

# Formen statt Farben

**Prof. Gil Westmeyer macht molekulare Informationen sichtbar, die mit Bildgebungsverfahren bisher nicht zugänglich waren. Ein Beispiel sind die molekularen Prozesse der Signalübertragung von Nervenzellen – etwa, wenn diese im Rahmen von Lernprozessen ihre Verknüpfungen verstärken. Dafür entwickelt er mit seinem Team neuartige Marker für die Elektronenmikroskopie.**

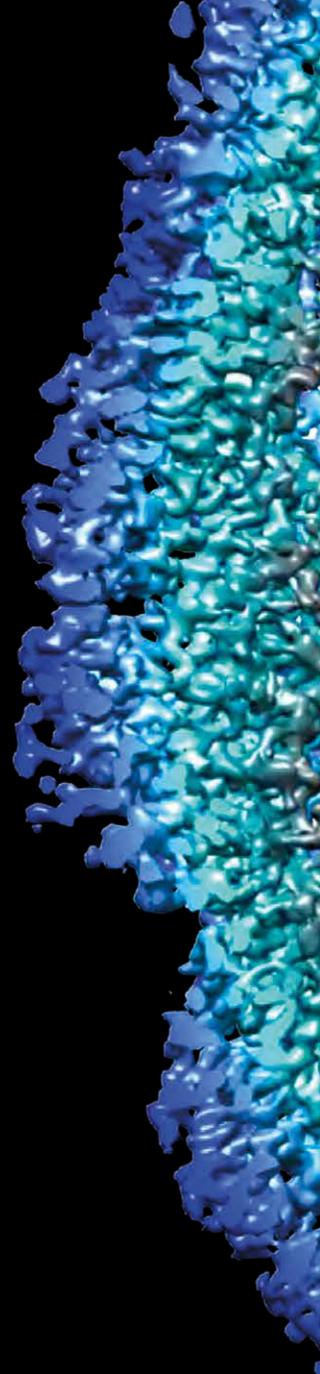
Full Article (PDF, EN): [www.tum.de/en/faszination-forschung-27](http://www.tum.de/en/faszination-forschung-27)

## Shapes, not Colors

E

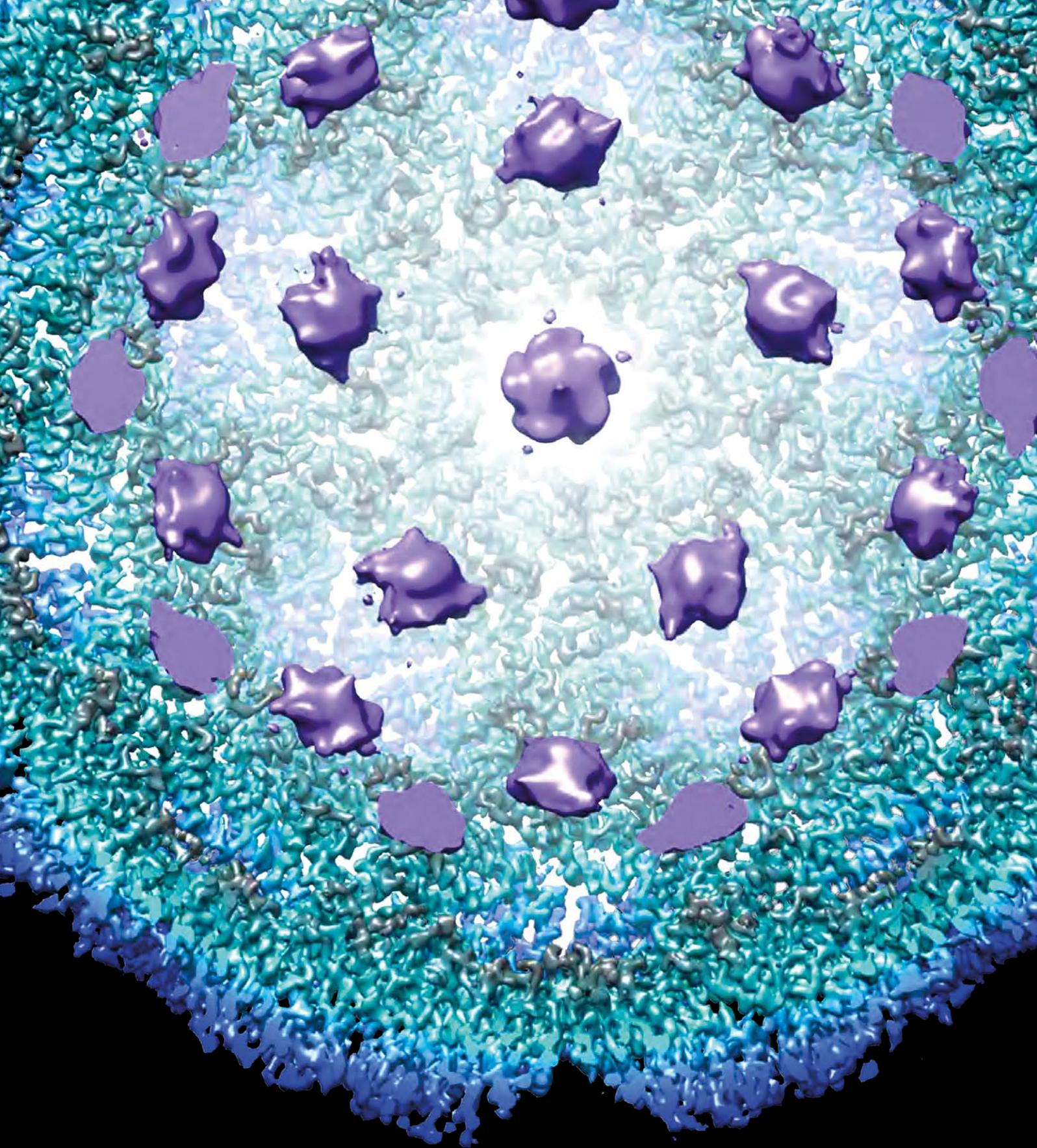
When cells are activated, their gene expression changes, and so does their protein production. This also applies to nerve cells when signal transmission intensifies in the course of learning processes, and it causes the cells to produce different proteins, such as proteins to modify synapses. Until now, it has not been possible to visualize these molecular changes using high-throughput microscopy, because fluorescence microscopy offers possibilities for labeling molecules but does not provide the necessary resolution.

With this in mind, Prof. Gil Westmeyer and his team are developing novel markers for use in electron microscopy. These markers make it possible to visualize several “molecular players” in parallel and at very high resolution. To achieve this, the scientists use designer proteins that are produced by nerve cells in cell culture or genetically modified model organisms, for example, when the cells are activated. The proteins then self-assemble into nanostructures within the relevant cells. By skillfully designing the proteins’ building blocks, the scientists can vary the apparent shapes of these structures. This makes it possible to collect molecular information on numerous parameters in parallel by way of electron microscopy. There are various use cases for this method, including studying molecular changes in learning processes and gaining a better understanding of neuropsychiatric disorders. The technology could also play an important role in developing future cell therapies and interfaces between nerve cells and computers. □



1 nm

Quelle: Reprinted (adapted) with permission from “Iron-Sequestering Nanocompartments as Multiplexed Electron Microscopy Gene Reporters”. Copyright 2019 American Chemical Society



Wenn es um die Anwendung seiner neuesten Methoden geht, holt Prof. Gil Westmeyer etwas aus. Bei der Gedächtnisbildung etwa spielen die Verbindungen der Nervenzellen untereinander, die sogenannten Synapsen, eine besondere Rolle. Zum einen entstehen neue Synapsen, zum anderen werden bestehende Synapsen leichter durchgängig für Signale. Wird dieselbe Zelle dann erneut stimuliert, fällt die Antwort der Empfängerzelle wesentlich stärker aus.

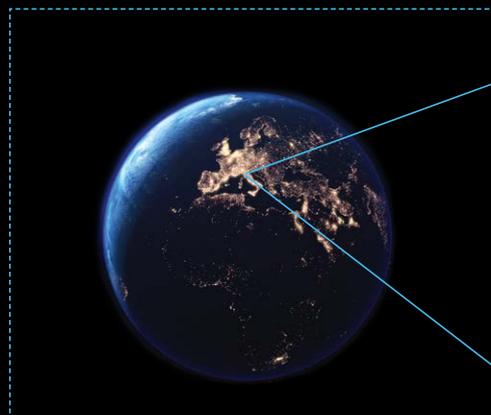
Forscher weltweit erhoffen sich, aus dieser Verschaltung der Nervenzellen untereinander Schlussfolgerungen über deren Funktionen ableiten zu können. In den Neurowissenschaften hat sich dafür das Teilgebiet der Konnektomik – in Anlehnung an Genomik für die Gesamtheit der Gene – entwickelt. Sie arbeitet an der Erstellung des Konnektoms – einer Art Schaltplan des Gehirns – und kartiert die Gesamtheit der Synapsen. Manche Forscher glauben sogar, dass uns dieser Schaltplan ausmacht. Also unsere Erinnerungen, unsere Wahrnehmung, unser Denken.

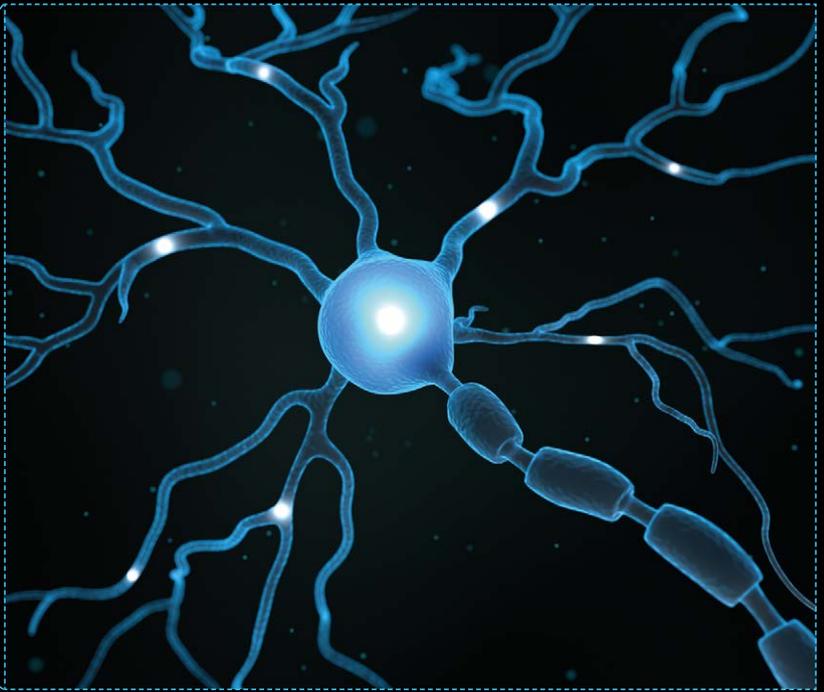
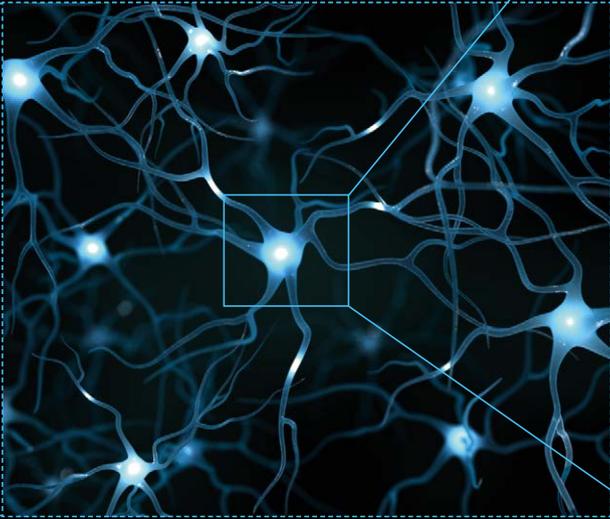
### Das Konnektom – der Schaltplan des Gehirns

Für etablierte Modellorganismen, wie den Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* oder die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, wurde das Konnektom bereits kartiert. Mit rund 100.000 Nervenzellen ist das Fliegenhirn für Forscher übersichtlich genug, um es in seiner Gänze zu untersuchen – im Vergleich zu rund 100 Milliarden Zellen beim Menschen. Westmeyer vergleicht die Übersicht des Konnektoms mit den Straßenkarten einer dynamischen Großstadt. „Wir sehen zwar die großen anatomischen Verknüpfungen, wir möchten aber noch stärker hineinzoomen und sehen, wo wie viel Verkehr fließt, wie die Ampelschaltungen organisiert sind und wo Straßenbaustellen entstehen und verschwinden“, sagt er.

Westmeyer leitet das Institut für Synthetische Biomedizin des Helmholtz Zentrum München und ist Professor für Neurobiological Engineering an der TUM. Der Fokus seines Forschungsprogramms liegt auf der Entwicklung biomolekularer und genetischer Methoden, mit denen grundlegende Prozesse in Zellen auslesbar und steuerbar werden. Damit können zugrundeliegende Muster der molekularen Mechanismen sichtbar gemacht werden, um die bisherigen Modelle der Informationsverarbeitung zu verfeinern. Denn nur so lässt sich verstehen, was bei einem biologischen Lernprozess mechanistisch stattfindet. ▶

Analog zu einer detaillierten Straßenkarte beschreibt das Konnektom eines Gehirns die Verbindungen zwischen all seinen Nervenzellen.





## Fluoreszenzmikroskopie

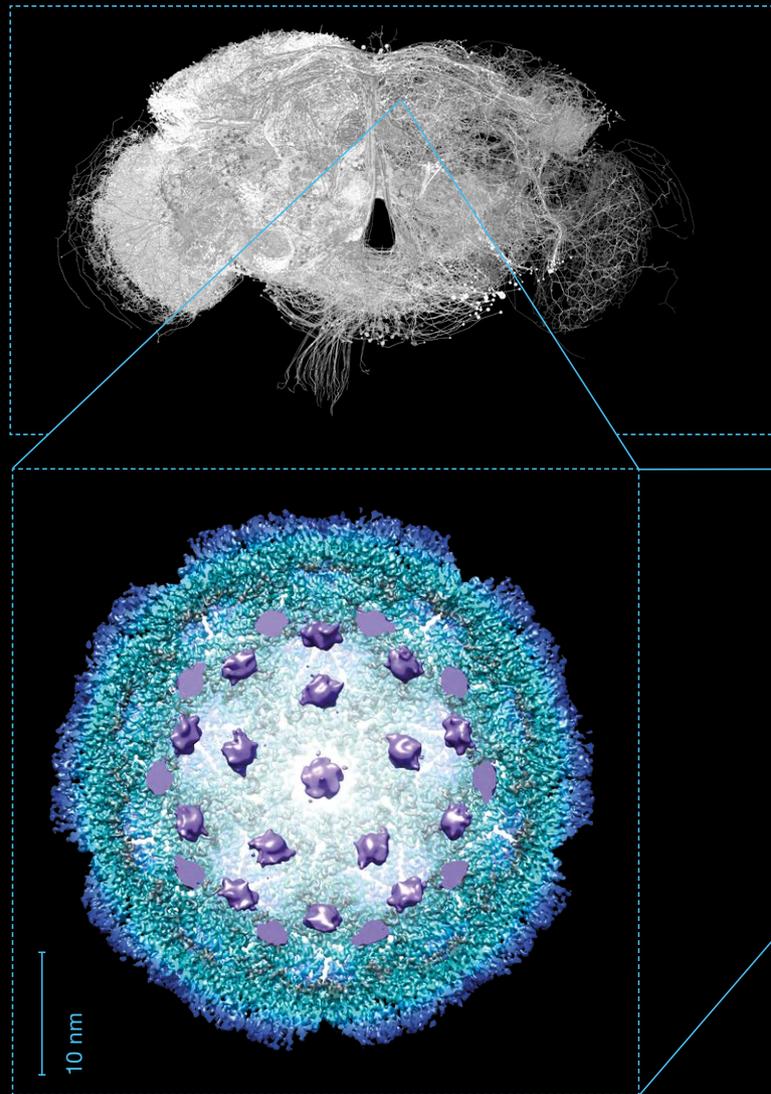
Die Fluoreszenzmikroskopie ist eine spezielle Form der Lichtmikroskopie. Sie beruht auf dem physikalischen Effekt der Fluoreszenz. Wenn fluoreszierende Stoffe mit Licht bestimmter Wellenlänge angeregt werden, strahlen sie Licht anderer, längerer Wellenlängen ab. Zum Einsatz kommen Farbstoffe, die beispielsweise über Antikörper an bestimmte Strukturen binden, oder Fluoreszenzproteine, die von entsprechend gentechnisch veränderten Zellen selbst gebildet werden. Licht besitzt Wellenlängen von etwas weniger als einem Mikrometer. Deshalb kann ein Lichtmikroskop aufgrund des Diffraktionslimits höchstens einige Hundert Nanometer große Objekte abbilden. Durch eine räumliche Beschränkung der Fluoreszenzemission und/oder Vereinzeln von Fluoreszenzsignalen können Superresolution-Fluoreszenzmikroskope diese Auflösungsbarriere überwinden und geeignete Fluorophore mit wenigen Nanometern lokalisieren.

## Volumen-Elektronenmikroskopie

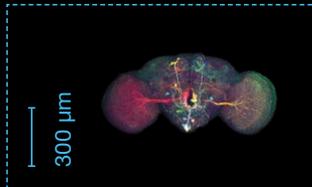
Um Zell-Zell-Kontakte und intrazelluläre Organellen in einem Gewebekblock mit Nanometerauflösung entziffern zu können, wird dieser Schicht für Schicht abgetragen (entweder mittels Diamantenmessern oder durch Beschuss mit Ionenstrahlen) und sequenziell durch Rasterelektronenmikroskopie (entweder der einzelnen Schnitte oder des jeweils übrigbleibenden Blocks) analysiert. Daraufhin wird das Gewebe aus den 2D-Schnitten virtuell wieder in 3D zusammengesetzt. Computeralgorithmen helfen, die einzelnen Zellstrukturen zu erkennen.

Quelle: Drosophila Brainbow: a recombinase-based fluorescence labeling technique to subdivide neural expression patterns Reprinted (adapted) from 2011 Springer Nature; EM reconstruction of Drosophila neurons by the Full Adult Fly tracing community. Visualisation by Philipp Schlegel (Drosophila Connectomics Group, University of Cambridge) 2018 Springer Nature, Reprinted Zheng, Lauritzen et al., Cell Resource (2018); Reprinted (adapted) with permission from "Iron-Sequestering Nanocompartments as Multiplexed Electron Microscopy Gene Reporters". Copyright 2019 American Chemical Society

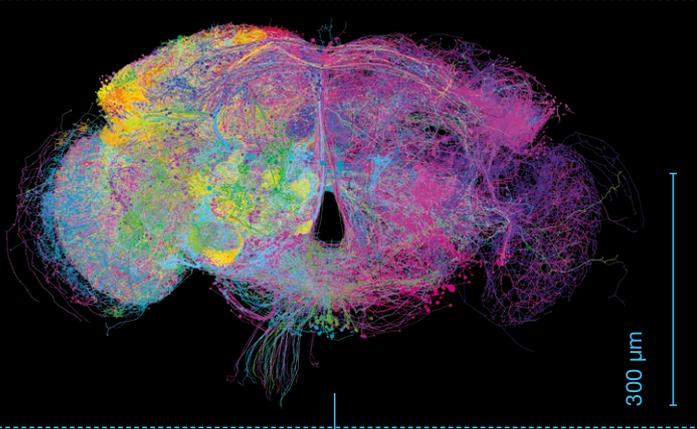
Die Hochdurchsatz-Volumen-Elektronenmikroskopie offenbart das „Konnektom“, also alle Verbindungen zwischen den Nervenzellen, eines Fliegenhirns.



Nanoskalige Gen-Reporter werden von definierten Nervenzellen unter bestimmten Bedingungen exprimiert.



**Die Fluoreszenzmikroskopie** kann die Zellfunktion sichtbar machen, hat aber eine zu geringe Auflösung, um die genauen Kontakte zwischen Nervenzellen aufzulösen.



**Gen-Reporter für Elektronenmikroskopie** fügen dem Schaltplan des Gehirns „vielfarbige“ Informationen zur Zellfunktion hinzu.

### Lernvorgang auf molekularer Ebene

Jede Zustandsveränderung einer Zelle ist eng mit Veränderungen der Genexpression und somit auch der Proteinproduktion verbunden. Auch die Verstärkung der Signalübertragung nach einem Lernprozess beruht unter anderem auf der Synthese neuer Proteine sowohl im Zellkörper als auch in den weit entfernten Ausläufern der Nervenzelle.

Die Bildgebungsmethode der Wahl, um solche Nervenzellverläufe räumlich zu erfassen, ist die Elektronenmikroskopie (EM). „Die Volumen-Elektronenmikroskopie liefert detaillierte Informationen über die Verschaltungen der Nervennetze, aber die gewonnenen Bilder können die molekularen Spieler auf dem Spielfeld der Zelle, also zum Beispiel mRNA oder Proteine, nur sehr schlecht im Hochdurchsatz erfassen“, sagt Westmeyer.

Um solche molekularen Prozesse in der Zelle bildlich darzustellen, eignet sich die Fluoreszenzmikroskopie. Sie erlaubt mehrfarbige Markierungen mithilfe spezieller Fluoreszenzproteine und hat sich als unerlässliche Methode in der Biomedizin entwickelt. Allerdings ist ihre Auflösung zu gering, um die feinen Prozesse von Nervenzellen zu untersuchen. Abhilfe könnte jetzt die Methode schaffen, die das Team um Westmeyer für die Elektronenmikroskopie entwickelt: Marker, mit denen ähnliche Informationen ausgelesen werden können wie mit Fluoreszenzproteinen, aber direkt im Elektronenmikroskop und damit in einer wesentlich höheren Auflösung.

Dafür nutzen die Forscher Proteinkomplexe, die sich innerhalb der jeweiligen Zellen selber zusammenbauen. Zum Einsatz kommen sie in Nervenzellen, in Zellkulturen oder in Modellorganismen wie der Fruchtfliege, deren Nervenzellen gentechnisch so verändert werden, dass sie die entsprechenden Marker produzieren, etwa wenn sie aktiviert werden oder wenn sie bestimmte Proteine für die Bildung neuer Synapsen produzieren. Eine Klasse von Proteinkomplexen, mit denen die Forscher dabei arbeiten, sind sogenannte Enkapsuline, die sich zu hohlen Nanokugeln zusammenlagern – mit definierten Größen von 20, 30 oder 40 Nanometern. Die Zellen sind mit mehreren Mikrometern etwa 1000 mal so groß. ▶

In das Innere dieser Nanokapseln kann beispielsweise das Enzym Ferroxidase eingeschlossen werden. Eisenionen, die durch Poren in das Innere der Nanokugeln gelangen, oxidieren durch das Enzym zu schwerlöslichen Eisenverbindungen, die aufgrund ihrer Größe in den Nanokugeln gefangen sind. Weil Metalle eine höhere Dichte besitzen als die Proteine, verbessern sie den Kontrast, sodass die Nanokugeln in den EM-Aufnahmen besonders gut sichtbar sind. Der Clou: Durch geschicktes Design der entsprechenden Proteinbausteine können verschieden aussehende Nanostrukturen erzeugt werden, die sich im EM unterscheiden lassen. „Damit können wir eine ganze Palette von Strukturen generieren, mit denen sich mittels EM mehrere Parameter von Zellzuständen gleichzeitig auslesen lassen, was im Angesicht der Komplexität des Nervensystems von großem Vorteil ist“, sagt Westmeyer. Das alles ist möglich, weil die Nanokugeln nicht toxisch und so klein und inert sind, dass sie die Zellen nicht behindern oder stören. Weil sich die Proteinkomplexe als Marker für genetische Aktivitäten verwenden lassen (Gen-Reporter), können damit verschiedene molekulare Zustände von Zellen direkt im Elektronenmikroskop quasi „mehrfarbig“ visualisiert werden. Das Projekt wird mit dem renommierten Consolidator Grant des Europäischen Forschungsrats (ERC) gefördert.

Mittlerweile denkt Westmeyer schon einen Schritt weiter. Mit dem Elektronenmikroskop lassen sich Aktivitäten in lebenden Zellen nicht erfassen. Um die wichtige Brücke zu solchen dynamischen Untersuchungen zu schlagen, sollen die Nanokugeln innerhalb der Nervenzellen zukünftig zusätzlich mit Fluoreszenzproteinen gefüllt werden. „Dann könnte die Leuchtkraft der Markierung so stark werden, dass Messungen an lebenden Zellen auch mit besonders leistungsstarken Superresolution-Fluoreszenz-

mikroskopen möglich werden – mit einer möglichen Auflösung von mehreren Nanometern“, sagt Westmeyer. Theoretisch könnten in einem nächsten Schritt die untersuchten Zellen vom Fluoreszenzmikroskop sogar zusätzlich noch ins Elektronenmikroskop wandern, und die Zellstrukturen dort weiter ausgewertet werden. „Was sich so einfach anhört, ist allerdings noch ein weiter Weg der Validierung“, gibt Westmeyer zu bedenken.

### **Überwachung von Schnittstellen zwischen Mensch und Computer**

Westmeyer sprüht vor Ideen, wenn es um weitere Anwendungen seiner Methode geht. So können die gewonnenen Erkenntnisse über dynamische Wechselwirkungen zwischen Gehirnaktivitätsmustern – also die über die Marker erfassten Zellzustände – und Nervenzellverknüpfungen – also die aus EM-Bildern gewonnenen Nervenzellverläufe – das Verständnis von neuropsychiatrischen Erkrankungen wie beispielsweise Autismus oder auch Alzheimer verbessern. Auch für künftige zelluläre Therapien könnten die neuartigen Marker einen Beitrag leisten. Ziel ist es, mit einer Kombination verschiedener molekularer Methoden möglichst viele Aspekte zellulärer Prozesse auszulesen, um diese innovativen Therapieansätze zu präzisieren und zu begleiten.

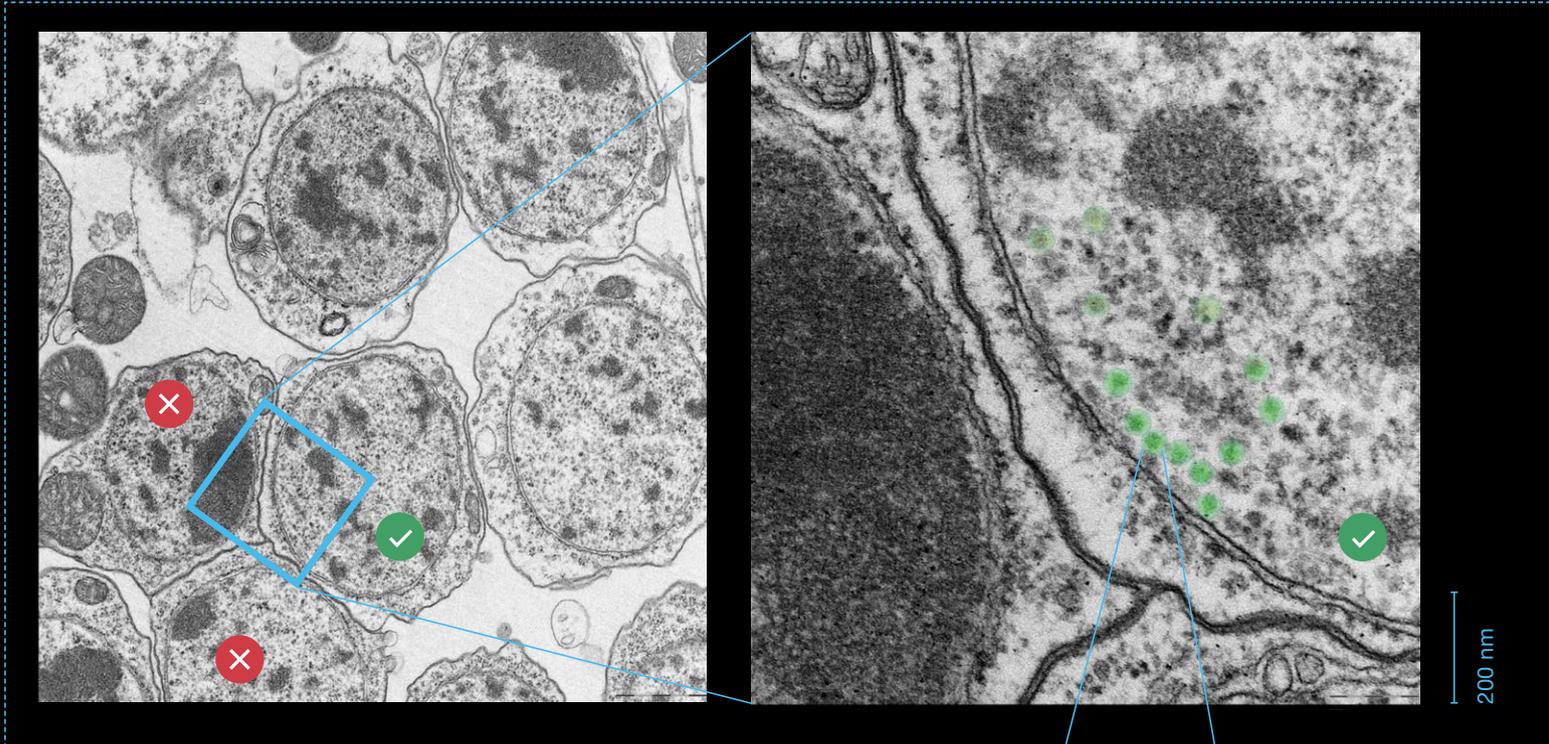
Westmeyers Methode kann aber auch dazu beitragen, architektonische Prinzipien biologischer Nervenzellschaltkreise zu entdecken, die sich dann als Inspiration zur Planung sogenannter neuromorpher Computerchips nutzen lassen. Diese Chiparchitektur empfindet durch biologische Evolution optimierte Schaltkreise nach, die dann zum Beispiel spezielle Algorithmen zur Mustererkennung besonders effizient auf der Hardwareebene ausführen können.



*„Mit unserer Methode können wir hochauflösende, anatomische ‚Karten‘ des Gehirns mit ‚vielfarbiger‘ Information zur Funktion ergänzen.“*

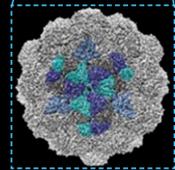
Gil Westmeyer





**Visualisierung molekularer Informationen in Nervenzellen.**

Links: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Schnitts durch das Gehirn einer Fruchtfliege. Die Gen-Reporter werden in der grün markierten Nervenzelle exprimiert, um den genetischen Zustand der Zelle anzuzeigen.



Link
<a href="http://www.westmeyerlab.org">www.westmeyerlab.org</a>

Außerdem können die EM-Marker bei der Herstellung neuer Schnittstellen zwischen Nervenzellen und Computerchips helfen. In einem neuen Kooperationsprojekt mit der Technischen Universität Dresden und Prof. Bernhard Wolfrum von der TUM will Westmeyer am Munich Institute of Biomedical Engineering der TUM Nervenzellen direkt auf den Schaltkreisen von Computerchips anwachsen lassen. Die Forscher wollen dann elektrische und elektrochemische Daten der jeweiligen Nervenzellen messen oder umgekehrt diese elektrisch stimulieren. Hier soll die elektronenmikroskopische Analyse ermöglichen, die korrekte Kontaktbildung zwischen Zelle und Chip zu überprüfen und zu verbessern. Die von Westmeyers Team entwickelten Markersysteme für die Elektronenmikroskopie könnten dabei entscheidende zusätzliche Informationen zum Funktionszustand der so eingesetzten Nervenzellen liefern, die eine Optimierung und Überwachung der Schnittstellen ermöglichen würden. Damit sollen zukünftige Schnittstellen zwischen Nervenzellen und einer angeschlossenen Apparatur wie einem Computer genauer und sicherer werden. Als eine mögliche zukünftige Anwendung wäre die Ansteuerung von Roboterarmen oder -beinen etwa bei einer Patientin oder bei einem Patienten mit Lähmungen denkbar.



*Karoline Stürmer*



---

#### **Prof. Gil Gregor Westmeyer**

---

studierte in München Medizin und Philosophie. Seine Dissertation zu molekularen Grundlagen der Alzheimer-Erkrankung verfasste er im Labor von Prof. Christian Haass. Einen Teil seiner klinischen Ausbildung absolvierte er an der Harvard Medical School in Boston, Massachusetts. Anschließend forschte er im Labor von Prof. Alan Jasanoff am Massachusetts Institute of Technology (MIT), bevor er 2012 dem Ruf an die TUM folgte. Dort leitet er die Professur für Neurobiological Engineering. Darüber hinaus ist er Direktor des Instituts für Synthetische Biomedizin am Helmholtz Zentrum München.

---