, mit dessen Hilfe die Aktivität der Neurone, die von Interesse sind, leicht manipuliert werden kann.

Das zentrale Ziel meiner gegenwärtigen Forschung ist es, die Mechanismen aufzudecken, mit denen neuronale Schaltkreise die Steuerungsmanöver in *Drosophila* kontrollieren. Jene peripheren sensorischen Schaltkreise, welche visuelle Informationen für eine präzise Steuerung der Flugbahn verarbeiten, wurden bereits intensiv erforscht. Vor allem die großen tangentialen Zellen innerhalb der optischen Loben der Fliege, Tangentialzellen der Lobula-Platte (Lobula Plate Tangential Cells, LPTCs) genannt, wurden vielfach untersucht. Sie reagieren auf großflächige Bewegungen richtungsselektiv und steuern vermutlich kompensatorische optomotorische Reaktionen. Es ist jedoch wenig darüber bekannt, wie sensorische Informationen tatsächlich in einen motorischen Code übersetzt

und an das motorische System übertragen werden und wie dieser Prozess durch den Verhaltenszustand des Tieres beeinflusst wird.

Einfluss einer Efferenzkopie auf bewegungsempfindliche HS-Zellen

Eine Untergruppe von LPTCs, die HS-Zellen, reagieren richtungsselektiv auf horizontale Bewegungen mit abgestuften Änderungen des Membranpotentials [2]. Es wird angenommen, dass sie verantwortlich für die optomotorischen Drehreaktionen auf horizontale Bewegung sind, die sowohl der Stabilisierung des Blicks als auch der geraden Flugbahn dienen. Wenn die Fliege jedoch eine Sakkade ausführt, d.h. eine schnelle Drehung zur Richtungsänderung, muss sie sicherstellen, dass das optomotorische System die Drehung nicht behindert und ihr entgegenwirkt. Dies wird zunächst durch sehr hohe Drehgeschwindigkeiten erreicht, welche nicht zu einer optimalen Stimulation der LPTCs führen. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass bei spontanen Sakkaden eine Efferenzkopie, eine interne Kopie des Bewegungssignals, das Membranpotential der HS-Zellen beeinflusst, was der Reaktion auf den visuellen Reiz, der durch die Eigenbewegung der Fliege hervorgerufen wird, entgegenwirken könnte [3]. Die Funktion dieser Efferenzkopie konnte jedoch nicht abschließend nachgewiesen werden.

Um den Effekt einer Efferenzkopie auf HS-Zellen und ihre Auswirkungen genauer zu untersuchen, zeichnen wir das Membranpotential der HS-Zellen während des kopffixierten Fluges auf: Während der Überwachung der Drehbewegungen verfolgten wir den Unterschied in der Flügelschlagamplitude zwischen beiden Flügeln (*left-right wing stroke amplitude*; L-R WSA, Abb. 1 a, b, nächste Seite). Zusätzlich präsentierten wir den Tieren sich nähernde Stimuli im linken oder rechten Blickfeld, um ausweichende Drehmanöver hervorzurufen. Dieser Stimulus löst große Veränderungen in der L-R WSA aus, die den Drehungen weg von der stimulierten Seite entsprechen (Abb. 1 c, d, obere Felder). Um Effekte aus dem Verhalten vom visuellen Stimulus selbst zu trennen, machten wir uns die Verhaltensvariabilität zu Nutze. Wir verglichen die Versuche, in denen die Fliegen eine Drehung vollzogen, mit denen, in denen sie keine durchführten.

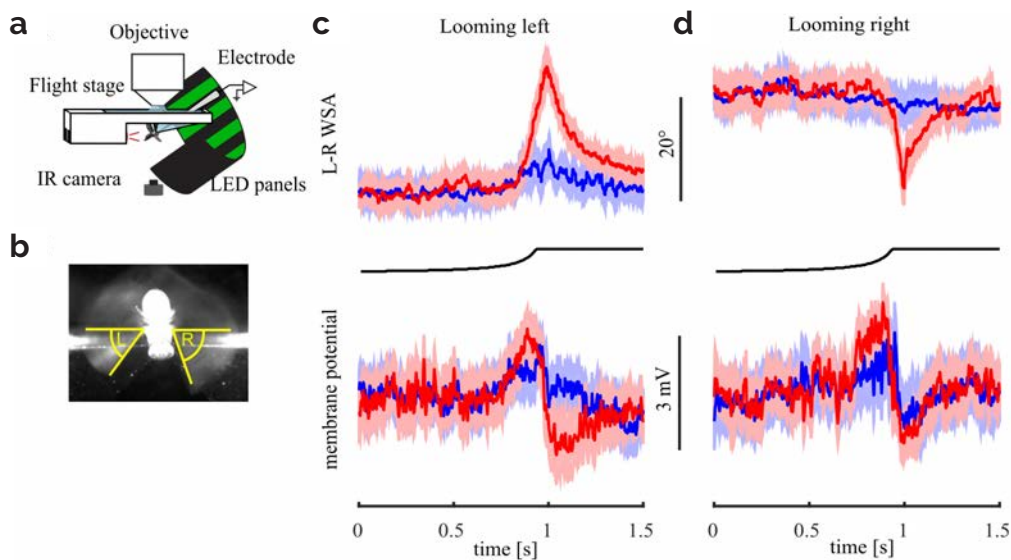


Abbildung 1: a) Schema des Aufbaus. b) Bild einer Fliege, das für die Messung der linken (L) und rechten (R) Flügelschlagamplitude genutzt wurde. c) Änderungen im Verhalten (L-R WSA, oberes Feld) und im Membranpotential der HS-Zellen (unteres Feld) durch Präsentation eines sich nähernden Reizes auf der linken Seite. Individuelle Versuche aller Fliegen wurden gemittelt, je nachdem, ob der Stimulus eine Sakkade auslöste (rot) oder nicht (blau). Schwarze Kurven repräsentieren den sich nähernden Stimulus. N=8. d) Das gleiche wie in (c), aber der sich nähernde Stimulus wurde rechts präsentiert. N=8.

Während wir eine große Variabilität zwischen den einzelnen Zellen feststellten, beobachteten wir im Durchschnitt eine biphasische Reaktion der HS-Zellen mit einer Depolarisation während der ansteigenden Phase der L-R WSA und einer anschließenden Hyperpolarisation während der Ausweichmanöver, die nicht vorhanden oder weniger ausgeprägt ist, wenn die Fliege nicht auf den Stimulus reagiert. Es ist zu beachten, dass der visuelle Reiz in beiden Fällen derselbe ist. Dieser Effekt war bei Rechtsdrehungen (in HS-Zellen der rechten Hirnseite) stärker als bei Linksdrehungen. Diese biphasische Reaktion unterscheidet sich von dem, was bisher bei spontanen Drehungen beobachtet wurde, bei denen die Zellen je nach Richtung der Drehung entweder depolarisieren oder hyperpolarisieren. Um herauszufinden, warum unsere Aufzeichnungen so variabel sind, wollen wir nun untersuchen, ob es Unterschiede zwischen den drei verschiedenen HS-Zellen gibt, die sich in der Lage ihrer rezeptiven Felder unterscheiden (dorsal, medial oder ventral), indem wir sie nach der Ableitung mit einem Farbstoff füllen. Unsere vorläufigen Ergebnisse deuten darauf hin, dass unterschiedliche Verhaltensweisen sehr spezifische Auswirkungen auf die Signalübertragung der HS-Zellen haben können. Es zeichnet sich auch ab, dass neuronale Reaktionen bereits auf der Ebene der sensorischen Systeme sehr spezifisch in Abhängigkeit von der Verhaltensaufgabe moduliert werden. Um zu testen, ob die

Wirkung der vermuteten Efferenzkopie bei Ausweichmanövern stark genug ist, um die Reaktionen auf visuelle Stimuli zu beeinflussen, kombinierten wir den expandierenden Stimulus mit der nachfolgenden Präsentation einer horizontalen Bewegung. Auch hier verglichen wir Fälle, in denen die Fliegen eine Drehung vollzogen, mit solchen, in denen sie keine durchführten. Bei Rechtsdrehungen, die die stärkste Reaktion hervorriefen, beobachteten wir in der Tat, dass die Depolarisation der HS-Zellen bei der Rechtsbewegung anfänglich verringert und in der Folge wieder erhöht wird (Daten nicht gezeigt). Der horizontale Bewegungsreiz ahmt nicht die Geschwindigkeiten nach, die typischerweise bei Sakkaden auftreten, er ist stattdessen optimal für HS-Zellen, was erklären könnte, warum die Reduktion gering ist. Bei einer nach links gerichteten Bewegung stellen wir eine stärkere Hyperpolarisation bei ausweichenden Drehungen fest (Daten nicht gezeigt). Dies deutet darauf hin, dass die Efferenzkopie in der Lage ist, die Reaktionen auf die visuelle Rotation zu beeinflussen, was die Verhaltensreaktionen auf optomotorische Stimuli verändern könnte.

Kontrolle von Sakkaden durch ein absteigendes Neuron

Während meiner Postdoktorandenarbeit identifizierte ich mit Hilfe von 2-Photonen-Calcium-Imaging ein absteigen-

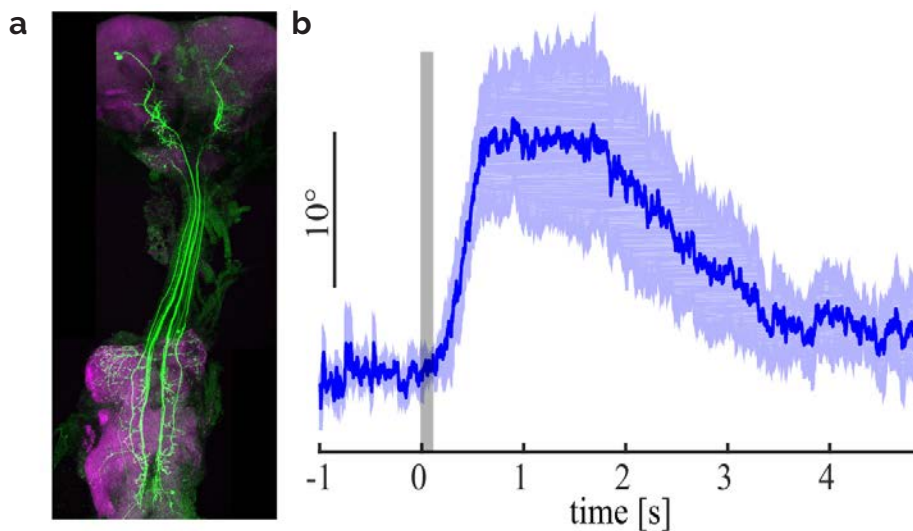


Abbildung 2: a) Die Split-Gal4-Linie markiert das absteigende Neuron, welches mit Drehmanövern korreliert ist (grün). b) Vom Ausgangswert subtrahierte Veränderungen in der L-R WSA bei lokaler Applikation von ATP (schattierte graue Fläche) auf P2X2 exprimierende Neurone. N=3.

des Neuron, dessen Aktivität stark mit schnellen Veränderungen der L-R WSA während des Fluges korreliert, welche wahrscheinlich den Sakkaden im freien Flug entsprechen [4]. Diese Korrelation war sowohl für spontane als auch für durch Stimulus ausgelöste Drehungen festzustellen. Obwohl das Neuron im Allgemeinen nicht durch großflächige horizontale Bewegung aktiviert wird, die eine optomotorische Reaktion hervorruft, kann seine Aktivität einen Teil der beobachteten Verhaltensvariabilität

als Reaktion auf diesen Stimulus erklären. In Fällen, in denen das Neuron auf einer Seite während der horizontalen Bewegung aktiv war, führte dies zu einer sehr deutlichen Verhaltensreaktion auf Bewegung zur ipsilateralen Seite hin. Im Gegensatz dazu wurde die durch die Bewegung zur kontralateralen Seite ausgelöste Drehreaktion unterdrückt oder sogar umgekehrt, wenn das Neuron aktiv war. Wir arbeiten nun daran, weitere elektrophysiologische Aufzeichnungen von diesem und ähnlichen Neuronen während des fixierten Fluges zu erhalten, um genauer zu untersuchen, unter welchen Bedingungen sie aktiv sind. Wir wollen zum Beispiel wissen, ob das Neuron eine Aktivität zeigt, wenn die Fliege nicht mit einer Drehung auf einen sich annähernden Stimulus reagiert, und ob es bei Sakkaden in die entgegengesetzte Richtung eine Hemmung zeigt. Geplant ist auch, Reaktionen auf olfaktorische Reize testen, die Drehungen auslösen können.

Die künstliche Aktivierung dieses Neurons während des fixierten Fluges, die wir durch die Expression des ATP-gesteuerten Ionenkanals P2X2 in diesem Neuron und die lo-

kale Applikation von ATP durch eine Mikropipette erreichen, genügt, um die erwarteten Veränderungen in der L-R WSA auszulösen. Dieses Ergebnis haben wir nun mit einer sehr spezifischen genetischen Treiberlinie bestätigt, die wir durch eine Zusammenarbeit mit Prof. Michael Dickinson erhalten haben (Abb. 2). Dies deutet darauf hin, dass einzelne absteigende Neurone einen starken Einfluss auf das Flugverhalten haben können.

Untersuchung des Freiflugverhaltens von *Drosophila*

Der Nachteil der oben beschriebenen Aktivierungsexperimente ist, dass sie während des fixierten Fluges durchgeführt wurden, bei dem sich die Kinematik des Flügelschlags sehr von den Manövern im freien Flug unterscheiden kann [5]. Wir konstruierten daher eine Apparatur, die es uns erlaubt, die Flugbahn von Fliegen in einer kreisförmigen Arena zu verfolgen, und zwar in einer Auflösung, die es möglich macht, Sakkaden zu erkennen. Mit diesem Aufbau wollen wir die Auswirkungen einer Hemmung oder Aktivierung des absteigenden Neurons mittels genetischer Hilfsmittel testen. Für letzteres wollen wir rotverschobene Channelrhodopsine wie csChrimson verwenden, die allerdings einseitig exprimiert werden müssen, um Drehungen zu einer bestimmten Seite auslösen zu können.

Hierfür stehen Werkzeuge zur Verfügung, die eine stochastische Expression von genetischen Konstrukten innerhalb einer genetischen Treiberlinie ermöglichen. Wir



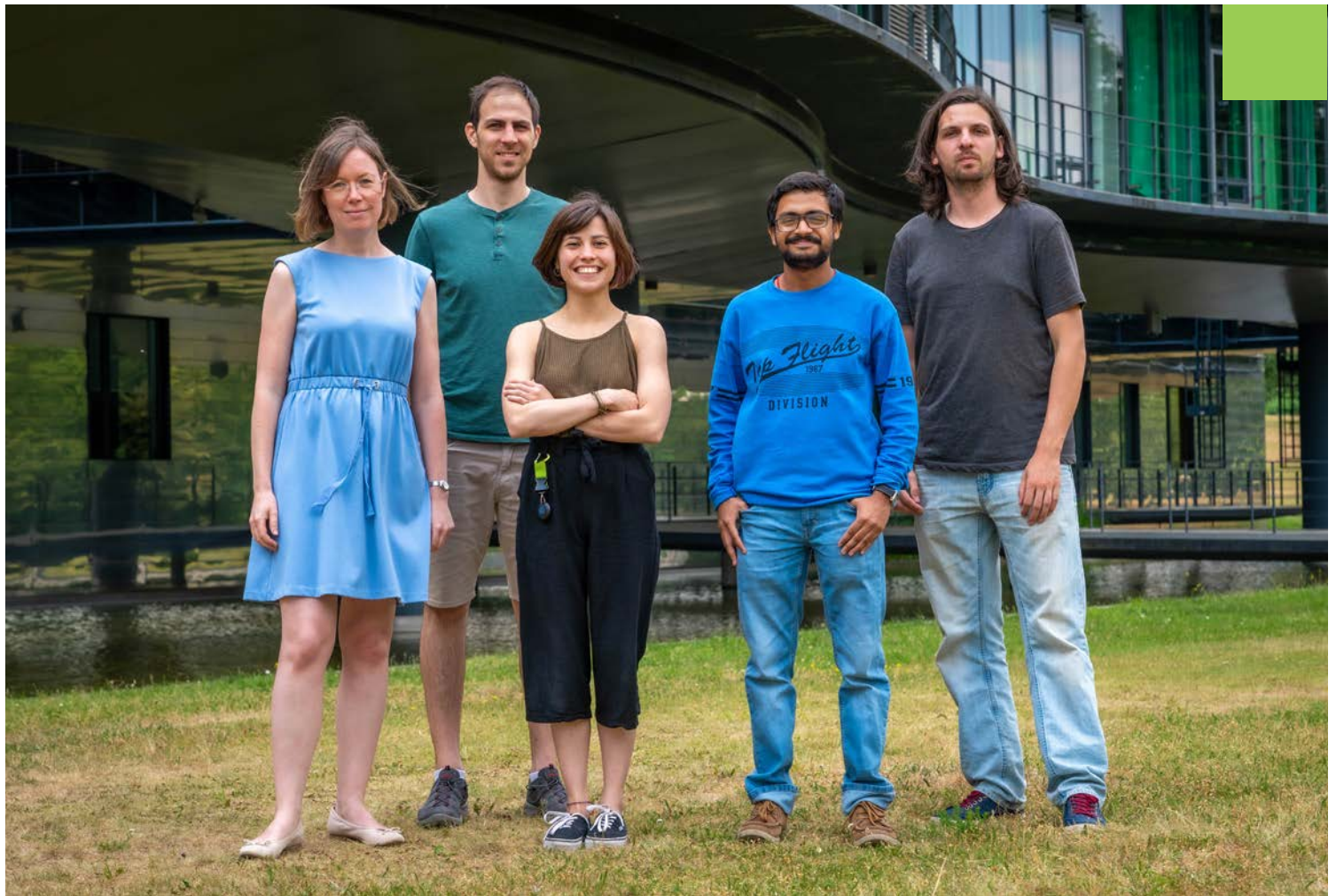
sind derzeit dabei, diese Werkzeuge zu testen und den Lichtreiz zur Aktivierung von csChrimson zu etablieren. Mit dem Aufbau wollen wir insbesondere herausfinden, ob die Aktivierung des oben beschriebenen absteigenden Neurons ausreicht, um eine komplette Sakkade auszulösen, die typischerweise aus einer Steilkurve und einer anschließenden Drehung um die Gierachse besteht, um die Fliege auf ihre neue

Flugrichtung auszurichten, oder ob das Neuron nur einen Teil dieses komplexeren Manövers steuert. Langfristig können wir mit diesem Aufbau testen, wie sich die Hemmung und Aktivierung anderer absteigender Neurone auf das Flugverhalten auswirkt



Literatur

1. Bidaye, S.S., Machacek, C., Wu, Y., and Dickson, B.J. (2014). Neuronal control of *Drosophila* walking direction. *Science* 344, 97-101.
2. 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* 103, 1646-1657.
3. Kim, A.J., Fitzgerald, J.K., and Maimon, G. (2015). Cellular evidence for efference copy in *Drosophila* visuomotor processing. *Nat Neurosci* 18, 1247-1255.
4. Schnell, B., Ros, I.G., and Dickinson, M.H. (2017). A descending neuron correlated with the rapid steering maneuvers of flying *Drosophila*. *Curr Biol* 27, 1200-1205.
5. Muijres, F.T., Elzinga, M.J., Melis, J.M., and Dickinson, M.H. (2014). Flies evade looming targets by executing rapid visually directed banked turns. *Science* 344, 172-177.



EMMY-NOETHER-FORSCHUNGSGRUPPE

NEUROBIOLOGY OF FLIGHT CONTROL



Bettina Schnell

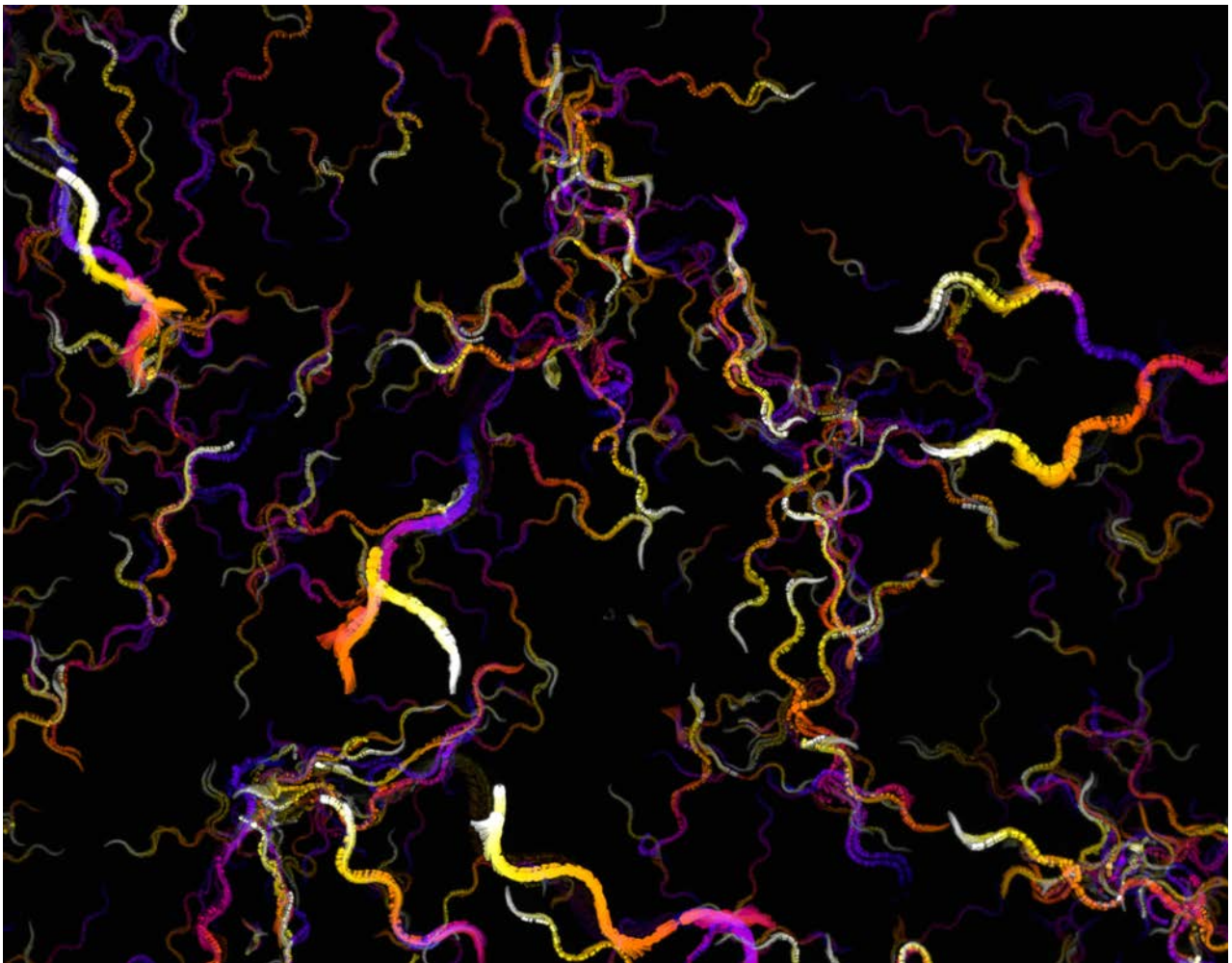
Emmy-Noether-
Forschungsgruppenleiterin

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 Neurone in kopffixierten, aber fliegenden Fliegen zu messen. Außerdem nutzen wir das umfangreiche genetische Toolkit, das für *Drosophila* zur Verfügung steht, um die Funktion bestimmter Neurone zu manipulieren. Wir kombinieren diese Techniken, um einzelne Neurone, die Lenkmanöver während des Fluges 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.

Futtersuche – Den Würmern auf der Spur

Von Monika Scholz | **Neuronaler Informationsfluss**

Indem wir das Verhalten des winzigen Fadenwurms *C. elegans* bei der Futtersuche beobachten, untersuchen wir, wie mehrere Verhaltensweisen über gemeinsame Informationen koordiniert werden. Die Hochdurchsatz-Bildgebung erlaubt es uns, das Verhalten von vielen Tieren zur selben Zeit aufzunehmen, während diese nach Futter suchen.



Wie die Nase eines Hundes: Spuren vieler Würmer auf der Suche nach Bakterien. Die Tiere nutzen ihren sensiblen Geruchssinn, um neue Nahrungsquellen zu finden. Abbildung: NIF.

Die Nahrungssuche ist notwendig, um in einer Welt voller Herausforderungen zu überleben

Tiere haben Zugang zu einer großen Auswahl möglicher Verhaltensweisen und müssen entscheiden, welche davon zu einem bestimmten Zeitpunkt passend ist. Eine dieser Verhaltensweisen ist die Nahrungssuche, bei der die Tiere zwischen der Erkundung ihrer Umgebung und der Ausbeutung von Nahrungsquellen wechseln. Das zeitliche Zusammenspiel von Fortbewegung und Nahrungsaufnahme, beide Verhaltensweisen liegen der Nahrungssuche zugrunde, muss streng kontrolliert werden. Andernfalls führt eine zum falschen Zeitpunkt gestartete Futtersuche bei Nahrungsknappheit zum Verhungern. Wir untersuchen anhand des Futtersuchverhaltens des Fadenwurms *C. elegans*, wie Tiere Fortbewegung und Fressverhalten zeitlich koordinieren. Der Wurm ist ein ideales Modellsystem, um grundlegende Fragen zum Verhalten zu untersuchen, da die biologischen Bausteine des Wurms weitgehend bekannt sind. Nach der Veröffentlichung des Konnektoms im Jahr 1986 folgten in den letzten Jahren vollständige Neurotransmitter-, Rezeptor- und Einzelzell-Transkriptomkarten. Diese Daten bilden eine solide Grundlage für das Verständnis des Verhaltens auf allen Ebenen, von den Funktionen der molekularen Rezeptoren auf die Aktionen einzelner Neurone bis hin zu komplexen Verhaltensweisen.

C. elegans ernährt sich von Bakterien

C. elegans ist ein Bakteriovore, der nur an geeigne-

ten Stellen Nahrung findet. Nährstoffhaltige Orte aus Bakterienkolonien sind durch weite Distanzen ohne Futter voneinander getrennt. Um in dieser schwierigen Umgebung zu überleben, müssen die Tiere diese Kolonien finden und nur dann fressen, wenn sie sich in einer nahrungsreichen Umgebung befinden, da die Nahrungsaufnahme Energie verbraucht [1]. So können die Würmer zum Beispiel ihre Fortbewegungsweise rasch verändern, sobald sie auf eine nahrungsreiche Stelle treffen, und die Aufnahmerate an die Menge der vorhandenen Nahrung anpassen. Es bleibt unklar, in welcher Reihenfolge die Verlangsamung – beim Fund der Nahrung – und die Hochregulierung der Rate – für die Futteraufnahme – erfolgen, und wie sie für effiziente Nahrungssuche geregelt werden. Um zu verstehen, wie diese beiden Verhaltensweisen zusammenhängen, müssen beide gleichzeitig beobachtet werden.

Messung der Nahrungsaufnahme bei einem sich bewegenden Tier

Die Nahrungsaufnahme von *C. elegans* geschieht durch eine Pumpbewegung, eine Art aktives Saugen im Rachenraum. Wir haben bereits Assays entwickelt, um das Pumpen bei immobilisierten Tieren zu messen [2]. Die Untersuchung der Futtersuche erfordert jedoch die Beobachtung der Nahrungsaufnahme am sich frei bewegenden Tier. Sowohl die Nahrungsaufnahme als auch die Fortbewegung zu beobachten, ist aufgrund der großen Skala der beteiligten Zeit- und Längenabschnitte eine Herausforderung: Die Würmer legen bei der Futter-

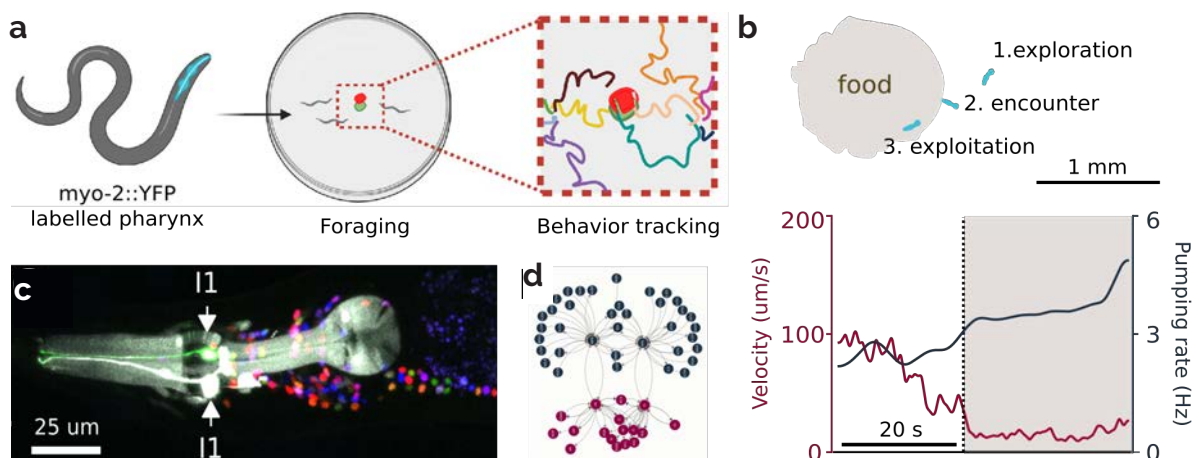


Abbildung 1: Automatisierte Erkennung von Nahrungsaufnahme und Fortbewegung in Tieren auf Nahrungssuche. (a) Schema eines Futtersuch-Assays für *C. elegans*. Die Würmer werden in einer Arena mit einer millimetergroßen Nahrungsquelle platziert und während der Nahrungssuche abgebildet. (b) Die Phasen der Nahrungssuche: Erkundung, Fund und Ausbeutung. Geschwindigkeit und Fressgeschwindigkeit der Tiere, die in eine Bakterienkolonie eindringen. Zum Zeitpunkt der Begegnung (schwarze, gestrichelte Linie) verlangsamten sich die Tiere und erhöhen ihre Fressgeschwindigkeit. (c) Scan aller Neurone des Wurmgehirns, mit hervorgehobenem Engpass zwischen Pharynx und somatischem Netzwerk (weißer Text). (d) Schema des Engpasses.



suche mehrere Zentimeter im Minutentakt zurück, während das Organ zur Nahrungsaufnahme nur um 10 µm per Kontraktion verlagert wird. Um diese Herausforderung zu meistern, nutzen wir Tiere, die fluoreszierende Reporterproteine im Rachenmuskel exprimieren (Abb. 1 a). Wir haben eine Reihe kostengünstiger Mikroskope mit schnellen 4k-Kameras entwickelt, dank derer wir pro Tag Hunderte von Würmern beobachten können. Unsere vollautomatische Tracking-Software ermöglicht es uns, die Nahrungsaufnahme in diesen Verhaltensaufzeichnungen präzise ausfindig zu machen (Abb. 1 b). Dadurch können wir nicht nur die durchschnittlichen Raten der Nahrungsaufnahme quantifizieren, wie es in diesem Forschungsgebiet üblich ist, sondern auch die komplette Verteilung und Variationen zwischen den Tieren.

Störung des neuronalen Netzes

Wir können also Kontraktionen in frei beweglichen Tieren erkennen, während wir ihre Fortbewegung in einem Sichtfeld von der Größe mehrerer Tierkörperlängen verfolgen (Abb. 1 a). Um den neuronalen Schaltkreis, der der Steuerung der Futtersuche zugrunde liegt, systematisch zu untersuchen, entwickeln wir derzeit eine Bibliothek genetischer Werkzeuge, die speziell auf die beteiligten Nervenzellen abzielen (Abb. 1 c). Bislang haben wir Stämme erzeugt, denen Komponenten der olfaktorischen Verarbeitung fehlen, um zu steuern, wie ein Nahrungsreiz durch die bekannten olfaktorischen Neurone AWA, AWB, und AWC erkannt wird. Wir haben auch Tiere gezüchtet, denen ein bestimmter Typ von *Gap Junctions* fehlt, um die Verbindung zwischen dem pharyngealen und somatischen neuronalen Netzwerk zu entfernen. Mit Hilfe dieser Veränderungen können wir herausfinden, wie der Geruch der Nahrung von den sensorischen Neuronen durch das Gehirn und zum Pharynx gelangt und ihm das Signal "Hier ist Nahrung, fang an zu fressen" vermittelt.

Zwei Subnetzwerke steuern Fortbewegung und Nahrungsaufnahme

Die Nahrungssuche ist ein geeignetes Verhalten, um zu verstehen, wie Informationen durch das Gehirn geleitet werden: Fortbewegung und Nahrungsaufnahme werden durch zwei völlig unterschiedliche neuronale Schaltkreise gesteuert. Dennoch müssen beide Kreisläufe während der Nahrungssuche effektiv miteinander kommunizieren. Diese beiden Teilnetz-

werke sind nur durch ein bilaterales Paar von *Gap Junctions* verbunden, die einen Flaschenhals zwischen ihnen ausbilden. Interessanterweise werden dennoch sensorische Informationen zwischen den Netzwerken übertragen. So stoppt eine Berührung, die durch die berührungssensorischen Neurone des somatischen Netzwerks erkannt wird, die Nahrungsaufnahme im Rachenraum. Solche Engstellen kommen sowohl in biologischen als auch in künstlichen Netzwerken häufig vor und sind oft der entscheidende Faktor für die Trennung relevanter Informationen von irrelevanten. Wie Informationen in diesem speziellen neuronalen Engpass übertragen und wie sie komprimiert werden, ist eine Schlüsselfrage meiner Forschungsgruppe (Abb. 1 d).

Der Blick in die Zukunft

Im weiteren Verlauf werden wir systematisch den Kreislauf von der sensorischen Peripherie zur pharyngealen Motorik untersuchen und dabei unseren Verhaltenstest zur Messung der motorischen Koordination verwenden. Wir werden *Calcium-Imaging* des gesamten Gehirns verwenden, um die neurale Aktivität bei nahrungssuchenden Würmern direkt zu beobachten [3], was es uns erlauben wird, die gemessene Leistung des Nervensystems mit theoretischen Vorhersagen zu vergleichen, die auf der Kontrolltheorie basieren. Dieses Projekt wird darüber Aufschluss geben, wie neuronale Systeme sowohl sensorische als auch propriozeptive Informationen teilen, um zwei verschiedene motorische Programme zu koordinieren.

Literatur

1. Scholz, M., Dinner, A.R., Levine, E., and Biron, D. (2017). Stochastic feeding dynamics arise from the need for information and energy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 9261-9266.
2. Scholz, M., Lynch, D.J., Lee, K.S., Levine, E., and Biron, D. (2016). A scalable method for automatically measuring pharyngeal pumping in *C. elegans*. *J Neurosci Methods* 274, 172-178.
3. Scholz, M., Linder, A.N., Randi, F., Sharma, A.K., Yu, X., Shaeviz, J.W., and Leifer, A. (2018). Predicting natural behavior from whole-brain neural dynamics. *bioRxiv* 445643.



MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE NEURONALER INFORMATIONSFLUSS



Monika Scholz

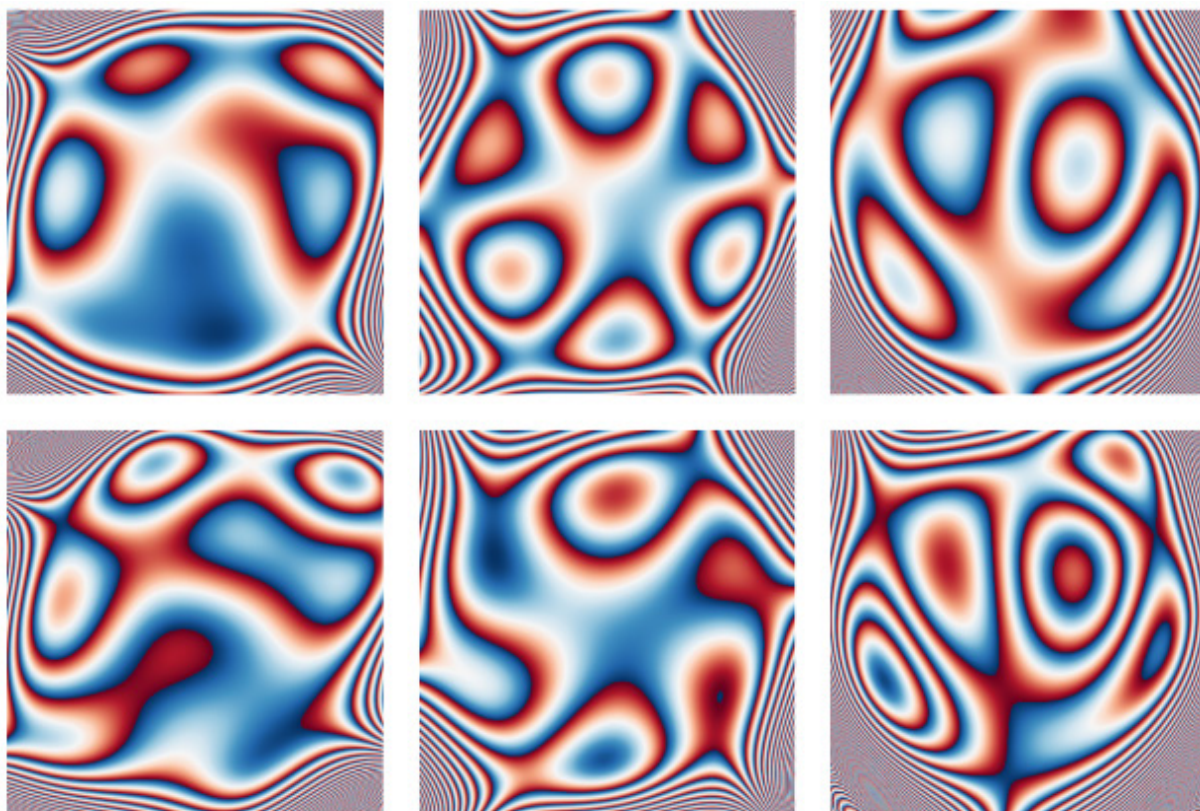
Max-Planck-
Forschungsgruppenleiterin

Das Ziel der Forschungsgruppe 'Neuronaler Informationsfluss' ist es, zu verstehen, wie Tiere verschiedene Informationsquellen integrieren, um ihr Verhalten zu steuern. Wir untersuchen die Nahrungssuche des Fadenwurms *C. elegans*, ein Verhalten, das für das Überleben unerlässlich ist. Das Gehirn des Wurms ist besonders interessant, da Fortbewegung und Nahrungsaufnahme in zwei verschiedenen neuronalen Netzwerken kontrolliert werden, die durch einen Engpass von nur wenigen Neuronen miteinander verbunden sind. Wie Informationen übertragen und zwischen diesen beiden Schaltkreisen komprimiert werden, ist eine Kernfrage meiner Gruppe. Wir verfolgen den Informationsfluss im Gehirn experimentell, indem wir uns Verhaltensassays und *Neural-Activity-Imaging* sowie die Optogenetik und die Genetik zu Nutze machen. Wir erwarten, dass dieser Ansatz Erkenntnisse über die Entscheidungsfindung und die Aufmerksamkeit im kleinen Gehirn eines wirbellosen Tieres liefern wird.

Adaptive Optik mit reflektiertem Licht und neuronalen Netzwerken

Von Johannes Seelig | **Neuronale Schaltkreise**

Streuung und Aberrationen schränken die optische Bildgebung in biologischen Proben ein. Wir entwickeln einen Ansatz, um solche Aberrationen mithilfe von *Machine Learning* und reflektiertem Licht zu korrigieren.



Phasenaberrationen, die mit Hilfe eines neuronalen Netzwerks vorhergesagt wurden (obere Reihe), und die entsprechenden Zielmuster (untere Reihe). Das neuronale Netzwerk ist darauf trainiert, solche Phasenmuster aus Streulichtbildern zu extrahieren, um Aberrationen in der Mikroskopie zu korrigieren. Entnommen aus [4].

Streuung und Aberrationen in biologischem Gewebe

Viele biologische Proben, wie z.B. das Gehirn oder andere Gewebe, die mit Lichtmikroskopen untersucht werden, sind nur teilweise transparent, weshalb sich die Qualität der aufgenommenen Bilder verschlechtert, je tiefer die Beobachtungsebene in die Probe liegt. Bei vielen gängigen optischen Verfahren beschränkt dies die Bildgebung auf die ersten hundert Mikrometer ab der Probenoberfläche, so dass in vielen Fällen invasive Verfahren erforderlich sind, um den optischen Zugang zur Zielstruktur freizulegen. Dies ist zum Beispiel bei der Fruchtfliege *Drosophila* der Fall. Ist das Gehirn der Fliege einmal freigelegt, eignet es sich dank seines kleinen Durchmessers von weniger als einem halben Millimeter eigentlich sehr gut für die optische Bildgebung, und die Nervenzellen des gesamten Gehirns können abgebildet werden. Allerdings liegt das Gehirn bei einer intakten Fliege unter einer undurchsichtigen Kutikula und zusätzlichen Schichten streuenden Gewebes verborgen, die zumindest teilweise entfernt werden müssen, um Zugang zum Gehirn zu erhalten. Obwohl man dies so durchführen kann, dass das Verhalten bei am Kopf fixierten Tieren mit freigelegtem Gehirn noch zuverlässig untersucht werden kann [1], ist die Lebensdauer dieser Art von Präparaten in der Regel auf weniger als einen Tag begrenzt. Insbesondere die Untersuchung neuronaler Aktivität über mehrere Zeitskalen hinweg, zum Beispiel von der schnellen Dynamik neuronaler Netzwerke, die visuell gesteuertem Verhalten zugrunde liegen (im Millisekunden Bereich), bis hin zu Aktivitätsmodulationen, die über lange Wach- und Schlafphasen auftreten (mehrere Stunden), erfordert einen anderen Ansatz.

Während für eine solche Langzeitbildgebung [2] bereits weniger invasive Verfahren entwickelt wurden, ist die Untersuchung des Gehirns in einem völlig intakten Tier zu bevorzugen, um sowohl das Gehirn als auch das Verhalten des Tieres nur minimal zu beeinflussen. Mit diesem Ziel vor Augen entwickeln wir Techniken, die darauf abzielen, die Bildgebung auch durch stark streuende Proben wie die Kutikula und das umliegende Gewebe zu ermöglichen.

Korrektur von Anregungs- und Detektionsaberrationen

Ursprünglich wurden Techniken zur Korrektur der Streuung in der optischen Bildgebung in der Astronomie entwickelt,

wo Lichtstreuung in der Atmosphäre das mit terrestrischen Teleskopen erfasste Sternenlicht verzerrt. Diese astronomischen Ansätze machen sich die punktförmige Natur entfernter Sterne, so genannter Leitsterne, zunutze. Die Art und Weise, in der das aufgenommene Bild eines solchen Leitsterns im Vergleich zu seiner erwarteten punktförmigen Natur verzerrt ist, erlaubt es, auf eine Korrektur der in der Atmosphäre auftretenden Verzerrungen zu schließen. Ein optisches Gerät im Inneren des Teleskops kann dann diese Verzerrungen kompensieren, indem es den optischen Strahlengang in einer Weise verändert, die komplementär zu den in der Atmosphäre auftretenden Verzerrungen ist und diese umkehrt (ähnlich wie eine Brille, die die im Auge auftretenden Aberrationen korrigiert). Solche Korrekturen werden typischerweise mit Hilfe eines räumlichen Lichtmodulators (engl. Spatial Light Modulator, kurz SLM) vorgenommen, der geeignete Korrekturen bei hohen Bildwiederholraten anzeigen kann, was, selbst bei sich schnell ändernden Verzerrungen, zu einem gut fokussierten Bild in der Brennebene führt.

Ähnliche Methoden wurden auch für die Lichtmikroskopie adaptiert, und im Laufe der Jahre um verschiedene Ansätze erweitert. Viele dieser Ansätze verwenden Fluoreszenzkontrast zur Verbesserung der Bildauflösung. Dies funktioniert zwar in vielen Situationen gut, bringt aber das Problem mit sich, dass das Fluoreszenzsignal sehr schwach sein kann, insbesondere bei stark streuenden Proben. Darüber hinaus funktioniert dieser Ansatz nur bei fluoreszenzmarkierten Proben und nicht bei Methoden, die den intrinsischen Probenkontrast für die Bildgebung verwenden. Die Verwendung von reflektiertem Licht anstelle von Fluoreszenz zur Durchführung von Korrekturen kann dagegen bessere Signalpegel liefern und ist unabhängig von der Probenmarkierung, führt aber zu einem neuen Problem: Aberrationen, die sich auf dem Weg zum Fokus akkumulieren, und Aberrationen des vom Fokus zurückreflektierten Lichts sammeln sich an und können nur schwer voneinander getrennt werden, da sie, anders als ihr Fluoreszenzsignal, beide dieselbe Wellenlänge haben. Um jedoch einen Fokus innerhalb der Probe zu bilden, müssen wir diese beiden Aberrationen trennen, da z.B. bei der Fluoreszenzabbildung die Anregungskorrektur zur Korrektur des Bildes erforderlich ist. Es wurden Ansätze entwickelt, die Anregungs- und Detektionsaberrationen trennen können (siehe [3] für eine Übersicht), allerdings sind sie auf die Durchführung einer großen Anzahl von Messungen angewiesen, um die verschiedenen Korrekturen rechnerisch zu extrahieren. Solche

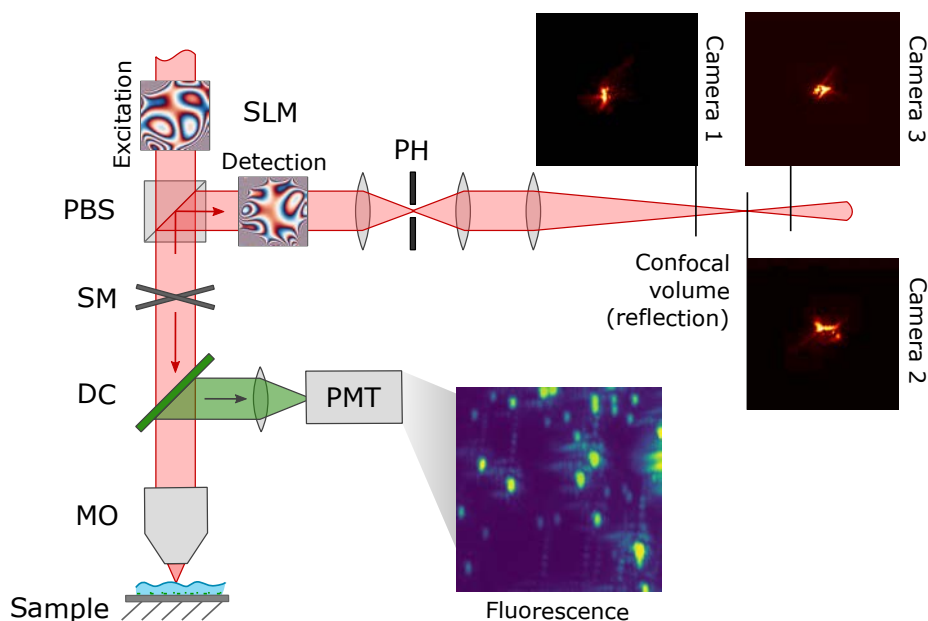


Abbildung 1: Aufbauschema. Ein Zwei-Photonen-Mikroskop wird mit der Detektion von reflektiertem Licht kombiniert. Sowohl die Anregung als auch das reflektierte Licht können unabhängig voneinander phasenmoduliert werden. MO=Mikroskopobjektiv, DC=dichroitischer Spiegel, SM=Scanner-Spiegel, PBS=polarisierender Strahlteiler, SLM Anregung=räumlicher Lichtmodulator in der Anregungsbahn, SLM Detektion=SLM in der Detektionsbahn, PH=Lochblende, PMT=Photovervielfacher-Röhre. Entnommen aus [4].

langen Messzeiten stehen jedoch im Konflikt mit einer weiteren Herausforderung, die bei biologischen Proben auftritt: Diese Proben sind dynamisch, und die Aberrationen können sich innerhalb von Millisekunden verändern.

Machine Learning Ansatz für Anregungs- und Detektionskorrekturen

Um die oben genannten Probleme zu lösen, haben wir einen Ansatz entwickelt, der die Vorteile des Machine Learnings, zu Deutsch maschinelles Lernen, nutzt, um Anregungs- und Detektionskorrekturen zu trennen [4]. Machine Learning ist auf große Datensätze angewiesen, um statistische Regelmäßigkeiten zu finden, die auf andere Weise nur schwer extrahiert werden können. Insbesondere für die Untersuchung von Bilddatensätzen haben sich mehrschichtige neuronale Netze als sehr geeignet erwiesen. Um von diesem Ansatz zu profitieren, haben wir daher zunächst einen großen Datensatz mit Anregungs- und Detektionsaberrationen erzeugt, der eine Vielzahl von potenziell streuenden Proben simuliert, die in Experimenten beobachtet werden könnten. Diese Aberrationsbilder wurden erzeugt, indem ein SLM sowohl im Anregungs- als auch im Detektionspfad eines Mikroskops platziert wurde. Zusätzlich wurde ein Reflektor in der Probenebene positioniert (Abb. 1).

Parallel dazu nahmen wir die resultierenden verzerrten Fokusbilder mit mehreren Kameras auf. Nachdem wir mehrere hunderttausend solcher Bilder erzeugt hatten, trainierten wir mehrschichtige neuronale Netze, um die Anregungs- und Detektionskorrekturmuster auf der Grundlage der Fokusverteilungen des reflektierten Lichts zu erkennen. Wir konnten nachweisen, dass diese künstlichen Muster den Mustern, die von tatsächlich streuenden Proben aufgenommen wurden, ausreichend ähnlich waren, um die Streuung zu korrigieren. Dazu verteilten wir fluoreszierende Kügelchen auf einer reflektierenden Oberfläche und trugen eine aberrierende Schicht aus Vakuumfett darüber auf (Abb. 2). Die reflektierten, verzerrten Fokusbilder ermöglichten es uns dann, Anregungs- und eine Detektionskorrekturen zu finden. Die Anregungskorrektur wurde dann zur Korrektur der Fluoreszenzabbildung mit einem Zwei-Photonen-Mikroskop verwendet. Bemerkenswert ist, dass für diesen Ansatz kein Leitstern erforderlich ist.

Streuender Leitstern für Anregungskorrekturen

In einigen Situationen kann es jedoch durchaus nützlich sein, streuende Leitsterne, wie z.B. kleine Metallpartikel, in eine Probe einzubringen. Sie bieten im Vergleich zu bio-

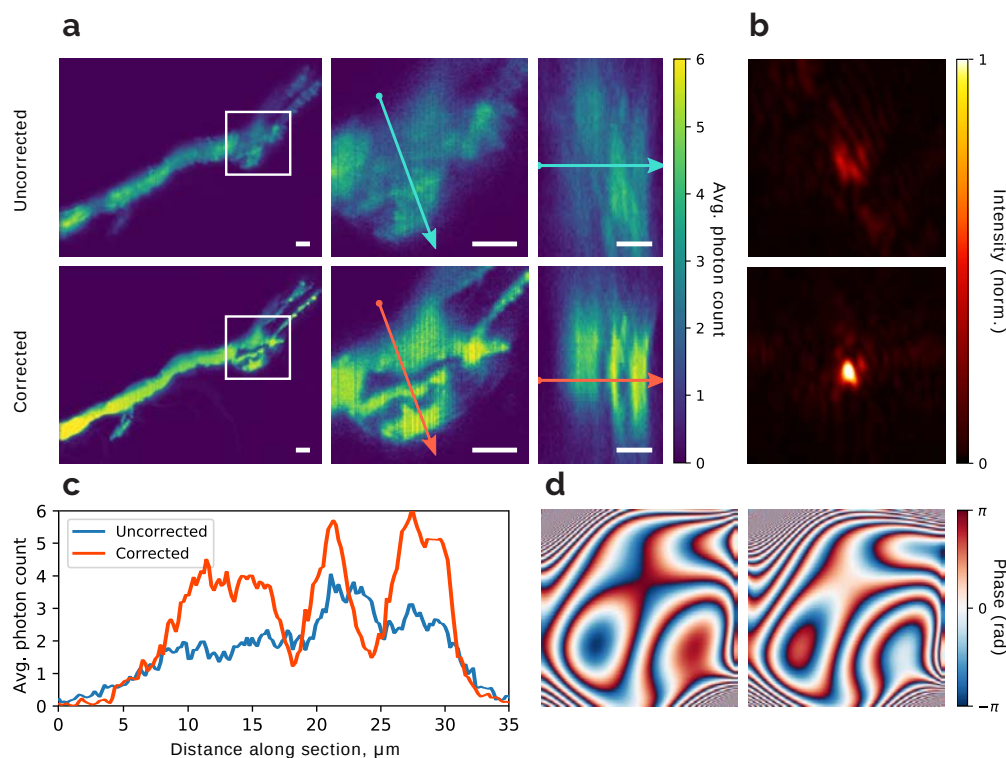


Abbildung 2: Beispiel für Aberrationskorrekturen durch eine streuende Schicht aus Vakuumfett von fluoreszierenden Kügelchen, verteilt auf einer reflektierenden Oberfläche. (a) Links: Beispiel einer korrigierten und einer unkorrigierten Abbildung von fluoreszierenden Kügelchen, verteilt auf einer Reflektoroberfläche, abgebildet durch eine Schicht Vakuumfett. Mitte: weißer Rahmen aus dem linken Bild. Rechts: axialer Querschnitt durch die Linien im mittigen Bild, aufgenommen als Z-Stapel in $1\mu\text{m}$ Schritten. b) Oben: unkorrigierter Fokus im Zentrum des Blickfelds aus a). Unten: korrigiert auf Basis des reflektierten Lichts. Farbskala ist im korrigierten Bild gesättigt, damit Aberrationen in der unkorrigierten Abbildung sichtbar sind. c) Querschnitte für unkorrigierte (blau) und korrigierte (rot) Abbildungen entlang der angedeuteten Linien in Abb. a), Mitte. d) Links: Anregungs- und Rechts: Detektionsphasenmaske. Alle Maßstabsbalken messen $5\mu\text{m}$. Entnommen aus [4].

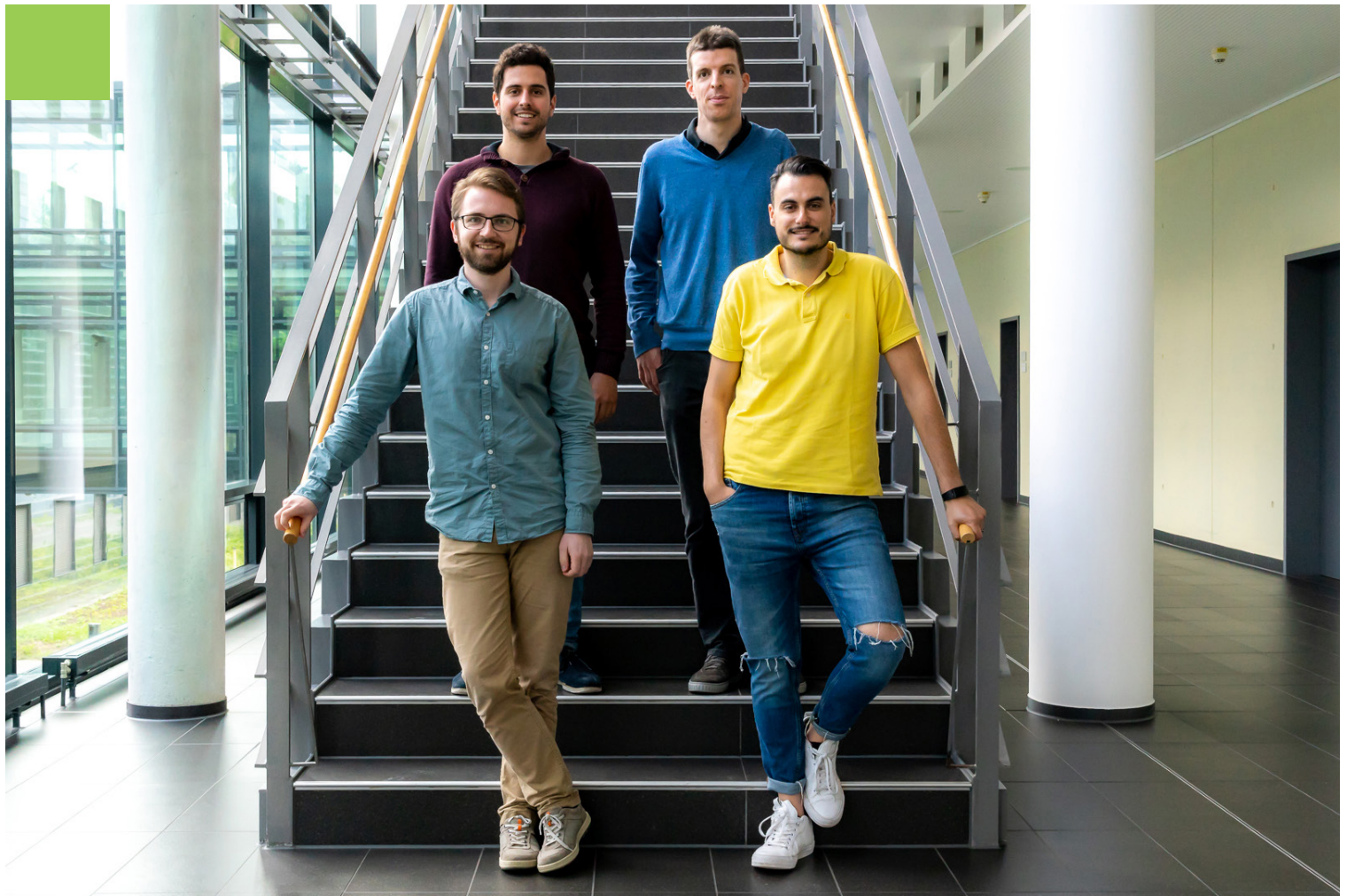
logischem Gewebe den Vorteil, dass sie das Licht sehr stark streuen und daher leicht zu erkennen sind. In dieser Situation ist, ähnlich wie in der Astronomie, aufgrund der punktförmigen Natur des Streuers nur eine Korrektur erforderlich. Ähnlich wie bei dem zuvor beschriebenen Ansatz haben wir einen großen Trainingsdatensatz von aberrierten Leitsternbildern und entsprechenden aberrierten Fokusbildern erzeugt. Nachdem ein mehrschichtiges neuronales Netz auf diesen Daten trainiert war, wurden bei der Abbildung in streuenden Proben mit eingebetteten Leitsternen damit wieder Korrekturen gefunden, die die auftretenden Aberrationen ausgleichen konnten.

Ausblick

In Zukunft werden wir diesen Ansatz in Richtung In-vivo-Anwendungen weiterentwickeln. Während wir besonders an der Bildgebung in der Fliege interessiert sind, werden diese Methoden umfassender auf streuende Proben anwendbar sein.

Literatur

1. Seelig, J.D., Chiappe, M.E., Lott, G.K., Dutta, A., Osborne, J.E., Reiser, M.B., and Jayaraman, V. (2010). Two-photon calcium imaging from head-fixed *Drosophila* during optomotor walking behavior. *Nat Methods* 7, 535-540.
2. Huang, C., Maxey, J.R., Sinha, S., Savall, J., Gong, Y., and Schnitzer, M.J. (2018). Long-term optical brain imaging in live adult fruit flies. *Nat Commun* 9, 872.
3. Yoon, S., Kim, M., Jang, M., Choi, Y., Choi, W., Kang, S., and Choi, W. (2020). Deep optical imaging within complex scattering media. *Nat Rev Phys* 2, 141-158.
4. Vishniakou, I., and Seelig, J.D. (2020). Wavefront correction for adaptive optics with reflected light and deep neural networks. *Opt Express* 28, 15459-15471.



MAX-PLANCK-FORSCHUNGSGRUPPE

NEURONALE SCHALTKREISE



Johannes Seelig

Max-Planck-
Forschungsgruppenleiterin

Wir verwenden optische Mikroskopietechniken, um zu verstehen, wie sich neuronale Netzwerke im Gehirn über die Zeit verändern und wie diese Veränderungen mit dem Verhalten in Beziehung stehen. Dazu beobachten wir neuronale Schaltkreise auf mehreren Zeitskalen, von den Aktionspotentialen einzelner Nervenzellen bis hin zu Veränderungen, die über mehrere Tage und Nächte und insbesondere während des Schlafs auftreten. Unsere Forschung fokussiert sich dabei auf den Modellorganismus *Drosophila melanogaster*, in dem genetisch identifizierte, umfassende neuronale Netzwerke untersucht werden können. Wir interpretieren und leiten unsere Experimente mit Hilfe von rechnergestützten Modellen der Dynamik neuronaler Schaltkreise.

In einem zweiten Forschungsschwerpunkt nutzen wir *Machine Learning* in Kombination mit der optischen Mikroskopie mit dem Ziel, die zeitliche und räumliche Auflösung funktionaler Bildgebung bei Tieren während des Verhaltens im virtuellen Umfeld zu optimieren.

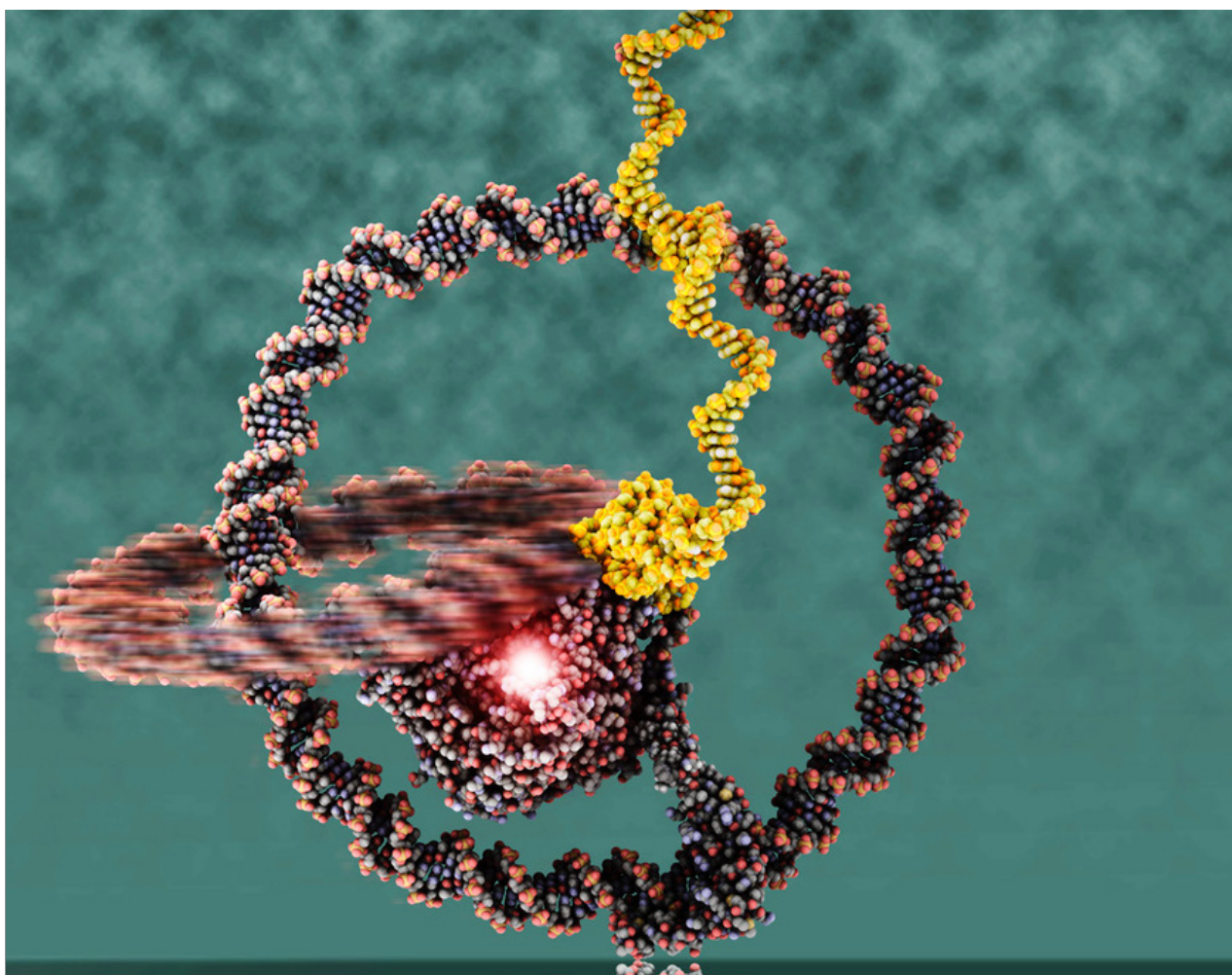


“Wir beobachten neuronale Schaltkreise auf mehreren Zeitskalen, von den Aktionspotentialen einzelner Nervenzellen bis hin zu Veränderungen, die über mehrere Tage und Nächte und insbesondere während des Schlafs auftreten.”

Analyse und Kontrolle molekularer Verbände

Von Prof. Dr. Michael Famulok, Dr. Anton Schmitz
| Chemische Biologie

Als chemische Biologen bedienen wir uns chemischer Werkzeuge, um biologische Strukturen zu untersuchen, zu modulieren oder zu erzeugen, einschließlich natürlich vorkommender Proteine sowie synthetischer Nanoarchitekturen auf der Basis von Nukleinsäuren.



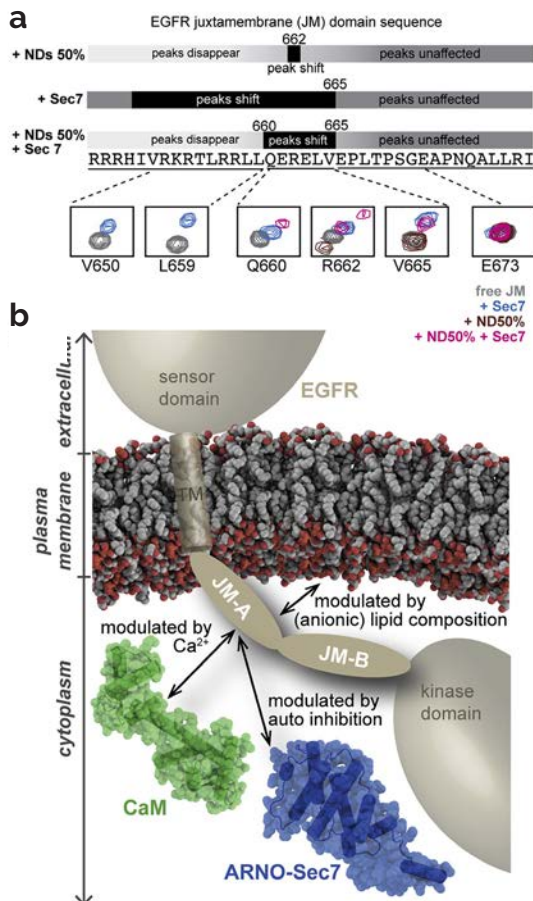
Das DNA-Catenan besteht aus dem Statorring mit der gebundenen T7-RNA-Polymerase, die die Rotation des Rotorrings antreibt. Dadurch entsteht ein einzelner RNA-Strang (gelb), der mit der Nanomaschine verbunden ist und eine Bewegung entlang eines vorgegebenen Pfads auf einem Nanoröhrchen ermöglicht (nicht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

Fast alle biologischen Prozesse werden von Makromolekülen ausgeführt, darunter vor allem Proteine und Nukleinsäuren. In den meisten Fällen fügen sich diese Makromoleküle zu großen Komplexen zusammen, deren Spanne sich von zwei, bis zu hunderten Untereinheiten erstreckt und die hochverzweigte regulatorische Netzwerke bilden. Die Stärke der chemischen Biologie liegt in ihrer Fähigkeit, Werkzeuge aus typischerweise kleinen Molekülen zur Verfügung zu stellen, welche der chemischen Synthese zugänglich sind, um diese großen Verbände zu analysieren, zu kontrollieren oder sie mit neuen Funktionen auszustatten.

Analyse eines epidermalen Wachstumsfaktor-Regulationsnetzwerks

Der Informationsfluss zwischen und in den Zellen, die so genannte zelluläre Signalübertragung, beruht auf der vorübergehenden Zusammenführung von Signalkomplexen. Der Zusammenbau und die Aktivierung dieser Komplexe werden durch ihre Integration in größere regulatorische Netzwerke gesteuert. Wir wollten die Regulation eines bestimmten Signalkomplexes analysieren, der sich aus zwei Kopien des epidermalen Wachstums-

faktor-Rezeptors (engl. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) zusammensetzt. Ein kritisches Strukturelement für die Zusammenlagerung und Aktivierung des Komplexes ist ein kurzes Segment aus 38 Aminosäuren, das sogenannte Juxtamembran- oder JM-Segment. Es befindet sich direkt an der Innenfläche der Zellmembran und koppelt die extrazelluläre signalempfangende Domäne des Rezeptors an seine intrazelluläre signalübertragende Kinasedomäne (Abb. 1). Aufgrund dieser zentralen Funktion im Aktivierungsprozess des EGFR wird das JM-Segment von mehreren regulatorischen Proteinen angesteuert. Um die Struktur der Grenzflächen zwischen dem JM-Segment und diesen regulatorischen Proteinen aufzuklären, haben wir biophysikalische und molekularbiologische Techniken kombiniert. Mit Hilfe von mikroskaliger Thermophorese und Mutationsanalysen konnten wir das Protein ARNO als einen potenziellen neuen Regulator identifizieren, der auf das JM-Segment des EGFR wirkt. Durch Kernspinresonanzspektroskopie konnten wir die Interaktion von ARNO und dem JM-Segment strukturell charakterisieren. Überraschenderweise fanden wir heraus, dass ARNO und das bekannte regulatorische Protein Calmodulin eine fast identische Bindungsstelle auf dem JM-Segment benutzen, was darauf hindeutet, dass diese beiden Proteine die Aktivierung des EGFR in ähnlicher, aber kompetitiver Weise beeinflussen. Ferner fanden wir heraus, dass Phospholipide der Zellmembran an eine Stelle des JM-Segments binden, die sich teilweise mit der Bindungsstelle der beiden Proteine überlappt. Da die Bindung des JM-Segments an die Zellmembran die EGFR-Aktivität hemmt, könnte die Konkurrenz dieser Bindung durch ARNO oder Calmodulin die strukturelle Grundlage für eine aktivierende Funktion von ARNO oder Calmodulin liefern. Zusammenfassend belegen unsere Daten, dass das JM-Segment ein zentraler Knotenpunkt ist, der verschiedene regulatorische Inputs integriert, die die EGFR-Aktivität beeinflussen [1].



Steuerung eines DNA-Walkers durch Licht

DNA-Nanomaschinen sind aus DNA bestehende moleku-

Abbildung 1: Hypothetisches zytoplasmatisches Regulationsnetzwerk der EGFR-Aktivierung. Das JM-Segment des EGFR fungiert als zentraler Knotenpunkt, der die Inputs mehrerer zytoplasmatischer Regulationsfaktoren integriert. Die Interaktion des JM-Segments mit Phospholipiden der Plasmamembran stabilisiert den autoinhibierten Zustand des EGFR. Wenn Calmodulin oder ARNO an das JM-Segment binden, wird dessen inhibierende Wechselwirkung mit der Plasmamembran geschwächt und damit die Bildung des aktiven EGFR-Dimers erleichtert.

lare Konstrukte, die in der Lage sind, eine Art Molekularbewegung zu erzeugen. Typische Beispiele sind Nanomotoren, die die Rotation eines Rings oder Propellers antreiben (siehe Titelbild) [2]. Andere molekulare Einheiten bewegen sich linear fort und können sich so von einem Ort zum anderen bewegen. Das grundlegende Beispiel für letzteres ist der so genannte DNA-Walker (Abb. 2). Wir haben einen DNA-Walker konstruiert und einige der natürlichen Nukleotide durch niedermolekulare Substituenten ersetzt, so dass der Walker durch Licht gesteuert werden kann. Der Walker besteht aus zwei Beinen, die von einem kurzen Körper zusammengehalten werden. Jedes Bein enthält zwei verschiedene Basenabschnitte, die an komplementäre Abschnitte auf dem Weg binden können (nach dem gleichen Prinzip der Basenpaarung bei der Bildung der DNA-Doppelhelix). Die Abschnitte in den Beinen enthalten zwei verschiedene durch Licht schaltbare kleine Moleküle (Azo-benzolderivate), die mehrere Basen ersetzen. Somit kann der Anwender durch die Wahl der Bestrahlungswellenlänge diktieren, wohin sich der Walker bewegen soll. Der DNA-Walker ist nicht autonom, jeder Schritt muss vom Anwender ausgelöst und gesteuert werden. Die Energie für die Bewegung kommt von der Energie der Basenpaarung. Demzufolge ist zusätzlich zu der im System vorhandenen Wärmeenergie die Energiezufuhr durch Licht erforderlich, um die Basenpaarungen aufzubrechen und den nächsten Schritt zu ermöglichen. Der DNA-Walker stellt einen Ansatz für einen Nanotransporter dar. Er ist nicht gut für lange Distanzen geeignet, sondern für Transportaufgaben, bei denen präzise kontrollierte Bewegungen über kurze Distanzen erforderlich sind. Dementsprechend könnte man

sich als zukünftige Anwendung eine nanoskalige Assemblierungsplattform vorstellen, bei der mehrere einzeln kontrollierte Walker chemische Bausteine in räumlich-zeitlich geordneter Weise zusammenführen, die dann zu einem definierten Produkt reagieren [3]. Diese Reaktionen können durch enzymähnliche DNAs, so genannte DNAzyme, katalysiert werden, wie zum Beispiel unser lichtreguliertes Peroxidase-imitierendes DNAzym [4].

Literatur

1. Viegas, A., Yin, D.M., Borggrafe, J., Viennet, T., Falke, M., Schmitz, A., Famulok, M., and Etzkorn, M. (2020). Molecular architecture of a network of potential intracellular EGFR modulators: ARNO, CaM, phospholipids, and the juxtamembrane segment. *Structure* 28, 54-62 e55.
2. Valero, J., Centola, M., Ma, Y., Skugor, M., Yu, Z., Haydell, M.W., Keppner, D., and Famulok, M. (2019). Design, assembly, characterization, and operation of double-stranded interlocked DNA nanostructures. *Nat Protoc* 14, 2818-2855.
3. 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.
4. 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.

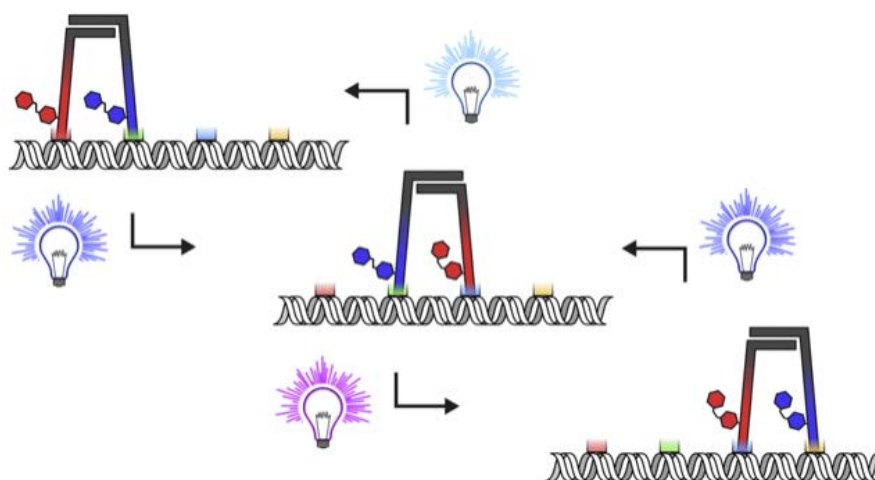


Abbildung 2: Ein nicht-autonomer DNA-Walker kann sich auf einer definierten Bahn prozessual zwei Schritte vor und zurück bewegen, wobei er ausschließlich durch Lichtbestrahlung in orthogonaler Weise angetrieben wird. Allein durch die Bestrahlung mit einer definierten Sequenz verschiedener Wellenlängen wird die präzise Kontrolle der Bewegung und der Position des Walkers bei jedem Schritt erreicht. Die nicht-invasive Regulierung der mehrstufigen prozessiven Bewegung ist eine erste entscheidende Errungenschaft in Richtung nanoskaliger Robotik.



MAX PLANCK FELLOW GRUPPE

CHEMISCHE BIOLOGIE



Michael Famulok

Max Planck Fellow

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 beiden 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.



PUBLIKATIONEN

In Assoziation mit caesar | 2019

Egger, R., Narayanan, R.T., Guest, J.M., Bast, A., Udvary, D., Messore, L.F., Das, S., De Kock, C.P.J., and Oberlaender, M. (2019/2020). Cortical output is gated by horizontally projecting neurons in the deep layers. *Neuron* 105, 122-137.

Hamzeh, H., Alvarez, L., Strünker, T., Kierzek, M., Brenker, C., Deal, P.E., Miller, E.W., Seifert, R., and Kaupp, U.B. (2019). Kinetic and photonic techniques to study chemotactic signaling in sea urchin sperm. *Methods Cell Biol* 151, 487-517.

Huang, X., Rangel, M., Briggman, K.L., and Wei, W. (2019). Neural mechanisms of contextual modulation in the retinal direction selective circuit. *Nat Commun* 10, 2431.

Leopold, D.A., Strick, P.L., Bassett, D.S., Bruno, R.M., Cuntz, H., Harris, K.M., Oberlaender, M., and Raichle, M.E. (2019). Functional architecture of the cerebral cortex. In *The Neocortex*, W. Singer, ed. (Cambridge, MA: MIT Press), pp. 141-164.

Marquart, G.D., Tabor, K.M., Bergeron, S.A., Briggman, K.L., and Burgess, H.A. (2019). Prepontine non-giant neurons drive flexible escape behavior in zebrafish. *PLoS Biol* 17, e3000480.

Matsumoto, A., Briggman, K.L., and Yonehara, K. (2019). Spatiotemporally asymmetric excitation supports mammalian retinal motion sensitivity. *Curr Biol* 29, 3277-3288.

Molina-Obando, S., Vargas-Fique, J.F., Henning, M., Gur, B., Schladt, T.M., Akhtar, J., Berger, T.K., and Silies, M. (2019). ON selectivity in *Drosophila* vision is a multisynaptic process involving both glutamatergic and GABAergic inhibition. *Elife* 8, e49373.

Oberlaender, M. (2019). Neuronal morphology and its significance. In *The Neocortex*, W. Singer, ed. (Cambridge, MA: MIT Press), pp. 125-139.

Praemassing, M., Leuteritz, T., Schill, H.J., Fassbender, A., Irsen, S., and Linden, S. (2019). Freestanding metasurfaces for optical frequencies. *Opt Lett* 44, 2105-2108.

Raju, D.N., Hansen, J.N., Rassmann, S., Stüven, B., Jikeli, J.F., Strünker, T., Körschen, H.G., Möglich, A., and Wachten, D. (2019). Cyclic nucleotide-specific optogenetics highlights compartmentalization of the sperm flagellum into cAMP microdomains. *Cells* 8, 648.

René, A., Longtin, A., and Macke, J.H. (2019). Inference of a mesoscopic population model from population spike trains. *arXiv, q-bio: 1910.01618*.

Seelig, J.D., and Flores Valle, A. (2019). Two-photon Bessel beam tomography for fast volume imaging. *Opt Express* 27, 12147-12162.



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.

Speiser, A., Turaga, S.C., and Macke, J.H. (2019). Teaching deep neural networks to localize sources in super-resolution microscopy by combining simulation-based learning and unsupervised learning. *arXiv: 1907.00770*.

Stabel, R., Stüven, B., Hansen, J.N., Körschen, H.G., Wachten, D., and Möglich, A. (2019). Revisiting and redesigning light-activated cyclic-mononucleotide phosphodiesterases. *J Mol Biol* 431, 3029-3045.

Trötschel, C., Hamzeh, H., Alvarez, L., Pascal, R., Lavryk, F., Bönigk, W., Körschen, H.G., Müller, A., Poetsch, A., Rennhack, A., Gui, L., Nicastro, D., Strünker, T., Seifert, R., and Kaupp, U.B. (2019). Absolute proteomic quantification reveals design principles of sperm flagellar chemosensation. *EMBO J* 39, e102723.

Valero, J., Centola, M., Yinzhou, M., Škugor, M., Yu, Z., Haydell, M.W., Keppner, D., and Famulok, M. (2019). Design, assembly, characterization, and operation of double-stranded interlocked DNA nanostructures. *Nat Protoc* 14, 2818-2855.

Vishniakou, I., Ploger, P.G., and Seelig, J.D. (2019). Virtual reality for animal navigation with camera-based optical flow tracking. *J Neurosci Methods* 327, 108403.

Wallace, D.J., and Kerr, J. (2019). Circuit interrogation in freely moving animals. *Nat methods* 16, 9-11.

Woeste, M.A., Stern, S., Raju, D.N., Grahn, E., Dittmann, D., Gutbrod, K., Doermann, P., Hansen, J.N., Schonauer, S., Marx, C.E., Hamzeh, H., Körschen, H.G., Endepols, H., Sandhoff, R., Geyer, M., Berger, T.K., Bradke, F., and Wachten, D. (2019). Species-specific differences in nonlysosomal glucosylceramidase GBA2 function underlie locomotor dysfunction arising from loss-of-function mutations. *J Biol Chem* 294, 3853-3871.

Dissertationen

Jeyasankar, G. (2019). Stable reconstitution of an endogenous ion channel for structural studies. PhD Thesis. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Krupp, N. (2019). Nanotemplates for the combined structural and functional analyses of membrane-associated proteins. PhD Thesis. Fachbereich 3 (Mathematik/Naturwissenschaften) der Universität Koblenz-Landau.

Patente

Alvarez, L., Jikeli, J., Kaupp, U.B., and Pascal, R. (2019). Vorrichtung zur Beobachtung der dreidimensionalen Bewegung von Objekten, die in einer Flüssigkeit gehalten sind. Patent-No. DE 10 2015 111 817 B4



Poster

Barragán Sanz, K., and Irsen, S. (2019). The rocking phase plate – another step towards improved stability. Poster presented at the Microscopy Conference 2019 (MC2019), DGE Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie e. V., Berlin.

Kreps, F., Tröger, C., Schwan, M., Rege, A., Schettler, J., Irsen, S., Milow, B., and Kelm, K. (2019). Crossing borders of material science – a new approach of aerogel preparation for electron microscopy. Poster presented at the 3rd workshop of the European Focused Ion Beam (FIB) Network, Dresden.

Rüttgers, A., Schulz, K., and Irsen, S. (2019). Workflow for focused ion beam tomography of large volumes. Poster presented at the Microscopy Conference 2019 (MC2019), DGE Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie e. V., Berlin.

Tröger, C., Schulz, K., and Irsen, S. (2019). Improved serial sectioning workflow for multi-beam SEM applications – How to produce the ideal section for Volume EM. Poster presented at the Microscopy Conference 2019 (MC2019), DGE Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie e. V., Berlin.

Kooperationen

Ambadipudi, S., Reddy, J.G., Biernat, J., Mandelkow, E., and Zweckstetter, M. (2019). Residue-specific identification of phase separation hot spots of Alzheimer's-related protein tau. *Chem Sci* 10, 6503-6507.

Butler, V.J., Salazar, D.A., Soriano-Castell, D., Alves-Ferreira, M., Dennissen, F.J.A., Vohra, M., Osés-Prieto, J.A., Li, K.H., Wang, A.L., Jing, B., Li, B., Groisman, A., Gutierrez, E., Mooney, S., Burlingame, A.L., Ashrafi, K., Mandelkow, E.-M., Encalada, S.E., and Kao, A.W. (2019). Tau/MAPT disease-associated variant A152T alters tau function and toxicity via impaired retrograde axonal transport. *Hum Mol Genet* 28, 1498-1514.

Decker, J.M., and Mandelkow, E.-M. (2019). Presynaptic pathophysiology encoded in different domains of tau – hyper- versus hypoexcitability? *Adv Exp Med Biol* 1184, 97-103.

Green, C., Sydow, A., Vogel, S., Anglada-Huguet, M., Wiedermann, D., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., and Höhn, M. (2019). Functional networks are impaired by elevated tau-protein but reversible in a regulatable Alzheimer's disease mouse model. *Mol Neurodegener* 14, 13.

Guo, J., Otis, J.M., Suci, S.K., Catalano, C., Xing, L., Constable, S., Wachten, D., Gupton, S., Lee, J., Lee, A., Blackley, K.H., Ptacek, T., Simon, J.M., Schurmans, S., Stuber, G.D., Caspar, T., and Anton, E.S. (2019). Primary cilia signaling promotes axonal tract development and is disrupted in Joubert Syndrome-related disorder models. *Dev Cell* 51, 759-774.

Kaniyappan, S., Chandupatla, R.R., Feederle, R., Mandelkow, E., and Mandelkow, E.-M. (2019). Antibody mediated inhibition of tau aggregation in vitro and in neuronal cells. Poster presented at the 19th Eibsee Meeting on cellular mechanisms of neurodegeneration, Eibsee/Grainau.

Klausen, C., Kaiser, F., Stüven, B., Hansen, J.N., and Wachten, D. (2019). Elucidating cyclic AMP signaling in subcellular domains with optogenetic tools and fluorescent biosensors. *Biochem Soc Trans* 47, 1733-1747.



Martin, E., Amar, M., Dalle, C., Youssef, I., Boucher, C., Le Duigou, C., Brueckner, M., Prigent, A., Sazdovitch, V., Halle, A., et al. (2019). New role of P2X7 receptor in an Alzheimer's disease mouse model. *Mol Psychiatry* 24, 108-125.

Pellkofer, H., Ihler, F., Weiss, B.G., Trothe, J., Kadavath, H., Chongtham, M., Kunadt, M., Riedel, D., Lornsen, F., Wilken, P., et al. (2019). Evaluation of the methoxy-Xo4 derivative BSC4090 for diagnosis of prodromal and early Alzheimer's disease from bioptic olfactory mucosa. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 269, 973-984.

Pickhardt, M., Tassoni, M., Denner, P., Kurkowsky, B., Kitanovic, A., Moehl, C., Fava, E., and Mandelkow, E. (2019). Screening of a neuronal cell model of tau pathology for therapeutic compounds. *Neurobiol Aging* 76, 24-34.

Pir, G.J., Choudhary, B., Kaniyappan, S., Chandupatla, R.R., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., and Wang, Y. (2019). Suppressing tau aggregation and toxicity by an anti-aggregant tau fragment. *Mol Neurobiol* 56, 3751-3767.

Sherpa, R.T., Mohieldin, A.M., Pala, R., Wachten, D., Ostrom, R.S., and Nauli, S.M. (2019). Sensory primary cilium is a responsive cAMP microdomain in renal epithelia. *Sci Rep* 9, 6523.

Ukmar-Godec, T., Hutten, S., Grieshop, M.P., Rezaei-Ghaleh, N., Cima-Omori, M.-S., Biernat, J., Mandelkow, E., Soeding, J., Dormann, D., and Zweckstetter, M. (2019). Lysine/RNA-interactions drive and regulate biomolecular condensation. *Nat Commun* 10, 2909.

Zempel, H., and Mandelkow, E. (2019). Mechanisms of axonal sorting of tau and influence of the axon initial segment on tau cell polarity. *Adv Exp Med Biol* 1184, 69-77.



EINBLICKE IN CAESAR





Neues aus der IMPRS for Brain and Behavior

Von Ezgi Bulca | **IMPRS Koordinatorin**

Die IMPRS for Brain and Behavior vollendete 2019 ihr viertes vollständiges Arbeitsjahr. Das Ziel des Programmes ist es, herausragende Doktorand*innen zu werben und in einer stimulierenden Umgebung zu fördern, die neue Technologien zur Aufklärung der Funktion des Gehirns – von Molekülen bis hin zum Verhalten von Tieren – bietet.

Die Graduiertenschule ist die erste transatlantische Kooperation im Bereich der Neurowissenschaften zwischen zwei neurowissenschaftlichen Instituten der Max-Planck-Gesellschaft (caesar – assoziiert mit der Max-Planck-Gesellschaft – und dem Max Planck Florida Institute of Neuroscience (MPFI)) sowie zwei Universitäten (Universität Bonn und Florida Atlantic University (FAU)). 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 leisten die beteiligten Einrichtungen. Zudem werden im Rahmen des Programms Stipendien für einzelne Forscher*innen vergeben. Die Koordinationsbüros der Schule befinden sich im caesar in Bonn und im MPFI in Florida. Der Aufruf für neue Bewerber lief vom 01. September bis zum 01. Dezember 2019 und wurde von

381 Bewerbern wahrgenommen, von denen 198 Bewerbungen vollständig waren und an den Auswahlausschuss zur Durchsicht weitergeleitet wurden. Dies war das erste Jahr, in dem die Aufnahme der Standorte entsprechend aufgeteilt wurde, an denen die Bewerber an einer Promotion interessiert waren. Diejenigen Bewerber, die eine Präferenz für Florida angaben, wurden zum Symposium in Florida eingeladen, und diejenigen, die Bonn bevorzugten, wurden zum Symposium in Bonn eingeladen. Die Auswahl-symposien fanden am 7. und 8. März 2019 (Jupiter, FL) und am 12. und 13. März 2019 (Bonn) statt. Zu dem bei caesar veranstalteten Auswahl-symposium wurden 20 Bewerber eingeladen, von denen 17 tatsächlich daran teilnahmen. Von dieser Bonner Auswahl wurden 10 Aufnahmeangebote ausgeweitet, und 5 Bewerber nahmen das Angebot, der IMPRS beizutreten, an.

Alle 11 Bewerber, die zum Auswahl-symposium am MPFI eingeladen worden waren, nahmen das Angebot zur Teilnahme an, 7 Aufnahmeangebote wurden ausgeweitet und letztendlich von insgesamt 3 Bewerbern wahrgenommen, die damit der IMPRS beitraten.

Unser Verhältnis von Bewerbung zu Annahme betrug 1:22 für das vierte Jahr. Unsere vierte Incoming-Klasse besteht aus 8 Studierenden: 1 an der FAU, 2 am MPFI, 2 an der Universität Bonn und 3 bei caesar. Unsere Studierenden kommen aus 5 Ländern: 1 aus Argentinien, 1 aus China, 1 aus Indonesien, 2 aus den USA und 3 aus Deutschland. Diese Klasse setzt sich aus 5 Männern und 3 Frauen zusammen. Insgesamt gibt es 31 Studierende in unserer IMPRS, die aus 15 verschiedenen Ländern zu uns kommen: 17 männliche und 14 weibliche Studierende.



2019 wurde Kuo-Sheng Lee (MPFI) der dritte IMPRS Doktorand, der seine Doktorarbeit erfolgreich verteidigte und seinen Doktorabschluss erlangte. Kuo ist derzeit Postdoc-Fellow im Labor von Daniel Huber an der Universität Genf. Sarah Kruessel (MPFI) wechselte von der IMPRS in das Doktorandenprogramm der Johns Hopkins University, und folgte damit ihrem Betreuer Hyungbae Kwon, der das MPFI ebenfalls verlassen hatte.

Der Lehrplan des Programms besteht einerseits aus theoretischen und andererseits aus praktischen, praxisorientierten Ausbildungselementen. Um von den Vorteilen, die mit einer internationalen Ausbildung einhergehen, maximal zu profitieren, nehmen die Teilnehmer*innen an Workshop-Kursen und Symposien teil, die sowohl bei caesar als auch am MPFI stattfinden, und die es ihnen ermöglichen, mit einer breiten Gruppe von internationalen Wissenschaftler*innen zu interagieren.

Im Jahr 2019 war das MPFI Gastgeber einer Veranstaltungsreihe mit 25 IMPRS-Doktoranden aus Bonn und Jupiter. Alle 25 Studierenden nahmen an einem zweitägigen

IMPRS-Crashkurs über Optik und fortgeschrittene Lichtmikroskopie teil, der vom IMPRS-Koordinator am MPFI organisiert wurde. Der Kurs beinhaltete praktische Trainingseinheiten unter Aufsicht von Lichtmikroskopie-Experten und des MPFI, ergänzt durch theoretische Vorträge von Nobelpreisträger Dr. Stefan Hell (MPI für biophysikalische Chemie). Die IMPRS-Doktorand*innen nahmen auch an einem Studierenden-Retreat mit "Blitz"-Vorträgen und Gelegenheiten für informelle Interaktionen teil, besuchten und präsentierten ihre Forschungsergebnisse auf dem Sunposium 2019 zusammen mit 400 anderen Wissenschaftler*innen und wohnten dem ersten IMPRS-Auswahlsymposium bei, das in Jupiter stattfand.

Die IMPRS-Studierenden in Bonn organisierten ebenfalls ein 2,5-tägiges Studierenden-Retreat im Forum Vogelsang IP, wo sie übten, "Elevator Pitches" über ihre Forschungsprojekte zu halten. Die IMPRS-Koordinatorin Ezgi Bulca hielt Vorträge zu den Themen "Life after PhD" und "Mental Health in Academia", die eine produktive Diskussion über diese Themen anregten. Die Bonner IMPRS-Studierenden genossen auch einen exklusiven Workshop zum Thema "Starry Night Sky of Eifel National Park – Artificial and Natu-





ral Light at Night" des Astronomen Dr. Harald Bardenhagen. Die Aufnahme von zwei neuen Koordinatoren mit früherer Erfahrung in der neurowissenschaftlichen Forschung im Jahr 2018 war entscheidend für die Planung und Durchführung dieser wissenschaftlichen Ausbildungsaktivitäten.

Im September veranstaltete die IMPRS einen Workshop mit dem Titel „Career in Academia“, bei dem die Direktoren von caesar, Kevin Briggman und Jason Kerr, erklärten, wie ihre Karrierewege sie zu ihrer derzeitigen Position führten, und Fragen der Studenten beantworteten. Zusammen mit den BIGS-Studierenden der Neurowissenschaften der Universität Bonn organisierten die Bonner IMPRS-Studierenden auch die Veranstaltung "Promoting Better Skills in Neuroscience" bei caesar. 2 IMPRS-Studierende und 2 BIGS-Studierende der Neurowissenschaften hielten in lockerer Atmosphäre kreative Chalk Talks über ihre Promotionsprojekte.

Die Studierenden tauschten Feedback aus und stärkten gleichzeitig ihre Verbindungen innerhalb der Bonner Neurowissenschaften-Community. Die IMPRS-Studenten in Bonn bildeten zusammen mit dem Koordinator auch ein 7-köpfiges Team und nahmen am Bonner Firmenlauf teil.

Im Jahr 2019 verlagerte die IMPRS ihren Werbeschwerpunkt, um eine größere Online-Präsenz zu erreichen. Zu-

sätzlich zu den Social-Media-Plattformen Twitter, Instagram, Facebook und LinkedIn wurden Online-Werbungen auf den folgenden Seiten eingesetzt: DAAD, MPG, MPG - PhDNet, NENS und NeuroSchools-Germany. Im Oktober wurde zum ersten Mal eine Social-Media-Kampagne über Academic Positions für drei Wochen gebucht. Die Anzeige der Kampagne wurde von über 91.000 Nutzern gesehen und resultierte in über 1000 Klicks, um die detaillierte Angebotsseite zu sehen. 76 Personen bewarben sich schließlich aufgrund dieser Werbekampagne. Im Rahmen der Social-Media-Kampagne wurde die IMPRS-Anzeige auch auf dem regulären Portal von Academic Positions geschaltet und führte dazu, dass weitere 400 Benutzer auf die Bewerbungsseite gelangten.

Im November, auf der Jahrestagung der Society for Neuroscience (SfN) in Chicago, IL, besetzten die IMPRS for Brain & Behavior Koordinatoren den Stand der Neurowissenschaftlichen Forschung in Deutschland und den des MPFI in der Hauptausstellungshalle. Ezgi Bulca war auch am Stand "German Neuroschools" auf der Grad-School-Messe vertreten. Darüber hinaus waren während des gesamten SfN-Treffens an allen Ständen Materialien der IMPRS ausgestellt, und die IMPRS-Werbeartikel wurden an die Teilnehmer der SfN-Konferenz verteilt.



Veranstaltungen aus Wissenschaft, Presse- und Öffentlichkeitsarbeit bei caesar

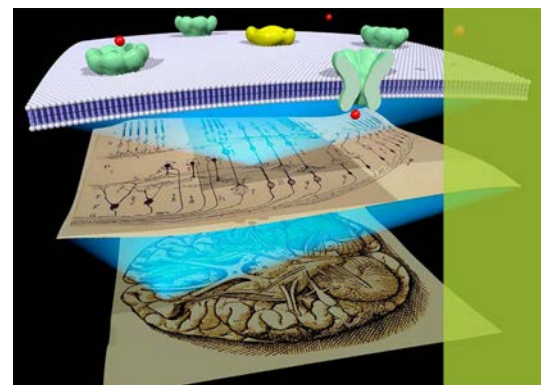
Von Julia Schlee und Sebastian Scherrer | Outreach Officer und PR Officer

Scientific Events

caesarium

Seit 2008 öffnet caesar regelmäßig seine Türen im Rahmen einer Vorlesungsreihe (caesarium), die sich sowohl an Wissenschaftler*innen als auch an die interessierte Öffentlichkeit richtet. Im Zuge dieser Veranstaltung präsentieren bekannte Wissenschaftler*innen ihren Forschungsschwerpunkt und spannende Forschungsergebnisse in einem auch für Laien verständlichen, öffentlich zugänglichen Vortrag. Die Vorträge schaffen die ideale Grundlage für angeregte Diskussionen und Fragerunden im Publikum und erfreuen sich stets großer Beliebtheit.

Am 5. September 2019 sprach der Nobelpreisträger Prof. Dr. Erwin Neher über Ionenkanäle und deren Entdeckung sowie deren Rolle in der Pharmakologie und der Medizin. Mehr als 300 Gäste fanden sich für den Vortrag im caesar ein, der auch in der lokalen Presse ein überaus positives Feedback erhielt.



caesarium

Forschungszentrum caesar, Hörsaal
Donnerstag, 05.09.2019, 19 h

„Ionenkanäle: Ihre Entdeckung und ihre Rolle in Pharmakologie und Medizin“

Prof. Dr. Erwin Neher
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie
Göttingen

caesar
center of advanced
european studies
and research
www.caesar.de
Forschungszentrum caesar
Ludwig-Erhard-Allee 2
53175 Bonn
Sitzung caesar:
assoziiert mit der
Max-Planck-Gesellschaft



caesar Seminar Series

Um die in dem Feld der Biowissenschaften vertretene Expertise noch effizienter zu nutzen und eine Grundlage für Kooperationen und Informationsaustausch zu schaffen, ist caesar regelmäßig Gastgeber einer Vortragsreihe, die 2019 die folgenden Wissenschaftler*innen/Präsentationen umfasste:

08.01.2019

Prof. Dr. Henning Urlaub,
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie,
Göttingen
"Current development in quantitative MS-based proteomics"

18.01.2019

Dr. Nereo Kalebic,
Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie
und Genetik, Dresden
"Molecular mechanisms of neocortex development and pathogenesis"

25.01.2019

Dr. Takeshi Yoshimatsu,
University of Sussex
"Retinal circuits for seeing colours in nature:
Functional studies of the inner and outer retina in zebrafish"

30.01.2019

Dr. Michael Frosz und Dr. Richard Zeltner,
Max-Planck-Institut für die Physik des Lichts,
Erlangen
"Fabrication and applications of photonic crystal fibers"

04.02.2019

Timothy J. Lee,
Georgia Institute of Technology
"Batch processing of brain tissue sections for millimeter-scale serial section transmission electron microscopy connectomics"

07.03.2019

Prof. Samuel Young,
Department of Anatomy and Cell Biology, University of Iowa
"Molecular mechanisms regulating presynaptic calcium channel subtype levels to drive neuronal circuit function"

14.03.2019

Prof. Gil Westmeyer,
Technische Universität München/Helmholtz-Zentrum München
"Molecular neuroimaging across scales:
Towards calcium sensors for optoacoustics & multiplexed gene reporters for electron microscopy"

04.04.2019

Dr. Monika Rutowska,
TMC Science and Technology & IMEC Institute for Nanoelectronics, Leuven, Belgium
"From photonics crystal fibres, through optical fibre bundles, to SiN waveguides"

09.04.2019

John Tuthill,
University of Washington, Seattle, USA
"Neural mechanisms of leg proprioception and motor control in *Drosophila*"

10.05.2019

Dr. Aneta Koseska,
Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Dortmund
"Towards theory of non-Turing biochemical computation and learnability"



07.06.2019

Dr. Christian Puller,
Carl von Ossietzky Universität Oldenburg,
"Network motifs of electrical coupling between retinal ganglion cells"

25.06.2019

Dr. Nina Vogt,
Nature Methods
"Publishing high-impact research: Perspective of a Nature Methods editor"

04.07.2019

Dr. James Lightfoot,
Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie, Tübingen
"Killing, cannibalism and self-recognition behaviors in predatory nematodes"

16.07.2019

Dr. Jeffrey S. Diamond,
National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Bethesda, USA
"Diverse synaptic signaling within a single retinal amacrine cell type"

04.09.2019

Dr. Armin Bahl,
Harvard University
"Neural circuits for evidence accumulation and perceptual decision-making in larval zebrafish"

30.10.2019

Dr. Georgina Fenton,
Department of Neuroscience, Psychology and Behaviour, University of Leicester
"Physiological basis of noise-induced hearing loss in a tympanic ear"

13.11.2019

Jun.-Prof. Dr. Benjamin Risse,
Universität Münster
"Is science mostly driven by ideas or by tools? Interdisciplinary research at the interface of behavioral biology and computer vision & machine learning"

05.12.2019

Dr. Ann Clemens,
Bernstein Center for Computational Neuroscience,
Humboldt Universität Berlin
"Neural mechanisms of kinship behavior"

Neuroscience Seminar Series

Weiterhin lädt caesar regelmäßig Sprecher*innen aus anderen Laboren der Neurowissenschaften sowie Forschungsinstituten oder Universitäten für sowohl offizielle Seminare als auch einen informellen wissenschaftlichen Austausch ein, bei dem alle caesar-Forscher*innen in Form von kurzen Präsentationen und stimulierenden Diskussionen voneinander profitieren können. Das Ziel ist es, über Ideen und Techniken zu fachsimpeln und das Fundament für mögliche Kollaborationen zu schaffen, und vor allem unseren Absolvent*innen und Postdoktorand*innen die Möglichkeit zu bieten, mit Gastsprecher*innen in Kontakt zu treten.

11.03.2019	Dr. David Fitzpatrick
08.04.2019	Prof. David Berson
29.04.2019	Dr. Misha Ahrens
20.05.2019	Prof. Adam Cohen
27.05.2019	Prof. Florin Albeanu
19.06.2019	Dr. Adam Hantman
04.11.2019	Prof. Richard Hahnloser
11.11.2019	Markus Knaden
09.12.2019	Andrés Bendesky



PhD and Postdoc Seminare

Sowohl Doktorand*innen als auch Postdoktorand*innen halten regelmäßig Präsentationen über ihre Forschung und diskutieren nicht nur ihren Fortschritt, sondern auch potenzielle Probleme in einer familiären Atmosphäre. Das Ziel ist es, einen bunt gemischten Pool aus Ideen und Techniken zu schaffen sowie ein Netzwerk für Doktorand*innen und Postdoktorand*innen innerhalb von caesar aufzubauen. Dies soll ebenso ein Forum für die Diskussion neuer Forschungsideen und den Entwurf von Anträgen für potenzielle Zukunftsprojekte darstellen.

24.01.2019	Mythreya Seetharama
31.01.2019	Matthew Schiel
07.02.2019	Andres Flores
14.02.2019	Philippe Fischer
21.02.2019	Artur Speiser
14.03.2019	Jan-Mattis Lückmann
21.03.2019	Marta Pallotto
25.04.2019	Daniel Udvary
02.05.2019	Fernando Messore
09.05.2019	Rajeevan Narayanan Therpurakal
23.05.2019	Carl Holmgren
06.06.2019	Kristina Barragan-Sanz
13.06.2019	Federica Roselli
04.07.2019	Anja Günther
19.09.2019	Giacomo Bassetto
10.10.2019	Mike Guest
17.10.2019	Fabian Svava



07.11.2019	Daniel Udvary
14.11.2019	Kara Fulton
21.11.2019	Aman Maharjan

Wissenschafts-Retreat 2019

Zwischen dem 30. September und dem 2. Oktober 2019 veranstaltete caesar ein Wissenschafts-Retreat in Oberems, in den Tiefen des Taunuswaldes. Insgesamt 75 wissenschaftliche Mitarbeiter*innen von caesar verbrachten dort drei spannende Tage, dicht gepackt mit wissenschaftlichen Erkenntnissen. Die Exkursion bot eine tolle Gelegenheit, einen Überblick über die exzellente Forschung bei caesar zu schaffen, die insbesondere unseren neuen Gruppenleitern Monika Scholz, Pascal Malkemper und Aneta Kosesaka zu Gute kam, die ebenfalls ihre eigenen Forschungsprojekte vorstellten. Zu den Highlights dieses Events zählten auch die wunderschöne Wanderung durch die Nebel des Taunuswaldes sowie das Pub Quiz, das den Ehrgeiz der Teilnehmer*innen anspornte.



iGEM Spring Festival

Vom 3. bis zum 5. Mai 2019 war caesar Gastgeber der jährlichen europäischen iGEM Frühlingskonferenz. 200 MINT Student*innen aus 8 Ländern füllten den Eingangsbereich und das Auditorium, und vereinten damit studentische Forschung aus einer Vielfalt von Disziplinen. Als Teil des Vorlesungsprogramms präsentierte Prof. Dr. Jason Kerr caesars Schlüsseldisziplin, die Neuroethologie.

Das Programm umfasste ebenfalls Workshops, eine Postersession und gesellschaftliche Events, wie zum Beispiel einen Besuch von Rhein in Flammen und den caesar Science Slam.





Public Relations

caesar erachtet es als sehr wichtig, die Öffentlichkeit über die Forschung im Institut zu informieren. So soll einerseits Bewusstsein und Reichweite geschaffen werden, andererseits aber auch die Mission des Instituts und die wissenschaftlichen Errungenschaften dargestellt..

Pressemitteilungen

2019 veröffentlichte das Institut 9 Pressemitteilungen für Journalisten, Presseplattformen und Interessierte. Die Berichte wurden auch auf der Webseite von caesar publiziert. Um die Reichweite dieser Pressemitteilungen zu steigern, werden sie ebenfalls auf verschiedenen Plattformen verbreitet, so zum Beispiel über den IDW ("Informationsdienst Wissenschaft") und einen eigenen Presseverteiler. Die Presse wird regelmäßig zu Events bei caesar eingeladen, wie beispielsweise zum caesarium. und nimmt diesen Einladungen regelmäßig an (z.B. das caesarium von Nobelpreisträger Erwin Neher). Im Jahr 2019 wurden 50 Pressemeldungen (Druck, Internet und Radio) über caesar veröffentlicht.

04.01.2019	Zilien als Versorgungspumpe des Gehirns
12.02.2019	GBA2 im Nervensystem: Lipide und ein Ungleichgewicht im Gang sind eng miteinander verknüpft
25.03.2019	Nanoläufer folgt dem Pfad des Lichts
06.05.2019	Bessel-Strahlen ermöglichen 3D-Mikroskopie
09.07.2019	Schüler erkunden die Welt der Nanoforschung
01.10.2019	Wie koordiniert das Gehirn Verhalten? Neue Forschungsgruppe bei caesar
19.11.2019	Neue Forschungsgruppe zum Magnetsinn bei Tieren
26.11.2019	Eine Ampel für die Wahrnehmung
29.11.2019	Jason Kerr zum Professor für Verhaltenswissenschaften an der Universität Bonn ernannt



News

Unsere Pressemitteilungen werden zudem durch einen weiteren Kommunikationskanal abgerundet, der dank der „News-Funktion“ auf unserer neu aufgelegten Webseite möglich wird. Alle relevanten Neuigkeiten werden auf unserer Webseite verkündet und weiter über unsere Social-Media-Kanäle verbreitet. Im Jahr 2019 veröffentlichten wir 19 offizielle News-Meldungen.

04.01.2019	Zilien als Versorgungspumpe des Gehirns
12.02.2019	"Den eigenen Weg gehen und sich nicht entmutigen lassen"
25.03.2019	Nanoläufer folgt dem Pfad des Lichts
28.03.2019	Girls' and Boys'Day bei caesar
04.04.2019	Erfolgreiche Premiere für caesar-Schülerlabor
03.05.2019	Volles Haus beim caesar Science Slam 2019
05.05.2019	Jason Kerr präsentiert das Feld der Neuroethologie im Rahmen der iGEM-Konferenz
06.05.2019	Bessel-Strahlen ermöglichen 3D-Mikroskopie
10.07.2019	Forschungszentrum caesar neuer Partner des zdi-Netzwerks: MINT im Rhein-Sieg-Kreis
15.08.2019	Fünfzig junge Physiker lernen Forschung bei caesar kennen
12.09.2019	Nobelpreisträger Erwin Neher zu Besuch im Forschungszentrum caesar in Bonn
25.09.2019	Lehrer aus Bonn und Umgebung besuchen Schülerlabor
04.10.2019	Neue Forschungsgruppe: Neural Information Flow
22.10.2019	caesar beteiligt sich beim ersten Bonner "Pint of Science"
23.10.2019	Neuroscience Seminar Series 2019-2020
19.11.2019	Neue Forschungsgruppe zum Magnetsinn bei Tieren
27.11.2019	Eine Ampel für die Wahrnehmung
27.11.2019	Bonner August-Macke-Hauptschule besucht das Schülerlabor
29.11.2019	Jason Kerr zum Professor für Verhaltensneurowissenschaften an der Universität Bonn ernannt



Internetpräsenz

Die Neuauflage der Webseite von caesar wurde im Frühjahr 2019 online geschaltet. Sie besticht nun mit einem modernen und interaktiven Design, um besonders die Zielgruppe der Webseite anzusprechen: Wissenschaftler, Doktoranden und einen jeden, der an den wissenschaftlichen Errungenschaften des Instituts und anstehenden Events bei caesar interessiert ist.

Mit dem Relaunch erhielt unsere Website z.B. die neue Funktion, einen stetigen Strom von Nachrichtenartikeln zu veröffentlichen, die der Öffentlichkeit aktuelle Entwicklungen in unserem Institut vermitteln, allerdings nicht für eine vollwertige Pressemitteilung ausreichen. Eine weitere Neuheit auf der Webseite sind der Zeitstrahl auf der Titelseite, der anstehende Events hervorhebt, und die Event-Datenbank, die nicht nur einen Blick auf zukünftige Seminare und Vorlesungen bei caesar gewährt, sondern auch in der Vergangenheit angebotene Veranstaltungen archiviert. Auch die Unterseiten der einzelnen Forschungsgruppen glänzen mit neuen Eigenschaften. Datenablagen und auch multimediale Daten können nun gehostet werden. Stellenangebote und News sind jetzt auch direkt mit den Gruppenseiten verknüpft, so dass Stellenangebote sofort sichtbar sind. Es ist möglich, den Newsletter zu abonnieren und alle aktuellen Informationen über caesar zu erhalten.

Soziale Medien

caesar ist auf den folgenden Plattformen vertreten: Twitter, Facebook, Instagram, YouTube, LinkedIn, ResearchGate.

Der Twitteraccount @caesarbonn erreicht mehr als 5.000 Follower, die mit den Neuigkeiten aus der Wissenschaft involviert oder daran interessiert sind. Auf dem YouTube-Kanal von caesar (etwa 900 Abonnenten) hat das Institut bisher 46 selbstproduzierte Videos veröffentlicht, darunter solche, die sich mit aktuellen Forschungsschwerpunkten befassen, sowie professionelle Aufzeichnungen aller Events und Trailer, die für bevorstehende Events werben und Eindrücke vergangener Veranstaltungen festhalten. Die Facebook-Präsenz (1.218 Abonnenten am 31.12.2019) ist eine Informationsquelle für das aktuelle Geschehen rund um caesar und vermittelt zusätzliche Informationen über Aspekte der Neuroethologie und der neuroethologischen Forschung. caesar ist ebenfalls auf LinkedIn sowie ResearchGate vertreten, wo unsere Forscher ihre Arbeit präsentieren. Um das allgemeine Publikum mit regelmäßigen Mailings zu erreichen, betreibt caesar über das MailChimp-Netzwerk eine MailingList. Hier hat caesar derzeit 1.482 Abonnenten.

Publikationen

Der Jahresbericht von caesar erreicht jährlich eine Vielzahl von Menschen, die an der Forschung bei caesar interessiert sind. Der Bericht besteht aus wissenschaftlichen Artikeln, die sich nicht nur an Wissenschaftler, sondern auch an die breite Öffentlichkeit richten. Darüber hinaus vermittelt eine Broschüre, die sowohl in deutscher als auch in englischer Sprache erscheint, einen kurzen Überblick über das Institut. Die Jahresberichte ab dem Jahr 2011 stehen auf der Webseite von caesar in beiden Sprachen zum Download zur Verfügung. Im Jahr 2019 hat das Institut das Format des Jahresberichts auf die elektronische Version umgestellt, um Ressourcen zu schonen und den ökologischen Fußabdruck des Berichts zu verringern.



Outreach

Besucher

caesar erfreut sich eines stets anhaltenden Stroms interessierter Besucher*innen, darunter besonders Schulklassen. Auf Anfrage bietet caesar Präsentationen und geführte Touren.

Schulen

Das Ziel von caesar ist es, Lehrkräfte sowie Schülerinnen und Schüler aller Altersstufen mit praxisnahen Aktivitäten im Zusammenhang mit unserer Forschung auf dem Gebiet der Neuroethologie anzusprechen. caesar hat in Zusammenarbeit mit Schulen der Region und dem Schüler- und Jugendwettbewerb "Jugend forscht" ein Praktikumsprogramm für herausragende Schüler*innen der weiterführenden Schule eingerichtet. Die Schüler*innen können sich für die Praktika in den Laboren bewerben. Darüber hinaus werden verschiedene andere Programme angeboten, darunter z.B. der Boys' und Girls' Day. Gemeinsam mit dem CJD Christophorusschule Königswinter engagiert sich caesar auch in einem Programm für begabte Schüler*innen. Im Rahmen dieses Programms bietet caesar mit seiner Elektronenmikroskopie-Einrichtung ein spezielles 4-Tages-Programm "Reise in die Nanowelt" an.

Weiterhin hat caesar ein modern ausgestattetes Schülerlabor, das Workshops für Schülerinnen und Schüler der Klassen 8-12 anbietet.



Schülerlabor

Das neu eingerichtete Schülerlabor bei caesar gewährt mit Hilfe von praxisnahen Mitmachübungen Einblicke in den realen Alltag eines Wissenschaftlers im Fachbereich der Neurowissenschaften. caesar bietet interaktive Kurse im Labor für Schüler*innen der weiterführenden Schule und ihre Lehrer*innen an, mit dem Ziel, realistische und unterhaltsame Erfahrungen im Rahmen der MINT-Bildung zu sammeln. Unser Anliegen ist es, Begeisterung für Forschung und Wissenschaft zu wecken.

Die Experimente dienen dazu, spezifischen wissenschaftlichen Fragen in einem praxisnahen Ansatz auf den Grund zu gehen. Die Teilnehmer*innen arbeiten sowohl im Team als auch selbständig, wobei sie detaillierte Anweisungen befolgen, aber auch Raum haben, um individuell andere Methoden und Werkzeuge zu "entwickeln und auszuprobieren". Der Workshop kann auf Deutsch und Englisch abgehalten werden.

Der aktuelle Workshop trägt den Titel "Unterwasser-Sensation". Im Rahmen dieses Workshops führen die Schülerinnen und Schüler vergleichende Studien an den Zebrafischlarven in verschiedenen Entwicklungsstadien durch und erhalten durch einfache Verhaltensexperimente einen Einblick in verschiedene Aspekte der Neurowissenschaften. So kann gezeigt werden, wie mechanosensorische Informationen wahrgenommen, innerhalb eines neuronalen Netzwerks verarbeitet werden und zu einer Veränderung des Tierverhaltens führen. Interaktive Aufgaben und das Basteln einer einfachen elektronischen Schaltung ermöglichen es den Schülerinnen und Schülern, die Signaltransduktion innerhalb eines Neurons zu verstehen. caesar bietet auch Workshops für Lehrerinnen und Lehrer an, um die angebotenen Workshops kennenzulernen.

Das Schülerlabor ist durch die Gemeinschaftsoffensive Zukunft durch Innovation.NRW (zdi) zertifiziert, die sich für die Förderung junger Wissenschaftler und Ingenieure in Nordrhein-Westfalen einsetzt. Zdi wird auf staatlicher Ebene von mehreren Ministerien (Wissenschaft, Bildung und Wirtschaft) unterstützt; wobei das Wissenschaftsministerium das führende ist. Das Landesbüro zdi berät und unterstützt die Zentren und Schülerlabore bei ihrer Arbeit und koordiniert die Vergabe der Förderungsmittel.

2019 besuchten uns die folgenden Schulen:

21.02.19 Amos Comenius Gymnasium

8 Teilnehmer

04.04.19 Amos Comenius Gymnasium

8 Teilnehmer

10.07.19 Gesamtschule Lohmar

20 Teilnehmer

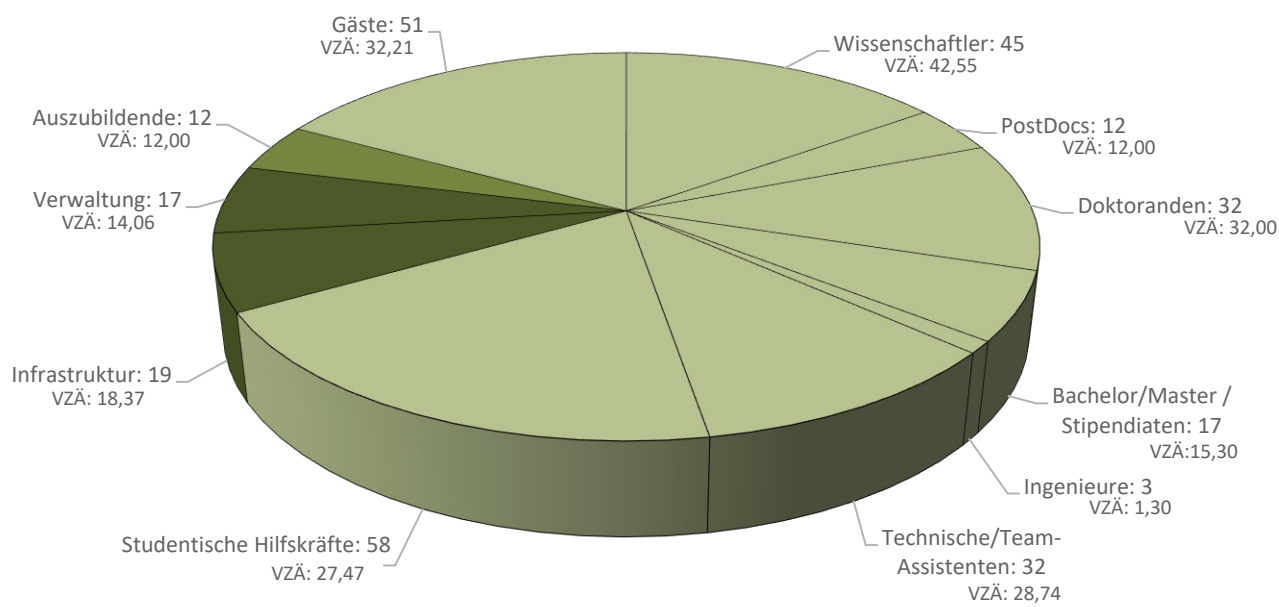
27.11.19 August-Macke Schule

19 Teilnehmer



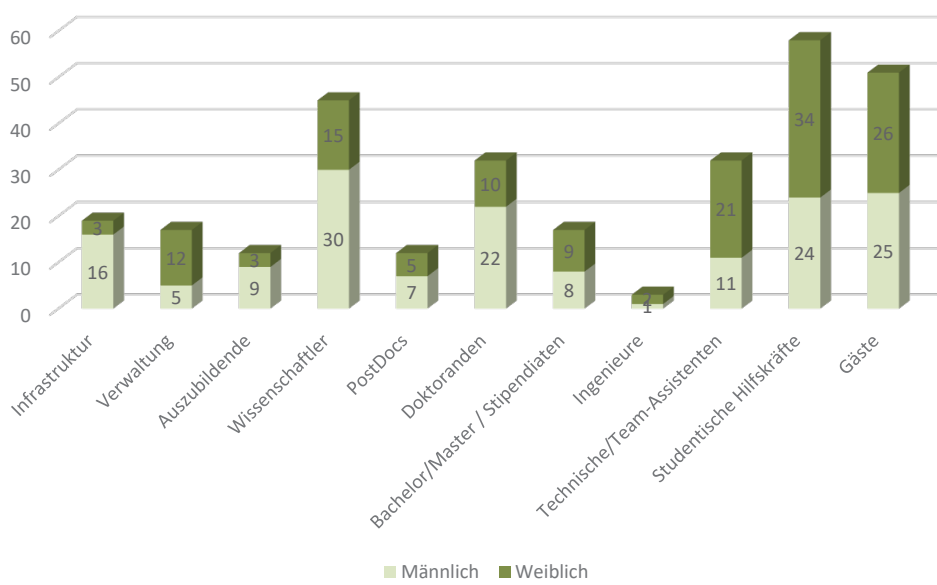


Zahlen und Fakten



VZÄ = Vollzeitäquivalent

Zum 31. Dezember 2019 beschäftigte das Forschungszentrum caesar 235 Mitarbeiter*innen und 51 Gastwissenschaftler*innen. Ihre Verteilung innerhalb der Abteilungen und Bereiche geht aus dem obenstehenden Diagramm hervor. In Vollzeitstellen umgewandelt, waren 14,06 Personen in der Verwaltung und 18,37 im Bereich der Infrastruktur tätig. Zusätzlich bildete caesar 12 Auszubildende in 5 Bereichen aus: Elektriker*innen, Werkzeugmechaniker*innen, Laborassistent*innen in den Bereichen Biologie und Chemie, in der Verwaltung und im Bereich der Tierpflege.



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 2019

Sachanlagen	82,870,404.74 €
Finanzanlagen	301,736,604.26 €
Sonstiges	26,978,341.77 €
Bilanzsumme	411,585,350.77 €

ERTRÄGE 2019

Erträge aus Umsatzerlösen und Förderprojekten	5,479,490.60 €
Erträge aus Wertpapieren und Zinsen	14,653,383.63 €
Erträge insgesamt	20,132,874.23 €

AUFWENDUNGEN 2019

Personalaufwand	9,579,915.42 €
Sachaufwand	5,399,242.80 €
Abschreibungen	3,653,615.20 €
Aufwendungen insgesamt	18,632,773.42 €

Bilanz

Bilanzabschluss zum 31. Dezember 2019

AKTIVA	31.12.2018	31.12.2019
A. Anlagevermögen		
I. Immaterielle Vermögensgegenstände	105,007.91 €	154,946.71 €
II. Sachanlagen		
Grundstücke und Bauten	68,769,854.29 €	67,570,221.68 €
Andere Anlagen	13,868,728.82 €	13,899,832.62 €
Geleistete Anzahlungen & Anlagen im Bau	939,967.55 €	1,400,350.44 €
Summe aus II.	83,578,550.66 €	82,870,404.74 €
III. Finanzanlagen		
Beteiligungen	330,000.00 €	330,000.00 €
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Anlage des Stiftungsvermögens	290,575,021.51 €	290,575,021.51 €
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Gebäudewiederbeschaffung	10,831,582.75 €	10,831,582.75 €
Summe aus III.	301,736,604.26 €	301,736,604.26 €
Summe für A.	385,420,162.83 €	384,761,955.71 €
B. UMLAUFVERMÖGEN		
I. Vorräte	382,325.04 €	538,130.81 €
II. Forderungen und sonstige Vermögensgegenstände		
Forderungen aus Lieferungen und Leistungen	485,069.87 €	514,049.26 €
Forderungen gegen Unternehmen, mit denen ein Beteiligungsverhältnis besteht	0 €	0 €
Sonstige Vermögensgegenstände	1,587,700.70 €	1,696,046.34 €
Summe aus II.	2,072,770.57 €	2,210,095.60 €
III. Wertpapiere	0 €	0 €
IV. Kassenbestand, Bundesbankguthaben, Guthaben bei Kredit- instituten und Schecks	21,618,691.65 €	23,843,411.85 €
Summe für B.	24,073,787.26 €	26,591,638.26 €
C. Rechnungsabgrenzungsposten	189,282.78 €	231,756.80 €
Gesamtes Vermögen	409,683,232.87 €	411,585,350.77 €

Bilanzabschluss zum 31. Dezember 2019

PASSIVA	31.12.2018	31.12.2019
A. Eigenkapital		
I. Stiftungsvermögen		
Finanzierungskapital	286,323,453.48 €	286,323,453.48 €
Investitionskapital	97,145,457.43 €	97,145,457.43 €
Zustiftung Stadt Bonn	6,681,051.01 €	6,681,051.01 €
Zuführung Rücklagen	1,283,956.17 €	1,283,956.17 €
Summe aus I.	391,433,918.09 €	391,433,918.09 €
II. Rücklagen		
Freie Rücklagen gemäß § 58 Nr. 7a AO	8,716,423.79 €	10,216,524.60 €
Instandhaltungsrücklage	4,943,788.62 €	4,943,788.62 €
Summe aus II.	13,660,212.41 €	15,160,313.22 €
III. Ergebnis		
Jahresüberschuss/-fehlbetrag	0 €	0 €
Summe aus III.	0 €	0 €
Summe aus A.	405,094,130.50 €	406,594,231.31 €
B. Sonderposten für Investitionszuschüsse	2,770,722.39 €	2,348,225.35 €
C. Rückstellungen	831,496.05 €	631,573.77 €
D. Verbindlichkeiten		
Erhaltene Anzahlungen	175,000.00 €	6,201.26 €
Verbindlichkeiten aus Lieferungen und Leistungen	681,690.75 €	1,872,417.37 €
Sonstige Verbindlichkeiten	129,806.00 €	132,701.71 €
Summe aus D.	986,496.75 €	2,011,320.34 €
E. Rechnungsabgrenzungsposten	387.00 €	0 €
Gesamtes Vermögen	409,683,232.69 €	411,585,350.77 €



Organe der Stiftung

Stiftungsrat

Am 31. Dezember 2019 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 2019 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

