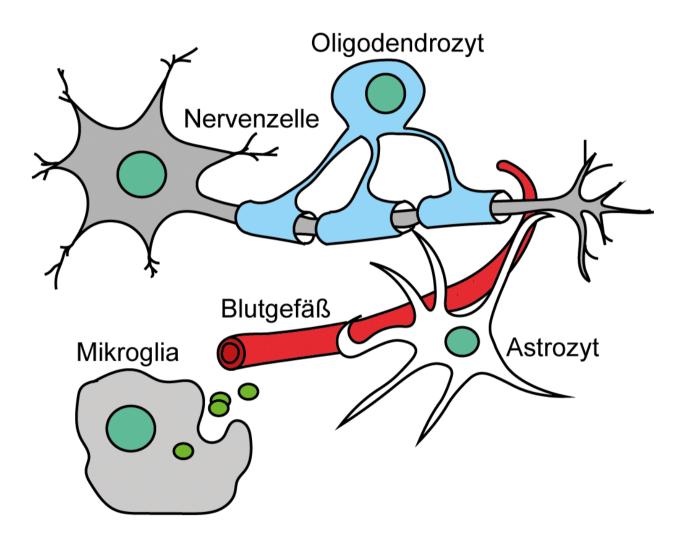
NEUROFORUM

ORGAN DER NEUROWISSENSCHAFTLICHEN GESELLSCHAFT



HERAUSGEGEBEN VON

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. (NWG)

CHEFREDAKTEURE

Petra Wahle, Bochum Heiko J. Luhmann, Mainz





Dieser Preis
wird verliehen durch
die Neurowissenschaftliche
Gesellschaft e.V. für herausragende
Leistungen auf dem Gebiet der Hirnforschung.

innen bis zu einem Alter von 35 Jahren unterstützen. Voraussetzung ist eine durch Publikationen dokumentierte hervorragende Forschungsarbeit. Der/die Bewerber/in sollte in einem deutschen Labor arbeiten oder als Deutsche/r im Ausland tätig sein. Die Bewerbung kann entweder direkt oder durch Vorschlag erfolgen. Bewerbungen aus allen Gebieten der Neurowissenschaften sind willkommen. Mitgliedschaft in der NWG ist keine Voraussetzung. Die NWG strebt eine Erhöhung des Frauenanteils bei den Preisträgern an, Bewerbungen von Frauen sind deshalb besonders erwünscht.

Der Förderpreis von EUR 20.000, - soll junge Wissenschaftler/

Schilling-Forschungspreis

der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft

Die Preisverleihung erfolgt auf der Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft vom 20.–23. März 2019.

Die Bewerbung muss bis spätestens

15. September 2018

per E-Mail (als Anhang, kombiniert zu einem PDF) bei der Geschäftsstelle der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V. Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) Berlin-Buch Robert-Rössle-Str. 10 13125 Berlin

13125 Berlin
E-Mail: gibson@mdc-berlin.de
eingegangen sein.

Die Bewerbung sollte folgende Unterlagen enthalten:

- 1. Lebenslauf (max. 1 Seite)
- 2. Publikationsliste
- 3. Bedeutung der Forschungsarbeit (max. 2 Seiten)
- 4. Adressliste von renommierten Wissenschaftler/innen,
 - bei denen eine Stellungnahme bei Bedarf angefordert werden kann.



NEUROFORUM

HERAUSGEGEBEN VON

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. (NWG)

CHEFREDAKTEURE

Petra Wahle, Bochum, Heiko J. Luhmann, Mainz

REDAKTION

Susanne Hannig, Berlin

REDAKTIONSGREMIUM

Mathias Bähr, Göttingen Niels Birbaumer, Tübingen Alexander Borst, Martinsried Sebastian Brandner, London, Großbritannien Katharina Braun, Magdeburg Nils Brose, Göttingen Ansgar Büschges, Köln Thomas Deller, Frankfurt/M. Ricarda Diem, Heidelberg Ulrich Dirnagl, Berlin Andreas Draguhn, Heidelberg Jens Eilers, Leipzig Herta Flor, Mannheim Eckhard Friauf, Kaiserslautern Giovanni Galizia, Konstanz Magdalena Götz, München Benedikt Grothe, München Sonja Grün, Jülich Onur Güntürkün, Bochum Eckhart Gundelfinger, Magdeburg Ileana Hanganu-Opatz, Hamburg Andreas Heinz, Berlin Charlotte Helfrich-Förster, Würzburg

Michael Heneka, Bonn Anton Hermann, Salzburg, Österreich Andreas Herz, München Isabella Heuser, Berlin Sigismund Huck, Wien, Österreich Mark Hübener, Martinsried Reinhard Jahn, Göttingen Peter Jonas, Klosterneuburg, Österreich Sabine Kastner, Princeton, USA Helmut Kettenmann, Berlin Frank Kirchhoff, Homburg Christian Klämbt, Münster Thomas Klockgether, Bonn Matthias Kneussel, Hamburg Michael Koch, Bremen Arthur Konnerth, München Sigrun Korsching, Köln Kerstin Krieglstein, Freiburg Trese Leinders-Zufall, Homburg Wolfgang Löscher, Hannover Siegrid Löwel, Göttingen Albert Christian Ludolph, Ulm

Moritz Helmstädter, Frankfurt/M.

Hanspeter A. Mallot, Tübingen Denise Manahan-Vaughan, Bochum Thomas Möller, Cambridge, USA Ulrike Müller, Heidelberg Thomas Münte, Lübeck Roger Nitsch, Zürich, Schweiz Christian Pape, Münster Hans-Joachim Pflüger, Berlin Josef Rauschecker, Washington, USA Angelika Richter, Leipzig Christine R. Rose, Düsseldorf Stefan Rotter, Freiburg Susanne Schoch-McGovern, Bonn Rainer Schwarting, Marburg Mikael Simons, Göttingen Christian Steinhäuser, Bonn Monika Stengl, Kassel Christiane Thiel, Oldenburg Stefan Treue, Göttingen Petra Wahle, Bochum Bernd Weber, Bonn Christian Wegener, Würzburg Florentin Wörgötter, Göttingen

ABSTRACTED/INDEXED IN Baidu Scholar · Case · CNKI Scholar (China National Knowledge Infrastructure) · CNPIEC · EBSCO Discovery Service · Elsevier: SCOPUS · Google Scholar · Japan Science and Technology Agency (JST) · J-Gate · JournalGuide · JournalTOCs · KESLI-NDSL (Korean National Discovery for Science Leaders) · Microsoft Academic · Naviga (Softweco) · Primo Central (ExLibris) · Publons · ReadCube · SCImago (SJR) · Summon (Serials Solutions/ProQuest) · TDNet · Ulrich · Seriodicals Directory/ulrichsweb · WanFang Data · WorldCat (OCLC)

ISSN 0947-0875 · e-ISSN 2363-7013

Alle Informationen zur Zeitschrift, wie Hinweise für Autoren, Open Access, Bezugsbedingungen und Bestellformulare, sind online zu finden unter https://www.degruyter.com/view/j/nf

HERAUSGEBER Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. (NWG), Kontakt: Meino Alexandra Gibson, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Robert-Rössle-Straße 10, 13092 Berlin, Tel.: +49 (0)30 9406 3336, gibson@mdc-berlin.de, www.nwg-info.de

CHEFREDAKTEUR Chefredakteur Prof. Dr. Petra Wahle, AG Tierphysiologie, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, D-44780 Bochum (Germany), Tel.: +49 (0)234 32 24346; Prof. Dr. Heiko J. Luhmann, Institute of Physiology, University Medical Center, Duesbergweg 6, D-55128 Mainz (Germany), Tel.: +49 (0)6131 39 26070, http://physiologie.uni-mainz.de/physio/luhmann/index.htm

REDAKTION Susanne Hannig, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Robert-Rössle-Str. 10, 13092 Berlin (Germany), Tel.: +49 (0)30 9406 3336, gibson@mdc-berlin.de

JOURNAL MANAGER Torsten Krüger, De Gruyter, Genthiner Straße 13, 10785 Berlin, Germany. Tel.: +49 (0)30 260 05-173, Fax: +49 (0)30 260 05-250, E-Mail: Neuroforum.Editorial@degruyter.com

ANZEIGENVERANTWORTLICHER top-ad Bernd Beutel, Schlossergäßchen 10, 69469 Weinheim,

Tel.: +49 (0)6201 290 92-0, Fax +49 (0)6201 290 92-20

© 2018 Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston

COVER ILLUSTRATION Neurone, Astrozyten, Oligodendrozyten und Mikroglia sind die wichtigsten Zellarten des ZNS (Alejandro Villarreal, Henriette Franz und Tanja Vogel, S. 119 ff.)

SATZ fidus Publikations-Service GmbH, Nördlingen

DRUCK Franz X. Stückle Druck und Verlag e.K., Ettenheim Printed in Germany



VORSTAND DER AMTSPERIODE 2017-2019

PRÄSIDENT

Eckhard Friauf, Kaiserslautern

VIZEPRÄSIDENT

Albert Christian Ludolph, Ulm

GENERALSEKRETÄR

Christian Steinhäuser, Bonn

SCHATZMEISTER

Ansgar Büschges, Köln

SEKTIONSSPRECHER

Computational Neuroscience *Stefan Rotter*, Freiburg

Entwicklungsneurobiologie/Neurogenetik

Petra Wahle, Bochum

Klinische Neurowissenschaften Ricarda Diem, Heidelberg Kognitive Neurowissenschaften Hanspeter A. Mallot, Tübingen

Molekulare Neurobiologie Matthias Kneussel, Hamburg

Neuropharmakologie/-toxikologie Angelika Richter, Leipzig

Systemneurobiologie Benedikt Grothe, Martinsried

Verhaltensneurowissenschaften Christian Wegener, Würzburg

Zelluläre Neurowissenschaften *Christine R. Rose*, Düsseldorf

Inhalt

Übersichtsartikel

Johannes Felsenberg und David Owald **Gedächtnismechanismen in** *Drosophila* — 73

Johannes Felsenberg and David Owald Making Memories. On the fly. —— A53

Giordano Ramos-Traslosheros, Miriam Henning und Marion Silies

Bewegungssehen: Zellen, Schaltkreise und Algorithmen — 85

Giordano Ramos-Traslosheros, Miriam Henning and Marion Silies

Motion detection: cells, circuits and algorithms — A61

Martin Heine und Arthur Bikbaev

Molekulare Dynamik der neuronalen
Informationsübertragung — 97

Martin Heine and Arthur Bikbaev

Molecular dynamics of neuronal information
transfer —— A73

Alejandro Villarreal, Henriette Franz und Tanja Vogel Die Rolle von Histonmethylierungen in der Entwicklung des zentralen Nervensystems und bei Neuralrohrdefekten —— 111

Alejandro Villarreal, Henriette Franz and Tanja Vogel Histone methylations in the developing central nervous system and in neural tube defects —— A85

Martin Heisenberg "Mind from Matter?" – Über Verhalten und Gehirn —— 121

Martin Heisenberg

Mind from Matter? – Via Brain and Behavior —— A95

Forschungsförderung

Onur Güntürkün und Dagmar Timmann-Braun Sonderforschungsbereich (SFB 1280) "Extinktionslernen" —— 129

Konstantin Schubert und Silvio O. Rizzoli

Kollaboratives Forschungszentrum
(Sonderforschungsbereich, SFB) 1286 "Quantitative
Synaptologie" —— 135

Nachruf

Ansgar Büschges
Nachruf auf Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Franz Huber —— 141

Herta Flor und Niels Birbaumer

Nachruf auf Robert F. Schmidt —— 145

Rezension

Norman Doidge

Neustart im Kopf – Wie sich unser Gehirn selbst repariert —— 147

Nachrichten

Einladung zur Mitgliederversammlung während des FENS Forum 2018 in Berlin (7.–11. Juli 2018) —— 149

NWG-Reisestipendien für das FENS Forum 2018 in Berlin vergeben —— 149

Vorstandswahl für die Amtsperiode 2019-2021 --- 150

Fortbildungsprogramme der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2018/2019 – Von Mitgliedern für Mitglieder —— 150

Neueintritte —— 151

13. Göttinger Tagung (20.-23. März 2019) --- 153

FENS Forum 2018 in Berlin (7.-11. Juli 2018) — 156

Ausblick/Preview — 159

Übersichtsartikel

Johannes Felsenberg* und David Owald*

Gedächtnismechanismen in Drosophila

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0048

Zusammenfassung: Zielgerichtetes Verhalten wird durch neuronale Schaltkreise im Gehirn gesteuert. Erfahrungen können die Dynamiken dieser neuronalen Schaltkreise verändern, indem spezifische synaptische Verbindungen modifiziert werden. Die Lokalisierung einer solchen lerninduzierten synaptischen Plastizität hat sich jedoch bis heute als anspruchsvoll erwiesen. Technische Fortschritte in der Kontrolle und Messung von neuronaler Aktivität haben es nun ermöglicht, die dem Lernen und der Gedächtnisbildung zugrunde liegenden Strukturen im Gehirn des Modelsystems Drosophila in vivo zu charakterisieren. Die Taufliege (Drosophila melanogaster) hat ein numerisch einfacheres Gehirn, was die Erforschung identifizierter Netzwerkkomponenten realisierbar macht. In diesem Artikel erörtern wir die Mechanismen, auf denen assoziatives Lernen, Gedächtnisabruf sowie die Reevaluierung von existierenden Gedächtnissen in Drosophila beruhen.

Schlüsselwörter: Lernen und Gedächtnis; Dopamin; Pilzkörper; pilzkörperextrinsische Neurone; Extinktionslernen und Gedächtnisrekonsolidierung

Sensorische Reize werden durch neuronale Operationen als Aktivitätsmuster spezifischer Neurone in definierten Schaltkreisen im Gehirn abgebildet. Assoziative Gedächtnisse bilden sich beispielsweise aus, wenn einem zuvor neutralen Reiz eine Wertigkeit zugeschrieben wird. Die hierbei involvierten Netzwerke lassen sich in Hirnarealen lokalisieren, die der primären Reizverarbeitung nachgeschaltet sind. Dort können Informationen sowohl miteinander verknüpft als auch entsprechende nachfolgende motorische Programme angesteuert werden. Im Säugetiergehirn sind solche Regionen beispielsweise der Hippocampus oder die Amygdala (Tovote et al., 2015). Im

David Owald, Institut für Neurophysiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland, E-Mail: david.owald@charite.de

Insektengehirn erfüllt der Pilzkörper eine solche Funktion (Stevens, 2015; Menzel, 2014).

Neurone sind über Synapsen miteinander verknüpft und bilden so neuronale Schaltkreise. Es wird allgemein angenommen, dass Gedächtnisbildung durch die anhaltende Stärkung oder Abschwächung synaptischer Verknüpfungen realisiert wird, wobei angemerkt werden muss, dass direkte Evidenzen für solch ein Model im sich verhaltenden Tier rar sind. Eine solche lerninduzierte Plastizität setzt voraus, dass die Aktivität von sekundären Botenstoffen sowie komplexer Proteinmaschinerien an Synapsen exakt reguliert werden kann. Tatsächlich können Mutationen von Genen, die involvierte Proteine kodieren, zu anormaler neuronaler Aktivität führen (Südhof, 2012).

Die Grundlage für die Erkenntnis des engen Zusammenhangs zwischen genetischer Information, neuronalen Netzwerken und Verhaltensmerkmalen wurde in den frühen 1970er-Jahren im Labor von Seymour Benzer gelegt. Die angewandten Methoden waren einfach, aber brillant. Taufliegen, Drosophila melanogaster, wurden genetisch verändert und spezifischen Verhaltenstests unterzogen. Dieser Ansatz führte zur Identifikation zahlreicher genetischer Programme, die auf evolutionärer Ebene hochkonserviert sind. Ein in diesem Zusammenhang entdeckter Genlokus ist etwa der zirkadiane Faktor Period (Konopka und Benzer, 1971). Zu den im Benzer-Labor untersuchten Verhaltensparadigmen gehörten auch die ersten Analysen von assoziativen Gedächtnissen (Quinn und Dudai, 1976), die als Grundstein der hier diskutierten Erkenntnisse zu betrachten sind.

Fortschritte im Verständnis der neuronalen Prinzipien, die dem Lernen und der Gedächtnisspeicherung zugrunde liegen, werden durch die numerische Komplexität des Vertebraten-Nervensystems erschwert. Der Modellorganismus *Drosophila* erlaubt genetische und verhaltensorientierte Ansätze und bietet darüber hinaus die Möglichkeit, physiologische Fragestellungen in einem relativ simplen Gehirn zu bearbeiten. So ist es unter anderem möglich, mithilfe genetischer Strategien einzelne Neurone reproduzierbar zu manipulieren, d. h. zu aktivieren oder zu blockieren und/oder die Aktivität dieser Neurone *in vivo* zu messen (siehe Exkursion 1). Die relative (numerische) Einfachheit und die experimentelle Zugänglichkeit des *Drosophila*-Nervensystems haben dazu geführt, dass

^{*}Korrespondenzautoren: Johannes Felsenberg, Centre for Neural Circuits and Behaviour, The University of Oxford, Tinsley Building, Mansfield Road, Oxford OX1 3SR, UK, E-Mail: johannes.felsenberg@cncb.ox.ac.uk

ein grundlegendes Verständnis entwickelt werden konnte, welche synaptischen Verbindungen im Drosophila-Gehirn lerninduziert verändert werden, wie diese Veränderungen induziert werden und wie diese Plastizität wiederum mit dem erlernten Verhalten eines Tieres in Verbindung steht.

Exkursion 1: Drosophila können problemlos in großen Mengen im Labor gehalten werden und genetische Modifizierungen bestimmter Chromosome ermöglichen es, Mutationen über Generationen hinweg stabil zu halten. Darüber hinaus besitzen Drosophila nur drei Chromosomen (sowie ein sehr kleines Viertes), sodass die genetische Komplexität gewissermaßen überschaubar bleibt.

Die Anwendung der Transgenese (Rubin and Spradling, 1982) und der Einsatz binärer Expressionssysteme ermöglichten wichtige Durchbrüche bezogen auf die Beschreibung verhaltensrelevanter neuronaler Netzwerke. So wurden Transgene hergestellt, die es ermöglichen, Neurotransmission in definierten Zeitfenstern zu blockieren oder Neurone durch licht- beziehungsweise temperaturabhängige Ionenkanäle zeitlich präzise zu aktivieren (Optogenetik bzw. Thermogenetik). Diese Techniken sind von enormen Wert für die Untersuchung der aktiven Beteiligung von Neuronen an Verhaltensprogrammen. Transgenese ermöglicht außerdem den Gebrauch binärer Expressionssysteme (Brand and Perrimon, 1993), in denen Transkriptionsfaktoren und die zugehörigen DNS-Elemente von anderen Organismen entliehen und unter die Kontrolle von Drosophila-Enhancer-Sequenzen gesetzt werden. Solche Systeme erlauben die Kontrolle darüber, wo und wann spezifische Gene exprimiert werden. Mithilfe verschiedener Verfeinerungen dieses Systems lassen sich Transgene, wie zum Beispiel solche, die optogenetische Effektoren kodieren, spezifisch in identifizierten Populationen von Neuronen in vielen Fällen sogar in einzelnen Neuronen - exprimieren (Owald et al., 2015b). Diese genetischen Prinzipien ermöglichen nicht nur die Aktivitätsmanipulation von Neuronen, sondern erlauben auch, Aktivitätsmuster definierter Neurone zu messen. Der kombinierte Gebrauch von Effektoren und Aktivitätsreportern, beispielsweise genetisch kodierter Kalzium-Indikatoren, hat sich als essentiell für die neuronale Schaltkreiskartierung erwiesen.

Vom Stimulus zur Bedeutung

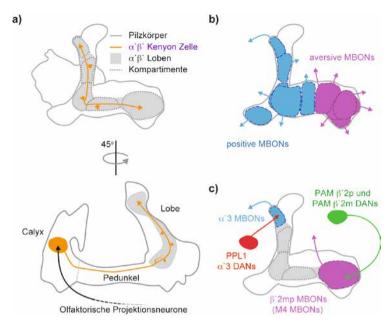
Die Welt stellt Tieren die ständige Herausforderung, unzählige sensorische Reize wahrzunehmen und über deren Relevanz zu entscheiden. Um grundlegende Aufgaben des Lebens wie Fortpflanzung und Überleben sicherzustellen, müssen Tiere lernen, mithilfe dieser sensorischen Reize Futterquellen sowie Fortpflanzungsmöglichkeiten zu finden und potenzielle Gefahren zu vermeiden. Es ist somit nicht überraschend, dass Taufliegen olfaktorische und visuelle Reize mit Nahrungsquellen (Belohnung) oder unangenehmen und gefährlichen Stimuli (Bestrafung) assoziieren können. Forschungen der letzten Jahrzehnte haben den Pilzkörper, ein Neuropil dritter Ordnung, als

das Zentrum für assoziatives Lernen im Insektengehirn identifiziert (Heisenberg, 2003; Menzel, 2014). Das für die Gedächtnisspeicherung essenzielle Pilzkörpernetzwerk der Taufliege besteht aus weniger als 3000 Neuronen pro Gehirnhälfte (Hemisphäre).

Die Aktivität von intrinsischen Pilzkörperzellen, den Kenyon-Zellen (Kenyon cells, KCs, ca. 2000 Zellen pro Hemisphäre), erstellt eine Repräsentation der sensorischen, besonders der olfaktorischen, Umwelt. Gerüche werden von sensorischen Rezeptorneuronen detektiert und der entstandene Reiz wird im Antennallobus weiterverarbeitet und schließlich über Projektionsneurone an die KCs übermittelt. Jeder eingehende Duft aktiviert eine kleine spezifische Gruppe an KCs. Es ist dieses Aktivitätsprofil, das die Geruchsidentität innerhalb des Pilzkörpernetzwerks kodiert (Stevens, 2015). Die überwiegend cholinergen KCs (Barnstedt et al., 2016) entsenden parallele Axonenbündel, welche die Pilzkörperloben formen, und bilden erregende En-passant-Synapsen mit einer geringen Anzahl an nachgeschalteten Partnern, den pilzkörperextrinsischen Neuronen (Mushroom body output neurons, MBONs; siehe Abbildung 1a).

Aufgrund ihrer Anatomie werden die 35 MBONs pro Gehirnhälfte in 21 Typen unterteilt. Jeder MBON-Typ ist definiert über sein spezifisches, abgegrenztes, dendritisches Innervierungsmuster des Pilzkörpers. Dieses eindeutige Muster erlaubt, die entsprechenden MBON-Typen in jedem Fliegengehirn verlässlich zu identifizieren. Im Generellen überlappen diese Bereiche nicht mit denen anderer MBON-Typen. So "kacheln" die Dendriten der MBON-Typen die Pilzkörperloben und bilden dezidierte Kompartimente (Tanaka et al., 2008; Aso et al., 2014b)

Interessanterweise genügt die Manipulation der Aktivität einzelner MBON-Typen, um die Verhaltensreaktion einer Taufliege auf einen Duft zu verändern (Aso et al., 2014a; Owald et al., 2015a; Perisse et al., 2016). So fördern bestimmte Typen von MBONs eine geruchsinduzierte Hinwendungsreaktion (positive MBONs), während andere Typen geruchsgesteuertes Vermeidungsverhalten vermitteln (aversive MBONs, Abbildung 1b). Naive Taufliegen, denen die Wahl zwischen einem reinen Luftstrom und einem abstoßenden Geruch gegeben wird, vermeiden normalerweise diesen Duft. Wenn aber experimentell aversive MBONs akut blockiert werden, verändern die Taufliegen ihr Verhalten und sie wenden sich nun dem initial abstoßenden Geruch zu. Werden dagegen die positiven MBONs während der Entscheidungssituation ausgeschaltet, verstärkt sich das Vermeidungsverhalten (Owald et al., 2015a; Perisse et al., 2016). Diese Klassifizierung der extrinsischen Pilzkörperneurone in positive und aversive MBONs wird weiter durch optogenetische Experimente gestützt (Aso et



FINE SURGICAL INSTRUMENTS FOR RESEARCH™

VISIT US AT FINESCIENCE.DE OR CALL +49 (0) 6221 90 50 50

Abb. 1: Komponenten des Pilzkörpers a) Kenyon-Zellen (Kenyon cells; KCs) formen die Pilzkörper (mushroom bodies; MBs; graue durchgezogene Linie). Es gibt drei Haupttypen von KCs: die $\alpha\beta$, die $\alpha'\beta'$ (in violett, eine Beispiel-Kenyon-Zelle) und die γ KCs. KCs erhalten sensorischen Input von Projektionsneuronen (schwarz) im Calyx des Pilzkörpers. KC-Neuriten projizieren entlang des Pedunkels zu den Loben (grau). In den Loben bilden sie en passant erregende Synapsen (Pfeilspitzen) mit nachgeschalteten Neuronen, den pilzkörperextrinsischen Neuronen (mushroom body output neurons; MBONs). b) Bestimmte Typen von MBONs vermitteln Vermeidungsreaktionen bzw. Hinwendungsverhalten (positive MBONs in blau und aversive MBONs in violett). c) Die dendritischen Innervationsmuster jedes MBON-Typs (zwei Beispiele, blau und violett) decken sich mit der Innervation einer entsprechenden Dopamin-Neuronen-Gruppe (DANs, rot und grün). Zusammen definieren sie Kompartimente des Pilzkörpers (gestrichelte Linien). Nicht alle MBON-Typen vermitteln aversives Verhalten oder Hinwendungsverhalten. Kürzlich wurde gezeigt, dass das $\alpha'3$ MBON die Neuartigkeit eines Reizes kodiert (Haitori et al 2017). Es bleibt festzuhalten, dass die genauere Untersuchung einiger MBONs noch aussteht.



al., 2014a; Owald et al., 2015a): Naive Fliegen, die lichtaktivierbare Kationenkanäle (zum Beispiel CsChRimson) in einzelnen MBONs exprimieren, werden vor die Wahl gestellt, diese MBONs entweder zu aktivieren oder deren Aktivierung zu vermeiden. Tatsächlich vermeiden die Taufliegen, bei denen CsChRimson in aversiven MBONs exprimiert wird, überwiegend deren lichtinduzierte Aktivierung. Sie nähern sich hingegen der Lichtquelle, wenn diese Kationenkanäle in positiven MBONs exprimiert werden. Zusammen genommen legen diese Experimente ein Netzwerkmodel nahe, in dem der Identität eines Geruchs an der Synapse zwischen KCs und MBONs (Heisenberg, 2003) eine Bedeutung, eine Valenz, zugeordnet wird.

Werte zuordnen

Wie bei Säugetieren ist das assoziative Lernen der Fliege eng mit dem dopaminergen System verknüpft. Die Pilzkörperloben werden von Dopamin-Neuronen aus zwei verschiedenen Clustern innerviert, deren Aktivität während des assoziativen Lernens notwendig ist. Aversives Lernen, die Assoziation eines Dufts mit einer Bestrafung, bedarf der Aktivität dopaminerger Neurone des kleineren PPL1-Clusters. Unterschiedliche Bestrafungen, so wie Elektroschocks, Hitze oder bittere Substanzen, scheinen hierbei alle über die gleichen bestrafungsvermittelnden PPL1-Dopamin-Neurone vermittelt zu werden [zur Übersicht siehe (Waddell, 2013)].

Das Belohnungslernen dagegen benötigt die Aktivität unterschiedlicher belohnungsspezifischer Dopamin-Neurone aus dem sogenannten PAM-Cluster. So wird das Signal für eine Wasserbelohnung über bestimmte Dopamin-Neurone vermittelt, die sich von den dopaminergen Zellen, die Zuckerbelohnung vermitteln, unterscheiden (Burke et al., 2012; Liu et al., 2012; Lin et al., 2014). Die zuckerbasierte Belohnung lässt sich auf neuronaler Ebene sogar noch weiter differenzieren. Die für das Erlernen eines belohnenden süßen Geschmacks verantwortlichen Dopamin-Neurone unterscheiden sich von solchen, die das Lernen über den Nährwertgehalt vermitteln (Huetteroth et al., 2015; Yamagata et al., 2015). Auffällig ist hierbei, dass die Axone dieser spezifischen Gruppen von Dopamin-Neuronen separate, nicht-überlappende Kompartimente in den Pilzkörperloben innervieren. Diese diskreten Innervierungsmuster decken sich exakt mit der Kompartimentalisierung des Pilzkörpers durch die Dendriten der unterschiedlichen MBON-Typen (Aso et al., 2014a; Owald et al., 2015a).

Dadurch ergibt sich, dass die einzelnen Gruppen von Dopamin-Neuronen bestimmte Synapsen zwischen KCs und einzelnen MBON-Typen in jeweils einem spezifischen Kompartiment beeinflussen. Diese anatomische Separation lässt vermuten, dass Erinnerungen an Bestrafungen und verschiedene Belohnungen in spezifischen KC-MBON-Synapsen des jeweiligen Kompartiments gespeichert werden. Somit bildet diese Anordnung das Grundgerüst für ein differenzierbares Gedächtnisauslese und -schreibsys-

Gedächtnisse schreiben und lesen: Von der Synapse zum Netzwerk

Bestrafungsvermittelnde Dopamin-Neurone innervieren die Kompartimente, in denen sich die Dendriten der positiven MBON-Typen befinden, wohingegen belohnungsvermittelnde Dopamin-Neurone Kompartimente mit den Dendriten der aversiven MBON-Typen innervieren. Diese Struktur impliziert, dass während des olfaktorischen Lernens die kompartimentspezifische Dopaminausschüttung eine Depression (eine Abschwächung der synaptischen Stärke) der synaptischen Verbindungen zwischen KCs und den nachgeschalteten MBONs induziert.

Die ersten Hinweise für lerninduzierte Plastizität pilzkörperextrinsischer Neurone (MBONs) lieferten extrazelluläre Ableitungen der elektrischen Aktivität von MBONs in der Honigbiene (Menzel und Manz, 2005). In Drosophila werden vorrangig Kalzium-Indikatoren benutzt, um neuronale Aktivität in genetisch-identifizierten Populationen von Neuronen zu messen [zur Übersicht siehe (Owald und Waddell, 2015)]. So konnte gezeigt werden, dass sich die duftinduzierte Aktivität bestimmter MBON-Typen für einen gelernten Duft verändert: Wenn ein Geruch mit einer Belohnung assoziiert wird, verringert sich die Erregung der durch diesen Duft aktivierten aversiven MBON-Typen nachhaltig (Owald et al., 2015a). Wird ein Duft jedoch mit einer Bestrafung, zum Beispiel einem Elektroschock, assoziiert, so verringert sich die Reizantwort von positiven MBON-Typen für den erlernten Geruch (Séjourné et al., 2011; Hige et al., 2015; Perisse et al., 2016). Diese Befunde decken sich mit den oben beschriebenen Änderungen des duftinduzierten Verhaltens, wenn aversive oder positive MBON-Typen geblockt werden: Ein initial aversiver Duft induziert eine Hinwendungsreaktion, wenn aversive MBON-Typen geblockt werden, oder Düfte werden noch aversiver, wenn positive MBON-Typen geblockt werden. Zusammen genommen zeigen diese Ergebnisse, dass die synaptische Plastizität zwischen den die Duftidentität repräsentierenden KCs und den valenzkodierenden MBONs die Grundlage des erlernten Verhaltens bildet und somit einen wichtigen Teil des Korrelats zwischen Belohnungsund Bestrafungsgedächtnis darstellt.

Die Depression von synaptischen Verbindungen scheint das vorherrschende Motiv der lerninduzierten synaptischen Plastizität im Pilzkörper zu sein. Es gibt allerdings Ausnahmen, Manche MBON-Typen (z. B. V2-MBONs, y2α'1-MBONs) zeigen eine verstärkte Reizantwort auf erlernte Düfte (Bouzaiane et al., 2015; Owald et al., 2015a; Felsenberg et al., 2017) und wieder andere (beispielsweise die sogenannten M4/6 MBONs) zeigen bidirektionale Plastizität: Eine Depression nach belohnendem Lernen sowie eine Potenzierung der Duftantwort auf einen aversiv erlernten Geruch. Interessanterweise scheint die beobachtete Verstärkung im Fall der bidirektionalen Plastizität jedoch nicht allein auf ein lokales synaptisches Phänomen zurückführbar zu sein; vielmehr entsteht die gesteigerte Aktivität nach aversiver Konditionierung aus einem Netzwerkeffekt (Owald et al., 2015a; Perisse et al., 2016). Es konnte gezeigt werden, dass das GABAerge MBON MVP2 eine reduzierte Duftantwort auf einen mit Bestrafung assoziierten Duft zeigt. Dieses Neuron hat nicht nur die Funktion eines positiven MBONs, es hemmt auch die Aktivität von anderen MBON-Typen. Die vorwärtsgerichtete Hemmung ist hierbei nach aversivem Lernen reduziert und führt somit zu einer Enthemmung der aversiven M4/6 MBONs. Es bleibt festzuhalten, dass beide MBON-Typen, aversive M4/6 und positive MVP2 MBONs, Input von den geruchskodierenden KCs erhalten, sodass die Geruchsidentität in diesem Netzwerk-Motiv erhalten bleibt.

Insgesamt lassen die diskutierten Resultate auf ein integratives Modell schließen, in dem sich olfaktorische Gedächtnisse als ein Ungleichgewicht zwischen positiven und aversiven MBON-Typen des Pilzkörper-Output-Netzwerks manifestieren [Abbildung 2, (Owald und Waddell, 2015)]. In einem solchen Modell würde ein Geruch ohne erlernte Bedeutung die positiven und aversiven MBON-Typen mit gleicher Intensität anregen. Während des assoziativen Lernens erregt ein Geruch ein bestimmtes KC-Aktivitätsmuster, und der zeitgleich gegebene bedeutungsvolle Reiz (Belohnung oder Bestrafung) aktiviert die entsprechenden Dopamin-Neurone. Die Koinzidenz von Dopamin und der spezifischen KC-Aktivität in einem bestimmten Kompartiment führt dann zu einer Veränderung, meist einer Depression, der Effektivität der lokalen KC-MBON-Synapse. Diese Veränderung der Reizantwort einer bestimmten Gruppe von MBONs verschiebt die Netzwerkaktivität dann entweder nach Belohnungstraining in Richtung der positiven MBONs oder nach dem Bestrafungslernen in Richtung der aversiven MBONs. Das re-



InCage Training System (ICTS)



- Portable and flexible mountable cage system
- Reduction of operating costs for training supervision
- Fully customized stimuli

Microinjection System



- Software controlled microinjection
- Available for Thomas microdrive systems or as stand-alone system

Thomas Multitrode 16-channel linear array



- 15 + 1 electrode sites
- Linear array
- Very durable
- Custom connectors available

TREC @ FENS 2018 booth # 126

Visit our website for more information:

www.ThomasRECORDING.com

a) Vor dem Lernen Olfaktorischer Stimulus Kenyon Zellen aversive positives **MVP2 MBON** M4/M6 MBONs Naive

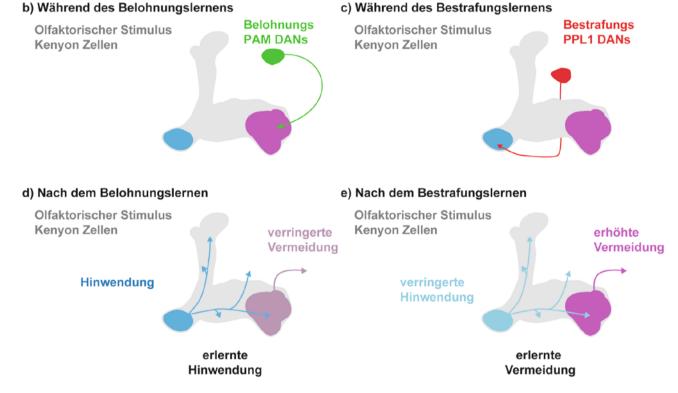


Abb. 2: Duftgedächtnisse werden als Ungleichgewicht zwischen aversiven und positiven MBON-Typen gespeichert. Die Exposition der Fliege zu einem Duft führt zu einer Aktivierung spezifischer KCs (nicht abgebildet). KCs verschalten mit erregenden Synapsen auf MBONs. Hier werden exemplarisch das positive GABAerge MVP2 MBON (blau, auch bekannt als MBON y1pedc>α/β) und die aversiven M4/6 MBONs (violett, auch bekannt als MBON β'2mp, MBON β2β'2a, MBON γ5β'2a) dargestellt. a) Dem aktuellen Modell folgend führt die Präsentation eines neutralen Dufts zu einer ausgeglichenen Erregung positiver und aversiver MBONs. Daher ist der Einfluss des Pilzkörpers auf geruchsgesteuertes Verhalten in diesem Fall nicht wirksam. b) Während des Belohnungslernens wird die Präsentation eines Duftes mit einer Belohnung gepaart. Belohnungsvermittelnde dopaminerge Neurone (DANs) innervieren Kompartimente, in denen die KCs auf aversive MBONs verschalten, d. h. während des Belohnungslernens kommt es zu einer gleichzeitigen Erregung von duftaktivierten KCs und der kompartimentspezifischen Ausschüttung von Dopamin. Dieses Zusammentreffen der Signale induziert Plastizität an den Synapsen zwischen aktiven KCs und aversiven MBONs. c) Während des aversiven Lernens wird ein Duft mit einer Bestrafung zeitlich gepaart präsentiert. Die Bestrafung aktiviert dopaminerge Neurone, die Plastizität an aktiven KCs zu positiven MBON-Synapsen induzieren. d-e) Nach dem Training ist die Stärke der Synapsen zwischen den vom erlernten Geruch aktivierten KCs und den entsprechenden MBONs herabgesetzt. Diese Veränderung im Ausgangssignal des MBON-Netzwerks, entweder in Richtung positiver MBONs nach Belohnungslernen oder in Richtung aversiver MBONs nach Bestrafungslernen, führt zur Ausprägung des erlernten Verhaltens.

sultierende Ungleichgewicht im MBON-Netzwerk steuert schließlich das duftabhängige Verhalten der Fliege hin zu einer Hinwendungs- oder einer Vermeidungsreaktion.

Interessanterweise suggeriert die Anatomie der MBONs, dass sie nicht nur vom Pilzkörper zu prämotorischen Arealen projizieren, um Verhalten zu induzieren, sondern auch eine Verknüpfung zu den oben diskutierten Dopamin-Neuronen besitzen, die den Pilzkörper innervieren (Aso et al., 2014b; Lewis et al., 2015; Owald et al., 2015a; Eichler et al., 2017). Da assoziatives Lernen das Gleichgewicht des MBON-Netzwerkes umformt, wird also nicht nur das Verhalten, sondern auch die Rückkopplung zum Dopamin-System (Riemensperger et al., 2005) beeinflusst. Diese Feedback-Loops zwischen MBONs und Dopamin-Neuronen scheinen maßgeblich für die Neubewertung erlernter Informationen zu sein (Felsenberg et al., 2017).

Überdenken, was wahr ist

In einer sich ständig verändernden Welt müssen erlernte Informationen kontinuierlich neu bewertet werden, um

adäquates Verhalten sicherzustellen. Daher ist einer der entscheidendsten Aspekte von Gedächtnissen, dass sie modifizierbar sind. Wenn ein Tier auf eine Situation trifft, in der die gespeicherte Information nicht mit der aktuellen Ereignislage übereinstimmt (ein Umstand, der als sogenannter Vorhersagefehler formalisiert werden kann), müssen die erlernten Informationen und die entsprechenden Gedächtnisse angepasst werden. Im Allgemeinen lässt sich dies auf zwei Wegen erreichen: Entweder durch die Aktualisierung der gespeicherten Gedächtnisse oder durch die Ausbildung einer neuen opponierenden Gedächtnisspur, einem Extinktionsgedächtnis. Es scheint vom Vorhersagefehler abzuhängen, welcher der beiden Prozesse in Gang gesetzt wird. In Drosophila kann ein Extinktionsgedächtnis ausgebildet werden, indem Fliegen einem zuvor belohnten Geruch erneut ausgesetzt werden, die erwartete Belohnung aber ausbleibt. Solch ein Widerspruch verändert das erlernte Verhalten der Taufliegen; es hebt das erlernte Hinwendungsverhalten auf (Tempel et al., 1983; Felsenberg et al., 2017). Dieses neue Lernen, das Extinktionslernen, bedarf der Aktivität von bestrafungsvermittelnden Dopamin-Neuronen. Die Aktivität dieser Neurone scheint zusätzliche Plastizität zu induzieren, die

Make reliable and healthy slices with Campden Instruments 7000smz-2 or 5100mz vibrating microtomes for in vitro experiments



npi provides complete rias for electrophysiology

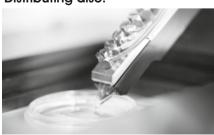
....or use **Neurotar's** Mobile HomeCage™ Now optional with tracking!!



for your in vivo electrophysiology, imaging optogenetics in awake and behaving rodents

See us at FENS 2018 in Berlin, booth #76

Distributing also:





The **BioPen**®, highly localized superfusion for advanced single-cell experiments



npi electronic GmbH

Phone: +49-(0)7141-97302-30 http://www.npielectronic.com support@npielectronic.com

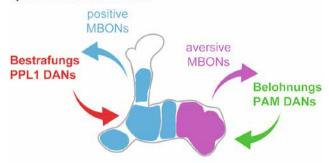
das entstandene Ungleichgewicht im MBON-Netzwerk nivelliert. Das Ausbleiben von erwarteter Belohnung wird demnach als Bestrafung kodiert und führt zur Entstehung eines parallelen Extinktionsgedächtnisses, das dem initialen Belohnungsgedächtnis opponierend entgegensteht [Abbildung 3; (Felsenberg et al., 2017)].

Erwartung und Realität können jedoch auch weitestgehend übereinstimmen. Wenn Taufliegen an ein Belohnungsgedächtnis erinnert werden, ohne dass dieser Abruf der grundlegenden Information des Erlernten widerspricht, durchläuft das Gedächtnis einen Zyklus von De- und Restabilisierung. Dieser Rekonsolidierung genannte Vorgang ist ein über das gesamte Tierreich hinweg konservierter Gedächtnisaktualisierungsmechanismus, der geringfügige Anpassungen der erlernten Informationen erlaubt (Nader, 2015).

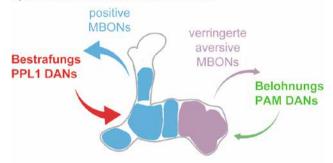
Verfestigte, langanhaltende Erinnerungen sind gegenüber Störungen unempfindlich; so sind stabile Belohnungsgedächtnisse in der Taufliege resistent gegenüber drastischen Störungen, wie z.B. einer durch Kälte induzierten Betäubung. Wird das Gedächtnis jedoch abgerufen und damit destabilisiert, ist es während eines kritischen Zeitfensters nach dem Abruf anfällig. Das heißt, wird die Drosophila in diesem Zeitraum betäubt und der Zyklus von De- und Restabilisierung damit unterbrochen, so kann der Gedächtnisinhalt dauerhaft gelöscht werden. Circa eine Stunde nach dem Abruf ist das Gedächtnis jedoch restabilisiert, und eine Betäubung der Taufliegen hat keine Auswirkungen mehr auf das erlernte Verhalten. Zur Restabilisierung des Gedächtnisses bedarf es der abgestimmten Aktivität eines spezifischen MBON-Typs sowie der zeitlich koordinierten Aktivität bestimmter dopaminerger Neuronencluster (Felsenberg et al., 2017).

Obwohl die Neubewertung von Gedächtnisinhalten Möglichkeiten bietet, problematische Erinnerungen bei Menschen, wie zum Beispiel extreme Angstgedächtnisse oder mit Drogen assoziierte, den Entzug erschwerende Gedächtnisse, abzuschwächen, sind die zugrunde liegenden Mechanismen noch wenig verstanden. Die wesentlichen Verhaltensphänomene der Extinktion und der Rekonsolidierung sind jedoch über Tiergruppen hinweg, von Wirbellosen zu Wirbeltieren, in hohem Maße ähnlich (Eisenhardt, 2014; Nader, 2015). Daher erscheint es gerechtfertigt anzunehmen, dass die einzigartigen experimentellen Möglichkeiten in *Drosophila* zu weiteren Erkenntnissen über diese Prozesse führen werden, die generelle Kodierungsprinzipien beschreiben und welche die Forschung zu diesem Thema vorantreiben werden.

a) Rekurrentes Netzwerk



b) Während des Extinktionslernens



c) Nach der Extinktion



Abb. 3: Die Extinktion eines Belohnungsgedächtnisses wird über das dopaminerge Bestrafungssystem vermittelt. a) MBONs bilden rekurrierende Verschaltungen (Feedback-Loops) mit dopaminergen Neuronen (DAN), die Plastizität während des assoziativen Lernens induzieren: positive MBONs verschalten auf bestrafungsvermittelnde Dopamin-Neurone und aversive MBONs sind mit belohnungsvermittelnden Dopamin-Neuronen verknüpft. b) Nach dem Lernen wird das Ausgangssignal des MBON-Netzwerks für den belohnungsassoziierten Geruch in Richtung der positiven MBONs verschoben, d. h. positive MBONs sind stärker aktiviert als aversive MBONs. Da dieses Ungleichgewicht sich auf die nachgeschalteten Neurone überträgt, kommt es zu einer relativ stärkeren Erregung der bestrafungsvermittelnden Dopamin-Neurone, wenn die Fliege den erlernten Duft ohne die erwartete Belohnung wahrnimmt (Extinktionslernen). c) Nach der Extinktion befindet sich das Verhältnis der Ausgangssignale von positiven und aversiven MBONs wieder im Gleichgewicht. Jedoch beruht dieses Gleichgewicht, im Unterschied zum "naiven" Zustand, auf der Ausbildung eines parallelen aversiven Gedächtnisses, das die Veränderung nach dem initialen Lernen kompensiert.

Ausblick

Die Erkenntnisse, wie und wo Lernen und Gedächtnisspeicherung im Drosophila-Gehirn realisiert werden, bieten in Kombination mit der genetischen Zugänglichkeit einzelner Neuronenpopulationen eine einmalige Möglichkeit, mechanistische Einblicke in Lernprozesse in vivo zu gewinnen. Die experimentellen Arbeiten der letzten Jahre haben spezifische Synapsen als physische Manifestation des Belohnungs- und Bestrafungsgedächtnisses identifiziert und ermöglichen somit die Untersuchung der molekularen und genetischen Prozesse, die lerninduzierter synaptischer Plastizität zugrunde liegen. Die präzise Kenntnis des Netzwerks sollte erlauben, zu einem Verständnis von Kodierungsprinzipien des Gedächtnisabrufs, der Konsolidierung von Gedächtnissen sowie der Neubewertung von Erinnerungen zu gelangen.

Literatur

- Aso, Y. et al. (2014a). Mushroom body output neurons encode valence and guide memory-based action selection in Drosophila. eLife 3, e04580.
- Aso, Y., Hattori, D., Yu, Y., Johnston, R. M., Iyer, N. A., Ngo, T.-T., Dionne, H., Abbott, L. F., Axel, R., Tanimoto, H., Rubin, G. M. and Griffith, L. C. (2014b). The neuronal architecture of the mushroom body provides a logic for associative learning. eLife 3, e04577.
- Barnstedt, O., Owald, D., Felsenberg, J., Brain, R., Moszynski, J.-P., Talbot, C. B., Perrat, P. N. and Waddell, S. (2016). Memory-Relevant Mushroom Body Output Synapses Are Cholinergic. Neuron 89, 1237-1247.
- Bouzaiane, E., Trannoy, S., Scheunemann, L., Plaçais, P.-Y. and Preat, T. (2015). Two independent mushroom body output circuits retrieve the six discrete components of Drosophila aversive memory. Cell Rep. 11, 1280-1292.
- Brand, A. H. and Perrimon, N. (1993). Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. Development 118, 401-415.
- Burke, C. J., Huetteroth, W., Owald, D., Perisse, E., Krashes, M. J., Das, G., Gohl, D., Silies, M., Certel, S. and Waddell, S. (2012). Layered reward signalling through octopamine and dopamine in Drosophila. Nature 492, 433-437.



Discover our new Motorised Stereotaxic Frames with our UMP3 injector



MTM-3 Motorised Stereotaxic Frame:

- Accurate microstepping motor drive for high resolution placement
- Touch screen for ease of control
- Graphic controller display for instant operational feedback
- Brain atlas coordinates can be input into the controller, no computer
- Coordinate distances are automatically calculated
- No more error resulting from reading Vernier scales

UMP3 Micoinjection Pump:

- A versatile pump which uses micro syringes to deliver picoliter to milliliter volumes.
- The pump is optimum for applications that require injections of precise and small amounts of liquid.
- Now with new touch screen controller

For more information please visit us at wpi-europe.com

World Precision Instruments Germany GmbH Tel. +49 (0)6031 1602171 E-Mail wpide@wpi-europe.com

- Eichler, K., Li, F., Litwin-Kumar, A., Park, Y., Andrade, I., Schneider-Mizell, C. M., Saumweber, T., Huser, A., Eschbach, C., Gerber, B., Fetter, R. D., Truman, J. W., Priebe, C. E., Abbott, L. F., Thum, A. S., Zlatic, M. and Cardona, A. (2017). The complete connectome of a learning and memory centre in an insect brain. Nature 548, 175-182.
- Eisenhardt, D. (2014). Molecular mechanisms underlying formation of long-term reward memories and extinction memories in the honeybee (Apis mellifera). Learn Mem. 21, 534-542.
- Felsenberg, J., Barnstedt, O., Cognigni, P., Lin, S. and Waddell, S. (2017). Re-evaluation of learned information in Drosophila. Nature 544, 240-244.
- Heisenberg, M. (2003). Mushroom body memoir: from maps to models. Nat. Rev. Neurosci. 4, 266-275.
- Hige, T., Aso, Y., Modi, M. N., Rubin, G. M., Turner, G. C. (2015). Heterosynaptic Plasticity Underlies Aversive Olfactory Learning in Drosophila. Neuron 88, 985-998.
- Huetteroth, W., Perisse, E., Lin, S., Klappenbach, M., Burke, C. and Waddell, S. (2015). Sweet taste and nutrient value subdivide rewarding dopaminergic neurons in Drosophila. Curr. Biol. 25, 751-758.
- Konopka, R. J. and Benzer, S. (1971). Clock mutants of Drosophila melanogaster. PNAS 68, 2112-2116.
- Lewis, L. P. C., Siju, K. P., Aso, Y., Friedrich, A. B., Bulteel, A. J. B., Rubin, G. M. and Grunwald Kadow, I. C. (2015). A Higher Brain Circuit for Immediate Integration of Conflicting Sensory Information in Drosophila. Curr. Biol. 25, 2203-2214.
- Lin, S., Owald, D., Chandra, V., Talbot, C., Huetteroth, W. and Waddell, S. (2014). Neural correlates of water reward in thirsty Drosophila. Nat. Neurosci. 17, 1536-1542.
- Liu, C., Plaçais, P.-Y., Yamagata, N., Pfeiffer, B. D., Aso, Y., Friedrich, A. B., Siwanowicz, I., Rubin, G. M., Preat, T. and Tanimoto, H. (2012). A subset of dopamine neurons signals reward for odour memory in Drosophila. Nature 488, 512-516.
- Menzel, R. (2014). The insect mushroom body, an experiencedependent recoding device. J. Physiol. (Paris) 108, 84-95.
- Menzel, R. and Manz, G. (2005). Neural plasticity of mushroom body-extrinsic neurons in the honeybee brain. J. Exp. Biol. 208, 4317-4332.
- Nader, K. (2015). Reconsolidation and the Dynamic Nature of Memory. Cold Spring Harbor Perspect. Biol. 7, a021782.
- Owald, D., Felsenberg, J., Talbot, C. B., Das, G., Perisse, E., Huetteroth, W. and Waddell, S. (2015a). Activity of defined mushroom body output neurons underlies learned olfactory behavior in Drosophila. Neuron 86, 417-427.
- Owald, D., Lin, S. and Waddell, S. (2015b). Light, heat, action: neural control of fruit fly behaviour. Philos. Trans. R. Soc., B 370, 20140211.

- Owald, D. and Waddell, S. (2015). Olfactory learning skews mushroom body output pathways to steer behavioral choice in Drosophila. Curr. Opin. Neurobiol. 35, 178-184.
- Perisse, E., Owald, D., Barnstedt, O., Talbot, C. B., Huetteroth, W. and Waddell, S. (2016). Aversive Learning and Appetitive Motivation Toggle Feed-Forward Inhibition in the Drosophila Mushroom Body. Neuron 90, 1086-1099.
- Quinn, W. G. and Dudai, Y. (1976). Memory phases in Drosophila. Nature 262, 576-577.
- Riemensperger, T., Völler, T., Stock, P., Buchner, E. and Fiala, A. (2005). Punishment prediction by dopaminergic neurons in Drosophila. Curr. Biol. 15, 1953-1960.
- Rubin, G. M. and Spradling, A. C. (1982). Genetic transformation of Drosophila with transposable element vectors. Science 218, 348-353.
- Séjourné, J., Plaçais, P.-Y., Aso, Y., Siwanowicz, I., Trannoy, S., Thoma, V., Tedjakumala, S. R., Rubin, G. M., Tchénio, P., Ito, K., Isabel, G., Tanimoto, H. and Preat, T. (2011). Mushroom body efferent neurons responsible for aversive olfactory memory retrieval in Drosophila. Nat. Neurosci. 14, 903-910.
- Stevens, C. F. (2015). What the fly"s nose tells the fly"s brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112, 9460-9465.
- Südhof, T. C. (2012). The presynaptic active zone. Neuron 75, 11–25. Tanaka, N. K., Tanimoto, H. and Ito, K. (2008). Neuronal assemblies of the Drosophila mushroom body. J. Comp. Neurol. 508,
- Tempel, B. L., Bonini, N., Dawson, D. R. and Quinn, W. G. (1983). Reward learning in normal and mutant Drosophila. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80, 1482-1486.
- Tovote, P., Fadok, J. P. and Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. Nat. Rev. Neurosci. 16, 317-331.
- Waddell, S. (2013). Reinforcement signalling in Drosophila; dopamine does it all after all. Curr. Opin. Neurobiol. 23, 324-329.
- Yamagata, N., Ichinose, T., Aso, Y., Plaçais, P.-Y., Friedrich, A. B., Sima, R. J., Preat, T., Rubin, G. M. and Tanimoto, H. (2015). Distinct dopamine neurons mediate reward signals for shortand long-term memories. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112, 578-583.

Danksagungen: Wir danken Kerstin Germer für die Übersetzung. JF (FE 1563/1-1) und DO (OW 84/2-1) werden von der DFG gefördert.

Anmerkung: Englische Version des Artikels online verfügbar unter https://doi.org/10.1515/nf-2017-A048

Autoreninformationen



Johannes Felsenberg

Centre for Neural Circuits and Behaviour, The University of Oxford, Tinsley Building, Mansfield Road, Oxford OX1 3SR, UK Tel.: + 44 1865 272496 E-Mail: johannes.felsenberg@cncb.ox.ac.

Johannes Felsenberg ist Post-Doc in Scott Waddells Labor am Centre for Neural Circuits and Behaviour an der Universität Oxford. Sein Diplom in Biologie und seine Promotion hat er an der Freien Universität Berlin erlangt. In den Laboren von Randolf Menzel und Dorothea Eisenhardt hat er die Rolle des Ubiquitin Proteasome Systems beim Lernen und der Gedächtnisbildung von Honigbienen erforscht. In Oxford arbeitet Johannes an den Mechanismen der Gedächtnis-Rekonsolidierung und der extinktionsinduzierten synaptischen Plastizität im Pilzkörper der Taufliege Drosophila. Sein Projekt im Waddell-Labor ist unterstützt durch ein DFG-Stipendium.



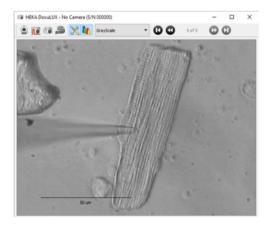
David Owald

Institut für Neurophysiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland Tel.: +49 151 11811636

E-Mail: david.owald@charite.de

David Owald leitet die Emmy-Noether-Nachwuchsgruppe Behavioral and Physiological Neurogenetics am Institut für Neurophysiologie der Charité in Berlin. Er promovierte an der Universität Göttingen über die molekulare Anatomie und entwicklungsbedingte Plastizität von präsynaptischen aktiven Zonen in Drosophila. Danach war er als Junior Research Fellow für Physiologie am Wolfson College Oxford und als EMBO Long-term und als Sir Henry Wellcome Postdoctoral Fellow am Centre for Neural Circuits and Behaviour an der Universität Oxford tätig. Dort beschäftigte er sich hauptsächlich mit den Mechanismen lernrelevanter Plastizität im Drosophila-Pilzkörper. David erhielt 2017 den Schilling-Forschungspreis der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft.





DocuLUX

Document your Experiment

Optical Documentation of your Specimen Bundle including:

- Compact CMOS camera (1600x1200 pixel, 8-bit, color or monochrome)
- DocuLUX software

DocuLUX software can be used with PATCHMASTER or as a stand-alone software.

sales@heka.com www.heka.com

Johannes Felsenberg* and David Owald*

Making Memories. On the fly.

https://doi.org/10.1515/nf-2017-A048

Abstract: Stimulus directed behavior is regulated by communication between neurons within neural circuits throughout an animal's brain. Experience can change the dynamics of neural circuits by modifying specific synaptic connections. However, pinpointing the sites of behavioralrelevant plasticity has proven challenging. Technical advances in controlling and monitoring neural activity in behaving animals have allowed for marked progress in understanding the logic underlying learning and memory in the model system Drosophila melanogaster. The fruit fly has a numerically simple brain and probing identified network components has become feasible. Here, we discuss cellular and circuit mechanisms underlying associative learning. We also provide insights into the computational operations encoding associative memories in the fly. Beyond their roles in learning and memory retrieval, these circuit components are recruited for the reevaluation of memories during memory extinction and reconsolidation.

Keywords: Learning and Memory; Dopamine; Mushroom Body; Mushroom Body Output Neurons; Extinction and Reconsolidation

Sensory stimuli are transformed into and represented as activity patterns within neurons in defined neural circuits. Brain regions that are downstream of sensory inputs depict associations and steer subsequent motor programs. Such sites for instance include the hippocampus and the amygdala in mammals (Tovote et al., 2015) or the mushroom bodies in insects (Menzel, 2014; Stevens, 2015). Associative memories can form when valence is attributed to previously meaningless cues. Progress in understanding the underlying principles of such operations has been made over the last years, however this progress has been attenuated partially due to the numerical complexity of and certain accessibility limitations to the vertebrate nervous systems. Localizing the precise cellular and synaptic sites

David Owald, Institute of Neurophysiology, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany, Mail: david. owald@charite.de encoding associative memory traces has remained a major challenge in the field.

Neurons connect via synapses to form neural circuits. Memories are widely believed to be written by strengthening or weakening synaptic connections persistently and thus changing the information flow or the make-up of neural ensembles. That said, direct evidence for such a model remains scarse in the behaving animal. Such a configuration however relies on the fact that neurotransmission can be precisely tuned at synapses, and this requires concerted activities of second messenger pathways and intricate protein machineries. Indeed, mutations in genes that encode components involved in such operations can lead to aberrant neural activities (Südhof, 2012). It is thus plausible that the genetic make-up of an animal and the gene expression profiles of individual neurons will influence the transformation of signals from sensory representation to motor output and ultimately account for behavioral traits. To understand how changes in synaptic strength and circuit activity tie to behavioral outcome will thus require manipulating and measuring activity of selected identified neurons in vivo.

The foundation for recognizing the close relationship between genetic information and behavioral traits was laid in the early 1970s by the laboratory of Seymour Benzer. The approach taken was simple, yet brilliant. Genetically tractable fruit flies, *Drosophila melanogaster*, were mutagenized and subsequently screened for behavioral alterations. Taking this approach, many genetic programs that are highly conserved at an evolutionary level were discovered – one uncovered locus for instance encodes the circadian clock component Period (Konopka and Benzer, 1971).

Importantly, the behavioral programs investigated also included associative learning and memory paradigms (Quinn and Dudai, 1976). In recent years, genetic advantages and the resulting tools have been coupled to behavioral paradigms and physiological approaches and the field has made considerable progress in not only understanding the network principles of memory reading and writing at the cellular level in the fly, but also has tackled more complex computations involving memory extinction and reconsolidation.

^{*}Corresponding authors: Johannes Felsenberg, Centre for Neural Circuits and Behaviour, The University of Oxford, Tinsley Building, Mansfield Road, Oxford OX1 3SR, UK, Mail: johannes.felsenberg@cncb.ox.ac.uk

Excursion 1: Drosophila can be reared en masse and genetic modifications of certain chromosomes allow for mutations to remain stable over generations. Also, Drosophila harbors only three chromosomes (plus a very small fourth), keeping genetic complexity to an oversee-

The advent of transgenesis (Rubin and Spradling, 1982) and binary expression systems, has allowed for major breakthroughs in understanding cellular and network components underlying specific behaviors in the fruit fly. One can create transgenes with relative ease and thus encode effector proteins that allow for the blockade of neurotransmission or activation of cells in a light- (optogenetics) or temperature- (thermogenetics) dependent manner. These tools are of tremendous value when probing the active involvement of a neuron or a set of neurons in a behavioral program. Transgenesis also allows for the use of binary expression systems (Brand and Perrimon, 1993) in which transcription factors and their responsive DNA-elements are borrowed from other organisms and cloned downstream of Drosophila enhancer sequences. Such expression systems allow precise temporal and spatial control of gene expression. Using several refinements of this system enables the activation of specific transgenes, such as those encoding for optogenetic tools, in sparse, identified, neuronal populations [for review (Owald et al., 2015b)]. Such an approach was for instance used to initiate flight in headless flies by optogenetically activating motor neurons with light (Lima and Miesenböck, 2005). These genetic principles not only allow for direct manipulation of neurons, but importantly also can be used to monitor activity patterns in defined neurons. The combined use of effectors and activity reporters, which include genetically-encoded calcium indicators, has proven invaluable for neural circuit mapping.

From stimulus to meaning

The world is full of sensory stimuli. In order to ensure survival and reproduction, animals must learn which cues will guide them to food sources and mating partners and which will predict potential threats. Fruit flies can learn to associate sensory stimuli, such as those of olfactory or visual nature, with a food source (reward) or an unpleasant stimulus (punishment). Decades of research have cemented a third order neuropil, the mushroom body, as the major center for associative learning in the insect brain (Heisenberg, 2003; Menzel, 2014). The fly mushroom body network consists of no more than 3000 neurons per brain hemisphere. Due to this relative numerical simplicity and the advanced genetic tool-box available, a comprehensive understanding of how memories are written at the level of the mushroom body network has surfaced in recent years.

The mushroom body principal cells, the Kenyon cells (KCs, approximately 2000 cells per hemisphere), hold a representation of the surrounding sensory world, particularly of olfactory cues. While airborne odors are perceived at the level of sensory receptor neurons, information is

further computed at the next relay station (the antennal lobe), and then conveyed to KCs. A given olfactory cue specifically activates a sparse pattern of KCs; it is this pattern that codes odor identity within the mushroom body network (Stevens, 2015).

The cholinergic (Barnstedt et al., 2016) KCs extend parallel axon bundles that make up the mushroom body lobes. Within the lobes, they form excitatory en passant synapses with a small number of downstream partners, the mushroom body output neurons (MBONs; see Figure 1a). The dendritic fields of individual MBONs stereotypically tile the lobes of the mushroom body and mark distinct non-overlapping compartments (Tanaka et al., 2008; Aso et al., 2014b). Based on this anatomy, the thirty-five MBONs per hemisphere can be classified into twenty-one categories (types).

Interestingly, olfactory information gets categorized according to valence at this stage. The activity of specific types of MBONs is sufficient to promote odor driven approach while other types support odor driven avoidance behavior [Figure 1b; (Aso et al., 2014a; Owald et al., 2015a; Perisse et al., 2016)]. Indeed, when naïve flies are given the choice between a clean air stream and a repulsive odor, they predominantly choose to avoid the odor. Acutely blocking synaptic output from avoidance promoting MBONs flips this aversive behavior: flies now approach the repulsive odor. On the contrary, silencing approach-promoting MBONs during a choice situation increases avoidance behavior (Owald et al., 2015a; Perisse et al., 2016). This notion is further supported by optogenetic experiments (Aso et al., 2014a; Owald et al., 2015a): naïve flies expressing light-activatable cation channels (for example CsChrimson) were given the choice between an illuminated and a dark site. If CsChRimson was expressed in avoidance-promoting MBONs, flies would avoid, if the light-activatable channel was expressed in approach-promoting MBONs, flies would approach the light source. These experiments are in line with a model in which the identity of an odor is translated into a meaning at the synapse between KCs and MBONs (Heisenberg, 2003) and we will argue that this behavioral switch from avoidance to attraction behaviorally mimics observed cellular memory traces.

Assigning a value

As in mammals, associative learning in the fly depends on dopaminergic signaling. Interestingly, the compartmentalization of the mushroom body by MBON dendrites is perfectly matched by the presynaptic innervation pattern of **DE GRUYTER**

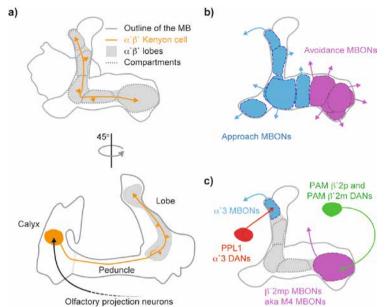


Fig. 1: The major components of the mushroom body. a) Kenyon cells (KCs) shape the MBs (grey solid line). There are three major classes of KCs, the $\alpha\beta$, the $\alpha'\beta'$ (in purple one example Kenyon cell) and the y KCs which all receive input from projection neurons at their input region, the mushroom body calyx (black). The KC neurites project along the peduncle into the lobes (grey). Within the lobes KCs make en passant excitatory synapses (arrow heads) with downstream neurons, the mushroom body output neurons (MBONs). b) Distinct types of MBONs promote avoidance and approach behavior (purple and blue respectively). c) The dendritic innervation pattern of each class of MBONs (two examples, blue and purple) is matched by the innervation of a corresponding group of dopaminergic neurons (DANs, red and green). Together they define distinct compartments (dashed lines). The role of some MBONs has been investigated. For instance, the $\alpha'3$ MBON has recently be shown to be involved in encoding novelty and familiarity (Hattori et al., 2017). However, the role of several remaining MBONs remains to be elucidated.

two major clusters of dopaminergic neurons: a relatively small set of neurons (PPL1 cluster) provides the teaching signal for punishment and dopaminergic neurons of the larger PAM cluster convey rewarding information (Figure 1c). Notably, learning about different punishments, such as electric shock, extreme heat or bitter substances, all depend on the same small set of punishment-coding dopaminergic neurons [for review (Waddell, 2013)]. In contrast, forming associations linked to different rewarding events requires the activity of distinct sets of PAM dopaminergic neurons: the reward-related teaching signal provided by water recruits dopaminergic neurons that are different from those involved in learning about food rewards such as sugars (Burke et al., 2012; Liu et al., 2012; Lin et al., 2014). Reward provided by sugars can be even further distinguished on a neuronal level. Dopaminergic neurons signaling 'sweet' differ from those providing information on the nutritional content (Huetteroth et al., 2015; Yamagata et al., 2015). Because these distinct sets of reinforcing neurons innervate separate non-overlapping compartments, their activity affects distinct synapses between KCs and specific MBONs. Together, such an anatomical separation suggests that memories about punishment and different reward types are stored at specific KC-MBON synapses at defined sites of the respective compartments, thus providing the backbone for a distinguishable memory read and write system.

Reading and writing memories: synapses and networks

Punishment-coding dopamine neurons innervate compartments where approach promoting MBONs extend their dendrites and reward-related dopamine neurons innervate compartments covered by avoidance promoting MBONs. This pattern implies that during olfactory learning, compartment specific dopamine release induces a depression of synaptic connections between KCs coding for the trained odor and the downstream MBONs.

The first evidence for learning induced plasticity at the level of MBONs came from extracellular recordings in the honey bee (Menzel and Manz, 2005). However, studies from Drosophila have recently used geneticallyencoded calcium indicators to measure neural activity in genetically-identified populations of neurons in trained and untrained flies [for review (Owald and Waddell, 2015)]. Utilizing such experimental strategies, it was recently demonstrated that the responses of specific glutamatergic avoidance MBONs (the so called M4/6 MBONs) downstream of sugar-reinforcing dopaminergic neurons were depressed for an odor that had previously been associated with a reward. Strikingly, the physiological depression observed here matches the behavioral switch from odor avoidance to approach observed when blocking these MBONs in the naïve fly (see above). Because interfering with these neurons during memory recall also abolishes learned behavior, depression of this KC to MBON connection most likely (a) is the site for appetitive memory storage and (b) is directly causal for the observed behavioral switch (Owald et al., 2015a).

Input to other sets of MBONs that promote approach and are downstream of punishment-coding dopaminergic neurons, is typically depressed after associating an odor with an electric shock (Séjourné et al., 2011; Hige et al., 2015; Perisse et al., 2016). Together these findings suggest synaptic depression as the major motif of synaptic plasticity in the mushroom body network. However, for some MBONs (for instance V2-MBONs, γ2α'1-MBONs) odor responses were potentiated after training (Bouzaiane et al., 2015; Owald et al., 2015a; Felsenberg et al., 2017). Indeed, some MBONs (like M4/6) show bidirectional plasticity: they are depressed after reward learning, but show an enhanced response for an aversively trained odor. The mechanisms underlying these plasticity traces, however, are not solely confined to local synaptic phenomena: enhanced responses after aversive conditioning more so seem to arise from a network effect (Owald et al., 2015a; Perisse et al., 2016). Depression of approach-promoting GABAergic MBONs ('MVP2') after aversive learning changes the inhibition these MBONs feed-forward onto avoidance MBONs. This disinhibition effectively leads to a potentiation of the latter class of neurons. Importantly, both sets of MBONs receive input from the odor-coding KCs, so that information of odor-identity can still be retrieved through such a network motif.

Together, these findings give rise to an integrative model, which predicts that olfactory memories are manifested as a skew in the mushroom body output network [Figure 2; (Owald and Waddell, 2015)]. Odors with no assigned learned value drive approach and avoidance MBONs with equal strength. During associative learning an odor activates a specific set of KCs concurrent with the presence of a meaningful cue. The latter in turn drives the respective dopaminergic neurons innervating a specific compartment and induces synaptic plasticity at the underlying odor specific KC to MBON synapses. The change of odor drive to a particular group of MBONs biases the network either towards approach MBONs after reward learning, or towards avoidance MBONs after punishment learning. This skew then elicits the learned stimulus-driven behavior of the fly.

The anatomy of MBONs, however, suggests that they not only project out of the mushroom body to pre-motor areas, but also connect to the dopaminergic neurons that feed back to the mushroom body (Aso et al., 2014b; Lewis et al., 2015; Owald et al., 2015a; Eichler et al., 2017). Given that learning changes the drive of specific MBONs, the feedback to the dopaminergic systems is also changed when a fly encounters the learned odor again (Riemensperger et al., 2005). This motif of recurrent feedback

loops turns out to be essential for the re-evaluation of learned behavior (Felsenberg et al., 2017).

Reconsidering what is true

In an ever-changing world, reliability of learned information must constantly be re-assessed to ensure adequate behavior. Thus, one of the most crucial aspects of memory to grant behavioral flexibility is that it is malleable. If an animal encounters a situation in which the stored information does not match the actual outcome (a mismatch condition which can be computed as the so called prediction error), learned information and previous memories need to be adjusted. In general, this can be achieved in two ways, either by updating the original memory or by the formation of a new opposing memory, an extinction memory. It seems to depend on the extent of the prediction error occurring during memory recall, which of the two processes is utilized. In Drosophila, an extinction memory can be formed by re-exposing flies to a previously rewarded odor in the absence of the expected food reward. Such an incongruity changes the behavior of flies; it nullifies the learned approach behavior (Tempel et al., 1983; Felsenberg et al., 2017). The new learning event, the extinction learning, depends on the teaching signal from punishment-coding dopaminergic neurons which are driven by the skew in the output network established during initial learning. Thus, the omission of reward is coded as a punishment and leads to the formation of a parallel aversive extinction memory which opposes the initial appetitive reward memory [Figure 3; (Felsenberg et al., 2017)].

Expectance and reality do, however, sometimes match. If flies experience a reminder of their positive memories, which does not strongly conflict with the learned information, the memory undergoes a cycle of de- and restabilization. This process, called reconsolidation, is understood to be a well conserved memory update mechanism to integrate minor adjustments to the destabilized and therefore changeable memory (Nader, 2015). In flies, stabilized memories are insensitive to cooling-induced anesthesia. However, the application of a reminder renders the memory vulnerable, it is destabilized. If cooling is applied within a critical time window after the reminder, it interferes with the re-stabilization process of memory and hence erases the reward memory. Within this time window, temporally orchestrated activity of a specific MBON and distinct groups of dopaminergic neurons are required to ensure successful memory reconsolidation [(Felsenberg et al., 2017)].

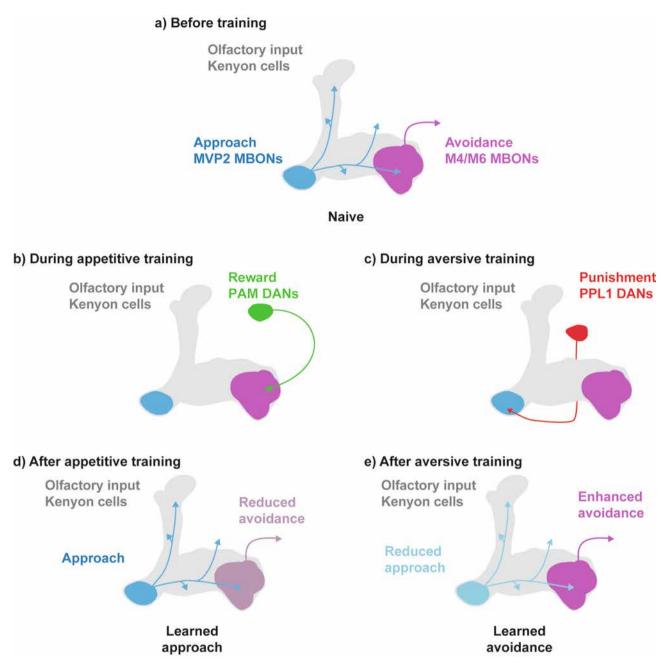


Fig. 2: Olfactory memories are stored as a skew in the mushroom body output network. Olfactory input drives activity in a specific set of KCs (not shown), which in turn activate all classes of downstream MBONs. The approach promoting GABAergic MVP2 MBON (blue, also known as MBON y1pedc> α/β) provides feed-forward inhibitory input to the avoidance promoting M4/6 MBONs (purple, also known as MBON β' 2mp, MBON $\beta 2\beta' 2a$, MBON $\gamma 5\beta' 2a$). a) In the current skew model for a fly that is naïve for a presented odor activity of approach and avoidance promoting MBONs is balanced. This balance translates into no contribution of the mushroom body to odor driven behavior (arrows, blue for approach behavior and purple for avoidance behavior). b) During appetitive training an odor is presented coincidently with a reward. Thus, sugar reward activates dopaminergic neurons (DANs), which innervate compartments in which the odor driven KCs connect to avoidance promoting MBONs. c) During aversive training an odor coincides with punishment such as an electric shock, which drives dopaminergic neurons innervating compartments where KCs connect to approach MBONs. d-e) After training, synapses between the KCs activated by the trained odor and the respective MBONs are depressed. This learning induced synaptic plasticity skews the MBON network towards either approach after appetitive learning or towards avoidance after aversive learning when the fly encounters the trained odor again. This skew in the network leads to the expression of learned behavior.

Although processes underlying memory re-evaluation provide opportunities to alleviate problematic memories in humans, the mechanistic insight into these processes is sparse. Since the phenomena of extinction and reconsolidation are conserved across species (Eisenhardt, 2014; Nader, 2015) it might well be that the findings obtained in Drosophila represent coding principles that might help to unravel general mechanisms underlying memory reevaluation.

Outlook

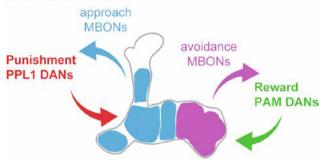
The increasing knowledge of where and how memories are stored in the *Drosophila* brain, combined with genetic accessibility of the involved structures, provides a unique possibility to gain further mechanistic insights. Recent work has identified specific synapses as part of reward and punishment related memory traces. This offers the opportunity to investigate the molecular machinery and the cell specific genetic settings underlying learning-induced synaptic plasticity. Behavioral experiments linked with high resolution microscopy could determine the structural changes shaping synaptic efficacy. Precise knowledge of the involved network components will allow us to further tackle the coding principles of important processes involved in memory retrieval, consolidation and reevaluation.

Acknowledgements: We thank Jessica Mitchell and Eric Reynolds for comments on the manuscript. We also thank Kerstin Germer for the translation. JF (FE 1563/1-1) and DO (OW 84/2-1) are supported by the DFG.

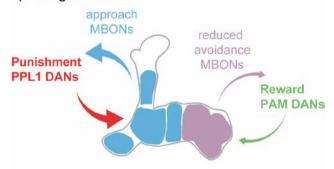
References

- Aso, Y. et al. (2014a) Mushroom body output neurons encode valence and guide memory-based action selection in Drosophila. Elife 3, e04580.
- Aso, Y., Hattori, D., Yu, Y., Johnston, R. M., Iyer, N. A., Ngo, T.-T., Dionne, H., Abbott, L. F., Axel, R., Tanimoto, H., Rubin, G. M., Griffith, L. C. (2014b) The neuronal architecture of the mushroom body provides a logic for associative learning. Elife 3, e04577.
- Barnstedt, O., Owald, D., Felsenberg, J., Brain, R., Moszynski, J.-P., Talbot, C. B., Perrat, P. N., Waddell, S. (2016). Memory-Relevant Mushroom Body Output Synapses Are Cholinergic. Neuron 89, 1237-1247.
- Bouzaiane, E., Trannoy, S., Scheunemann, L., Plaçais, P.-Y., Preat, T. (2015). Two independent mushroom body output circuits retrieve the six discrete components of Drosophila aversive memory. Cell Rep. 11, 1280-1292.

a) Recurrent network



b) During extinction



c) After extinction

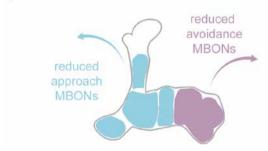


Fig. 3: Extinction of reward memory is driven by the punishment system. a) MBONs form recurrent feedback loops with dopaminergic neurons (DANs), which provide the teaching signal during associative learning: approach MBONs drive punishment-coding neurons and avoidance neurons are connected to reward-related dopaminergic neurons. b) After learning the response of the MBON network to the reward-associated odor is skewed towards approach MBONs. This skew translates into a relatively stronger drive of the punishment dopaminergic neurons during extinction learning. c) Rather than going back to the naïve state, a parallel, aversive memory for the trained odor is formed which annuls the skew in the MBON network (Felsenberg et al., 2017).

Brand, A. H., Perrimon, N. (1993). Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. Development 118, 401-415.

Burke, C. J., Huetteroth, W., Owald, D., Perisse, E., Krashes, M. J., Das, G., Gohl, D., Silies, M., Certel, S., Waddell, S. (2012). Layered reward signalling through octopamine and dopamine in Drosophila. Nature 492, 433-437.

- Eichler, K., Li, F., Litwin-Kumar, A., Park, Y., Andrade, I., Schneider-Mizell, C. M., Saumweber, T., Huser, A., Eschbach, C., Gerber, B., Fetter, R. D., Truman, J. W., Priebe, C. E., Abbott, L. F., Thum, A. S., Zlatic, M., Cardona, A. (2017). The complete connectome of a learning and memory centre in an insect brain. Nature 548,
- Eisenhardt, D. (2014). Molecular mechanisms underlying formation of long-term reward memories and extinction memories in the honeybee (Apis mellifera). Learn Mem. 21, 534-542.
- Felsenberg, J., Barnstedt, O., Cognigni, P., Lin, S., Waddell, S. (2017). Re-evaluation of learned information in Drosophila. Nature 544, 240-244.
- Hattori, D., Aso, Y., Swartz, K. J., Rubin, G. M., Abbott, L. F., Axel, R. (2017). Representations of Novelty and Familiarity in a Mushroom Body Compartment. Cell 169, 956-969.e17.
- Heisenberg, M. (2003). Mushroom body memoir: from maps to models. Nat. Rev. Neurosci. 4, 266-275.
- Hige, T., Aso, Y., Modi, M. N., Rubin, G. M., Turner, G. C. (2015). Heterosynaptic Plasticity Underlies Aversive Olfactory Learning in Drosophila. Neuron 88, 985-998.
- Huetteroth, W., Perisse, E., Lin, S., Klappenbach, M., Burke, C., Waddell, S. (2015). Sweet taste and nutrient value subdivide rewarding dopaminergic neurons in Drosophila. Curr. Biol. 25, 751-758.
- Konopka, R. J., Benzer, S. (1971). Clock mutants of Drosophila melanogaster. PNAS 68, 2112-2116.
- Lewis, L. P. C., Siju, K. P., Aso, Y., Friedrich, A. B., Bulteel, A. J. B., Rubin, G. M., Grunwald Kadow, I. C. (2015). A Higher Brain Circuit for Immediate Integration of Conflicting Sensory Information in Drosophila. Curr. Biol. 25, 2203-2214.
- Lima, S. Q., Miesenböck, G. (2005). Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons. Cell 121, 141-152.
- Lin, S., Owald, D., Chandra, V., Talbot, C., Huetteroth, W., Waddell, S. (2014). Neural correlates of water reward in thirsty Drosophila. Nat. Neurosci. 17, 1536-1542.
- Liu, C., Plaçais, P.-Y., Yamagata, N., Pfeiffer, B. D., Aso, Y., Friedrich, A. B., Siwanowicz, I., Rubin, G. M., Preat, T., Tanimoto, H. (2012). A subset of dopamine neurons signals reward for odour memory in Drosophila. Nature 488, 512-516.
- Menzel, R. (2014). The insect mushroom body, an experiencedependent recoding device. Journal of Physiology-Paris 108, 84-95.
- Menzel, R., Manz, G. (2005). Neural plasticity of mushroom body-extrinsic neurons in the honeybee brain. J. Exp. Biol. 208, 4317-4332.
- Nader, K. (2015). Reconsolidation and the Dynamic Nature of Memory. Cold Spring Harb Perspect Biol 7, a021782.

- Owald, D., Felsenberg, J., Talbot, C.B., Das, G., Perisse, E., Huetteroth, W., Waddell, S. (2015a) Activity of defined mushroom body output neurons underlies learned olfactory behavior in Drosophila. Neuron 86, 417-427.
- Owald, D., Lin, S., Waddell, S. (2015b) Light, heat, action: neural control of fruit fly behaviour. Philos. Trans. R. Soc., Lond, B., Biol. Sci. 370, 20140211.
- Owald, D., Waddell, S. (2015). Olfactory learning skews mushroom body output pathways to steer behavioral choice in Drosophila. Curr. Opin. Neurobiol. 35, 178-184.
- Perisse, E., Owald, D., Barnstedt, O., Talbot, C. B., Huetteroth, W., Waddell, S. (2016). Aversive Learning and Appetitive Motivation Toggle Feed-Forward Inhibition in the Drosophila Mushroom Body. Neuron 90, 1086-1099.
- Quinn, W. G., Dudai, Y. (1976). Memory phases in Drosophila. Nature 262, 576-577.
- Riemensperger, T., Völler, T., Stock, P., Buchner, E., Fiala, A. (2005). Punishment prediction by dopaminergic neurons in Drosophila. Curr. Biol. 15, 1953-1960.
- Rubin, G. M., Spradling, A. C. (1982). Genetic transformation of Drosophila with transposable element vectors. Science 218, 348-353.
- Séjourné, J., Plaçais, P.-Y., Aso, Y., Siwanowicz, I., Trannoy, S., Thoma, V., Tedjakumala, S. R., Rubin, G. M., Tchénio, P., Ito, K., Isabel, G., Tanimoto, H., Preat, T. (2011). Mushroom body efferent neurons responsible for aversive olfactory memory retrieval in Drosophila. Nat. Neurosci. 14, 903-910.
- Stevens, C. F. (2015). What the fly"s nose tells the fly"s brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112, 9460-9465.
- Südhof, T. C. (2012). The presynaptic active zone. Neuron 75, 11–25. Tanaka, N. K., Tanimoto, H., Ito, K. (2008). Neuronal assemblies of the Drosophila mushroom body. Journal of Comparative Neurology 508, 711-755.
- Tempel, B. L., Bonini, N., Dawson, D. R., Quinn, W. G. (1983). Reward learning in normal and mutant Drosophila. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80, 1482-1486.
- Tovote, P., Fadok, J. P., Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. Nat. Rev. Neurosci. 16, 317-331.
- Waddell, S. (2013). Reinforcement signalling in Drosophila; dopamine does it all after all. Curr. Opin. Neurobiol. 23, 324-329.
- Yamagata, N., Ichinose, T., Aso, Y., Plaçais, P.-Y., Friedrich, A. B., Sima, R. J., Preat, T., Rubin, G. M., Tanimoto, H. (2015). Distinct dopamine neurons mediate reward signals for short- and long-term memories. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112, 578-583.

Article note: German version available at https://doi.org/10.1515/nf-2017-0048

Bionotes



Johannes Felsenberg Centre for Neural Circuits and Behaviour, The University of Oxford, Tinsley Building, Mansfield Road, Oxford OX1 3SR, UK Phone: +44 1865 272496 Mail: johannes.felsenberg@cncb.ox.ac.uk

Johannes is a post doc in Scott Waddell's Lab at the Centre for Neural Circuits and Behaviour at Oxford University. He received his Diploma in Biology and his PhD from the Free University of Berlin. In the labs of Randolf Menzel and Dorothea Eisenhardt he worked on the role of the ubiquitin proteasome system in learning and memory in honeybees. Currently Johannes investigates the mechanism of reconsolidation and the extinction induced synaptic plasticity in fruit flies. His project in the Waddell lab is supported by a DFG-Fellowship.



David Owald Institute of Neurophysiology, Charité -Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany Phone: +49 151 11811636 Mail: david.owald@charite.de

David heads the Emmy Noether Junior Research Group for Behavioral and Physiological Neurogenetics at the Institute of Neurophysiology at the Charité in Berlin. He received his PhD from the University of Göttingen for work on the molecular anatomy and developmental plasticity of presynaptic active zones in Drosophila. After that he was a Junior Research Fellow for Physiology at Wolfson College Oxford as well as an EMBO Long-term and a Sir Henry Wellcome Postdoctoral Fellow at the Centre for Neural Circuits and Behaviour of the University of Oxford working on learning-relevant plasticity in the Drosophila mushroom bodies. David received the 2017 Schilling-Forschungspreis of the Neurowissenschaftlichen Gesellschaft.

Übersichtsartikel

Giordano Ramos-Traslosheros, Miriam Henning und Marion Silies*

Bewegungssehen: Zellen, Schaltkreise und Algorithmen

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0028

Zusammenfassung: Für viele Tiere ist die Verarbeitung visueller Reize und insbesondere Bewegungsreize von elementarer Bedeutung. Das Bewegungssehen beruht auf dem Vergleich von Lichtsignalen in Raum und Zeit. Zu verstehen, wie neuronale Netzwerke dies erreichen, gilt als Paradigma für die Durchführung spezifischer Rechnungen im Gehirn. Wir werden klassische Modelle des Bewegungssehens vorstellen und Einblicke in die Schaltkreise des Bewegungssehens in Drosophila geben. Direkte physiologische Messungen richtungsselektiver Zellen haben neue Erkenntnisse zur Umsetzung der Algorithmen des Bewegungssehens geliefert. Diese legen eine Kombination zweier Mechanismen nahe: Eine nicht-lineare Verstärkung von Bewegung in eine Richtung, sowie die Suppression von Bewegung in die entgegengesetzte Richtung. Diese Erkenntnisse und eine funktionelle Analyse der neuronalen Komponenten des Bewegungssehens ergeben, dass die Verarbeitung von Bewegungsreizen komplizierter ist als lange angenommen. Darauf aufbauend haben wir die Gelegenheit, die Eigenschaften grundlegender, aber komplexer Schaltkreise im Detail zu verstehen.

Schlüsselwörter: Bewegungssehen; Drosophila; Neurogenetik; neuronale Schaltkreise; visuelles System

Giordano Ramos-Traslosheros, European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Deutschland; International Max Planck Research School Neuroscience, University of Göttingen, Göttingen, Deutschland, E-Mail: l.ramos@eni-g.de

Miriam Henning, European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Deutschland, E-Mail: m.henning@eni-g.de

Einleitung

Die Umgebung, in der wir leben, verändert sich stetig, und viele Objekte sind in ständiger Bewegung. Visuelle Bewegungsreize stammen von sich bewegenden Objekten, aber entstehen auch, wenn wir uns selbst bewegen und sich dabei die gesamte Szenerie an unseren Augen vorbei bewegt. Die visuelle Wahrnehmung von Bewegungsreizen ist eine wichtige sensorische Eigenschaft vieler Tiere. Ein Bewegungsreiz kann zum Beispiel auf eine herannahende Gefahr wie z. B. einen Fressfeind hinweisen, aber auch von einem Beutetier erzeugt werden, oder zur Partnererkennung dienen. In einer statischen Umgebung helfen uns die aus unseren eigenen Bewegungen resultierenden visuellen Reize, sicher durch die Umwelt zu navigieren.

Die beschriebenen Beispiele veranschaulichen, wie Bewegung lokal sein kann, z.B. wenn ein Insekt an unserem Auge vorbeifliegt, oder global, wenn sich der gesamte Raum relativ zu uns bewegt. Globale und lokale Bewegungsreize sind dahingehend miteinander verwandt, dass sich globale Bewegung aus der Bewegung lokaler Elemente einer Szene zusammensetzt. Wenn das visuelle System also lokale Bewegung wahrnehmen kann, und diese global verbindet, kann der Organismus auf lokale und globale Bewegungsreize reagieren. Der kleinste wahrnehmbare Bewegungsreiz kann im Rahmen der Auflösung des Sehsystems von zwei benachbarten Punkten im Raum generiert werden. Die Einheit, welche diese kleinsten Bewegungen detektieren kann, nennt man elementaren Bewegungsdetektor (elementary motion detector, EMD). Auf dieser Ebene muss das visuelle System Helligkeitsunterschiede in Raum und Zeit extrahieren und daraus ein richtungsselektives Signal generieren, ein Markenzeichen des Bewegungssehens. Dem entsprechend besitzt jeder EMD eine Bewegungsrichtung auf die er am stärksten reagiert, die sogenannte bevorzugte Richtung (preferred direction, PD).

Wie können Sehsysteme lokale Bewegung detektieren? Im Nervensystem muss ein EMD so verankert sein, dass die ausgehenden Nervenzellen richtungsselektiv sind und damit lokale Bewegung detektieren. Die Suche nach

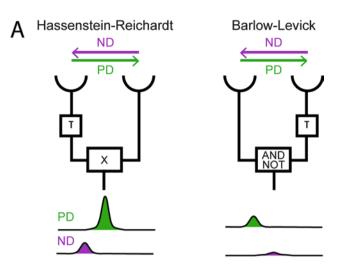
^{*}Korrespondenzautor: Marion Silies, European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Deutschland, E-Mail: m.silies@ eni-g.de, Web: www.silieslab.com

den Algorithmen und den zugrunde liegenden neuronalen Schaltkreisen, mithilfe derer die Richtung von Bewegung berechnet werden kann, wurde lange als Frage betrachtet, die Erkenntnisse über grundlegende Funktionen des Nervensystems liefern kann. Da das Sehen von Bewegung für das Verhalten vieler Tiere relevant ist, wurde es in sehr unterschiedlichen Arten, wie z. B. Affen, Katzen und Mäusen, aber auch in verschiedenen Insektenarten, wie z. B. der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, untersucht. In diesem Artikel betrachten wir vor allem neueste Erkenntnisse zum Bewegungssehen in *Drosophila*.

Klassische Modelle des Bewegungssehens

Der Frage, wie biologische Systeme Bewegungssignale extrahieren können, wurde seit den 50er Jahren viel Beachtung geschenkt (Übersichtsartikel in Borst und Euler, 2011). Das erste bekannte algorithmische Model zur Erklärung richtungsselektiver Antworten entstand auf Grundlage von Verhaltensexperimenten, in denen sogenannte optomotorische Antworten des Käfers Chlorophanus auf Bewegungsreize gemessen wurden (Hassenstein und Reichardt, 1956). Das daraus resultierende Model, das als Hassenstein-Reichardt-Correlator (HRC) bekannt wurde, legte die Grundlage für nachfolgende Studien in anderen Arten, welche die Eigenschaften des Models weiter verfeinerten. Der HRC schlägt vor, wie zwei räumlich getrennte visuelle Signale, die durch lokale Bewegung über benachbarte Punkte im Raum entstehen, miteinander verglichen werden können. Dies geschieht durch die zeitliche Verzögerung eines der Signale. Das Model berücksichtigt somit den räumlichen und zeitlichen Abstand zweier Signale und damit eine fundamentale Eigenschaft jedes Bewegungsreizes. Das Modell kombiniert oder korreliert diese beiden Signale dann in nicht-linearer Weise (Abbildung 1A).

Ein EMD, welcher selektiv auf Bewegung von links nach rechts reagiert, wird das Signal, das zunächst durch einen Punkt im Raum generiert wird, relativ zum rechts daneben liegenden Signal zeitlich verzögern (Abbildung 1A). Aufgrund dieser Verzögerung überlappen die Signale, die ein sich in die präferierte Richtung (hier: nach rechts) bewegendes Objekt hervorruft. Eine zusätzliche nicht-lineare Verstärkung der zusammentreffenden Signale sorgt für ein deutliches Signal am Ausgang des EMDs. Wenn sich ein Objekt jedoch in die nicht-präferierte Richtung (*null direction*, ND) bewegt, sorgt die zeitliche Verzögerung dafür, dass die Signale am Ausgang des EMDs nicht zusam-



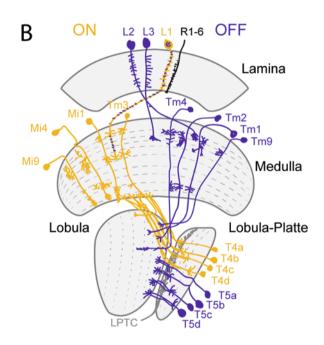


Abb. 1: A. Zwei Modelle des Bewegungssehens. Links: Der Hassenstein - Reichardt - Correlator (HRC) korreliert Signale von zwei benachbarten Punkten, nachdem ein Signal zeitlich verzögert (τ) wurde. Das Ergebnis ist ein richtungsselektives Signal. Signale, die sich in die bevorzugte Richtung (PD) des Detektors bewegen, werden nicht-linear amplifiziert (grünes Signal). Rechts: Das Barlow -Levick -Model (BLM) vergleicht zwei Signale im Raum durch eine logische AND NOT - Operation, nachdem ein Signal zeitlich verzögert wurde. Das Ergebnis ist wieder ein richtungsselektives Signal, hier wird jedoch die Bewegung in die sogenannte Null-Richtung (ND) supprimiert (violettes Signal). B. Schematische Zeichnung des visuellen Systems der Fliege und der elementaren Schaltkreise des Bewegungssehens. Gezeigt werden ausgwählte Neurone der ON (gelb) und OFF (blau) Kanäle, die entweder verhaltensrelevant sind, oder für richtungsselektive Signale der T4/T5- Neurone notwendig sind. Für Details, siehe Text.

mentreffen. Somit entsteht durch die Korrelation kein Bewegungssignal (Abbildung 1A). Zusammengefasst macht das HRC Modell spezifische Vorhersagen darüber, wie aus zwei Eingangssignalen ein richtungsselektives Signal generiert werden kann (Übersichtsartikel in Borst und Euler, 2011; Silies et al., 2014).

Der HRC beruht dabei auf einer nicht-linearen Verstärkung der Eingangssignale, welche durch exzitatorische Feedforward-Kontrolle entsteht. Ein anderes Model, welches dazu im Kontrast steht, aber ebenfalls die Entstehung richtungsselektiver Signale erklären kann und in den 60er Jahren beschrieben wurde, beruht stattdessen auf inhibitorischen neuronalen Vorgängen und damit einer Suppression von Signalen. Dieses sogenannte Barlow-Levick-Model (BLM) wurde entwickelt um Richtungsselektivität in der Netzhaut von Vertebraten zu erklären (Barlow und Levick, 1965). Wie der HRC beruht das BLM auch auf einem Vergleich von Signalen, die von zwei benachbarten Punkten im Raum stammen. Auch hier wird eines der Signale zeitlich verzögert, bevor die beiden Signale nicht-linear miteinander kombiniert werden. Im Gegensatz zum HRC werden die beiden Signale allerdings durch eine AND-NOT Operation miteinander kombiniert, sodass nur dann ein Ausgangssignal entsteht, wenn kein zeitlich verzögertes Signal das andere Signal auslöschen kann (Abbildung 1A). Wenn wir erneut das Beispiel eines EMDs mit einer Präferenz für Bewegung nach rechts betrachten, beschreibt das BLM die Antwort auf Bewegungsreize wie folgt: Für die ND-Bewegung (also Bewegung nach links) wird zunächst ein Signal generiert, welches verzögert wird und somit mit dem danach entstehenden Signal zeitlich überlappt. Diese Überlappung bewirkt die Aufhebung des zweiten Signals durch Inhibition. In der präferierten Richtung des EMDs wird das nicht-verzögerte, exzitatorische Signal zunächst am Ausgang des EMDs ankommen und damit der Inhibition entkommen. Das Ergebnis dieser Operation ist ebenfalls ein richtungsselektives Signal.

Der HRC gewann zunächst weitreichende Akzeptanz durch Arbeiten in Insekten, da er sowohl Verhaltensantworten als auch neuronale Antworten erfolgreich vorhersagen konnte. Ein Beispiel sind die Antworten auf sich bewegende Streifenmuster. Dort ist der HRC nicht auf die Geschwindigkeit, sondern auf die temporäre Frequenz (oder Kontrastfrequenz) der Muster abgestimmt (also die Rate der lokalen Kontrastveränderungen). In unterschiedlichen Fliegenarten konnte nämlich gezeigt werden, dass die Verhaltensantworten auf sich bewegende Streifenmuster mit unterschiedlicher Breite (Musterwellenlänge) identisch war, so lange die Kontrastfrequenz beibehalten wurde (Buchner, 1976; Eckert, 1973; Götz, 1964; Reichardt,

1987). Der HRC hat somit eine optimale Geschwindigkeit, welche linear von der räumlichen Musterwellenlänge abhängig ist. Diese Hypothese wurde weiter durch elektrophysiologische Ableitungen an den Tangetialzellen der Lobula-Platte (lobula plate tangential cells, LPTCs) in Schmeißfliegen (Egelhaaf und Reichardt, 1987; Hausen, 1982; Hengstenberg et al., 1982) und Fruchtfliegen unterstützt (Joesch et al., 2008; Schnell et al., 2010). Bei den LPTCs handelt es sich um Zellen mit weiten rezeptiven Feldern, welche Information von mehreren eingehenden EMDs integrieren.

Die oben beschriebenen (und weitere) Eigenschaften der Bewegungsdetektion wurden experimentell in verschiedenen Arten wie Fliegen, Katzen und Menschen bestätigt, was zur Beliebtheit des HRC beitrug (Borst und Egelhaaf, 1989). In Menschen wurde ein anderes Modell, das Motion Energy Modell, zwar bevorzugt (Adelson und Bergen, 1985), dieses kann dem HRC allerdings algorithmisch angeglichen werden (van Santen und Sperling, 1985). Eine neuere Erweiterung des HRC Models konnte Verhaltensantworten der Anolis Eidechse auf visuelle Reize beschreiben (Fleishman und Pallus, 2010).

Im Gegensatz dazu war das BLM lange das favorisierte Model, um Bewegungsantworten in der Netzhaut von Wirbeltieren zu beschreiben. Barlow und Levick (1965) schrieben die Richtungsselektivität der Ganglienzellen in der Netzhaut der ND – Inhibition zu. Diese Hypothese wurde vor allem dadurch unterstützt, dass diese Ganglienzellen ihre Richtungsselektivität durch pharmakologische Hemmung inhibitorischer, GABAerger Signalwege verloren (Caldwell und Daw, 1978; Wyatt und Day, 1976). Weitere Experimente identifizierten bestimmte Amakrinzellen in der Netzhaut als Quelle dieser GABAergen Inhibition, die starburst amacrine cells (Amthor et al., 2002; Yoshida et al., 2001).

Eine Vielzahl von Studien führten also zur Dominanz des HRC zur Beschreibung von Bewegungsdetektion in Insekten, und des BLM zur Beschreibung von Bewegungsdetektion in Wirbeltieren. Interessanterweise zeigen neuere Arbeiten jedoch, dass tatsächlich beide Systeme eine Kombination beider Algorithmen benutzen (Fisher et al., 2015b; Haag et al., 2016; Leong et al., 2016, siehe unten). Nachfolgend werden wir zunächst beschreiben, wie die Schaltkreise des Bewegungssehens in der Fruchtfliege Drosophila identifiziert wurden. Wir werden dann diskutieren, wie auf Basis der Kenntnisse bestimmter Schaltkreiselemente die Implementation bestimmter Algorithmen direkt am Ausgang eines EMDs getestet werden konnte. Abschließend werden wir die Ergebnisse dieser Experimente und deren Bedeutung für die mechanistische Implementation eines EMDs beleuchten.

Netzwerke des Bewegungssehens

Obwohl algorithmische Modelle des Bewegungssehens seit Jahrzehnten existierten, blieben die zugrunde liegenden neuronalen Schaltkreise lange unbekannt. Dies änderte sich erst mit der Entwicklung genetischer Werkzeuge zur Untersuchung der Funktion von Netzwerken, allen voran in Drosophila. Die Anatomie vieler Neurone des visuellen Systems war bereits in außerordentlichem Detail (Fischbach und Dittrich, 1989) und bis hin zur individuellen Synapsen beschrieben worden (Meinertzhagen und O'Neil, 1991; Takemura et al., 2008; 2017).

Das visuelle System in Drosophila melanogaster. Das visuelle System der Fliegen gliedert sich in die Retina und drei optische Ganglien: Die Lamina, die Medulla und den Lobulakomplex, letzterer bestehend aus Lobula und Lobula-Platte (Abbildung 1B). Die Retina ist in 800 Einheiten unterteilt, die Ommatidien. Jedes Ommatidium enthält acht Photorezeptoren, von denen die äußeren sechs (R1-R6) das Breitbandspektrum-Rhodoposin Rh1 exprimieren, welches für das Bewegungssehen notwendig ist (Heisenberg und Buchner, 1977). Alle R1-R6 Zellen, die denselben Punkt im Raum sehen, projizieren auf ein gemeinsames Ziel in der Lamina und dort vor allem auf die L1-L3 Neurone. Benachbarte Punkte im Raum werden von benachbarten Zellen in der Lamina kodiert, welche somit ein retinotopisches Bild erzeugen. Diese parallele, säulenförmige Anordnung ist in der Medulla fortgesetzt, wo mehr als 60 unterschiedliche Zelltypen Informationen an den Lobulakomplex weiterleiten.

Genetische Methoden zur Kartierung von neuronalen Schaltkreisen. Die größten Forschritte in der Analyse visueller Schalkreise kamen mit der Möglichkeit, Neurone im Fliegengehirn spezifisch manipulieren zu können. Dies beinhaltete zum einen die Entwicklung genetischer Werkzeuge zur Messung und Manipulation neuronaler Aktivität, und zum anderen die Möglichkeit, diese Werkzeuge spezifisch im Gehirn exprimieren zu können. In Drosophila existieren sogenannte Treiber-Linien, welche die Expression von Transgenen in bestimmten Nervenzellen kontrollieren. In den letzten Jahren wurden Zehntausende Treiber-Linien entwickelt, welche genetische Werkzeuge in jedem beliebigen Muster exprimieren können (Gohl et al., 2011; Jenett et al., 2012). Die optimale Spezifität ist die Expression in einzelnen Zelltypen oder sogar einzelnen Nervenzellen, aber die Expressionmuster einzelner Gene, Enhancer oder Promotoren sind meist breiter als das. Daher wurden auf booleschen Operationen beruhende Strategien entwickelt, welche die Expressionmuster verfeinern können

(Gohl et al., 2011; Luan et al., 2006; Pfeiffer et al., 2010). Damit ist es im Prinzip möglich, genetisch auf jede einzelne Nervenzelle oder jeden Zelltypen im Gehirn der Fliege zu zugreifen. Dazu gehören auch die rund 100 Zelltypen des visuellen Systems.

Die Werkzeuge, die mit dieser Spezifität exprimiert werden können, beinhalten Gene wie das green fluorescent protein (GFP), welches z. B. alle Zellen einer Treiber-Linie markieren kann, um deren Expressionsmusters zu visualisieren, oder in einzelnen Zellen exprimiert zur Beschreibung der dendritischen Verzweigung dient. Andere Beispiele sind fluoreszierende Moleküle, die zur Messung neuronaler Aktivität genutzt werden können. So dienen z.B. genetisch kodierte Kalzium-Indikatoren (e.g. GCaMP6, Chen et al., 2014), Synapto-pHluorine (Miesenböck et al., 1998), oder genetisch kodierte Spannungsindikatoren (e.g. ASAP2, Yang et al., 2016) zur Messung unterschiedlicher Parameter neuronaler Aktivität, wie beispielsweise intrazellulärer Kalziumsignale, der Freisetzung neuronaler Vesikel oder der Membranspannung. Zusätzlich gibt es genetische Werkzeuge, mit denen man die Aktivität von Neuronen manipulieren kann. Beliebt sind Gene, welche neuronale Aktivität inaktivieren, indem sie die Zelle hyperpolarisieren oder das Recycling der Vesikel unterbinden (Simpson, 2009). Beispiele zur ektopischen Aktivierung von Neuronen liefern optogenetische Werkzeuge, darunter Channelrhodopsin oder Chrimson (Klapoetke et al., 2014; Mattis et al., 2011). In Analogie zu molekulargenetischen Studien lässt sich so auf Schaltkreisebene testen, ob eine Zelle notwendig oder hinreichend für eine bestimmte Aufgabe ist.

EMD - Schaltkreise. Mithilfe immer spezifischerer genetischer Werkzeuge konnten die elementaren Schaltkreise des Bewegungssehens identifiziert werden. In Verhaltensexperimenten, in denen einzelne Nervenzellen genetisch ausgeschaltet wurden, konnten Zelltypen identifiziert werden, die für das Bewegungssehen notwendig sind. Dadurch wurde gezeigt, dass es zwei unterschiedliche "ON" und "OFF" Kanäle gibt, die jeweils für Antworten auf sich bewegende helle (ON) oder dunkle (OFF) Reize notwendig sind. Diese Schaltkreise divergieren direkt hinter den R1-R6 Photorezeptoren. Dort liefern die Lamina-Neurone L1 Informationen für den ON – Signalweg, während die L2und L3 - Zellen Informationen an den OFF - Signalweg weitergeben (Clark et al., 2011; Joesch et al., 2010; Silies et al., 2013) (Abbildung 1B). Blockiert man die synaptische Aktivität von L1 und L2, oder L1 und L3, verliert die Fliege alle Verhaltensantworten auf Bewegungsreize. Diese Zellen sind also notwendig für das Bewegungssehen (Clark et al., 2011; Rister et al., 2007; Silies et al., 2013). Zwei Synapsen später im Lobulakomplex befinden sich die ersten richtungsselektiven Nervenzellen: T4 – Neurone antworten spezifisch auf sich bewegende ON-Reize, während T5-Neurone auf OFF - Reize antworten (Abbildung 1B). Beide Zelltypen treten in vier unterschiedlichen Subtypen mit Spezialisierung auf jeweils eine der vier kardinalen Bewegungsrichtungen auf: rückwärts, vorwärts, aufwärts und abwärts (Maisak et al., 2013). Eine genetische Hemmung der T4- und T5-Neurone führt zum Verlust von Verhaltensantworten der Fliege auf Bewegungsreize und positioniert diese Zellen somit am Ausgang der EMDs in den ON- und OFF - Signalwegen (Maisak et al., 2013; Strother et al., 2017). Diese Daten suggerieren auch ein relativ einfaches eins-zu-eins Verhältnis zwischen einem Zelltyp im visuellen System und dessen funktionaler Rolle. Wenn zum Beispiel L1 - Neurone alle eingehenden Informationen in den ON-EMD liefern und T4-Neurone die richtungsselektiven Zellen am Ausgang des EMDs sind, benötigen wir im Prinzip nur zwei Interneurone mit unterschiedlichen zeitlichen Filtereigenschaften, welche L1- mit T4 -Neuronen verbinden. Diese Konfiguration könnte die in den EMD – Modellen beschriebenen Rechenoperationen implementieren. Kandidaten für diese Interneurone lieferten auf elektronenmikroskopischen Daten beruhende Rekonstruktionen. Diese identifizierten die Neurone, welche die meisten synaptischen Verbindungen mit L1 und T4 aufweisen (Takemura et al., 2017) (Abbildung 1B). Die Nervenzellen, welche mit der größten Anzahl von Synapsen die L1 - Eingänge mit den richtungsselektiven T4 - Zellen verknüpften, waren z.B. die Mi1- und Tm3 - Zellen. Elektrophysiologische Studien fanden zudem Unterschiede in den zeitlichen Filtereigenschaften, insbesondere in der Zeit bis zum Höchstwert des Filters, welche in Tm3 kürzer ist (Behnia et al., 2014).

Verteilte Kodierung in visuellen Schaltkreisen. Sowohl im ON- als auch im OFF - Kanal wurden verschiedene Medulla - Interneurone beschrieben, welche die Lamina-Neurone mit den richtungsselektiven T4- oder T5-Zellen verbinden (Abbildung 1B). Während somit elementare Schaltkreise des Bewegungssehens vorgeschlagen wurden (Ammer et al., 2015; Behnia et al., 2014; Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016; Strother et al., 2017), sind die mit den entsprechenden Interneuronen assoziierten Verhaltensphänotypen erstaunlich schwach (Ammer et al., 2015; Strother et al., 2017). Während z. B. im ON - Pfad die genetische Hemmung neuronaler Aktivität in T4 – Neuronen zu einem Verlust aller Verhaltensantworten auf ON -Bewegungsreize führte, war dies nicht gleichermaßen für die Kandidaten-Interneurone der Medulla (e.g. für Mi1 and Tm3) der Fall. Hier führte die Blockade neuronaler Aktivität nur zu einer Abschwächung der Verhaltensantwort (Ammer et al., 2015; Strother et al., 2017). Nur wenn ONund OFF - Reize miteinander konkurrierten, konnte eine Präferenz für OFF - Reize und damit ein Defizit im ON -Pfad festgestellt werden. Andere ON - Interneurone wurden mit einer verhaltensrelevanten Funktion für spezifische Konstrastfrequenzen assoziiert (Strother et al., 2017). Ähnliche Beobachtungen gab es für die OFF – Interneurone (Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016). Eine Hemmung neuronaler Aktivität des OFF - Interneurons Tm9 führte zum Beispiel zu einer Präferenz für ON – Reize, aber nicht zu einem vollständigen Verlust der Verhaltensantworten auf OFF - Reize (Fisher et al., 2015a). Mit anderen OFF – Interneuronen assoziierte Phänotypen waren noch schwächer, konnten aber verstärkt werden, wenn die Aktivität von mehreren Zelltypen gleichzeitig blockiert wurde (Serbe et al., 2016). Zusammen suggerieren diese Daten, dass einzelne Zelltypen häufig nicht alleine für eine spezifische Aufgabe zuständig sind. Stattdessen scheint die Kodierung von Information auf mehrere Zelltypen verteilt zu sein. Verschiedene Szenarien könnten diesen Mangel an (starken) Phänotypen erklären. Zum einen könnte es redundante Schaltkreiselemente geben, sodass die Funktion eines fehlenden Zelltyps durch andere Neurone übernommen werden kann. Dies würde das für das Tier elementare Bewegungssehen robuster machen. Andererseits könnte es sein, dass noch nicht alle funktionell wichtigen Zelltypen identifiziert sind. Zusätzlich zu den Interneuronen, welche die Lamina Inputs (z.B. L1) durch die meisten Synapsen mit den richtungsselektiven Zellen (z.B. T4) verbinden, verknüpfen viele weitere Interneurone diese beiden Zelltypen ebenfalls. Zudem ist die Funktion von mehr als 60 Medulla - Zelltypen noch unbekannt. Und obwohl die Synapsenanzahl oft als ein Indikator für funktionelle Relevanz betrachtet wird, gibt es auch Gegenbeispiele: Das L3 - Neuron bildet z. B. viel weniger Synapsen zu Photorezeptoren aus als die L1- oder L2-Neurone (Rivera-Alba et al., 2011). Auf postsynaptischer Seite ist die Synapsenanzahl zwischen L3 und dem Tm9 - Interneuron fast eine Größenordnung geringer als die zwischen L1 oder L2 und ihren stärksten synaptischen Partnern (Takemura et al., 2013). Dennoch ruft die Hemmung von Tm9 den vergleichsweise stärksten Verhaltensphänotyp aller OFF - Interneurone hervor (Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016). Zudem wurden sowohl im ON- als auch im OFF - Weg Interneurone mit unterschiedlichen Filtereigenschaften identifiziert (Arenz et al., 2017; Behnia et al., 2014; Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016; Strother et al., 2017; Yang et al., 2016) und könnten wichtig für das Sehen von Bewegung unterschiedlicher Geschwindigkeiten sein.

Möglicherweise trifft eine Kombination der hiergenannten Optionen zu.

Zusammenfassend wurden also elementare Schaltkreise des Bewegungssehens in Drosophila identifiziert. Während die identifizierten Zelltypen und ihre physiologischen Eigenschaften oft hinreichend zur Vorhersage richtungsselektiver Antworten in postsynaptischen Zellen waren, bedarf die Beschreibung ihrer genauen Rolle und insbesondere der Relevanz für das Verhalten des Tieres weiterer Untersuchungen.

Neue Einblicke in die Algorithmen des Bewegungssehens

Zu Beginn dieses Artikels haben wir beschrieben, wie es dazu kam, dass das HRC - Model zur Beschreibung des Bewegungssehens präferiert wurde. Die Identifikation der zugehörigen Neurone wurde entsprechend als "Heiliger Gral" des Bewegungssehens angesehen (Borst, 2014). Im Gegensatz dazu wurde das BLM zur Beschreibung von Antworten auf Bewegungsreize in der Netzhaut von Wirbeltieren bevorzugt. Mit der Identifikation von Nervenzellen aus den Schaltkreisen des Bewegungssehens und insbesondere mit der Beschreibung von T4 und T5 als erste richtungsselektive Zellen eröffnete sich die Möglichkeit, die Mechanismen des Bewegungssehens direkt dort zu untersuchen, wo sie implementiert werden. Neuere Arbeiten an den T4- und T5-Zellen lieferten überraschende Einblicke, wie Bewegungsinformation tatsächlich im visuellen System der Fliegen kodiert wird.

Die Ausgänge der T4- und T5-Neurone verzweigen sich in der Lobula-Platte und geben dort retinotope Information an die LPTCs weiter. Die axonalen Endigungen sind so in vier Schichten angeordnet, dass alle T4- oder T5-Zellen mit der gleichen Präferenz für eine bestimmte Bewegungsrichtung in eine Schicht projizieren (Abbildung 1B). Die vier Schichten decken somit zusammen die vier kardinalen Bewegungsrichtungen ab, was eine Messung der Aktivität eines einzelnen richtungsselektiven Subtyps mittels der in vivo 2-Photonen Mikroskopie vereinfacht (Maisak et al., 2013). In den Dendriten ist die Messung richtungsselektiver Signale dagegen schwieriger. Die dendritischen Verzweigungen aller vier T4 – Subtypen projizieren in die gleiche Schicht der Medulla, und die Dendriten aller T5-Subtypen in die erste Schicht der Lobula (Abbildung 1B). Elegante genetische Tricks erlaubten es dennoch, dendritische Aktivität direkt zu messen. Dies zeigte, dass die T4- und T5-Dendriten bereits richtungsselektiv sind und

spricht dafür, dass an dieser Stelle wichtige Berechnungen stattfinden (Fisher et al., 2015b). Die T4- und T5-Neurone reagieren zusätzlich orientierungsselektiv auf statische Objekte (Fisher et al., 2015b; Maisak et al., 2013) und bevorzugen eine Orientierung, die im rechten Winkel zur präferierten Bewegungsachse liegt (Fisher et al., 2015b). Was sind also die Algorithmen, die in den T4- und T5-Dendriten implementiert werden?

Interessanterweise führte eine Hemmung GABAerger Mechanismen zu einem vollständigen Verlust von Richtungs- und Orientierungsselektivität in T4- und T5-Zellen (Fisher et al., 2015b). Dies ähnelt auf erstaunliche Weise Daten aus der Netzhaut der Wirbeltiere und zeigt, dass GABAerge Inhibtion auch notwendig für richtungsselektive Antworten in T4 und T5 und damit für das Bewegungssehen in Fliegen ist (Fisher et al., 2015b).

Nachfolgende Experimente konnten die raum-zeitlichen rezeptiven Felder von T4 und T5 direkt messen (Leong et al., 2016; Salazar-Gatzimas et al., 2016). Die dafür verwendeten Ternary Noise Stimuli bestehen aus Balken, deren Kontrast sich stochastisch ändert und deren Weite in etwa dem Ausmaß eines rezeptiven Feldes der Eingangsneurone entspricht. Im Rahmen der Auflösung des Fliegenauges deckt dies also einen Punkt im Raum ab. Durch reverse Korrelation des Kalziumsignals mit dem Kontrast können die zeitlichen physiolgischen Antworten einer Nervenzelle auf jeden Punkt im Raum beschrieben werden. Die so gewonnenen rezeptiven Felder der T4- und T5-Zellen zeigten sowohl inhibitorische als auch exzitatorische Teilfelder, welche jeweils spezifische Neigungen entlang der Raum-Zeit-Achse aufzeigten (Leong et al., 2016; Salazar-Gatzimas et al., 2016) (Abbildung 2A). Diese linearen rezeptiven Feldern ähnelten zudem qualitativ jenen, bei denen das zugrunde liegende Modell Nichtlinearitäten der Neurone oder der Kalziumindikatoren berücksichtigte (Leong et al., 2016). Die beschriebene Neigung in Raum und Zeit ist mit einer Verstärkung von PD – Bewegungsreizen vereinbar. Interessanterweise sagt die Anordnung von exzitatorischen und inhibitorischen Teilfeldern allerdings auch eine Suppression von ND- Signalen voraus (Abbildung 2A). Diese Daten suggerieren, dass sowohl exzitatorische Mechanismen wie im HRC, als auch inhibitorische Mechanismen wie im BLM eine Rolle spielen (Leong et al., 2016).

Die Hypothese, dass sowohl HRC- als auch BLM - ähnliche Mechanismen den Bewegungsantworten in der Fliege zugrunde liegen, lässt sich direkt mit sogenannten apparent motion ("scheinbaren Bewegungs-")Reizen testen. Diese Stimuli nutzen die Tatsache aus, dass Bewegung wahrgenommen wird, wenn eine zeitliche Serie von sta-

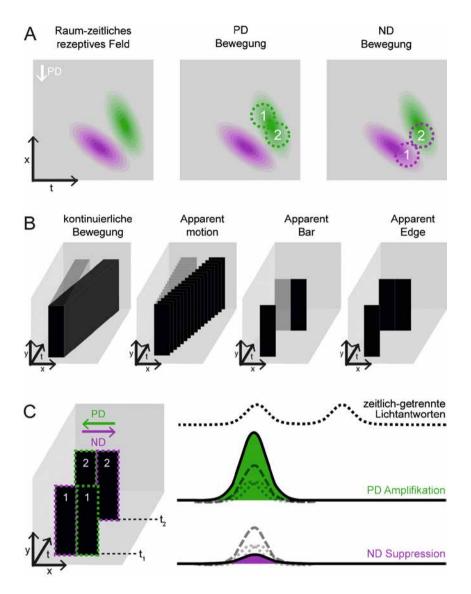


Abb. 2: A. Schematische Darstellung eines raum-zeitlichen rezeptiven Feldes eines richtungsselektiven T4- oder T5 -Neurons. Das rezeptive Feld enthält exzitatorische (grün) und inhibitorische (violett) Subfelder, die jeweils entlang der Raum-Zeit-Achse geneigt sind. Die bevorzugte Richtung (PD) des Neurons ist angedeutet. Das mittlere Bild zeigt das gleiche rezeptive Feld und illustriert, wie eine PD -Bewegung das exzitatorische Subfeld sequenziell aktivieren würde. Das rechte Bild zeigt wie eine ND- Bewegung nacheinander das inhibitorische und das exzitatorische Subfeld treffen würde, und damit zur Suppression von ND -Signalen führt. B. X-y-t Plots zeigen, wie kontinuierliche Bewegung in einzelne statische Bilder, oder "apparent motion" zerlegt werden kann. Während die schwarzen Boxen Bewegung nach rechts darstellen, illustrieren die grauen Boxen ein statisches Objekt. Die beiden rechten Abbildungen stellen zwei apparent motion Stimuli da, die jeweils zwei benachbarte Punkte im Raum aktivieren und einen sich bewegenden Balken oder eine sich bewegende Kante nachahmen. C. Ein apparent motion Reiz kann in die PD (grün) oder ND (violett) einer Zelle bewegt werden. Wenn die beiden Zeitpunkte der Reizgebung zeitlich weit auseinander liegen, werden zwei einzelne Antworten auf diese Lichtreize gemessen (obere Spur). Bei kürzeren Abständen der Reizgebung können diese individuellen Lichtantworten (gepunktete Linien) zeitlich so verschoben werden, dass ihre Summe (gestrichelte Linie) eine lineare Vorhersage der neuronalen Antwort auf den apparent motion Reiz ergibt. Wenn die Antwort auf einen PD -Bewegungsreiz im Vergleich zu dieser linearen Vorhersage nicht-linear amplifiziert ist (grün, mittlere Spur), spricht dies für einen HRC-ähnlichen Mechanismus. Wird die Antwort auf einen Bewegungsreiz relative zur linearen Vorhersage supprimiert, spricht dies für die Umsetzung eines BLM (violett, untere Spur).

tischen Bildern gezeigt wird, welche räumlich zueinander verschoben sind (wie es z. B. im Fernsehen geschieht) (Abbildung 2B). Wenn diese Einzelbilder in schneller Abfolge gezeigt werden, werden sie auf Grund der Grenzen visueller Verarbeitung als kontinuierliche Bewegung wahrgenommen. Entsprechend dieser Logik wurde für Fliegen Bewegung durch sequenzielle Aktivierung benachbarter Punkte im visuellen Feld nachgeahmt (Abbildung 2B),

während T4- und T5-Antworten gemessen wurden. Um mit einem apparent motion Stimulus eine Bewegungsantwort zu produzieren, sollten die beiden Stimulationspunkte idealerweise zwei benachbarte Punkte im Raum mit zeitlicher Verzögerung so treffen, dass diese der Verzögerung des EMDs entspricht. Ist diese zu lang, wird durch Stimulation der beiden benachbarten Punkte keine Bewegungsantwort ausgelöst. Stattdessen können diese isolierten Antworten genutzt werden, um (durch Summierung) eine lineare Vorhersage über die Antwort auf die Einzelstimulationen zu treffen (Abbildung 2C). Wenn also die beiden einzelnen Reizantworten auch bei schneller zeitlicher Abfolge linear kombiniert würden, entspräche diese vorhergesagte Summe der Bewegungsantwort der Nervenzelle. Günstigerweise treffen der HRC und das BLM auf Grund der unterschiedlichen Nicht-Linearitäten am Ausgang der Modelle unterschiedliche Vorhersagen über die Antworten auf derartige apparent motion Stimulation. Wäre ein HRC implementiert, würde man eine nicht-lineare Amplifizierung des sich in die PD bewegende Signal erwarten, während das BLM eine nicht-lineare Suppression des sich in die ND bewegenden Signals vorhersagen würde (Abbildung 2C).

Zwei separate Studien nutzten diese apparent motion Stimulation um T4- und T5-Antworten zu analysieren. Zunächst zeigten (Fisher et al., 2015b) apparent motion Reize, welche eine sich bewegende Kante nachahmten. Hierzu wurde zunächst ein Punkt im Raum durch einen Streifen aktiviert, gefolgt von einer erneuten Aktivierung desselben sowie eines benachbarten Punktes im Raum. Die Messung der Kalziumsignale in T4 und T5 zeigte eine signifikante, nicht-lineare Verstärkung der Antworten auf apparent motion Reize in die bevorzugte Richtung, was die Idee eines HRC-ähnlichen Mechanismus unterstützt (Fisher et al., 2015b). Die gleiche Studie zeigte allerdings auch, dass GABAerge Mechanismen notwendig für die Richtungsselektiviät der T4- und T5-Antworten ist, was dazu veranlasste, ebenfalls nach einer Unterdrückung der ND - Antwort zu schauen. Während nur schwache Anzeichen einer Suppression zu erkennen waren, waren diese meist nicht von einer Adaptationskontrolle zu unterscheiden (Fisher et al., 2015b). Eine nachfolgende Arbeit nutzte apparent motion Reize, welche nacheinander zwei benachbarte Punkte im Raum stimulierten, ohne den ersten Punkt erneut zu stimulieren. Haag et al. (2016) konnten die von Fisher et al. (2015b) gefundenen Ergebnisse bestätigen, aber fanden auch Evidenz für ND – Suppression in richtungsselektiven Neuronen. Eine präzisere Stimulation der inhibitorischen Teilfelder eines rezeptiven Feldes könnte wichtig sein, um die Komponente, welche zur ND - Suppression führt, zu aktivieren. Dieses inhibitorische Teilfeld würde dann auf der Seite des rezeptiven Feldes liegen, welches ein sich in die nicht-präferierte Richtung einer Zelle bewegender Reiz zuerst erreicht.

Die durch die Nutzung von apparent motion Reizen erzielten Ergebnisse sind also im Einklang mit den weiter oben beschriebenen direkten T4- und T5-Messungen. Das räumliche Ausmaß der rezeptiven Felder spricht weiterhin dafür, das richtungsselektive Zellen Information von mehr als zwei Säulen im visuellen System der Fliegen erhalten, was durch Stimulation von mehr als zwei benachbarten Punkten bestätigt wurde (Haag et al., 2016; Leong et al., 2016; Salazar-Gatzimas et al., 2016). Zusammenfassend zeichnet sich also ab, dass eine Kombination von einer Verstärkung der PD - Antwort wie vom HRC vorgeschlagen, und einer ND - Suppression wie im BLM, genutzt werden, um Richtungsselektivität im visuellen System der Fliege zu berechnen.

Wie weiter oben beschrieben, wurde das BLM lange zur Beschreibung richtungsselektiver Antworten der Ganglienzellen in der Retina der Vertebraten favorisiert. Präsynaptisch zu diesen Zellen befinden sich die Starburst Amacrine Cells, die nicht nur für die Richtungsselektivität der Ganglienzellen notwendig sind, sonderen deren Dendriten selbst richtungsselektiv sind (Briggman et al., 2011; Euler et al., 2002). Interessanterweise deuteten neuere Arbeiten zur Richtungsselektivität der Dendriten von Amakrinzellen an, dass an der Synapse zwischen Bipolarzellen und Amakrinzellen ebenfalls ein HRC-ähnlicher Mechanismus implementiert ist (Fransen und Borghuis, 2017; Kim et al., 2014). Dies zeigt, dass die in Wirbeltieren und Insekten genutzten Mechanismen viel ähnlicher sind als lange angenommen (siehe auch Borst und Helmstaedter, 2015; Mauss et al., 2017).

Zusammenfassung und Ausblick

Die Schaltkreise und Mechanismen des Bewegungssehens haben viel Aufmerksamkeit erhalten, da dies als Paradigma zum Verständnis der Implementation basaler Rechenoperationen in neuronalen Netzwerken galt. Bemerkenswerterweise wurden in den letzten Jahren nicht nur viele Komponenten der Schaltkreise des Bewegungssehens identifiziert, sondern die Frage nach der algorithmischen Implementation wurde in Drosophila und anderen Systemen erneut aufgegriffen. Während der HRC eine nützliche theoretische Beschreibung vieler Eigenschaften des Bewegungssehens in Insekten darstellte, zeigten neuere Arbeiten, dass das visuelle System der Fliege eine Kombination zweier Mechanismen benutzt. Neben einer Verstärkung von PD – Signalen findet man ND – Suppression, wie im BLM vorgeschlagen.

Inwieweit welcher Mechanismus angewandt wird, und ob ein Algorithmus unter bestimmten Stimulusbedingungen bevorzugt ist, bleibt eine offene Frage. Man könnte sich zum Beispiel vorstellen, dass es distinkte Schaltkreise gibt, die bei bestimmten Geschwindigkeiten PD- Verstärkung oder ND – Inhibition implementieren. Während bisher vereinzelte Experimente Evidenz für die Existenz beider Mechanismen lieferten, werden erst zukünftige Studien klären, ob beide Modelle zusammen einen weiten Parameterraum bedienen. Direkte Messungen synaptischer Inhibition an den richtungsselektiven Zellen könnten z. B. testen, unter welchen Bedingungen inhibitorische Mechanismen eine Rolle spielen.

Durch die Identifikation der den richtungsselektiven Zellen vorgeschalteten Neuronen zeichnet sich die Frage ab, welche Rechenoperation von welchem dieser Zelltypen erfüllt wird. Derartige Fragen können mit den verfügbaren genetischen Werkzeugen in Angriff genommen werden. In diesem Kontext können nicht nur die physiologischen Spezialisierungen dieser Zelltypen gemessen werden, sondern auch ihre Funktion für die Eigenschaften nachgeschalteter Zellen. Zudem gibt es im visuellen System von Drosophila ~100 Zelltypen, von denen viele bisher noch nicht untersucht wurden. Während sich ein Großteil der Arbeiten im visuellen System der Fliege mit dem Bewegungssehen beschäftigte, stellen andere visuelle Merkmale wie z. B. die Größe von Objekten wichtige Reize für das Tier dar (Keleş und Frye, 2017; Wu et al., 2016). Die Schaltkreise, welche diese Reize extrahieren, könnten entweder unabhängig von den Netzwerken des Bewegungssehens sein, oder Elemente teilen. Abschließend sind die molekularen und zellulären Mechanismen, welche die oben diskutierten Operationen implementieren, noch unbekannt. Besonders im Hinblick auf Fortschritte bei der Beschreibung zelltypspezifischer Expressionsprofile (e.g. (Pankova und Borst, 2016; Tan et al., 2015)) wäre es im Weiteren interessant zu verstehen, wie individuelle Eigenschaften des EMDs auf biophysikalischer Ebene implementiert sind.

Danksagung: Die Arbeit der AG Silies wird von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) durch das Emmy Noether - Programm und den Sonderforschungsbereich 889 "Cellular Mechanisms of Sensory Processing" (Projekt CO8) unterstützt, sowie vom European Research Council durch den ERC Starting Grant "MicroCyFly".

Literatur

- Adelson, E. H. and Bergen, J. R. (1985). Spatiotemporal energy models for the perception of motion. Journal of the Optical Society of America A: Optics 2, 284-299. doi:10.1364/ JOSAA.2.000284
- Ammer, G., Leonhardt, A., Bahl, A., Dickson, B. J. and Borst, A. (2015). Functional Specialization of Neural Input Elements to the Drosophila ON Motion Detector. Curr. Biol. 25, 2247-2253. doi:10.1016/j.cub.2015.07.014
- Amthor, F. R., Keyser, K. T. and Dmitrieva, N. A. (2002). Effects of the destruction of starburst-cholinergic amacrine cells by the toxin AF64A on rabbit retinal directional selectivity. Vis. Neurosci. 19, 495-509. doi:10.1017/S0952523802194119
- Arenz, A., Drews, M. S., Richter, F. G., Ammer, G. and Borst, A. (2017). The Temporal Tuning of the Drosophila Motion Detectors Is Determined by the Dynamics of Their Input Elements. Curr. Biol. 27, 929-944. doi:10.1016/j.cub.2017.01.051
- Barlow, H. B. and Levick, W. R. (1965). The mechanism of directionally selective units in rabbit's retina. J. Physiol. (Lond) 178, 477-504.
- Behnia, R., Clark, D. A., Carter, A. G., Clandinin, T. R. and Desplan, C. (2014). Processing properties of ON and OFF pathways for Drosophila motion detection. Nature 1-15. doi:10.1038/ nature13427
- Borst, A. (2014). In search of the Holy Grail of fly motion vision. Eur. J. Neurosci. 40, 3285-3293. doi:10.1111/ejn.12731
- Borst, A. and Egelhaaf, M. (1989). Principles of visual motion detection. Trends Neurosci. 12, 297-306.
- Borst, A. and Euler, T. (2011). Seeing things in motion: models, circuits, and mechanisms. Neuron 71, 974-994. doi:10.1016/j. neuron.2011.08.031
- Borst, A. and Helmstaedter, M. (2015). Common circuit design in fly and mammalian motion vision. Nat. Neurosci. 18, 1067-1076. doi:10.1038/nn.4050
- Briggman, K. L., Helmstaedter, M. and Denk, W. (2011). Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. Nature 471, 183-188. doi:10.1038/nature09818
- Buchner, E. (1976). Elementary movement detectors in an insect visual system. Biol. Cybern. 24, 85-101.
- Caldwell, J. H. and Daw, N. W. (1978). New properties of rabbit retinal ganglion cells. J. Physiol. (Lond) 276, 257-276.
- Chen, Y., Akin, O., Nern, A., Tsui, C. Y. K., Pecot, M. Y. and Zipursky, S. L. (2014). Cell-type-Specific Labeling of Synapses In Vivo through Synaptic Tagging with Recombination. Neuron 81, 280-293. doi:10.1016/j.neuron.2013.12.021
- Clark, D. A., Bursztyn, L., Horowitz, M. A., Schnitzer, M. J. and Clandinin, T. R. (2011). Defining the computational structure of the motion detector in Drosophila. Neuron 70, 1165-1177. doi:10.1016/j.neuron.2011.05.023
- Eckert, H. (1973). Optomotorische Untersuchungen am visuellen System der Stubenfliege Musca domestica L. Kybnertik 14,
- Egelhaaf, M. and Reichardt, W. (1987). Dynamic response properties of movement detectors: Theoretical analysis and electrophysiological investigation in the visual system of the fly. Biol. Cybern. 56, 69-87.

- Euler, T., Detwiler, P. B. and Denk, W. (2002). Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells. Nature 418, 845-852. doi:10.1038/nature00931
- Fischbach, K. and Dittrich, A. (1989). The optic lobe of Drosophila melanogaster. I. A Golgi analysis of wild-type structure. Cell Tissue Res. 258, 441-475.
- Fisher, Y. E., Leong, J. C., Sporar, K., Ketkar, M., Gohl, D., Clandinin, T. R. and Silies, M. (2015a). A visual neuron class with wide field properties is required for local motion detection. Curr. Biol. 1-6.
- Fisher, Y. E., Silies, M. and Clandinin, T. R. (2015b). Orientation Selectivity Sharpens Motion Detection in Drosophila. Neuron 1-16. doi:10.1016/j.neuron.2015.09.033
- Fleishman, L. J. and Pallus, A. C. (2010). Motion perception and visual signal design in Anolis lizards. Proc. Biol. Sci. 277, 3547-3554. doi:10.1098/rspb.2010.0742
- Fransen, J. W. and Borghuis, B. G. (2017). Temporally Diverse Excitation Generates Direction-Selective Responses in ONand OFF-Type Retinal Starburst Amacrine Cells. Cell Rep. 18, 1356-1365. doi:10.1016/j.celrep.2017.01.026
- Gohl, D. M., Silies, M. A., Gao, X. J., Bhalerao, S., Luongo, F. J., Lin, C.-C., Potter, C. J. and Clandinin, T. R. (2011). A versatile in vivo system for directed dissection of gene expression patterns. Nat. Methods 8, 231-237.
- Götz, K. G. (1964). Optomotorische Untersuchung des visuellen systems einiger Augenmutanten der Fruchtfliege Drosophila. Kybernetik 2, 77-92.
- Haag, J., Arenz, A., Serbe, E., Gabbiani, F. and Borst, A. (2016). Complementary mechanisms create direction selectivity in the fly. Elife 5. doi:10.7554/eLife.17421
- Hassenstein, B. und Reichardt, W. (1956). Systemtheoretische Analyse der Zeit-, Reihenfolgen- und Vorzeichenauswertung bei der Bewegungsperzeption des Rüsselkäfers Chlorophanus. Zeitschr. Naturf. 11, 513-524.
- Hausen, K. (1982). Motion sensitive interneurons in the optomotor system of the fly. Biol. Cybern. 46, 67-79.
- Heisenberg, M. and Buchner, E. (1977). The role of retinula cell types in visual behavior of Drosophila melanogaster. J. Comp. Physiol, 117, 127-162.
- Hengstenberg, R., Hausen, K. and Hengstenberg, B. (1982). The Number and Structure of Giant Vertical Cells (VS) in the Lobula Plate of the Blowfly Calliphora erythrocephala. J. Comp. Physiol. A 149, 163-177.
- Jenett, A., Rubin, G. M., Ngo, T.-T. B., Shepherd, D., Murphy, C., Dionne, H., Pfeiffer, B. D., Cavallaro, A., Hall, D., Jeter, J., Iyer, N., Fetter, D., Hausenfluck, J. H., Peng, H., Trautman, E. T., Svirskas, R. R., Myers, E. W., Iwinski, Z. R., Aso, Y., DePasquale, G. M., Enos, A., Hulamm, P., Lam, S. C. B., Li, H.-H., Laverty, T. R., Long, F., Qu, L., Murphy, S. D., Rokicki, K., Safford, T., Shaw, K., Simpson, J. H., Sowell, A., Tae, S., Yu, Y. and Zugates, C. T. (2012). A GAL4-driver line resource for Drosophila neurobiology. Cell Rep. 2, 991-1001. doi:10.1016/j. celrep.2012.09.011
- Joesch, M., Plett, J., Borst, A. and Reiff, D. F. (2008). Response properties of motion-sensitive visual interneurons in the lobula plate of Drosophila melanogaster. Curr. Biol. 18, 368-374. doi:10.1016/j.cub.2008.02.022
- Joesch, M. M., Schnell, B. B., Raghu, S. V. S., Reiff, D. F. D. and Borst, A. A. (2010). ON and OFF pathways in Drosophila motion vision. Nature 468, 300-304. doi:10.1038/nature09545

- Keleş, M. F. and Frye, M. A. (2017). Object-Detecting Neurons in Drosophila. Curr. Biol. 27, 680-687. doi:10.1016/j. cub.2017.01.012
- Kim, J. S., Greene, M. J., Zlateski, A., Lee, K., Richardson, M., Turaga, S. C., Purcaro, M., Balkam, M., Robinson, A., Behabadi, B. F., Campos, M., Denk, W., Seung, H. S. and EyeWirers, T. (2014). Space-time wiring specificity supports direction selectivity in the retina. Nature 1-17. doi:10.1038/nature13240
- Klapoetke, N. C., Murata, Y., Kim, S. S., Pulver, S. R., Birdsey-Benson, A., Cho, Y. K., Morimoto, T. K., Chuong, A. S., Carpenter, E. J., Tian, Z., Wang, J., Xie, Y., Yan, Z., Zhang, Y., Chow, B. Y., Surek, B., Melkonian, M., Jayaraman, V., Constantine-Paton, M., Wong, G. K.-S. and Boyden, E. S. (2014). Independent optical excitation of distinct neural populations. Nat. Methods 11, 338-346. doi:10.1038/nmeth.2836
- Leong, J. C. S., Esch, J. J., Poole, B., Ganguli, S. and Clandinin, T. R. (2016). Direction Selectivity in Drosophila Emerges from Preferred-Direction Enhancement and Null-Direction Suppression. J. Neurosci. 36, 8078-8092. doi:10.1523/ JNEUROSCI.1272-16.2016
- Luan, H., Peabody, N. C., Vinson, C. R. and White, B. H. (2006). Refined spatial manipulation of neuronal function by combinatorial restriction of transgene expression. Neuron 52, 425-436. doi:10.1016/j.neuron.2006.08.028
- Maisak, M. S., Haag, J., Ammer, G., Serbe, E., Meier, M., Leonhardt, A., Schilling, T., Bahl, A., Rubin, G. M., Nern, A., Dickson, B. J., Reiff, D. F., Hopp, E. and Borst, A. (2013). A directional tuning map of Drosophila elementary motion detectors. Nature 500, 212-216. doi:10.1038/nature12320
- Mattis, J., Tye, K. M., Ferenczi, E. A., Ramakrishnan, C., O'Shea, D. J., Prakash, R., Gunaydin, L. A., Hyun, M., Fenno, L. E., Gradinaru, V., Yizhar, O. and Deisseroth, K. (2011). Principles for applying optogenetic tools derived from direct comparative analysis of microbial opsins. Nat. Methods 9, 159-172. doi:10.1038/ nmeth.1808
- Mauss, A. S., Vlasits, A., Borst, A. and Feller, M. (2017). Visual Circuits for Direction Selectivity. Annu. Rev. Neurosci. 40, 211-230. doi:10.1146/annurev-neuro-072116-031335
- Meinertzhagen, I. A. and O'Neil, S. D. (1991). Synaptic organization of columnar elements in the lamina of the wild type in Drosophila melanogaster. J. Comp. Neurol. 305, 232-263. doi:10.1002/cne.903050206
- Miesenböck, G., De Angelis, D. A. and Rothman, J. E. (1998). Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive green fluorescent proteins. Nature 394, 192-195. doi:10.1038/28190
- Pankova, K. and Borst, A. (2016). RNA-Seq Transcriptome Analysis of Direction-Selective T4/T5 Neurons in Drosophila. PLoS ONE 11, e0163986. doi:10.1371/journal.pone.0163986
- Pfeiffer, B. D., Ngo, T.-T. B., Hibbard, K. L., Murphy, C., Jenett, A., Truman, J. W. and Rubin, G. M. (2010). Refinement of tools for targeted gene expression in Drosophila. Genetics 186, 735-755. doi:10.1534/genetics. 110.119917
- Reichardt, W. (1987). Evaluation of optical motion information by movement detectors. J. Comp. Physiol. A 161, 533-547.
- Rister, J., Pauls, D., Schnell, B., Ting, C.-Y., Lee, C.-H., Sinakevitch, I., Morante, J., Strausfeld, N. J., Ito, K. and Heisenberg, M. (2007). Dissection of the peripheral motion channel in the visual system of Drosophila melanogaster. Neuron 56, 155-170. doi:10.1016/j.neuron.2007.09.014

- Rivera-Alba, M., Vitaladevuni, S. N., Mishchenko, Y., Mischenko, Y., Lu, Z., Takemura, S.-Y., Scheffer, L., Meinertzhagen, I. A., Chklovskii, D. B. and de Polavieja, G. G. (2011). Wiring economy and volume exclusion determine neuronal placement in the Drosophila brain. Curr. Biol. 21, 2000-2005. doi:10.1016/j. cub.2011.10.022
- Salazar-Gatzimas, E., Chen, J., Creamer, M. S., Mano, O., Mandel, H. B., Matulis, C. A., Pottackal, J. and Clark, D. A. (2016). Direct Measurement of Correlation Responses in Drosophila Elementary Motion Detectors Reveals Fast Timescale Tuning. Neuron 92, 227-239. doi:10.1016/j.neuron.2016.09.017
- 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. doi:10.1152/jn.00950.2009
- Serbe, E., Meier, M., Leonhardt, A. and Borst, A. (2016). Comprehensive Characterization of the Major Presynaptic Elements to the Drosophila OFF Motion Detector. Neuron 89, 829-841. doi:10.1016/j.neuron.2016.01.006
- Silies, M., Gohl, D. M. and Clandinin, T. R. (2014). Motion-Detecting Circuits in Flies: Coming into View. Annu. Rev. Neurosci. 37, 307-327. doi:10.1146/annurev-neuro-071013-013931
- Silies, M., Gohl, D. M., Fisher, Y. E., Freifeld, L., Clark, D. A. and Clandinin, T. R. (2013). Modular use of peripheral input channels tunes motion-detecting circuitry. Neuron 79, 111-127. doi:10.1016/j.neuron.2013.04.029
- Simpson, J. H. (2009). Mapping and Manipulating Neural Circuit in the Fly Brain, 1st ed, Genetic Dissection of Neural Circuits and Behavior, Genetid Dissection of Neural Circuits. Elsevier Inc. doi:10.1016/S0065-2660(09)65005-7
- Strother, J. A., Wu, S.-T., Wong, A. M., Nern, A., Rogers, E. M., Le, J. Q., Rubin, G. M. and Reiser, M. B. (2017). The Emergence of Directional Selectivity in the Visual Motion Pathway of Drosophila. Neuron 94, 168-182.e10. doi:10.1016/j. neuron.2017.03.010
- Takemura, S., Bharioke, A., Lu, Z., Nern, A., Vitaladevuni, S., Rivlin, P.K., Katz, W.T., Olbris, D.J., Plaza, S.M., Winston, P., et al. (2013). A visual motion detection circuit suggested by Drosophila connectomics. Nature 500, 175-181.
- Takemura, S.-Y., Lu, Z. and Meinertzhagen, I. A. (2008). Synaptic circuits of the Drosophila optic lobe: the input terminals to the medulla. J. Comp. Neurol. 509, 493-513. doi:10.1002/ cne.21757
- Takemura, S.-Y., Nern, A., Chklovskii, D. B., Scheffer, L. K., Rubin, G. M. and Meinertzhagen, I. A. (2017). The comprehensive connectome of a neural substrate for "ON" motion detection in Drosophila. Elife 6, 1-16. doi:10.7554/eLife.24394.001
- Tan, L., Zhang, K. X., Pecot, M. Y., Nagarkar-Jaiswal, S., Lee, P.-T., Takemura, S.-Y., McEwen, J. M., Nern, A., Xu, S., Tadros, W., Chen, Z., Zinn, K., Bellen, H. J., Morey, M. and Zipursky, S. L. (2015). Ig Superfamily Ligand and Receptor Pairs Expressed in Synaptic Partners in Drosophila. Cell 163, 1756-1769. doi:10.1016/j.cell.2015.11.021
- van Santen, J. P. and Sperling, G. (1985). Elaborated Reichardt detectors. J. Opt. Soc. Am. A 2, 300-321.
- Wu, M., Nern, A., Williamson, W. R., Morimoto, M. M., Reiser, M. B., Card, G. M. and Rubin, G. M. (2016). Visual projection neurons

- in the Drosophila lobula link feature detection to distinct behavioral programs. Elife 5. doi:10.7554/eLife.21022
- Wyatt, H. J. and Day, N. W. (1976). Specific effects of neurotransmitter antagonists on ganglion cells in rabbit retina. Science 191, 204-205.
- Yang, H. H., St-Pierre, F., Sun, X., Ding, X., Lin, M. Z. and Clandinin, T. R. (2016). Subcellular Imaging of Voltage and Calcium Signals Reveals Neural Processing In Vivo. Cell 166, 245-257. doi:10.1016/j.cell.2016.05.031
- Yoshida, K., Watanabe, D., Ishikane, H., Tachibana, M., Pastan, I. and Nakanishi, S. (2001). A key role of starburst amacrine cells in originating retinal directional selectivity and optokinetic eye movement. Neuron 30, 771-780.

Anmerkung: Englische Version des Artikels online verfügbar unter https://doi.org/10.1515/nf-2017-A028

Autoreninformationen



Dr. Marion Silies

European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Deutschland

Tel.: +49 551 3961331 E-Mail: m.silies@eni-g.de Web: www.silieslab.com

Marion Silies ist Gruppenleiterin der Arbeitsgruppe "Visual Processing" am European Neuroscience Institute in Göttingen (ENI-G), einer gemeinsamen Initiative der Universitätsmedizin Göttingen und der Max Planck Gesellschaft. Bevor sie 2015 an das ENI-G kam, war sie Postdoktorandin im Labor von Thomas Clandinin an der Stanford University (USA). Sie promovierte 2009 an der Universität Münster im Labor von Christian Klämbt.



Giordano Ramos-Traslosheros

European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Deutschland; International Max Planck Research School Neuroscience, University of Göttingen, Göttingen, Deutschland E-Mail: l.ramos@eni-g.de

(Luis) Giordano Ramos-Traslosheros promoviert in der Arbeitsgruppe "Visual Processing" am European Neuroscience Institute in Göttingen. Er ist Mitglied der International Max Planck Research School (IMPRS) for Neurosciences in Göttingen. Luis schrieb seine MSc Arbeit (2015) im Labor von Tim Gollisch an der Universitätsmedizin Göttingen. Zuvor studierte er Physik an der Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL, Mexico) und an der Universität Göttingen (Deutschland).



Miriam Henning European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Deutschland E-Mail: m.henning@eni-g.de

Miriam Henning promoviert in der Arbeitsgruppe "Visual Processing" am European Neuroscience Institute in Göttingen. Sie ist Mitglied der Göttinger Graduiertenschule für Neurowissenschaften, Biophysik und molekulare Biowissenschaften (GGNB), und dort im Programm "Sensory and Motor Neuroscience" (SMN). Miriam erhielt 2013 Ihren Bachelor in Biologie und 2016 Ihren Master in "Neurobiology, Behaviour and Evolution" 2016 von der Universität Bielefeld, wo Sie Ihre Masterarbeit im Labor von Martin Egelhaaf schrieb.

Giordano Ramos-Traslosheros, Miriam Henning and Marion Silies*

Motion detection: cells, circuits and algorithms

https://doi.org/10.1515/nf-2017-A028

Abstract: Many animals use visual motion cues to inform different behaviors. The basis for motion detection is the comparison of light signals over space and time. How a nervous system performs such spatiotemporal correlations has long been considered a paradigmatic neural computation. Here, we will first describe classical models of motion detection and introduce core motion detecting circuits in Drosophila. Direct measurements of the response properties of the first direction-selective cells in the Drosophila visual system have revealed new insights about the implementation of motion detection algorithms. Recent data suggest a combination of two mechanisms, a nonlinear enhancement of signals moving into the preferred direction, as well as a suppression of signals moving into the opposite direction. These findings as well as a functional analysis of the circuit components have shown that the microcircuits that process elementary motion are more complex than anticipated. Building on this, we have the opportunity to understand detailed properties of elementary, yet intricate microcircuits.

Keywords: Drosophila; motion detection; neurogenetics; neuronal circuits; visual system

Introduction

The environment we live in is ever changing, things are in constant motion. Visual motion originates from moving objects, but also when an entire visual scene moves past our eyes during self-motion. The perception of visual motion is an important sensory function for many animals. Motion could indicate an approaching threat or predator,

*Corresponding author: Marion Silies, European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Germany, Mail: m.silies@eni-g. de, Web: www.silieslab.com

Giordano Ramos-Traslosheros, European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Germany; International Max Planck Research School Neuroscience, University of Göttingen, Göttingen, Germany, Mail: l.ramos@eni-g.de

Miriam Henning, European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Germany, Mail: m.henning@eni-g.de a wandering pray, or a potential mating partner. In a still surrounding, the motion that emerges as a consequence of self-motion allows animals to safely navigate the environment. These examples also illustrate how motion can be local, when an insect flies past the eye; or global, when the full visual space is moving during navigation. Global and local motion are related in the sense that global motion can be decomposed into the motion of the local features of the visual scene. Thus, visual systems detect local motion in order to perceive both local and global motion. The smallest perceivable motion would be between two points in space at the limit of the resolution of a visual system. The unit that detects these smallest movements is called an elementary motion detector (EMD). At this scale, the visual system has to extract luminance changes over both space and time to produce a direction-selective (DS) signal, which is a hallmark of elementary motion detection. Consequently, each EMD has a direction of motion that it is most sensitive to, its so-called preferred direction (PD).

How are visual systems able to detect movement at such a fine scale? Somewhere in the nervous system, an EMD must be implemented in a way that the output neurons are direction-selective and therefore able to detect local motion. Identifying the biological substrate of the EMDs and the algorithm behind computing the direction of motion has therefore been considered an interesting topic that can shed light onto an important function of nervous systems. Since motion vision is behaviorally salient for many visual animals, it has been studied in species as diverse as monkeys, cats, mice, but also in various fly species including the fruit fly *Drosophila*, which we will mostly focus on in this review.

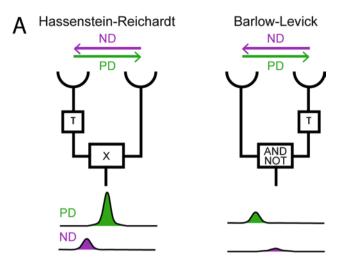
Classical descriptions of motion detection algorithms

How biological systems extract motion signals has received extensive attention since the 1950s (reviewed in Borst and Euler, 2011). The first popular algorithmic model that could explain direction-selective responses emerged from analyzing behavioral responses to moving stimuli, the so-called optomotor behavior of the *Chlorophanus* beetle (Hassenstein and Reichardt, 1956). This model laid the foundation for subsequent studies of motion detection

in other species that refined properties of the model and came to be known as the Hassenstein-Reichardt Correlator (HRC). This model proposes the comparison of two signals coming from two locally restricted points in visual space, accounting for the offset in space inherent to motion signals. And, to account for the offset in time, one signal is temporally delayed with respect to the other. Then, the two (delayed and non-delayed) signals are combined, or correlated, in a nonlinear fashion at the output stage of the model (Figure 1A).

For an EMD selective for left-to-right motion, the signal arising from the left point in space will be processed with a delay relative to the signal at the right point (Figure 1A). The delay ensures that, for an object moving in the preferred direction (PD, left-to-right), both signals will temporally overlap at the output stage of the EMD. There, a nonlinear amplification of the overlapping signals generates a strong motion signal. Conversely, when the movement is in the non-preferred or null direction (ND, right-to-left), the delay will cause the signals to arrive at different times to the correlation stage so there is no signal integration, i.e., no motion signaling (Figure 1A). In other words, the HRC model predicts how a direction-selective signal can be generated from two input signals (reviewed in Borst and Euler, 2011; Silies et al., 2014).

The HRC relies on a nonlinear amplification of input signals, using feedforward excitation. Another model explaining direction-selectivity that emerged in the 1960s instead relied on signal suppression, implying inhibitory neuronal processes, in total contrast to the HRC. The Barlow-Levick model (BLM) was developed to explain the responses of direction-selective neurons in the vertebrate retina (Barlow and Levick, 1965). Like the HRC, the BLM also relies on a comparison of signals from two points in space temporally delayed with respect to each other, and nonlinearly combined. However, here they are combined via an AND-NOT operation at the output stage, such that there is only an output signal when there is no signal coming from the delayed input, which would cancel the previous signal (Figure 1A). Taking our previous example of an EMD with a left-to-right motion preference, the corresponding BLM will respond to motion as follows: for movement in the null direction, a signal will emerge first from the delayed component and then temporally overlap with the second signal at the output stage. There, the AND-NOT logical operation will result in a cancellation of the second signal, indicating nulling inhibition. In the EMD's preferred direction, the non-delayed signal will arrive first at the output stage, thus escaping the nulling inhibition from the slow signal, which will arrive later. The outcome of this operation is again a direction-selective signal.



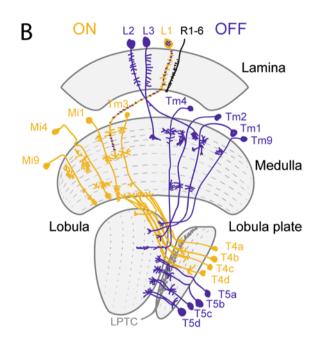


Fig. 1: A. Two models of motion detection. On the left, the Hassenstein Reichardt Correlator (HRC) correlated inputs from two adjacent points in space after one signal has been temporally delayed (τ). The outcome is a direction selective signal, in which signals moving in the preferred direction (PD) are nonlinearly amplified. On the right, the Barlow Levick Model (BLM) compares two signals in space through a logical AND NOT operation, after delaying one signal. The outcome is a direction selective signal, in which signals moving in the null direction (ND) are suppressed. B. Schematic of the fly visual system and core motion detecting circuits. Shown are neurons of the ON (yellow) and OFF (blue) pathways for which either behavioral roles have been shown, or a functional requirement for direction-selective responses in T4/T5 neurons. For details, see text.

In insects, the HRC originally gained widespread acceptance by successful predictions of behavioral and neural responses. One example is that the HRC response to a

moving grating is not tuned to the speed of the pattern but to the temporal frequency, which is the rate of contrast change at a particular location. In different fly species, responses were shown to be similar for gratings of different spacing as long as the temporal frequency was maintained (Buchner, 1976; Eckert, 1973; Götz, 1964; Reichardt, 1987). The HRC thus has an optimal speed that depends on the spatial wavelength in a linear way. This hypothesis was further supported by electrophysiological recordings in the lobula plate tangential cells (LPTCs), wide field neurons that integrate inputs from many individual EMDs along their dendritic arbors, in blow flies (Egelhaaf and Reichardt, 1987; Hausen, 1982; Hengstenberg et al., 1982) and the fruit fly (Joesch et al., 2008; Schnell et al., 2010).

The above described features of motion detection (among others) were experimentally confirmed in diverse species including flies, cats, and humans, which led to a wide popularity of the HRC to explain motion responses (Borst and Egelhaaf, 1989). In humans, another model the motion energy model - is generally favored (Adelson and Bergen, 1985), but this models can be made algorithmically equivalent to the HRC to describe motion perception (van Santen and Sperling, 1985). Extensions of the HRC model to account for visual behaviors of Anolis lizards is another recent application in vet another species (Fleishman and Pallus, 2010).

In contrast, the model that has long been favored to describe motion responses in the vertebrate retina was the BLM. Barlow and Levick (1965) originally attributed direction-selective responses of retinal ganglion cells to null direction inhibition. This was strongly supported by the loss of direction-selective responses in retinal ganglion cells upon pharmacological block of GABAergic, inhibitory signaling (Caldwell and Daw, 1978; Wyatt and Day, 1976). Further experiments localized the source of GABAergic inhibition to starburst amacrine cells (Amthor et al., 2002; Yoshida et al., 2001).

A vast amount of literature led to the dominance of the HRC to explain motion detection in insects, and the BLM to explain motion responses in the vertebrate retina. Interestingly, recent work showed that a combination of the two algorithms is in fact used in both systems to establish direction-selectivity (Fisher et al., 2015b; Haag et al., 2016; Leong et al., 2016). In the following, we are first going to describe the identification of motion detection circuits in the fruit fly Drosophila. With the knowledge of these circuit elements, we will discuss an experimental handle to directly test the implementation of distinct algorithms at the output stage of the EMD. Finally, the results of such experiments, and their implications for the mechanistic implementation of the EMD will be highlighted in the last chapter of this review.

Mapping motion detecting circuits

Although algorithmic models of motion detection have existed for decades, the circuit implementation of motion computation remained elusive. This changed dramatically with the development of genetic tools to study circuit function in *Drosophila*. These could be applied well in a context where the anatomy of many neurons of the visual system was described with exquisite detail (Fischbach and Dittrich, 1989), and down to individual synapses (Meinertzhagen and O'Neil, 1991; Takemura et al., 2008; 2017).

The visual system of Drosophila melanogaster. The visual system of the fly is organized into the retina and three optic ganglia: the lamina, medulla and lobula complex, the latter being divided into lobula and lobula plate (Figure 1B). The retina is organized in an array of 800 parallel units, the ommatidia. Each ommatidium houses eight photoreceptors out of which the six outer photoreceptors (R1-R6) express the broadband-spectrum rhodopsin Rh1 that is required for motion detection (Heisenberg and Buchner, 1977). All R1-R6 cells that see the same point in space project onto the same targets in the lamina, most notably the L1-L3 neurons. Neighboring points in visual space are encoded by neighboring columns in the lamina, thus creating a retinotopic image of the visual input. This parallel columnar arrangement is maintained in the next ganglion, the medulla, were more than 60 different cell types pass on information to the lobula and the lobula plate.

Genetic strategies to map visual circuits. Major advances in visual circuit analysis came with the possibility to mark or manipulate neurons in the fly brain with great specificity. This included the development of genetic tools to manipulate or measure the activity of neurons on the one hand, and the ability to express these tools very specifically in the brain on the other hand. In *Drosophila*, so-called driver lines exist that control expression in different subsets of neurons. Over the last years, several thousands of these driver lines were developed that can be used to express different genetic tools in any pattern of interest (Gohl et al., 2011; Jenett et al., 2012). The optimal level of specificity would be expression in a single cell type or even in an individual neuron, but expression patterns of individual genes, enhancers, or promotors are often broader than that. Therefore, intersectional strategies were developed that refine expression patterns to the above-mentioned level of specificity (Gohl et al., 2011; Luan et al., 2006; Pfeiffer et al., 2010). It is now in principle possible to obtain specific genetic access to every single neuron or cell type in the fly brain, including the ~100 cell types of the fly visual system.

The genetic tools that can be expressed with this level of specificity include reporter and effector genes. Reporter genes, such as green fluorescent protein (GFP), are for example commonly used to label all cells within a driver line to describe its expression pattern, or in an individual cell to describe the arborization pattern of a neuron's dendritic tree. Other reporter genes are fluorescent molecules that change their fluorescence with the state of neuronal activity. Such molecules include genetically encoded calcium indicators (e.g. GCaMP6, Chen et al., 2014), synaptopHluorins (Miesenböck et al., 1998), or genetically encoded voltage sensors (e.g. ASAP2, Yang et al., 2016), and allow different measures of neuronal activity, including intracellular calcium signals, vesicle release, or membrane voltage, respectively. In addition to labeling neurons with reporter genes, one can manipulate their activity using effector genes. These are genes that can inactivate or ectopically activate neurons. Among the most popular ones are genetic tools to block neuronal activity by hyperpolarizing a neuron, or by preventing vesicle recycling (Simpson, 2009), or tools to ectopically activate neurons using optogenetics, including Channelrhodopsin or Chrimson (Klapoetke et al., 2014; Mattis et al., 2011). In analogy to molecular genetic studies, this allows performing loss and gain of function experiments at the neuronal or circuit level, and ask which neurons are necessary or sufficient for a specific task.

Elementary motion detecting circuits. With increasingly specific genetic tools at hand, core motion detecting circuits could be identified. In particular, experiments in which behavioral responses to motion cues were measured while the outputs of individual cell types were genetically blocked, led to the identification of neurons that are required for motion detection. It was thus shown that there are two distinct pathways for motion detection, the ON and the OFF pathways, that guide responses to moving dark (OFF) or bright (ON) edges, respectively. These pathways split downstream of R1-R6 photoreceptors, where the first order lamina interneuron L1 is the major input to the ON pathway, whereas its L2 and L3 counterparts provide inputs to the OFF pathway (Clark et al., 2011; Joesch et al., 2010; Silies et al., 2013) (Figure 1B). Blocking the syn-

aptic outputs of either L1 and L2, or L1 and L3 abolished all behavioral responses to motion cues in flies, arguing that these neurons are all required for motion detection (Clark et al., 2011; Rister et al., 2007; Silies et al., 2013). Two synapses further down in the lobula complex, the first direction-selective neurons can be found: T4 neurons respond to moving ON signals, and T5 neurons respond to moving OFF signals (Figure 1B). Both T4 and T5 neurons come in four different subtypes, of which each prefers motion in one of the four cardinal directions: upward, downward, front-to-back and back-to-front (Maisak et al., 2013). Again, genetically blocking the outputs of T4 and T5 neurons abolished behavioral responses to visual motion stimuli, placing these neurons at the output stage of the EMDs of both ON and OFF pathways (Maisak et al., 2013; Strother et al., 2017). Such data argued that a more or less simple one-to-one relationship existed between a visual system cell type and its computational role. If for example L1 neurons provide input to an ON edge detector, and T4 neurons are the direction-selective output neurons of such a detector, all that is in principle needed are two types of interneurons with different temporal filtering properties that connect inputs from two neighboring L1 neurons to the dendrites of the direction-selective T4 cells. This configuration could implement the computation as outlined above in the description of EMD models. Such interneuron candidates were suggested based on reconstructions of electron microscopic data, by identifying the neurons that most strongly connect L1 to T4 neurons as judged by synapse counts (Takemura et al., 2017) (Figure 1B). The two neurons that most strongly connect the L1 inputs to direction-selective T4 outputs were for example the neurons Mi1 and Tm3. Electrophysiological recordings identified differences in their temporal filtering properties, especially in the time to peak of the linear filter, which is shorter in Tm3 (Behnia et al., 2014).

Distributed coding in visual circuits. Both in the ON and the OFF pathways, medulla interneurons that connect lamina inputs to direction-selective T4 and T5 outputs have been described (Figure 1B). While core motion detecting circuits have thus been proposed (Ammer et al., 2015; Behnia et al., 2014; Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016; Strother et al., 2017), behavioral phenotypes associated with the loss of, e.g., ON pathway interneuron function were surprisingly subtle (Ammer et al., 2015; Strother et al., 2017). Whereas genetic silencing of neural activity in T4 neurons lead to a loss of optomotor responses to ON edge motion, silencing either of the candidate medulla neurons of the ON pathway only reduced behavioral responses (e.g. for both Mi1 and Tm3). Still, blocking the outputs of these neurons biased the behavioral responses to OFF edges and thus isolated a deficit in ON edge detection, when competing ON and OFF edges were used to probe behavioral function. Isolated behavioral deficits for specific temporal frequencies were found in other ON pathway interneuron candidates. The same story holds for the OFF pathway interneuron counterparts (Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016). For example, blocking activity in OFF pathway interneuron Tm9 provides a strong preference for ON edges, when the two edge types are competing. At the same time, flies are able to respond to individual OFF edge motion (Fisher et al., 2015a). Phenotypes for other OFF pathway interneurons are even subtler, but can be enhanced by combinatorial silencing of more than one cell type (Serbe et al., 2016).

Together, these data suggest that, at least at this level of peripheral visual processing, a single cell type is not solely required for a specific task. Otherwise, taking out such a cell type would break the system. Instead, coding seems to be more distributed. There are different scenarios that could account for this lack of a phenotype. One possibility is that there are redundant circuit elements, and silencing one cell type alone can be covered up by the presence of other neurons. This would make the behaviorally very relevant motion computation robust to perturbations. Alternatively, we may have not identified all essential neurons so far. In addition to the interneurons that connect lamina neuron inputs (e.g. L1) to direction-selective outputs (e.g. T4) with the most number of synapses, many other neurons also receive inputs from the lamina inputs, or provide output synapses on the T4 or T5 dendrites. Moreover, the function of most of the more than 60 medulla neuron cell types is unknown. While synapse number is considered a strong indicator of functional relevance, there are examples that argue against this: the lamina input L3 receives much fewer synapses from photoreceptors than the L1 and L2 neurons (Rivera-Alba et al. 2011). One synapse further down, L3 synapses onto Tm9, with almost an order of magnitude fewer synapses than have been counted between L1 or L2 and its major downstream neurons (Takemura et al. 2013). Still, silencing Tm9 shows the most striking behavioral phenotype of all OFF pathway neurons tested (Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016). Finally, interneurons with different temporal filtering properties have been identified in the ON and OFF pathways (Arenz et al., 2017; Behnia et al., 2014; Fisher et al., 2015a; Serbe et al., 2016; Strother et al., 2017; Yang et al., 2016) and might be important for motion vision at different speeds. Likely, a combination of these possibilities will be true.

In summary, core motion detection circuits have been proposed. While the identified cells and their physiological properties are sufficient to predict direction-selective responses in downstream neurons, the definite computational or behavioral roles that they actually implement are still subject to future studies.

Novel insights into motion detection algorithms

At the beginning of this review we described how work in insects led to a preference of the HRC model to describe motion detection, and identifying the underlying neurons was considered the "holy grail" of motion detection (Borst, 2014). In contrast, the BLM was long considered the predominant model to describe motion responses in the vertebrate retina. The identification of neurons of motion detecting circuits in general, and in particular of the T4 and T5 neurons as the first cells that exhibit direction-selectivity, has opened up the opportunity to study the mechanisms of motion detection directly at the output stages of the EMD. Recent work on the T4 and T5 cells has revealed surprising new insights on how motion information might actually be encoded in the fly visual system.

The axon terminals of both T4 and T5 arborize in the lobula plate and provide retinotopic input to the LPTCs. In the lobula plate, the axon terminals are organized in a layered fashion, in which T4 and T5 cells of a given directional preference (e.g. front-to-back motion) project into one layer (Figure 1B). The directional preferences of the four layers together cover the four cardinal directions of motion, making it easy to record from direction-selective cells of one subtype, using in vivo two photon calcium imaging (Maisak et al., 2013). At the level of the dendrites, measuring DS responses is not as straightforward. All four T4 subtypes project into the most proximal layer of the medulla, and all T5 subtypes project into the first layer of the lobula (Figure 1B). Nevertheless, elegant genetic experiments allowed to record from individual dendrites, and showed that direction-selectivity already emerges in the dendrites, arguing that this is where core computations are happening (Fisher et al., 2015b). T4 and T5 neurons were also found to be orientation tuned to static objects (Fisher et al., 2015b; Maisak et al., 2013) with an axis that is perpendicular to their preferred motion axis (Fisher et al., 2015b). So what are the algorithms implemented at the dendrites of T4 and T5?

Interestingly, a pharmacological block of GABAergic signaling in the fly visual system caused a loss of direction

as well as orientation selective signals in T4 and T5 cells (Fisher et al., 2015b). This is strikingly similar to results from the vertebrate retina and showed that GABAergic inhibition is crucial for DS responses in T4 and T5 cells of the fly as well.

Subsequent experiments directly mapped the spatiotemporal receptive fields of T4 and T5 cells using spatiotemporal ternary noise stimuli (Leong et al., 2016; Salazar-Gatzimas et al., 2016). These stimuli contained bars of randomly changing contrast that were just wide enough to cover the extent of the receptive field of an input neuron. Thus, they covered one point in space at the fly eye's resolution. The neuron's temporal response to each point in space was obtained using reverse correlation of a cell's change in calcium signal with the change of the contrast of each bar. These receptive fields of T4 and T5 contained an inhibitory and an excitatory subfield, which were tilted along a space-time axis (Figure 2A). The linear receptive field obtained by reverse correlation was qualitatively similar to the receptive field of a full model adding nonlinearities describing neuronal or calcium indicator properties (Leong et al., 2016). The tilt in space and time is consistent with an enhancement of signals moving into the preferred direction of the neuron, as predicted by the HRC. Interestingly, the spatiotemporal offset between the excitatory and inhibitory subfields predicts a suppression of motion in the null-direction by mutually canceling interactions (Figure 2A). Thus, these data suggest a combination of excitatory mechanisms as proposed by the HRC, and inhibitory mechanisms as proposed by the BLM (Leong et al., 2016).

The hypothesis that both HRC and BLM type models together account for motion responses in flies can be directly tested using so-called apparent motion stimuli. These stimuli utilize the fact that the perception of movement can be achieved by showing a temporal sequence of static images that are offset in space (as done in any television) (Figure 2B). If they are presented in fast succession, they are perceived as continuous motion due to the spatiotemporal limitations of visual processing. According to this logic, motion for the fly was mimicked by sequentially activating neighboring points in the visual field (Figure 2B) while recording T4 and T5 responses. To produce a motion response in such an apparent motion stimulus, two stimulation points should ideally hit two neighboring points in visual space in sequence, and with a time delay that matches the temporal delay of the EMD. If the time delay is too long, no motion response will be elicited upon stimulation of two adjacent points. Instead, one can use these isolated responses to build a linear (summed) prediction

of the single stimulations to the apparent motion response (Figure 2C). If the two inputs were combined linearly for a fast sequence of stimulation, the predicted sum should fit the actual motion response of the neuron. Conveniently, the HRC or BLM type models make very different predictions about the outcome of the response to these apparent motion stimuli, due to the differences in their output nonlinearities. If an HRC was implemented, one would expect a nonlinear amplification of signals moving into the PD, whereas a BLM would predict a nonlinear suppression of signals moving into the neuron's ND (Figure 2C).

Two separate studies used these apparent motion stimuli to analyze T4 and T5 properties. First of all, (Fisher et al., 2015b) showed apparent motion stimuli mimicking a moving edge by first activating one point in space by displaying a stripe, followed by activation of the same point as well as a neighboring point in space. When calcium signals were measured in T4 and T5 neurons, a significant nonlinear amplification of responses to this apparent motion into the neuron's PD was found, suggesting an HRC like mechanism (Fisher et al., 2015b). The same study had demonstrated that GABAergic mechanisms are important for direction-selective T4 and T5 responses, prompting to look for null direction suppression as suggested by the BLM. However, only weak signs of null direction suppression could be found, that often did not differ from an adaptation control (Fisher et al., 2015b). Subsequently, an apparent moving spot stimulus, that sequentially activated single points adjacent in space, could confirm the results obtained by (Fisher et al., 2015b), and also identified signs of null direction suppression in DS neurons (Haag et al., 2016). A precise stimulation technique might be important to activate the inhibitory subunit of the receptive field and thus the component leading to null direction suppression. This inhibitory subfield would then correspond to the side of the cell's receptive field that the motion stimulus reaches first, if traveling in the null direction of the cell. The results obtained using apparent motion stimuli are thus consistent with the direct measurement of T4 and T5 properties described above. The spatial extent of the receptive fields furthermore suggested that the DS cells get inputs from more than two columns, which was confirmed by visual stimulation of more than two adjacent points in visual space (Haag et al., 2016; Leong et al., 2016; Salazar-Gatzimas et al., 2016). Together, a picture emerges in which a combination of preferred direction amplification as suggested by the HRC, and null direction suppression as proposed by the BLM is used to establish direction-selective responses in early visual processing of the fly.

As previously introduced, the BLM model was strongly favored to describe direction-selectivity in ganglion

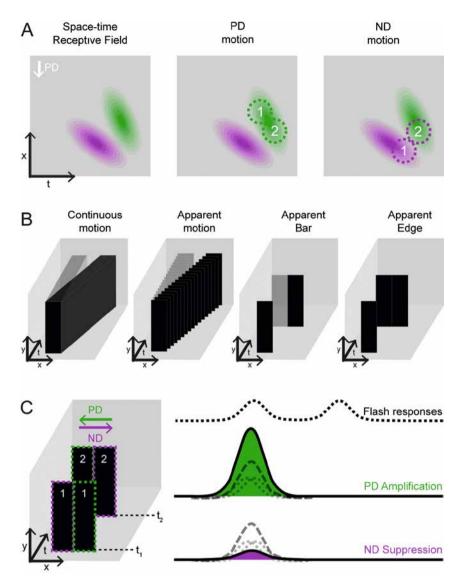


Fig. 2: A. Schematic drawing of a spatiotemporal receptive field of a direction-selective T4 or T5 neuron (after Leong et al. 2016). The receptive field contains excitatory (green) and inhibitory (purple) subfields, which are each tilted along the space-time axis. The preferred direction (PD) of this neuron is indicated. The middle panel shows the same receptive field, illustrating how motion in the preferred direction would sequentially activate the excitatory subfield. The right panels shows how motion in the null direction (ND) would sequentially hit the inhibitory and excitatory subfield, leading to suppression of signals moving in this direction. B. X-y-t plots illustrating how continuous motion can be decomposed into apparent motion stimuli. While the black boxes present motion to the right, the grey boxes illustrate a static object. The two rightmost panels illustrate apparent moving bar or edge stimuli that sequentially activate two neighboring points in space. C. An apparent moving bar stimulus can be moved in the PD (green) or ND (purple) of a cell. If the two time points are well separated in time, two individual flash responses are recorded (top trace). For short delays, these individual flash responses (dotted lines) can be shifted in time and summed to build a linear prediction (dashed line). If the response to a motion cue moving into the PD is nonlinearly amplified as shown in the middle panel (green, middle trace), this argues for a HRC type model. If the response to a motion cue moving into the ND in suppressed compared to the linear prediction (purple, bottom trace), this argues for the implementation of a BLM.

cells of the vertebrate retina. Presynaptic to these cells are the starburst amacrine cells, which are not only required for DS responses in ganglion cells, but whose dendrites are themselves direction-selective (Briggman et al., 2011; Euler et al., 2002). Interestingly, recent work on direction-selectivity in the dendrites of starburst amacrine cells also suggested that an HRC like mechanism is implemented at the bipolar cell to starburst amacrine cell synapse (Fransen and Borghuis, 2017; Kim et al., 2014). This shows how the computational mechanisms used in vertebrates and insects are much more similar than previously thought (see also Borst and Helmstaedter, 2015; Mauss et al., 2017).

Summary and Outlook

The circuits and mechanisms that extract visual motion cues have gotten a lot of attention, because the topic serves as a model to understand how basic computations are implemented in neuronal networks. Notably, the past years have not only seen fast progress in the identification of core motion detecting circuits in Drosophila, but have also revisited the algorithmic implementation of motion computation in the fly, and other systems. While the HRC has been a useful theoretical description of many properties of motion detection in insects, recent work showed that the fly visual system uses a combination of two mechanisms: feedforward amplification of preferred direction signals as proposed by the HRC, and null direction inhibition as suggested by the BLM.

To what degree which mechanism is implemented, and if certain algorithms are favored by specific stimulus conditions, is still an open question. One could imagine the existence of distinct circuits that implement either preferred direction amplification or null direction inhibition at different speed regimes. While so far isolated experiments have found evidence for both mechanisms, future studies will have to tell if both models serve together across a wide space of parameters. Especially, direct measurement of synaptic inhibition onto DS cells could probe under which stimulus conditions inhibitory mechanisms play a role.

The identification of neurons upstream of direction-selective cells now leaves the question open, which computational role is fulfilled by each of these cell types. This question can be tackled with the available genetic tools, not only by probing their physiological specialization, but also by defining their requirement for downstream circuit properties. Furthermore, the visual system contains ~100 cell types, many of which have not been studied. While most of the work in the fly visual system was done on motion detection, many other visual properties such as the size of objects could provide salient cues for the animal (Keleş and Frye, 2017; Wu et al., 2016). The circuits extracting these cues could be independent from motion-detection circuits, or share elements with them.

Finally, the molecular and cellular mechanisms implementing either aspect of the computations discussed throughout this review are still elusive. Given recent advances in identifying cell type specific expression profiles (Pankova and Borst, 2016; Tan et al., 2015), it will be interesting to see how many of the individual features of EMD properties are implemented at the biophysical level.

Acknowledgement: Work in the Silies lab is supported by grants of the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) through an Emmy Noether grant and the Collaborative Research Center 889 "Cellular Mechanisms of Sensory Processing" (project CO8), as well by the European Research Council through ERC Starting Grant "MicroCyFly".

References

- Adelson, E. H., Bergen, J. R. (1985). Spatiotemporal energy models for the perception of motion. Journal of the Optical Society of America A: Optics 2, 284-299. doi:10.1364/JOSAA.2.000284
- Ammer, G., Leonhardt, A., Bahl, A., Dickson, B. J., Borst, A. (2015). Functional Specialization of Neural Input Elements to the Drosophila ON Motion Detector. Curr Biol 25, 2247-2253. doi:10.1016/j.cub.2015.07.014
- Amthor, F. R., Keyser, K. T., Dmitrieva, N. A. (2002). Effects of the destruction of starburst-cholinergic amacrine cells by the toxin AF64A on rabbit retinal directional selectivity. Visual Neuroscience 19, 495-509. doi:10.1017/S0952523802194119
- Arenz, A., Drews, M. S., Richter, F. G., Ammer, G., Borst, A. (2017). The Temporal Tuning of the Drosophila Motion Detectors Is Determined by the Dynamics of Their Input Elements. Curr Biol 27, 929-944. doi:10.1016/j.cub.2017.01.051
- Barlow, H. B., Levick, W. R. (1965). The mechanism of directionally selective units in rabbit's retina. J Physiol (Lond) 178, 477-504.
- Behnia, R., Clark, D. A., Carter, A. G., Clandinin, T. R., Desplan, C. (2014). Processing properties of ON and OFF pathways for Drosophila motion detection. Nature 1-15. doi:10.1038/ nature13427
- Borst, A. (2014). In search of the Holy Grail of fly motion vision. Eur J Neurosci 40, 3285-3293. doi:10.1111/ejn.12731
- Borst, A., Egelhaaf, M. (1989). Principles of visual motion detection. Trends Neurosci 12, 297-306.
- Borst, A., Euler, T. (2011). Seeing things in motion: models, circuits, and mechanisms. Neuron 71, 974-994. doi:10.1016/j. neuron.2011.08.031
- Borst, A., Helmstaedter, M. (2015). Common circuit design in fly and mammalian motion vision. Nat Neurosci 18, 1067-1076. doi:10.1038/nn.4050
- Briggman, K. L., Helmstaedter, M., Denk, W. (2011). Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. Nature 471, 183-188. doi:10.1038/nature09818
- Buchner, E. (1976). Elementary movement detectors in an insect visual system. Biol. Cybernetics 24, 85-101.
- Caldwell, J. H., Daw, N. W. (1978). New properties of rabbit retinal ganglion cells. J Physiol (Lond) 276, 257-276.
- Chen, T.-W., Wardill, T. J., Sun, Y., Pulver, S. R., Renninger, S. L., Baohan, A., Schreiter, E. R., Kerr, R. A., Orger, M. B., Jayaraman, V., Looger, L. L., Svoboda, K., Kim, D. S. (2013). Ultrasensitive

- fluorescent proteins for imaging neuronal activity. Nature 499, 295-300. doi:10.1038/nature12354
- Clark, D. A., Bursztyn, L., Horowitz, M. A., Schnitzer, M. J., Clandinin, T. R. (2011). Defining the computational structure of the motion detector in Drosophila. Neuron 70, 1165-1177. doi:10.1016/j. neuron.2011.05.023
- Eckert, H. (1973). Optomotorische Untersuchungen am visuellen System der Stubenfliege Musca domestica L. Kybnertik 14,
- Egelhaaf, M., Reichardt, W. (1987). Dynamic response properties of movement detectors: Theoretical analysis and electrophysiological investigation in the visual system of the fly. Biological Cybernetics 56, 69-87.
- Euler, T., Detwiler, P. B., Denk, W. (2002). Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells. Nature 418, 845-852. doi:10.1038/nature00931
- Fischbach, K., Dittrich, A. (1989). The optic lobe of Drosophila melanogaster. I. A Golgi analysis of wild-type structure. Cell Tissue Res 258, 441-475.
- Fisher, Y. E., Leong, J. C., Sporar, K., Ketkar, M., Gohl, D., Clandinin, T. R., Silies, M. (2015a). A visual neuron class with wide field properties is required for local motion detection. Current Biology 1-6.
- Fisher, Y. E., Silies, M., Clandinin, T. R. (2015b). Orientation Selectivity Sharpens Motion Detection in Drosophila. Neuron 1-16. doi:10.1016/j.neuron.2015.09.033
- Fleishman, L. J., Pallus, A. C. (2010). Motion perception and visual signal design in Anolis lizards. Proc. Biol. Sci. 277, 3547-3554. doi:10.1098/rspb.2010.0742
- Fransen, J. W., Borghuis, B. G. (2017). Temporally Diverse Excitation Generates Direction-Selective Responses in ON- and OFF-Type Retinal Starburst Amacrine Cells. Cell Rep 18, 1356-1365. doi:10.1016/j.celrep.2017.01.026
- Gohl, D. M., Silies, M. A., Gao, X. J., Bhalerao, S., Luongo, F. J., Lin, C.-C., Potter, C. J., Clandinin, T. R. (2011). A versatile in vivo system for directed dissection of gene expression patterns. Nat Methods 8, 231-237.
- Götz, K. G. (1964). Optomotorische Untersuchung des visuellen systems einiger Augenmutanten der Fruchtfliege Drosophila. Kybernetik 2, 77-92.
- Haag, J., Arenz, A., Serbe, E., Gabbiani, F., Borst, A. (2016). Complementary mechanisms create direction selectivity in the fly. Elife 5. doi:10.7554/eLife.17421
- Hassenstein, B., Reichardt, W. (1956). Systemtheoretische Analyse der Zeit-, Reihenfolgen- und Vorzeichenauswertung bei der Bewegungsperzeption des Rüsselkäfers Chlorophanus. Zeitschrift für Naturforschung 11, 513-524.
- Hausen, K. (1982). Motion sensitive interneurons in the optomotor system of the fly. Biological Cybernetics 45, 143-156.
- Heisenberg, M., Buchner, E. (1977). The role of retinula cell types in visual behavior of Drosophila melanogaster. J Comp Physiol 117, 127-162.
- Hengstenberg, R., Hausen, K., Hengstenberg, B. (1982). The Number and Structure of Giant Vertical Cells (VS) in the Lobula Plate of the Blowfly Calliphora erythrocephala. J Comp Physiol A 149, 163-177.
- Jenett, A., Rubin, G. M., Ngo, T.-T. B., Shepherd, D., Murphy, C., Dionne, H., Pfeiffer, B. D., Cavallaro, A., Hall, D., Jeter, J., Iyer, N., Fetter, D., Hausenfluck, J. H., Peng, H., Trautman, E. T., Svirskas, R. R., Myers, E. W., Iwinski, Z. R., Aso, Y.,

- DePasquale, G. M., Enos, A., Hulamm, P., Lam, S. C. B., Li, H.-H., Laverty, T. R., Long, F., Qu, L., Murphy, S. D., Rokicki, K., Safford, T., Shaw, K., Simpson, J. H., Sowell, A., Tae, S., Yu, Y., Zugates, C. T. (2012). A GAL4-driver line resource for Drosophila neurobiology. Cell Rep 2, 991-1001. doi:10.1016/j. celrep.2012.09.011
- Joesch, M., Plett, J., Borst, A., Reiff, D. F. (2008). Response properties of motion-sensitive visual interneurons in the lobula plate of Drosophila melanogaster. Curr Biol 18, 368-374. doi:10.1016/j.cub.2008.02.022
- Joesch, M. M., Schnell, B. B., Raghu, S. V. S., Reiff, D. F. D., Borst, A. A. (2010). ON and OFF pathways in Drosophila motion vision. Nature 468, 300-304. doi:10.1038/nature09545
- Keleş, M. F., Frye, M. A. (2017). Object-Detecting Neurons in Drosophila. Curr Biol 27, 680-687. doi:10.1016/j. cub.2017.01.012
- Kim, J. S., Greene, M. J., Zlateski, A., Lee, K., Richardson, M., Turaga, S. C., Purcaro, M., Balkam, M., Robinson, A., Behabadi, B. F., Campos, M., Denk, W., Seung, H. S., EyeWirers, T. (2014). Space-time wiring specificity supports direction selectivity in the retina. Nature 1-17. doi:10.1038/nature13240
- Klapoetke, N. C., Murata, Y., Kim, S. S., Pulver, S. R., Birdsey-Benson, A., Cho, Y. K., Morimoto, T. K., Chuong, A. S., Carpenter, E. J., Tian, Z., Wang, J., Xie, Y., Yan, Z., Zhang, Y., Chow, B. Y., Surek, B., Melkonian, M., Jayaraman, V., Constantine-Paton, M., Wong, G. K.-S., Boyden, E. S. (2014). Independent optical excitation of distinct neural populations. Nat Methods 11, 338-346. doi:10.1038/nmeth.2836
- Leong, J. C. S., Esch, J. J., Poole, B., Ganguli, S., Clandinin, T. R. (2016). Direction Selectivity in Drosophila Emerges from Preferred-Direction Enhancement and Null-Direction Suppression. Journal of Neuroscience 36, 8078-8092. doi:10.1523/JNEUROSCI.1272-16.2016
- Luan, H., Peabody, N. C., Vinson, C. R., White, B. H. (2006). Refined spatial manipulation of neuronal function by combinatorial restriction of transgene expression. Neuron 52, 425-436. doi:10.1016/j.neuron.2006.08.028
- Maisak, M. S., Haag, J., Ammer, G., Serbe, E., Meier, M., Leonhardt, A., Schilling, T., Bahl, A., Rubin, G. M., Nern, A., Dickson, B. J., Reiff, D. F., Hopp, E., Borst, A. (2013). A directional tuning map of Drosophila elementary motion detectors. Nature 500, 212-216. doi:10.1038/nature12320
- Mattis, J., Tye, K. M., Ferenczi, E. A., Ramakrishnan, C., O'Shea, D. J., Prakash, R., Gunaydin, L. A., Hyun, M., Fenno, L. E., Gradinaru, V., Yizhar, O., Deisseroth, K. (2011). Principles for applying optogenetic tools derived from direct comparative analysis of microbial opsins. Nat Methods 9, 159-172. doi:10.1038/ nmeth.1808
- Mauss, A. S., Vlasits, A., Borst, A., Feller, M. (2017). Visual Circuits for Direction Selectivity. Annu Rev Neurosci 40, 211-230. doi:10.1146/annurev-neuro-072116-031335
- Meinertzhagen, I. A., O'Neil, S. D. (1991). Synaptic organization of columnar elements in the lamina of the wild type in Drosophila melanogaster. J Comp Neurol 305, 232-263. doi:10.1002/ cne.903050206
- Miesenböck, G., De Angelis, D. A., Rothman, J. E. (1998). Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive green fluorescent proteins. Nature 394, 192-195. doi:10.1038/28190

- Pankova, K., Borst, A. (2016). RNA-Seq Transcriptome Analysis of Direction-Selective T4/T5 Neurons in Drosophila. PLoS ONE 11, e0163986. doi:10.1371/journal.pone.0163986
- Pfeiffer, B. D., Ngo, T.-T. B., Hibbard, K. L., Murphy, C., Jenett, A., Truman, J. W., Rubin, G. M. (2010). Refinement of tools for targeted gene expression in Drosophila. Genetics 186, 735-755. doi:10.1534/genetics.110.119917
- Reichardt, W. (1987). Evaluation of optical motion information by movement detectors. J Comp Physiol A 161, 533-547.
- Rister, J., Pauls, D., Schnell, B., Ting, C.-Y., Lee, C.-H., Sinakevitch, I., Morante, J., Strausfeld, N. J., Ito, K., Heisenberg, M. (2007). Dissection of the peripheral motion channel in the visual system of Drosophila melanogaster. Neuron 56, 155-170. doi:10.1016/j.neuron.2007.09.014
- Rivera-Alba, M., Vitaladevuni, S. N., Mishchenko, Y., Mischenko, Y., Lu, Z., Takemura, S.-Y., Scheffer, L., Meinertzhagen, I. A., Chklovskii, D. B., de Polavieja, G. G. (2011). Wiring economy and volume exclusion determine neuronal placement in the Drosophila brain. Curr Biol 21, 2000-2005. doi:10.1016/j. cub.2011.10.022
- Salazar-Gatzimas, E., Chen, J., Creamer, M. S., Mano, O., Mandel, H. B., Matulis, C. A., Pottackal, J., Clark, D. A. (2016). Direct Measurement of Correlation Responses in Drosophila Elementary Motion Detectors Reveals Fast Timescale Tuning. Neuron 92, 227-239. doi:10.1016/j.neuron.2016.09.017
- Schnell, B., Joesch, M., Forstner, F., Raghu, S. V., Otsuna, H., Ito, K., Borst, A., Reiff, D. F. (2010). Processing of horizontal optic flow in three visual interneurons of the Drosophila brain. J Neurophysiol 103, 1646-1657. doi:10.1152/jn.00950.2009
- Serbe, E., Meier, M., Leonhardt, A., Borst, A. (2016). Comprehensive Characterization of the Major Presynaptic Elements to the Drosophila OFF Motion Detector. Neuron 89, 829-841. doi:10.1016/j.neuron.2016.01.006
- Silies, M., Gohl, D. M., Clandinin, T. R. (2014). Motion-Detecting Circuits in Flies: Coming into View. Annu Rev Neurosci 37, 307-327. doi:10.1146/annurev-neuro-071013-013931
- Silies, M., Gohl, D. M., Fisher, Y. E., Freifeld, L., Clark, D. A., Clandinin, T. R. (2013). Modular use of peripheral input channels tunes motion-detecting circuitry. Neuron 79, 111-127. doi:10.1016/j.neuron.2013.04.029
- Simpson, J. H. (2009). Mapping and Manipulating Neural Circuit in the Fly Brain, 1st ed, Genetic Dissection of Neural Circuits and Behavior, Genetid Dissection of Neural Circuits. Elsevier Inc. doi:10.1016/S0065-2660(09)65005-7
- Strother, J. A., Wu, S.-T., Wong, A. M., Nern, A., Rogers, E. M., Le, J. Q., Rubin, G. M., Reiser, M. B. (2017). The Emergence of Directional Selectivity in the Visual Motion Pathway of Drosophila. Neuron 94, 168-182.e10. doi:10.1016/j. neuron.2017.03.010
- Takemura, S., Bharioke, A., Lu, Z., Nern, A., Vitaladevuni, S., Rivlin, P.K., Katz, W.T., Olbris, D.J., Plaza, S.M., Winston, P., et al. (2013). A visual motion detection circuit suggested by Drosophila connectomics. Nature 500, 175-181.
- Takemura, S.-Y., Lu, Z., Meinertzhagen, I. A. (2008). Synaptic circuits of the Drosophila optic lobe: the input terminals to the medulla. J Comp Neurol 509, 493-513. doi:10.1002/cne.21757
- Takemura, S.-Y., Nern, A., Chklovskii, D. B., Scheffer, L. K., Rubin, G. M., Meinertzhagen, I. A. (2017). The comprehensive connectome of a neural substrate for "ON" motion detection in Drosophila. Elife 6, 1-16. doi:10.7554/eLife.24394.001

- Tan, L., Zhang, K. X., Pecot, M. Y., Nagarkar-Jaiswal, S., Lee, P.-T., Takemura, S.-Y., McEwen, J. M., Nern, A., Xu, S., Tadros, W., Chen, Z., Zinn, K., Bellen, H. J., Morey, M., Zipursky, S. L. (2015). Ig Superfamily Ligand and Receptor Pairs Expressed in Synaptic Partners in Drosophila. Cell 163, 1756-1769. doi:10.1016/j. cell.2015.11.021
- van Santen, J. P., Sperling, G. (1985). Elaborated Reichardt detectors. J Opt Soc Am A 2, 300-321.
- Wu, M., Nern, A., Williamson, W. R., Morimoto, M. M., Reiser, M. B., Card, G. M., Rubin, G. M. (2016). Visual projection neurons in the Drosophila lobula link feature detection to distinct behavioral programs. Elife 5. doi:10.7554/eLife.21022
- Wyatt, H. J., Day, N. W. (1976). Specific effects of neurotransmitter antagonists on ganglion cells in rabbit retina. Science 191, 204-205
- Yang, H. H., St-Pierre, F., Sun, X., Ding, X., Lin, M. Z., Clandinin, T. R. (2016). Subcellular Imaging of Voltage and Calcium Signals Reveals Neural Processing In Vivo. Cell 166, 245-257. doi:10.1016/j.cell.2016.05.031
- Yoshida, K., Watanabe, D., Ishikane, H., Tachibana, M., Pastan, I., Nakanishi, S. (2001). A key role of starburst amacrine cells in originating retinal directional selectivity and optokinetic eye movement. Neuron 30, 771-780.

Article note: German version available at https://doi.org/10.1515/nf-2017-0028

Bionotes



Dr. Marion Silies

European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Germany

Phone: +49 551 3961331 Mail: m.silies@eni-g.de Web: www.silieslab.com

Marion Silies is a group leader of the "Visual Processing" lab at the European Neuroscience Institute in Göttingen (ENI-G), which is a joined initiative of the University Medical Center Göttingen and the Max Planck Society. Before joining the ENI-G in 2015, she was a Postdoctoral Fellow in the laboratory of Thomas Clandinin at Stanford University (USA). She obtained her PhD in 2009 at the University of Münster in the lab of Christian Klämbt.



Giordano Ramos-Traslosheros

European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Germany; International Max Planck Research School Neuroscience, University of Göttingen, Göttingen, Germany Mail: I.ramos@eni-g.de

(Luis) Giordano Ramos-Traslosheros is a PhD student in the "Visual Processing" lab at the European Neuroscience Institute in Göttingen. He is a member of the International Max Planck Research School (IMPRS) for Neurosciences in Göttingen. He performed his MSc thesis work (2015) in Tim Gollisch's lab at the University Medical Center Göttingen. Before that, Luis studied physics at the Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL, Mexico), and at the University of Göttingen (Germany).



Miriam Henning

European Neuroscience Institute Göttingen (ENI), University Medical Center Göttingen, Grisebachstr. 5, 37077 Göttingen, Germany Mail: m.henning@eni-g.de

Miriam Henning is a PhD student in the "Visual Processing" lab at the European Neuroscience Institute in Göttingen. She is a member of the Göttingen Graduate School for Neurosciences, Biophysics and Molecular Biosciences (GGNB), and in particular of the Sensory and Motor Neuroscience (SMN) program. Miriam holds a BSc degree in Biology (2013) and a MSc degree (2016) in Neurobiology, Behaviour and Evolution from the University of Bielefeld, where she performed her thesis work in the lab of Martin Egelhaaf.

Übersichtsartikel

Martin Heine* und Arthur Bikbaev

Molekulare Dynamik der neuronalen Informationsübertragung

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0042

Zusammenfassung: Die detaillierte Analyse von Synapsen als verbindende Elemente zwischen Nervenzellen ist von zentraler Bedeutung, um sowohl die kognitiven Leistungen des Gehirns als auch deren Einschränkungen zu verstehen. Modernste optische Verfahren erlauben es heute, einzelne Moleküle in lebenden Zellen zu detektieren. Insbesondere kann so die Dynamik der molekularen Komposition in kleinsten Kompartimenten wie etwa den prä- und postynaptischen Membranen erforscht werden. Die Beobachtung der Verteilung von Rezeptoren, Ionenkanälen und Adhäsionsmolekülen über die Zeit lässt erkennen, dass diese einer ständigen stochastischen Bewegung unterliegen. Dies ist überraschend, sind doch Synapsen gerade für solche Proteinmoleküle als Akkumulationsorte mit vielen molekularen Anknüpfungspunkten beschrieben. Durch gezielte Beeinflussung der lateralen Bewegung von Glutamatrezeptoren in Verbindung mit klassischer Elektrophysiologie konnte gezeigt werden, dass die molekulare Dynamik entscheidend für die Induktion synaptischer Plastizität ist und ihrerseits durch synaptische Aktivität beeinflusst werden kann. Sie sollte daher auch mit Blick auf übergeordnete Hirnfunktionen und neurologische Erkrankungen näher untersucht werden.

Schlüsselwörter: Synapse; Oberflächenmobilität; synaptische Transmission; Plastizität

Einleitung

Die Fähigkeit eines Gehirns, aus multiplen und sich ständig ändernden sensorischen Reizen biologisch sinnvolle

*Korrespondenzautor: Martin Heine, Leibniz-Institut für Neurobiologie, Forschungsgruppe "Molekulare Physiologie", Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Deutschland; Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Center for Behavioral Brain Sciences, 39120 Magdeburg, Deutschland, E-Mail: mheine@lin-magdeburg.de

Arthur Bikbaev, Leibniz-Institut für Neurobiologie, Forschungsgruppe "Molekulare Physiologie", Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Deutschland, E-Mail: abikbaev@lin-magdeburg.de

Informationen für das einzelne Lebewesen zu generieren, ist für uns besonders faszinierend. Einerseits können sich Erfahrungen und erlernte Fähigkeiten über lange Zeit entwickeln und erhalten, andererseits sind oftmals schnelle impulsive Reaktionen auf Umgebungsreize nötig. Dieses breite Spektrum an Reaktionsfähigkeit wird der Funktion neuronaler Netzwerke zugeschrieben, in denen die Erregbarkeit und die synaptischen Verknüpfungen der Nervenzellen von zentraler Bedeutung sind. Nervenzellen sind, unterstützt durch Gliazellen, die zellulären Bausteine neuronaler Netzwerke. Typischerweise empfangen sie dabei Signale von zahlreichen anderen Nervenzellen über synaptische Eingänge, die auf den Zellkörpern, vor allem aber auf verzweigten Fortsätzen, den sogenannten Dendriten, lokalisert sind. So kann beispielsweise eine einzelne Pyramidenzelle in der CA1-Region des Hippocampus einer Ratte ca. 30.000 glutamaterge (erregende) und zusätzlich etwa 1.700 GABAerge (hemmende) synaptische Eingänge entlang dendritischer Verzweigungen mit einer Gesamtlänge von ca. 12.000 µm aufweisen (Megias et al., 2001). Die sinnvolle Integration der eintreffenden Signale stellt somit eine enorme Herausforderung dar. Ein wesentlicher Parameter ist dabei die Stärke einer jeden Synapse sowie ihre Lokalisation auf der Zelle. Hemmende Synapsen sind vorzugsweise an proximalen Dendriten, den Zellkörper und den Axonhügel anzutreffen, während erregende Synapsen sich sowohl am proximalen als auch distalen Dendriten befinden (Gulvas et al., 1999; Megias et al., 2001).

Dendritische Strukturen können die Integration synaptischer Information über verschiedene Mechanismen beeinflussen. Die elektrischen Eigenschaften dendritischer Membranen und die unterschiedliche Expression von spannungsabhängigen Ionenkanälen entlang von Dendriten können den Beitrag der einzelnen Synapse verstärken oder schwächen (Tran-Van-Minh et al., 2015). Entscheidend für den Informationsaustausch in neuronalen Netzwerken ist jedoch die Stärke und Aktivierungsfrequenz der Synapsen. Die kurzzeitige, wiederholte Aktivierung von Synapsen kann zur Bahnung (engl.: facilitation) oder Depression führen und abhängig von der Stimulationsdauer längerfristig die Effizienz der synaptischen Übertragung verändern. Diese plastischen Prozesse kön-

nen in wenigen Millisekunden bis Sekunden ablaufen und dabei die Synapsen für Minuten bis Stunden verändern. Die Mechanismen, die die Transmissionseigenschaften einer Synapse kurzfristig verändern, sind oft präsynaptischen Ursprungs und können durch die Akkumulation von präsynaptischem Kalzium, die Änderung der Anzahl freisetzungsbereiter Vesikel oder durch retrograde Signale ausgelöst werden. Jedoch sind auch postsynaptische Mechanismen wie die Desensitisierung oder Sättigung von Rezeptoren beteiligt (Zucker und Regehr, 2002). Diese schnelle Plastizität von Synapsen ist die entscheidende Variable, um Aktivitätsänderungen über die Zeit umzusetzen und kurzzeitig (innerhalb von Sekunden-Minuten) zu erinnern (Abbott und Regehr, 2004). Länger anhaltende Veränderungen der synaptischen Aktivität sind hingegen häufig durch postsynaptische Mechanismen dominiert, können aber auch durch eine anhaltende Änderung der präsynaptischen Transmitterfreisetzung getragen werden. Oft gehen solche langanhaltenden Änderungen mit strukturellen Veränderungen von Synapsen einher und werden weithin als zelluläres Korrelat für Lernen und Gedächtnisbildung betrachtet. Die Übergänge zwischen kurzzeitigen Änderungen und anhaltender Verstellung der synaptischen Aktivität sind indes fließend.

Früh wurde beobachtet, dass die Richtung der kurzzeitigen Plastizität, ob Bahnung oder Depression, von der postsynaptischen Zelle mitbestimmt ist. Das heißt, die zeitliche Integration der synaptischen Aktivität scheint vorgegeben. Dies wurde erstmals an Motorneuronen von Krebsen gezeigt, bei denen die Synapsen derselben Nervenfaser eine unterschiedliche Kurzzeitplastizität an verschiedenen Muskelfasern zeigen (Atwood und Bittner, 1971). Ähnliche Beobachtungen wurden später auch in primären neuronalen Zellkulturen und im Gehirn von Säugern gemacht (Bao et al., 2010; Branco et al., 2008; Markram et al., 1998; Pouille und Scanziani, 2004), wo Endigungen derselben Pyramidenzelle verschiedene Populationen von Neuronen kontaktieren und abhängig von der postsynaptischen Zelle eine spezifische Kurzzeitplastizität zeigen. Die Lokalisation und molekulare Zusammensetzung der Synapse sind entscheidend für ihre Funktion. Lange wurden diese beiden Parameter als sehr stabile Elemente neuronaler Netzwerke wahrgenommen. Allein die kinetischen Eigenschaften von Ionenkanälen und ionotropen Rezeptoren, die Spezifität von Adhäsionsmolekülen sowie die Modulation der Synapse durch metabotrope Rezeptoren ergeben eine Fülle von Möglichkeiten. die Plastizität von Synapsen zu beschreiben. Die Beobachtung, dass Synapsen ständig auf und abgebaut werden (Attardo et al., 2015; Engert und Bonhoeffer, 1999) und vom Austausch (Recycling) membranständiger Rezeptoren abhängig sind (Kerchner und Nicoll, 2008; Kittler und Moss, 2003), waren entscheidende Impulse, zusätzlich die Dynamik molekularer Mechanismen für die synaptische Plastizität und Integrität neuronaler Netzwerke zu erkennen. Vor allem die Manipulation dynamischer Prozesse in der postsynaptischen Membran glutamaterger Synapsen hat gezeigt, dass die lokale Endo-/Exozytose von Glutamatrezeptoren des AMPA-Typs sowie ihre laterale Verteilung und Diffusion in der Membran die Plastizität der Synapse wesentlich bestimmen (Carroll et al., 1999; Heine et al., 2008; Luscher et al., 1999; Penn et al., 2017). Im Folgenden wird die Oberflächendiffusion von synaptischen Signalmolekülen, deren Schlüsselfunktion für die Plastizität der Synapse unlängst gezeigt wurde, näher erläutert.

Methoden zur Messung molekularer Mobilität in der Membran

Die Aktivität und Verteilung einzelner Moleküle kann mittels elektrophysiologischer und optischer Methoden dargestellt werden. Die Voraussetzung hierfür ist die Kenntnis kinetischer Parameter, im Falle der Nutzung der Elektrophysiologie, oder die spezifische Markierung des Moleküls mit optisch detektierbaren Partikeln. Während die elektrophysiologischen Methoden die kinetischen Eigenschaften von Ionenkanälen und ionotropen Rezeptoren nutzen und somit auf elektrisch aktive Proteine beschränkt sind, können optische Methoden auf nahezu alle Moleküle angewendet werden.

Elektrophysiologisch sind mobile Rezeptorpopulationen mithilfe spezifischer Pharmaka darstellbar. Diese als funktionelles Markieren (functional tagging) beschriebene Methode wurde erstmalig zur Analyse des lokalen Austausches von synaptischen NMDA-Rezeptoren (NMDAR) in glutamatergen Synapsen genutzt (Tovar und Westbrook, 1999). Durch evozierte oder spontane Aktivität werden synaptische NMDAR irreversibel mit dem Antagonisten MK-801 inaktiviert. Die lokale synaptische Freisetzung von Glutamat führt somit zur Inaktivierung synaptischer NMDAR. Schnelles Auswaschen von ungebundenem MK-801 verhindert die weitere Inaktivierung von neu in die Synapse einwandernden NMDAR. In der Folge kann die Erholung NMDAR-vermittelter synaptischer Ströme als Austausch von inaktiven gegen aktive Rezeptoren interpretiert werden. Solche Experimente ergaben, dass schon innerhalb weniger Minuten wieder eine NMDARvermittelte synaptische Antwort messbar ist. Die kurzfristige Erholung lässt schließen, dass der laterale Austausch membranständiger NMDAR hier der vorherrschende Mechanismus ist, da ein Austausch synaptischer NMDAR über die Exozytose intrazellulärer Rezeptoren wesentlich langsamer erfolgt (>1h). Dennoch können auch neu in die Membran inserierte Rezeptoren teilweise beteiligt sein. Ähnliche Strategien wurden für spezifische Populationen von AMPA-Rezeptoren (AMPAR) und GABA,-Rezeptoren entwickelt (Thomas und Smart, 2006).

Optische Methoden hingegen ermöglichen es, sowohl Populationen als auch einzelne Moleküle zu beobachten. Voraussetzung ist, dass die Moleküle über ein optisch sichtbares Teilchen markiert werden können (optical tagging). Oft sind dies fluoreszierende Farbstoffe, die durch die Absorption von Licht und die Emission einer spezifischen Fluoreszenz nachweisbar sind. Es gibt jedoch auch die Möglichkeit, z.B. mithilfe von kleinen Goldpartikeln, andere optische Methoden zu nutzen. Hier wird die Änderung der Absorption des Lichts oder die Änderung des lokalen Brechungsindex als Messgröße verwendet (Celebrano et al., 2011; Lasne et al., 2006; Ritchie und Kusumi, 2003).

Der erste Nachweis der Mobilität synaptischer Rezeptoren wurde mit FRAP-Experimenten (fluorescence recovery after photobleach, FRAP, Fluoreszenzrückkehr nach Photoausbleichung) erbracht. Hier wird die Rückkehr der Fluoreszenz nach dem lokalen Ausbleichen der Fluoreszenz-markierten Rezeptoren über die Zeit beobachtet. Der Zeitverlauf der Erholung der Fluoreszenzintensität in der ausgeblichenen Region gibt eine direkte Abschätzung der mobilen Fraktion von Molekülen und kann zur Analyse der Diffusionseigenschaften genutzt werden. Mithilfe von Fluoreszenz-markiertem α-Bungarotoxin war es z. B. möglich, die lokale Diffusion von Acetylcholin-Rezeptoren in der postsynaptischen Membran neuromuskulärer Synapsen der Kaulguappe des Krallenfroschs spezifisch zu bestimmen (Young und Poo, 1983). Basierend auf der Entwicklung von genetisch kodierbaren pH-sensitiven Fluorophoren (z. B. pHluorin) können Oberflächenmoleküle in der Membran direkt dargestellt werden. Die pH-Abhängigkeit der Fluorophore erlaubt, membranständige von intrazellulär, in Vesikeln lokalisierten Rezeptoren, zu unterscheiden, was die spezifische Analyse der Rezeptormobilität in der Membran wesentlich vereinfacht. Generell birgt FRAP in Kombination mit Transgen-kodierten, Fluoreszenzprotein-markierten Rezeptoren aber die Gefahr, dass letztere in Konkurrenz zur endogenen Rezeptorpopulation treten. In Folge dessen übersteigt die anhand der markierten Moleküle ausgelesene Dynamik oftmals die tatsächlich anzunehmende Mobilität der endogenen Rezeptorpopulation ohne zusätzliche Expression.

Die direkte Beobachtung einzelner Moleküle in der neuronalen Membran ist demgegenüber sehr viel informativer. Individuelle Bewegungen membranständiger Moleküle geben uns Einblick in deren Verweildauer und Dichteverteilung. Besonders interessant werden solche Experimente, wenn die Lokalisation individueller Moleküle wichtig für ihre Funktion ist. Dies lässt sich z.B. an der Freisetzung eines Transmittervesikels illustrieren. Hier ist die Aktivierung weniger Kalziumkanäle, im Extremfall eines einzigen Kalziumkanals ausreichend, um ein Transmittervesikel in der näheren Umgebung (20-50 nm) desselben freizusetzen (Eggermann et al., 2012). Bezogen auf die räumliche Dimension der meisten Synapsen, die mit einem Durchmesser der aktiven Zone bzw. postsynaptischen Dichte von ca. 300-500 nm angegeben wird, könnten diffuse molekulare Bewegungen durchaus relevant sein, um die Übertragungseigenschaften einer Synapse zu beeinflussen. Für typische Diffusionskonstanten membranständiger Proteine (0.005-0.5 µm²/s) bedeutet das, dass eine Verschiebung von ca. 10-100 nm in 10 ms möglich ist. Die Zahl spannungsabhängiger Kalziumkanäle, Adhäsionsmoleküle und Rezeptoren ist für kortikale Synapsen (z. B. hippocampale CA3-CA1 Synapse) mit 10–150 Molekülen angegeben. Die Frage ist nun, inwieweit die Dichte der Moleküle deren Bewegung beeinträchtigt.

Diese lokalen Verteilungen und Bewegungen in Membrankompartimenten wie der Synapse darzustellen verlangt die direkte Detektion einzelner Moleküle über die Zeit. Die Emissionseigenschaften der Fluorophore, die Größe, Affinität und Bindungsvalenz der Liganden (z.B. primäre Antikörper, Nanobodies etc.) sowie die Markierungsdichte sind hier entscheidende Parameter. Neben der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie ist die kamerabasierte Detektion einzelner Moleküle über die Zeit (single particle tracking, SPT) eine inzwischen häufig verwendete Methode. Das lokale Fluoreszenzmaximum (Centroid) erlaubt es, die Lokalisation eines Fluorophors innerhalb von 10-40 nm zu bestimmen (Abbildung 1A, B). Nach der Bestimmung individueller Positionen pro Bild werden sie über die Zeit (Bildrate) miteinander verbunden, um die Bewegungsbahnen (Trajektorien) jedes einzelnen Moleküls zu generieren (Abbildung 1B). Die Bildrate zur Darstellung der Diffusionsbewegungen ist abhängig von der Menge der emitierten Photonen pro Zeiteinheit, die die Lokalisationsgenauigkeit des einzelnen Fluorophores ermitteln. Beim Arbeiten mit lebenden Zellen muss man hier einen Kompromiss zwischen Beleuchtungsstärke, Phototoxizität für die Zelle und der Messgenauigkeit finden. Daher sind die explorierten Oberflächen einzelner Trajektorien oft nur eine grobe Abschätzung der Wirklichkeit (Abbildung 1C). Die Analyse dieser Bewegungsbahnen mittels Berechnung der mittleren quadratischen Verschiebung (mean square displacment, MSD) erlaubt es, die ver-

Analyse der Bewegung membranassozierter Moleküle

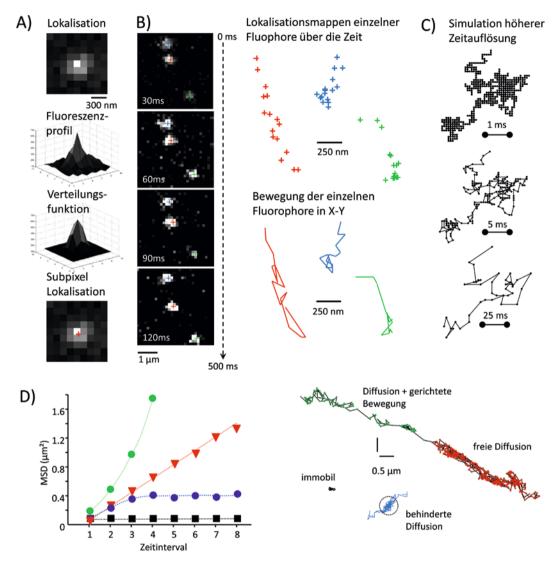


Abb. 1: Analyse der Mobilität von Molekülen in der zellulären Membran mittels Single Particle Tracking (SPT). A) Dargestellt sind die einzelnen Schritte für die Lokalisation eines Fluorophores im Bild der Kamera. Die Aufteilung der detektierten Lichtintensitäten auf mehrere Pixel der Kamera erlaubt die Lokalisation des Fluorophores innerhalb eines Pixels. B) Die zeitliche Abfolge der Lokalisation identifizierbarer Fluorophore erlaubt die Erstellung von Lokalisationskarten und die Verbindung der einzelnen Positionen über die Zeit. Diese Trajektorien können dann für die Analyse der Diffusion und explorierten Oberfläche verwendet werden. C) Simulation einer höheren Aufnahmerate für die Diffusion eines Partikels in der Membran. Deutlich ist die wesentlich bessere Repräsentation der explorierten Oberfläche bei Aufnahmeraten ≥1 kHz. Die Parameter für die Simulation waren Beobachtungsdauer 1s, Diffusionskoeffizient 0.2 µm²/s bei Bildraten von 1.000, 200 und 25 Bildern pro Sekunde. D) Quantifizierung verschiedener Bewegungsarten mittels der mittleren quadratischen Verschiebung (MSD) über die Zeit. Die Abweichung von freier Brown´scher Diffusionsbewegung (gerade Linie) können mittels dieser Darstellung eindeutig identifiziert werden. Dargestellt sind freie Diffusion (schwarz), begrenzte Diffusion (rot), Diffusion mit gerichteter Bewegung (grün) und immobile Teilchen (schwarz). Die Fläche unter der Kurve stellt die explorierte Oberfläche zum gegebenen Zeitpunkt dar. Die Abweichung von y=0 für immobile Teilchen entspricht der Lokalisationsgenauigkeit des Experiments. Beispiele für Trajektorien unterschiedlicher Diffusionsbewegung sind in der entsprechenden Farbe dargestellt.

schiedenen Bewegungsarten (freie Diffusion, beschränkte Diffusion, gerichtete Bewegung etc.), die explorierte Oberfläche und den Diffusionskoeffizienten zu bestimmen (Abbildung 1D). Abhängig vom genutzten Fluorophor können

Moleküle für Sekunden (einzelne Fluoreszenzfarbstoffe) bis hin zu mehreren Minuten (Quantum Dots) verfolgt werden. Damit können Änderungen des Diffusionsverhaltens in Korrelation zur Position in der Membran direkt

Single Partikel Tracking im kultivierten Hirnschnitt

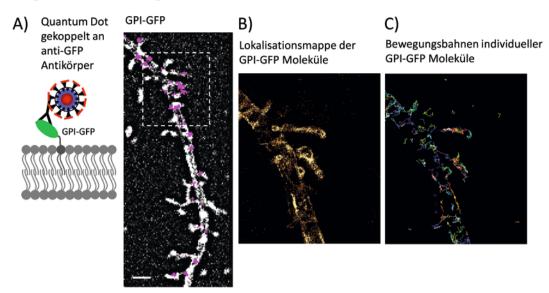


Abb. 2: Single Particle Tracking in kultivierten Hirnschnitten. A) Schematische Darstellung eines lipidverankerten GFPs, welches über einen monoclonalen anti-GFP - Antikörper mit einem Quantum Dot (QD) markiert ist. Quantum Dots sind Einzelphotonen - Emitter, die durch ihre lang anhaltende Fluoreszenz und dem stochastischen Blinken den Vorteil bieten, sie als einzelne Fluorophore zu erkennen. Des Weiteren haben QDs ein sehr breites Anregungsspektrum. Diese Eigenschaften ermöglichen es, einzelne QDs zweifelsfrei zu detektieren. B) Im Bild sind die Positionen einzelner Qantum Dots auf den mit GPI-GFP transfizierten Dendritensegment eine hippocampalen Nervenzelle gezeigt. Die Verfolgung individueller QDs über die Zeit ermöglicht die Darstellung der äußeren Membran, basierend auf der Lokalisation der QDs über die Zeit (hier 1.000 Bilder über 30 s). C) Die Rekonstruktion der Bewegungsbahn ist oft durch das Blinken der QDs oder die Überschneidung der Lokalisation benachbarter Partikel unterbrochen, wobei ein Teil der Lokalisationen nicht für die Rekonstruktion der Trajektorien verwendet werden kann. Für weitere Informationen siehe auch (Biermann et al., 2014).

verfolgt werden (Abbildung 2). Individuelle molekulare Interaktionen sind oft sehr kurzlebig und durch die limitierte zeitliche Auflösung nicht direkt zu beobachten. Die Verwendung von statistischen Analysemethoden erlaubt es, sich auf die Verschiebung der Moleküle zwischen zwei Zeitpunkten zu beziehen und so unabhängig von der Länge der individuellen Beobachtungszeit die mittlere Verweildauer und Packungsdichte der Moleküle innerhalb kleiner Membranoberflächen zu bestimmen (Hoze et al., 2012; Renner et al., 2017).

Die Zellmembran als dynamisches Kompartiment

Die ladungstrennenden Eigenschaften der Zellmembran zusammen mit der spezifischen Verteilung von Ionenkanälen sind entscheidend für die Aktivität von Nervenzellen. Andererseits ist die in der Membran gespeicherte thermische Energie immer Ursache für die Brown'sche Molekularbewegung von Lipiden und membranenständigen Proteinen. Die Aufrechterhaltung der lokalen Dichte von Ionenkanälen, z. B. innerhalb der synaptischen Membran oder im Axonhügel, ist abhängig von der Verankerung oder bestehenden Diffusionsbarrieren innerhalb der Membran. Dem entsprechend ist die Diffusionsbewegung individueller Moleküle in der Zellmembran sehr heterogen und durch direkte und indirekte Interaktionen mit benachbarten Molekülen beeinflusst. Hier sind laterale Interaktionen innerhalb der Membran sowie vertikale Interaktionen mit assoziierten Strukturen an den Grenzflächen der Membran dominant. Die laterale Bewegungsfreiheit innerhalb der Zellmembran wird durch die Dichte integraler Proteinkomplexe und die lokale Komposition der membranbildenden Lipide bestimmt. Ein beeindruckendes Beispiel für die inhomogene Zusammensetzung der Membran ist der Axonhügel oder das axonale Initialsegment. Dieses Membransegment ist mit seiner hohen Dichte an Ionenkanälen Initiationsstelle des Aktionspotenzials und Diffusionsbarriere zwischen somato-dendritischer und axonaler Membran (Nakada et al., 2003; Winckler et al., 1999). Das in allen tubulären Fortsätzen von Neuronen vorhandene reguläre Zytoskelett (Xu et al., 2013), aufgebaut aus Aktinringen, die über das Linkerprotein Adducin mit längs verlaufenden Spektrinfilamenten verbunden sind, ist im

Initialsegment Ankerstruktur für Gerüstproteine (AnkyrinG) und damit Aggregationspunkt für Ionenkanäle. Die tubuläre Geometrie der Membran von Neuriten hat neben der Komplexität der Membranzusammensetzung auch Einfluss auf die Diffusionsbewegung der Moleküle (Domanov et al., 2011). Je dünner die Zellfortsätze werden, umso restriktiver ist die Diffusionsbewegung, was vor allem für dünne postsynaptische Dornenfortsätze (Spines) von Bedeutung ist. Weitere Mechanismen für die unterschiedliche Verteilung von Membranproteinen sind die lokale Endo/Exozytose, lokale transmembranöse Proteincluster, Interaktionen mit der extrazellulären Matrix und elektrostatische Interaktionen (Trimble und Grinstein, 2015). Die Bewegung von transmembranösen Proteinen kann also durch die Struktur der Membran selbst und die an sie angelagerten Strukturen stark beeinflusst werden.

Dynamik postsynaptischer **Signalproteine**

Für die Effizienz der Informationsübertragung ist die dynamische Verteilung postsynaptischer Rezeptoren in hemmenden und erregenden Synapsen gleichermaßen als wichtig beschrieben worden. Die Bewegung der Rezeptoren in glutamatergen Synapsen ist hierbei am weitesten erforscht, weshalb sie nun näher behandelt werden soll.

Beginnend mit der Freisetzung von Glutamat in den synaptischen Spalt, ist die Diffusion von Glutamat im extrazellulären Raum entscheidend für die Signalwirkung des Transmitters. Die Freisetzung eines Glutamatvesikels verliert innerhalb von ca. 100 µs seine Signalfunktion. Ursache ist die geringe Affinität von AMPAR zu Glutamat. Abhängig von der Zusammensetzung der AMPAR liegt der EC₅₀-Wert zwischen 0,5–2 mM. Das heißt, dass nur innerhalb eines Radius von ca. 100 nm AMPAR während der Freisetzung eines Glutamatvesikels (2.000–5.000 Glutamatmoleküle) aktiviert werden können (Diamond und Jahr, 1997). Die Anordnung, Dichte und Zusammensetzung der postsynaptischen AMPAR bestimmt die Amplitude der postsynaptischen Stromantwort. In Bezug auf die hier im Mittelpunkt stehende laterale Bewegung von Molekülen in der Membran stellen sich folgende Fragen: Wie viele Rezeptoren werden durch die Transmitterfreisetzung eines Vesikels aktiviert? Wie stabil sind Rezeptoren in der Membran verankert? Wie kann die lokale Dichte von Rezeptoren in der Synapse verändert werden?

Elektronenmikroskopische Bilder von synaptischen Strukturen vermitteln den Eindruck, dass der stochastischen Bewegung von postsynaptischen Signalproteinen massiv Einhalt geboten wird. Dafür spricht auch ihre durch zahlreiche Studien belegte Vernetzung mit membranassoziierten Gerüstproteinen und dem Zytoskelet. Die intensive Erforschung des Transports und der lateralen Dynamik von AMPAR hat aber die Fluktuation von Rezeptoren und assoziierter Signalmoleküle als zentrale Mechanismen synaptischer Plastizität aufgedeckt. Die Analyse des lateralen Diffusionsverhaltens von Rezeptoren und Lipiden zeigt, dass innerhalb der Synapse membranständige Moleküle zwischen freien und behinderten Diffusionsverhalten wechseln. Im Falle der Rezeptoren reflektiert dieses "Stop and Go" potenziell eine wechselnde Bindung an zum Beispiel intrazelluläre Gerüstmoleküle. AMPAR werden hauptsächlich über das Gerüstprotein PSD-95 in der Synapse akkumuliert, während an inhibitorischen GABAergen und glycinergen Synapsen Gephyrin die Rolle des zentralen Gerüstproteins für die betreffenden Rezeptoren erfüllt. Ursprünglich waren C-terminale Bindungsmotive einzelner AMPAR - Untereinheiten als Basis für eine direkte Interaktion mit PSD-95 diskutiert worden (Shi et al., 2001). Jedoch sind diese Interaktionen der Rezeptor - Untereinheiten mit PSD-95 zu schwach, um somit die synaptische Stabilisierung von AMPAR während der Induktion von Langzeitplastizität zu erklären (Kim et al., 2005). Vielmehr zeigte sich, dass die synaptische Verankerung der Rezeptoren auch über weitere Bindungspartner realisiert werden kann. Insbesondere mit der Entdeckung von Rezeptor-assoziierten Transmembranproteinen wie den TARPs (transmembrane AMPA receptor regulatory proteins) oder CKAMP44 (cysteine-Knoten AMPAR modulierendes Protein 44), Shisa und Cornichon konnten hier wesentliche Einsichten gewonnen werden. Diese Moleküle sind für den intrazellulären Transport der AMPAR zur Plasmamembran notwendig und vermitteln zudem eine weitere Bindung der Rezeptoren an Gerüstproteine. Geschuldet der Halbwertszeit eines jeden Rezeptors oder der mit ihm assoziierten Moleküle ist die Stabilisierung in der Synapse nur von kurzer Dauer. Somit ist die transiente Interaktion von Rezeptoren und assoziierten Proteinen wesentlicher Bestandteil der Funktion und Plastizität von Synapsen. Die Beobachtung einzelner Rezeptoren in der aktiven Synapse ermöglicht es, die zeitliche Kodierung der Plastizität als eine Abfolge molekularer Interaktionen näher zu verstehen. Am Beispiel verschiedener Studien zur Funktion der TARPs sollen diese flexiblen Interaktionen für verschiedene Zeiteinheiten illustriert werden.

Stargazin (TARPy-2), das zunächst als akzessorische y-Untereinheit von spannungsabhängigen Kalziumkanälen beschrieben wurde, ist essenziell für den Transport und die synaptische Expression von AMPAR in glutamatergen Synapsen des Kleinhirns (Stargazer, dt. "Sterngucker", ist

der Name der entsprechenden spontanen Mausmutante). TARPy-2 ist nicht nur essenziell für die Oberflächenexpression und die kinetischen Eigenschaften von AMPAR, sondern es vermittelt auch die Assoziation von AMPAR mit dem Gerüstprotein PSD-95 (Chen et al., 2000). Mit der Beobachtung individueller AMPAR und TARPy-2 konnte nachgewiesen werden, dass die Assoziation von TARPy-2 zu PSD-95 für die Stabilität und Akkumulation von AM-PAR wesentlich ist. Diese Experimente zeigten auch, dass sich die Mehrheit der Rezeptoren sowohl innerhalb als auch außerhalb der Synapse in Assoziation mit TARPy-2 befindet (Bats et al., 2007). Eine Aktivitätsänderung der Synapse kann zur C-terminalen Phosphorylierung von TARPy-2 führen und somit die Bindungseigenschaften zu PSD-95 verändern (Opazo et al., 2010). Demnach kann in einem Zeitfenster von Sekunden bis wenigen Minuten die synaptische Akkumulation der AMPAR verändert werden, da ein Verlust (Mobilisierung) oder Gewinn (Immobilisierung) von Bindungen an intrazelluläre Gerüstproteine stets in Konkurrenz zur vorhandenen thermischen Energie der Membran steht.

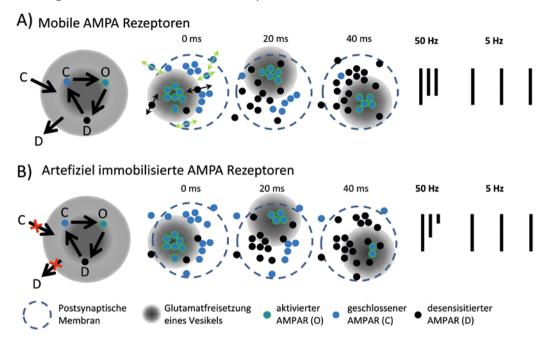
Ein besonders interessanter Modus, über den die Assoziation bzw. Dissoziation von AMPAR und TARPy-2 gleichzeitig an die Dynamik von AMPAR und deren funktionellen Zustand gekoppelt wird, wurde kürzlich vorgeschlagen. Demnach ist die Assoziation von AMPAR mit TARPy-2 entscheidend für die postsynaptische Sensitivität für Glutamat. Die Aktivierung eines AMPAR durch Bindung von Glutamat führt stets zu einer strukturellen Änderung der extrazellulären Domänen des Rezeptors, welche die Öffnung des Ionenkanals induziert. Diese Glutamat-abhängige Konformationsänderung ist jedoch nur von kurzer Dauer und wird von einer weiteren Konformationsänderung gefolgt, welche zur Desensitisierung des Rezeptors führt. In diesem Zustand dissoziieren AMPAR und TARPy-2 und die Rezeptoren verlieren die TARPy-2vermittelte Verankerung an das Gerüstprotein PSD-95. Erst wenn sich Glutamat vom Rezeptor wieder löst, kann dieser in den geschlossenen, aber aktivierbaren Zustand zurückkehren und erneut mit TARPy-2 assoziieren. Eine wichtige Implikation dieses Zyklus ist, dass der kurzzeitige Verlust der Bindung an PSD-95 den Austausch von desensitisierten gegen aktivierbare AMPAR in der Synapse potenziell begünstigt. Allerdings kann die Packungsdichte von benachbarten integralen Proteinen in der Membran, auch als "molecular crowding" bekannt, dem Wegdiffundieren desensitisierter Rezeptoren aus der Synapse entgegenwirken. Somit initiiert also die präsynaptische Freisetzung von Glutamat eine postsynaptische Rezeptorverschiebung innerhalb weniger Nanometer (Constals et al., 2015).

Diese zwei Beispiele zeigen, dass über indirekte Interaktionen des Rezeptors mit Gerüstproteinen eine wesentlich feinere Steuerung der Rezeptorverteilung möglich ist. Durch proteomische Analyse von AMPAR - Komplexen konnten weitere Bindungspartner identifiziert werden, die in unterschiedlichen Kombinationen mit AMPAR assoziiert sind (Schwenk et al., 2012; Schwenk et al., 2009). Die differenzielle Verteilung von AMPAR – Untereinheiten und assoziierter Proteine in verschiedenen Hirnregionen vermittelt ein sehr viel komplexeres Bild von der molekularen Konfiguration glutamaterger Synapsen. Funktionell ist die laterale Mobilität von AMPAR sowohl für kurzzeitige als auch für längerfristige Veränderungen der Synapse relevant.

Oberflächendiffusion von AMPAR als Variable synaptischer Plastizität

Die beispielhaft dargestellten Mechanismen der dynamischen Verteilung von AMPAR führen zu der Frage, inwieweit stochastische Veränderungen der Rezeptorpopulation die Plastizität der Synapse beeinflussen können. Postsynaptische Variablen der Kurzzeitplastizität sind die kinetischen Eigenschaften der AMPA-Rezeptoren, die durch die Assoziation mit akzessorischen Proteinen beeinflusst werden. In Synapsen mit hoher Freisetzungswahrscheinlichkeit sind AMPAR teilweise durch vorherige Stimulationen desensitisiert und tragen somit zur Verringerung der postsynaptischen Antwort bei. Eine artifizielle Immobilisierung der AMPAR während der wiederholten Benutzung der Synapse führt sogar zu einer noch stärkeren Depression der Synapse (Heine et al., 2008). Dies bedeutet, dass der laterale Austausch von Rezeptoren in der postsynaptischen Membran einen Teil der Depression kompensiert, indem aktivierbare gegen desensitisierte Rezeptoren ausgetauscht werden (Abbildung 3A, B). Die beschriebene Dissoziation zwischen Rezeptor und TARPy-2 könnte hier einen molekularen Mechanismus darstellen, wie über die schnelle Änderung von intrazellulären Bindungsaffinitäten der laterale Austausch der Rezeptoren induziert werden kann (siehe oben). Andere mit AMPAR assoziierte Proteine haben unterschiedlichen Einfluss auf die kinetischen Eigenschaften der Rezeptoren (von Engelhardt et al., 2010). Die Dynamik innerhalb der postsynaptischen Membran muss daher immer in Reflektion mit der molekularen Zusammensetzung betrachtet werden, welche sehr variabel in verschiedenen Hirnregionen ist (Schwenk et al., 2014).

Beitrag mobiler AMPAR zur Kurzzeitplastizität



Beitrag mobiler AMPAR zur Langzeitplastizität

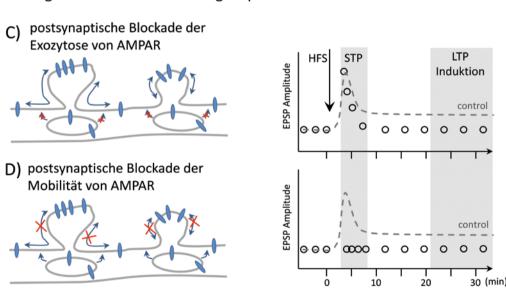


Abb. 3: Schematische Darstellung des Einflusses mobiler AMPAR auf die synaptische Plastizität. A) Dargestellt sind die kinetischen Zustände von AMPAR, wobei der desensitisierte Zustand der zeitlimitierende ist. Die Verweildauer im desensitisierten Zustand kann je nach Rezeptorzusammensetzung variieren und die Aktivierbarkeit der postsynaptischen AMPAR - Population beeinflussen. Die einzelnen Zustände sind: der geschlossene Rezeptor (C), der geöffnete Rezeptor nach Bindung von Glutamat (O) und der desensitisierte Rezeptor (D). Die lokale Dynamik der Rezeptoren erlaubt eine teilweise Kompensation der Akkumulation desensitisierter Rezeptoren während hochfrequenter Stimulation der Synapse. B) Die artifizielle Immobilisierung der AMPAR führt zu einer stärkeren Akkumulation von desensitisierten Rezeptoren in der postsynaptischen Membran, welche bei hochfrequenten Stimulationen der Synapse zur Verstärkung der Depression beiträgt, hier schematisch gezeigt für 50 Hz. Stimulationen im Frequenzbereich <5 Hz sind nicht von der Immobilisierung der AMPAR abhängig (modifiziert nach Heine et al. 2008). (C) Schematische Darstellung des Beitrags der Mobilität von AMPAR zur Langzeitpotenzierung in CA3-CA1 - Synapsen des Hippocampus. Durch die postsynaptische Blockade der Exocytose von AMPAR mittels Tetanus Toxin wird die Induktion der LTP verhindert, jedoch nicht die kurzzeitige posttetanische Potenzierung. D) Die globale Immobilisierung der AMPAR verhindert sowohl die posttetanische Potenzierung als auch die Induktion von LTP (modifiziert nach Penn et al. 2017).

Die Langzeitpotenzierung der synaptischen Transmission (LTP), postuliert als Prozess der Gedächtnisbildung, kann initial entweder durch eine Änderung der Freisetzungswahrscheinlichkeit von Transmitter-Vesikeln und/ oder eine postsynaptische Änderung der Anzahl, Leitfähigkeit und kinetischen Eigenschaften der Rezeptoren hervorgerufen werden. Die Veränderung der Anzahl von AMPAR ist vor allem über die Rekrutierung von Rezeptoren in die Synapse beschrieben worden. Bislang wurde hauptsächlich die lokale Exozytose intrazellulärer AMPAR in die postsynaptische Membran als molekularer Mechanismus aufgezeigt. Vorstellbar ist aber auch eine Veränderung der lokalen Anzahl von Rezeptoren durch die Rekrutierung von perisynaptischen AMPAR, die bereits in der Plasmamembran vorhanden sind. Extrasynaptische AMPAR sind mittels iontophoretischer oder photolytischer Applikation von Glutamat funktionell detektierbar (Liu et al., 1999). Mit der Markierung einzelner AMPAR konnte die extrasynaptische Population als eine sehr mobile Population von Rezeptoren nachgewiesen werden (Heine et al., 2008). Durch die direkte Manipulation des Rezeptorrecyclings (Endo-/ Exozytose) einerseits und der Verhinderung der lateralen Mobilität der AMPAR über Biotin-Avidin-vermittelte Vernetzung der Oberflächenpopulation andererseits, ist es gelungen, die zeitliche Abfolge der Rekrutierung von Rezeptoren in die Synapse darzustellen. Eine anhaltende Immobilisierung von AMPAR in der Zellmembran führt hier zur vollständigen Blockade der Induktion von LTP. Die Verhinderung der Exozytose von AMPAR durch die Perfusion der postsynaptischen Zelle mit Tetanus-Toxin hat zwar keine Wirkung auf die transiente posttetanische Potenzierung, verhindert aber die Induktion von LTP (Abbildung 3C, D). Weitere Variationen dieser zwei Experimente in verschiedenen experimentellen Systemen (kultivierter Hirnschnitt, akuter Hirnschnitt, in vivo) bestätigten, dass die laterale Mobilität der AMPAR essenziell für die Induktion von LTP ist. Tatsächlich konnte zudem durch die Verhinderung der lateralen Mobilität von AMPAR in vivo eine Blockade des Hippocampus-abhängigen Angstlernens in der initialen Phase erzielt werden (Penn et al., 2017). Somit ist die schnelle Umverteilung von Rezeptoren in der Zellmembran offensichtlich ein notwendiger Prozess, um auf akute Änderungen synaptischer Aktivität zu reagieren und ein "mobiles Gedächtnis" der Aktivität zu bewahren. Die Konfiguration der Rezeptorkomplexe aus verschiedenen Interaktionspartnern kann dieses "mobile Gedächtnis" entscheidend beeinflussen.

Oberflächendiffusion präsynaptischer Signalproteine

Anwendungen von lokalisationsmikroskopischen Methoden haben gezeigt, dass sich auch präsynaptische Signalmoleküle, wie spannungsabhängige Kalziumkanäle, SNARE-Proteine und Adhäsionsmoleküle diffus in der Membran bewegen (Bademosi et al., 2017; Fu und Huang, 2010; Neupert et al., 2015; Schneider et al., 2015). Welche Funktion dieser Dynamik für die Freisetzung von synaptischen Vesikeln zukommt, ist noch nicht gut erforscht. Es lässt sich aber spekulieren, dass die geringe Dichte von z. B. Kalziumkanälen in präsynaptischen Membranen eher für eine dynamische Lokalisation dieser Kanäle spricht. Ausschlaggebend für diese Interpretation ist die vielfach demonstrierte Notwendigkeit, dass Vesikel und Kalziumkanal in sehr enger Nachbarschaft zueinander stehen müssen, damit es zur Freisetzung fusionsbereiter Transmittervesikel kommt (<100 nm (Eggermann et al., 2012)). Die eher geringe Affinität vesikulärer Kalziumsensoren für freies intrazelluläres Kalzium, die durch das Aktionspotenzial definierte kurze Öffnungszeit des Kalziumkanals und die Kontrolle des intrazellulären Kalziums durch kalziumbindende Proteine definieren die räumlichen Dimensionen (Eggermann et al., 2012). Mobile Kanäle erlauben es, die räumliche Nähe von Kanal und Vesikel vorübergehend zu erreichen. Der zu Beginn erwähnte Einfluss der Postsynapse auf die Freisetzungswahrscheinlichkeit der Präsynapse ist Hinweis auf unterschiedliche Komplexe von Adhäsionsmolekülen, die an der lokalen Organisation präsynaptischer Kalziumkanäle (Missler et al., 2003; Sylwestrak und Ghosh, 2012) teilhaben. Eine weitere Stellschraube, um die Wahrscheinlichkeit der "transienten Kopplung" zwischen Kanal und Vesikel zu erhöhen, ist die direkte oder indirekte Interaktion der Kalziumkanäle mit Gerüstproteinen der aktiven Zone. Direkte Protein-Protein-Interaktionen des C-Terminus von Kalziumkanälen mit RIM und RIM Binding Protein (RBP) haben massiven Einfluss auf die Akkumulation und Positionierung von Kalziumkanälen (Acuna et al., 2016; Kaeser et al., 2011). Interaktionen dieser Proteine mit anderen Gerüstproteinen in der Zytomatrix der Präsynapse (Bassoon, Munc13, ELKS) sind ebenfalls beteiligt an der Positionierung und Rekrutierung der Kanäle (Biederer et al., 2017).

Die Beschreibung der lokalen Dichte von prä- (RIM) und postsynaptischen (PSD-95) Gerüstproteinen mit lokalisationsmikroskopischen Methoden (STORM/PALM) schlägt die Existenz von sogenannten Nanosäulen vor, die das Zusammenspiel von präsynaptischer Vesikelfreisetzung und postsynaptischer Rezeptordichte optimieren

(Tang et al., 2016). Diese Nanosäulen können als transmembranale Hindernisse und intrazelluläre Dockstation für diffundierende Kalziumkanäle dienen und so deren Aktionsradius definieren. Andererseits erlaubt die Beweglichkeit der Kanäle (Schneider et al. 2015), dass es individuelle Zusammentreffen von Kanal und fusionsbereitem Vesikel gibt. Die Zeitspanne dieser Zusammentreffen sollte direkten Einfluss auf die Anzahl von freizusetzenden Vesikeln haben. Die direkte Beobachtung von Vesikelfusionen innerhalb einer Präsynapse über die Zeit zeigte, dass die Lokalisation der Freisetzungsorte zwischen zwei Zeitpunkten sich immer ändert und so die Idee einer transienten Kopplung von Kanal und Vesikel unterstützt (Maschi und Klyachko, 2017; Tang et al., 2016).

Ein zusätzlicher Effekt einer transienten Kopplung von Kanal und Vesikel ist die geringe Anzahl von Kalziumkanälen in der präsynaptischen Membran. Induziert durch das Ruhemembranpotenzial sind ca. 50% der Kalziumkanäle inaktiviert, also nicht verfügbar. Eine stete Umordnung der Kanäle in der präsynaptischen Membran kann diesen Effekt teilweise kompensieren.

Ausblick

In den letzten Jahrzehnten wurde eine Vielfalt von synaptischen Proteinen beschrieben, die die große strukturelle Komplexität der Synapse bestimmen. Mit der Entwicklung neuer Mikroskopietechniken und molekularer Hilfsmittel wird immer deutlicher, dass die Zusammensetzung von Synapsen sehr heterogen ist. Die stochastische Dynamik von membranständigen Proteinen ist in der Synapse von besonderer Bedeutung, da hier viele verschiedene Proteine miteinander interagieren und aktivitätsbedingt variable Bindungsaffinitäten zueinander haben. Damit ist auf kleinsten Raum eine hohe Flexibilität möglich. Diese veränderliche Organisation der Synapse über die Zeit ist in der Etablierung und Reifung von Synapsen und während der Induktion von Plastizität wichtig. Bezüglich der neuesten Arbeiten über die Funktion mobiler AMPAR kann man davon ausgehen, dass Änderungen der Oberflächendynamik von Rezeptoren als "molekulares Gedächtnis" vorausgegangener synaptischer Aktivität angesehen werden können. Obwohl es nur für kurze Momente gespeichert wird, ist dies eine zeitliche Repräsentation vorausgegangener Aktivitätsmuster. Die Möglichkeit, in jedem Moment innerhalb einer sehr heterogenen Umgebung molekulare Konfigurationen und damit Synapsen zu ändern, kann den initialen Schritt für die Etablierung von Plastizität darstellen. Die weitere Erforschung der molekularen Dynamik von Synapsen wird helfen, die Plastizität in neuronalen Netzwerken besser zu verstehen. Ein weiterer Aspekt dieser Forschung liegt darin, die spezifische Expression von Molekülen in Hirnregionen zu nutzen, um lokale neurologische Störungen zu behandeln. Dies wurde kürzlich für das akzessorische AMPAR Protein TARPy-8 vorgeschlagen (Maher et al., 2017).

Danksagung: Wir möchten uns für die Korrektur und Kritik am Manuskript bei Dr. Ulrich Thomas, Jennifer Heck und Oliver Klatt bedanken. Des Weiteren bedanken wir uns bei Dr. A. Voigt für die Monte-Carlo-Simulationen des Diffusionsverhaltens einzelner Moleküle in der Membran. Beim Land Sachsen - Anhalt (Förderung durch EFRE-Mittel), dem CBBS, dem Leibniz-Institut für Neurobiologie (LIN) Magdeburg sowie der Schram-Stiftung danken wir für die finanzielle Unterstützung unserer Arbeit.

α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole

Abkürzungen

AMPAR

	, , ,
	propionic acid (AMPA) receptors
Cornichon	CNIHs sind kleine, drei transmembranale
	Domainen besitzende Proteine und binden
	direkt an AMPAR
CKAMP44	Cysteine-Knoten AMPAR modulierendes
	Protein 44, wird der Shisa-Proteinfamilie
	zugerechnet
ELKS	Protein reich an den Aminosäuren E, L, K
	and S
GPI-GFP	GGlycosylphosphatidylinositol –
0	gekoppeltes grün fluoreszierendes Protein,
	genutzt als Reporter der Beweglichkeit von
	Lipiden in der äußeren Lipidschicht von
	Membranen
LTP	Langzeitpotenzierung
Munc13	9 ,
Munc13	Primingfaktor für die Fusion von
	synaptische Vesikeln
NMDAR	N-methyl-D-aspartate receptor
PDZ	PSD-95/discs large/zonula occludens-1
PSD-95	postsynaptic density protein 95, which has
	three PDZ-domains and a MAGUK-domain
	(membrane-associated guanylate kinase)
RIM	RAB interacting molecule
RIM binding protein	RAB interacting molecule binding protein
SNARE	soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor
	attachment receptor
Shisa	single-transmembrane proteins is charac-

terized by an N-terminal cysteine-rich

domain and a proline-rich C-terminal region

TARP

transmembrane AMPA receptor regulatory proteins, zu Typ I TARPs gehören die Untereinheiten y2 (Stargazin), y3, y4, and y8, zu den Typ II TARPs die Untereinheiten γ5 and γ7

Literatur

- Abbott, L. F. and Regehr, W. G. (2004). Synaptic computation. Nature 431, 796-803.
- Acuna, C., Liu, X. and Sudhof, T. C. (2016). How to Make an Active Zone: Unexpected Universal Functional Redundancy between RIMs and RIM-BPs. Neuron 91, 792-807.
- Attardo, A., Fitzgerald, J. E. and Schnitzer, M. J. (2015). Impermanence of dendritic spines in live adult CA1 hippocampus. Nature 523, 592-596.
- Atwood, H. L. and Bittner, G. D. (1971). Matching of excitatory and inhibitory inputs to crustacean muscle fibers. J. Neurophysiol. 34, 157-170,
- Bademosi, A. T., Lauwers, E., Padmanabhan, P., Odierna, L., Chai, Y. J., Papadopulos, A., Goodhill, G. J., Verstreken, P., van Swinderen, B. and Meunier, F. A. (2017). In vivo single-molecule imaging of syntaxin1A reveals polyphosphoinositide- and activity-dependent trapping in presynaptic nanoclusters. Nat. Commun. 8, 13660.
- Bao, J., Reim, K. and Sakaba, T. (2010). Target-dependent feedforward inhibition mediated by short-term synaptic plasticity in the cerebellum. J. Neurosci. 30, 8171-8179.
- Bats, C., Groc, L. and Choquet, D. (2007). The interaction between Stargazin and PSD-95 regulates AMPA receptor surface trafficking. Neuron 53, 719-734.
- Biederer, T., Kaeser, P. S. and Blanpied, T. A. (2017). Transcellular Nanoalignment of Synaptic Function. Neuron 96, 680-696.
- Biermann, B., Sokoll, S., Klueva, J., Missler, M., Wiegert, J. S., Sibarita, J. B. and Heine, M. (2014). Imaging of molecular surface dynamics in brain slices using single-particle tracking. Nat. Commun. 5, 3024.
- Branco, T., Staras, K., Darcy, K.J. and Goda, Y. (2008). Local dendritic activity sets release probability at hippocampal synapses. Neuron 59, 475-485.
- Carroll, R. C., Beattie, E. C., Xia, H., Luscher, C., Altschuler, Y., Nicoll, R. A., Malenka, R. C. and von Zastrow, M. (1999). Dynamindependent endocytosis of ionotropic glutamate receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 14112-14117.
- Celebrano, M., Kukura, P., Renn, A. and Sandoghdar, V. (2011). Single-molecule imaging by optical absorption. Nat. Photonics
- Chen, L., Chetkovich, D. M., Petralia, R. S., Sweeney, N. T., Kawasaki, Y., Wenthold, R.J., Bredt, D.S. and Nicoll, R.A. (2000). Stargazin regulates synaptic targeting of AMPA receptors by two distinct mechanisms. Nature 408, 936-943.
- Constals, A., Penn, A. C., Compans, B., Toulme, E., Phillipat, A., Marais, S., Retailleau, N., Hafner, A. S., Coussen, F., Hosy, E. et al. (2015). Glutamate-Induced AMPA Receptor Desensitization Increases Their Mobility and Modulates Short-Term Plasticity through Unbinding from Stargazin. Neuron 85, 787-803.

- Diamond, J. S. and Jahr, C. E. (1997). Transporters buffer synaptically released glutamate on a submillisecond time scale. J. Neurosci. 17, 4672-4687.
- Domanov, Y. A., Aimon, S., Toombes, G. E., Renner, M., Quemeneur, F., Triller, A., Turner, M. S. and Bassereau, P. (2011). Mobility in geometrically confined membranes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108, 12605-12610.
- Eggermann, E., Bucurenciu, I., Goswami, S. P. and Jonas, P. (2012). Nanodomain coupling between Ca(2)(+) channels and sensors of exocytosis at fast mammalian synapses. Nat. Rev. Neurosci.
- Engert, F. and Bonhoeffer, T. (1999). Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. Nature 399, 66-70.
- Fu, Y. and Huang, Z. J. (2010). Differential dynamics and activitydependent regulation of alpha- and beta-neurexins at developing GABAergic synapses. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107, 22699-22704.
- Gulyas, A. I., Megias, M., Emri, Z. and Freund, T. F. (1999). Total number and ratio of excitatory and inhibitory synapses converging onto single interneurons of different types in the CA1 area of the rat hippocampus. J. Neurosci. 19, 10082-10097.
- Heine, M., Groc, L., Frischknecht, R., Beique, J. C., Lounis, B., Rumbaugh, G., Huganir, R. L., Cognet, L. and Choquet, D. (2008). Surface mobility of postsynaptic AMPARs tunes synaptic transmission. Science 320, 201-205.
- Hoze, N., Nair, D., Hosy, E., Sieben, C., Manley, S., Herrmann, A., Sibarita, J. B., Choquet, D. and Holcman, D. (2012). Heterogeneity of AMPA receptor trafficking and molecular interactions revealed by superresolution analysis of live cell imaging. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109, 17052-17057.
- Kaeser, P. S., Deng, L., Wang, Y., Dulubova, I., Liu, X., Rizo, J. and Sudhof, T. C. (2011). RIM proteins tether Ca2+ channels to presynaptic active zones via a direct PDZ-domain interaction. Cell 144, 282-295.
- Kerchner, G. A. and Nicoll, R. A. (2008). Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. Nat. Rev. Neurosci. 9, 813-825.
- Kim, C. H., Takamiya, K., Petralia, R. S., Sattler, R., Yu, S., Zhou, W., Kalb, R., Wenthold, R., Huganir, R. and M-334* (2005). Persistent hippocampal CA1 LTP in mice lacking the C-terminal PDZ ligand of GluR1. Nat. Neurosci. 8, 985-987.
- Kittler, J. T. and Moss, S. J. (2003). Modulation of GABAA receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition. Curr. Opin. Neurobiol. 13, 341-347.
- Lasne, D., Blab, G. A., Berciaud, S., Heine, M., Groc, L., Choquet, D., Cognet, L. and Lounis, B. (2006). Single nanoparticle photothermal tracking (SNaPT) of 5-nm gold beads in live cells. Biophys. J. 91, 4598-4604.
- Liu, G., Choi, S. and Tsien, R. W. (1999). Variability of neurotransmitter concentration and nonsaturation of postsynaptic AMPA receptors at synapses in hippocampal cultures and slices. Neuron 22, 395-409.
- Luscher, C., Xia, H., Beattie, E. C., Carroll, R. C., von Zastrow, M., Malenka, R. C. and Nicoll, R. A. (1999). Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity. Neuron 24, 649-658.

- Maher, M. P., Matta, J. A., Gu, S., Seierstad, M. and Bredt, D. S. (2017). Getting a Handle on Neuropharmacology by Targeting Receptor-Associated Proteins. Neuron 96, 989-1001.
- Markram, H., Wang, Y. and Tsodyks, M. (1998). Differential signaling via the same axon of neocortical pyramidal neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 5323-5328.
- Maschi, D. and Klyachko, V. A. (2017). Spatiotemporal Regulation of Synaptic Vesicle Fusion Sites in Central Synapses. Neuron 94, 65-73 e63.
- Megias, M., Emri, Z., Freund, T. F. and Gulyas, A. I. (2001). Total number and distribution of inhibitory and excitatory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. Neuroscience 102,
- Missler, M., Zhang, W., Rohlmann, A., Kattenstroth, G., Hammer, R. E., Gottmann, K. and Sudhof, T. C. (2003). Alpha-neurexins couple Ca2+ channels to synaptic vesicle exocytosis. Nature 423, 939-948.
- Nakada, C., Ritchie, K., Oba, Y., Nakamura, M., Hotta, Y., Iino, R., Kasai, R. S., Yamaguchi, K., Fujiwara, T. and Kusumi, A. (2003). Accumulation of anchored proteins forms membrane diffusion barriers during neuronal polarization. Nat. Cell Biol. 5, 626-632.
- Neupert, C., Schneider, R., Klatt, O., Reissner, C., Repetto, D., Biermann, B., Niesmann, K., Missler, M. and Heine, M. (2015). Regulated Dynamic Trafficking of Neurexins Inside and Outside of Synaptic Terminals. J. Neurosci. 35, 13629-13647.
- Opazo, P., Labrecque, S., Tigaret, C. M., Frouin, A., Wiseman, P. W., De Koninck, P. and Choquet, D. (2010). CaMKII triggers the diffusional trapping of surface AMPARs through phosphorylation of stargazin. Neuron 67, 239-252.
- Penn, A. C., Zhang, C. L., Georges, F., Royer, L., Breillat, C., Hosy, E., Petersen, J. D., Humeau, Y. and Choquet, D. (2017). Hippocampal LTP and contextual learning require surface diffusion of AMPA receptors. Nature 549, 384-388.
- Pouille, F. and Scanziani, M. (2004). Routing of spike series by dynamic circuits in the hippocampus. Nature 429, 717-723.
- Renner, M., Wang, L., Levi, S., Hennekinne, L. and Triller, A. (2017). A Simple and Powerful Analysis of Lateral Subdiffusion Using Single Particle Tracking. Biophys. J. 113, 2452-2463.
- Ritchie, K. and Kusumi, A. (2003). Single-particle tracking image microscopy. Methods Enzymol. 360, 618-634.
- Schneider, R., Hosy, E., Kohl, J., Klueva, J., Choquet, D., Thomas, U., Voigt, A. and Heine, M. (2015). Mobility of calcium channels in the presynaptic membrane. Neuron 86, 672-679.
- Schwenk, J., Baehrens, D., Haupt, A., Bildl, W., Boudkkazi, S., Roeper, J., Fakler, B. and Schulte, U. (2014). Regional diversity and developmental dynamics of the AMPA-receptor proteome in the mammalian brain. Neuron 84, 41-54.
- Schwenk, J., Harmel, N., Brechet, A., Zolles, G., Berkefeld, H., Muller, C. S., Bildl, W., Baehrens, D., Huber, B., Kulik, A. et al. (2012). High-resolution proteomics unravel architecture and molecular diversity of native AMPA receptor complexes. Neuron 74, 621-633.
- Schwenk, J., Harmel, N., Zolles, G., Bildl, W., Kulik, A., Heimrich, B., Chisaka, O., Jonas, P., Schulte, U., Fakler, B. et al. (2009). Functional proteomics identify cornichon proteins as auxiliary subunits of AMPA receptors. Science 323, 1313-1319.
- Shi, S., Hayashi, Y., Esteban, J. A. and Malinow, R. (2001). Subunitspecific rules governing AMPA receptor trafficking to synapses in hippocampal pyramidal neurons. Cell 105, 331-343.

- Sylwestrak, E. L. and Ghosh, A. (2012). Elfn1 regulates target-specific release probability at CA1-interneuron synapses. Science 338, 536-540.
- Tang, A. H., Chen, H., Li, T. P., Metzbower, S. R., MacGillavry, H. D. and Blanpied, T. A. (2016). A trans-synaptic nanocolumn aligns neurotransmitter release to receptors. Nature 536, 210-214.
- Thomas, P. and Smart, T. G. (2006). Receptor Dynamics at the Cell Surface Studied Using Functional Tagging. In The Dynamic Synapse: Molecular Methods in Ionotropic Receptor Biology, Kittler, J. T. and Moss, S. J., eds. (Boca Raton (FL)).
- Tovar, K. R. and Westbrook, G. L. (1999). The incorporation of NMDA receptors with a distinct subunit composition at nascent hippocampal synapses in vitro. J. Neurosci. 19, 4180-4188.
- Tran-Van-Minh, A., Caze, R. D., Abrahamsson, T., Cathala, L., Gutkin, B. S. and DiGregorio, D. A. (2015). Contribution of sublinear and supralinear dendritic integration to neuronal computations. Front. Cell. Neurosci. 9, 67.
- Trimble, W. S. and Grinstein, S. (2015). Barriers to the free diffusion of proteins and lipids in the plasma membrane. J. Cell Biol. 208, 259-271.
- von Engelhardt, J., Mack, V., Sprengel, R., Kavenstock, N., Li, K. W., Stern-Bach, Y., Smit, A. B., Seeburg, P. H. and Monyer, H. (2010). CKAMP44: a brain-specific protein attenuating short-term synaptic plasticity in the dentate gyrus. Science 327, 1518-1522.
- Winckler, B., Forscher, P., Mellman, I. and M-253* (1999). A diffusion barrier maintains distribution of membrane proteins in polarized neurons. Nature 397, 698-701.
- Xu, K., Zhong, G. and Zhuang, X. (2013). Actin, spectrin, and associated proteins form a periodic cytoskeletal structure in axons. Science 339, 452-456.
- Young, S. H. and Poo, M. M. (1983). Rapid lateral diffusion of extrajunctional acetylcholine receptors in the developing muscle membrane of Xenopus tadpole. J. Neurosci. 3, 225-231.
- Zucker, R. S. and Regehr, W. G. (2002). Short-term synaptic plasticity. Annu. Rev. Physiol. 64, 355-405.

Anmerkung: Englische Version des Artikels online verfügbar unter https://doi.org/10.1515/nf-2017-A042

Autoreninformationen



Dr. Martin Heine

Leibniz-Institut für Neurobiologie, Forschungsgruppe "Molekulare Physiologie", Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Deutschland; Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Center for Behavioral Brain Sciences, 39120 Magdeburg, Deutschland

E-Mail: mheine@lin-magdeburg.de

Martin Heine studierte Biologie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena. In seiner Doktorarbeit an der Georg-August-Universität Göttingen untersuchte er im Labor von Prof. D.W. Richter die Verteilung von Serotonin-Rezeptoren und deren Einfluss auf die dendritische Signalverarbeitung in CA1 - Neuronen des Hippocampus. Nach

dem Abschluss der Doktorarbeit 2002 wechselte er in die Gruppe von Prof. D. Choquet an der Universität Bordeaux (Frankreich). Hier untersuchte Martin Heine die funktionellen Konsequenzen der Oberflächendynamik von AMPA-Rezeptoren in der neuronalen Membran. Ende 2007 begann Martin Heine in der Abteilung für Neurochemie von Prof. E. Gundelfinger am Leibniz-Institut für Neurobiologie in Magdeburg zu arbeiten. Hier ist er seit 2009 Leiter der Forschungsgruppe "Molekulare Physiologie". Das Hauptinteresse der Arbeitsgruppe liegt in der Erforschung dynamischer Interaktionen von Adhäsionsproteinen und Ionenkanälen in der neuronalen Membran. Dabei wird vordergründig die funktionelle Bedeutung der lateralen Mobilität dieser Moleküle in Synapsen und neuronalen Netzwerken untersucht.



Dr. Arthur Bikbaev Leibniz-Institut für Neurobiologie, Forschungsgruppe "Molekulare Physiologie", Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Deutschland E-Mail: abikbaev@lin-magdeburg.de

Arthur Bikbaev studierte Biologie an der Bashkir State Universität in Ufa (Rußland). In seiner Doktorarbeit an der Bashkir State Universität Ufa und der Lomonosov-Universität in Moskau untersuchte er die pathogenen Mechanismen von Schläfenlappen- und Absenzenepilepsie. Nach der Verteidigung seiner Doktorarbeit, wechselte er in die Gruppe von Prof. D. Manahan-Vaughan an die Ruhr-Universität Bochum. Hier untersuchte er die Wirkung hippocampaler synaptischer Plastizität auf Netzwerk-Oszillationen in vivo. Arthur begann 2009 in der Gruppe von Dr. M. Heine, die Entwicklung und Konnektivität in neuronalen Netzwerken in vitro zu untersuchen. Hier arbeitet er vorrangig an der Analyse der Informationsverarbeitung in neuronalen Netzwerken.

Martin Heine* and Arthur Bikbaev

Molecular dynamics of neuronal information transfer

https://doi.org/10.1515/nf-2017-A042

Abstract: A detailed analysis of synapses as connecting elements between neurons is of central importance to understand the brain's cognitive performance and its constraints. Nowadays, state-of-the-art optical methods make possible to localize individual molecules in a living cell. In particular, the dynamics of molecular composition can be evaluated in smallest neuronal compartments, such as pre- and postsynaptic membrane. The monitoring of the distribution of receptors, ion channels, and adhesion molecules over time revealed their continuous stochastic motion. This is surprising, since the synapses are considered as accumulation sites anchoring these molecules. The direct manipulation of the lateral dynamics of glutamate receptors, in combination with classical electrophysiological approaches, demonstrated that such molecular dynamics is necessary for the induction of synaptic plasticity and, in turn, is influenced by synaptic activity. Therefore, the molecular dynamics requires further studies in the context of the brain function in health and disease.

Keywords: Synapse, surface mobility, synaptic transmission, plasticity

Introduction

A fascinating feature of the brain is the ability to extract from an ever-changing flow of sensory stimuli an information, which is biologically relevant for a given organism. On one hand, the experience can be stored for future reference as a memory trace, which can later be modified by subsequent meaningful events, thus evolve over time. On the other hand, brain has to retain the ability to trigger quick immediate responses to environmental stimuli.

Such a wide spectrum of responsiveness in various time scales is an attribute of neuronal networks, in which the neuronal excitability and synaptic contacts between individual neurons play a crucial role. Neurons, together with glial cells, are the building blocks of neuronal networks. Being embedded in the network, each neuron receives signals from many other neurons via synaptic inputs, which are located on the soma, but mostly on the extensively branching processes called dendrites. For instance, a pyramidal cell in the CA1 region of the rat hippocampus was found to have up to 30,000 glutamatergic (excitatory) and 1,700 GABAergic (inhibitory) synaptic contacts distributed along dendritic branches of total length approx. 12,000 µm (Megias et al., 2001). Therefore, a meaningful integration of incoming stimuli represents a daunting challenge, with the strength of individual synapses and their localization being essential parameters. Inhibitory synapses are mainly located in proximal dendrites that are closer to the soma and axonal hillock, whereas excitatory synapses are distributed along both proximal and distal dendrites (Gulyas et al., 1999; Megias et al., 2001).

Dendritic structures can powerfully influence the integration of synaptic information via various mechanisms. The electric properties of dendritic membrane and different expression of voltage-dependent ion channels along the dendritic arbour can either amplify, or attenuate the somatodendritic representation of individual synapses (Tran-Van-Minh et al., 2015). However, the directed transfer of information in the neuronal networks is determined primarily by the strength and the frequency of synaptic activation. Short repetitive activation of a synapse can lead either to facilitation, or to depression of synaptic transmission that occur within a few milliseconds to seconds. Depending on the pattern of activity, this can result in long-term changes in the efficacy of synaptic transmission that can last for minutes and hours. The mechanisms that can change the properties of synaptic transmission in such a short time window are predominantly presynaptic and involve the accumulation of calcium in presynaptic terminal, reduction in ready releasable pool and retrograde signalling. However, postsynaptic mechanisms, such as desensitization or saturation of postsynaptic receptors, can also play a role (Zucker and Regehr, 2002). Rapid activity-dependent alterations at synaptic level

^{*}Corresponding author: Martin Heine, Research Group "Molekular Physiology" at Leibniz Institute for Neurobiology Magdeburg, Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Germany; Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Center for Behavioral Brain Sciences, 39120 Magdeburg, Germany, Mail: mheine@lin-magdeburg.de

Arthur Bikbaev, Research Group "Molekular Physiology" at Leibniz Institute for Neurobiology Magdeburg, Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Germany, Mail: abikbaev@lin-magdeburg.de

are an important variable for storage of activity changes over time and the short-term memory (Abbott and Regehr, 2004). Synaptic changes that occur over longer time intervals are often dominated by postsynaptic mechanisms, but can also be mediated by persistent alteration in the presynaptic neurotransmitter release. The long-term functional changes are often accompanied by structural modification of synaptic contacts and considered as cellular correlate of learning and memory formation. Notably, the transition between short-term and persistent changes in the synaptic connectivity is gradual.

In early studies, it was observed that the direction of short-term plasticity, such as facilitation or depression, depends on the postsynaptic cell, which determines the temporal integration of synaptic activity. This was demonstrated first in crustacean motor neurons, where synapses originating from the same neural fibre show different short-term plasticity at different muscle fibres (Atwood and Bittner, 1971). Later, similar observations were made in primary neuronal cultures and in mammalian brain (Bao et al., 2010; Branco et al., 2008; Markram et al., 1998; Pouille and Scanziani, 2004), where terminals of one pyramidal cell contacting different populations of neurons showed distinct short-term plasticity that varied among postsynaptic targets. Furthermore, the localization, as well as the molecular composition, of the synapse are crucial for its function. These two parameters were considered for a long time as a very stable element of neuronal networks. However, the kinetic properties of ion channels and ionotropic receptors, the specificity of adhesion molecules and synaptic modulation by metabotropic receptors provide a plethora of potential mechanisms to explain the synaptic plasticity. The observations of persistent synaptic turnover (Attardo et al., 2015; Engert and Bonhoeffer, 1999) that depends upon the exchange (recycling) of membrane-associated receptors (Kerchner and Nicoll, 2008; Kittler and Moss, 2003) gave a decisive impulse to postulate the importance of the molecular dynamics as a variable influencing both synaptic plasticity and integrity of neuronal networks. First of all, manipulation with dynamic processes in the postsynaptic membrane of glutamatergic synapses revealed that local endo/exocytosis of AMPA receptors, as well as their lateral diffusion and distribution in the membrane, substantially influence the synaptic plasticity (Carroll et al., 1999; Heine et al., 2008; Luscher et al., 1999; Penn et al., 2017). In the following sections, the surface diffusion of synaptic signalling molecules and its recently shown key role in synaptic plasticity will be reviewed in detail.

Methods of measuring the molecular mobility in the membrane

The activity and distribution of single molecules can be evaluated using electrophysiological and optical methods. The knowledge of kinetic parameters is a prerequisite for electrophysiological approach, while imaging requires the specific tagging of molecules with optically detectable particles. The electrophysiological methods utilise the kynetic properties of ion channels and ionotropic receptors and thus are applicable to electrically active proteins, whereas optical methods can be applied to virtually any molecule.

Electrophysiologically, mobile receptor populations can be identified by means of pharmacological isolation. This method, known as functional tagging, was first employed for analysis of local exchange of NMDA receptors (NMDARs) in glutamatergic synapses (Tovar and Westbrook, 1999). During evoked or spontaneous activity, synaptic NMDARs can be irreversibly blocked by MK801. After washout of unbound MK801, the remaining NMDAR-mediated currents reflect the replacement of blocked receptors by naïve receptors from extrasynaptic locations. It was found that the recovery of NMDAR-mediated currents can be measured already within a few minutes after treatment. Ongoing parallel processes, such as endocytosis and exocytosis, are substantially slower and require more than an hour. Thus, the lateral exchange of membrane-integrated NMDARs is a dominant mechanism for the fast recovery of NMDA currents. However, the contribution of naïve receptors newly inserted into the membrane cannot be ruled out completely. Similar strategies have been develooped for specific populations of AMPA and GABA, receptors (Thomas and Smart, 2006).

Optical methods enable the monitoring of both populations and single molecules. For optical tagging, molecules need to be equipped with fluorescent particles, which absorb light and emit a specific fluorescence. There is also a possibility to employ other imaging approcahes, e.g. using small gold particles that utilize the changes in the absorption or in the local refractive index (Celebrano et al., 2011; Lasne et al., 2006; Ritchie and Kusumi, 2003).

The first proof of the mobility of synaptic receptors was obtained in FRAP (fluorescence recovery after photobleach) experiments. The time course of recovery of fluorescence intensity in the bleached region allows to directly estimate the mobile fraction of tagged molecules, and can be used for analysis of diffusion properties. For example, the local diffusion of acetylcholin receptors in the postsynaptic membrane of neuromuscular junction was monitored in clawed frog tadpoles using fluorescently tagged α-bungarotoxin (Young and Poo, 1983). The development of genetically encoded pH-sensitive fluorophores (e.g., pHluorin) made possible the direct visualization of surface molecules in the membrane. The pH-sensitivity of the fluorophore allows to distinguish the receptors in the membrane from those located in vesicles, which substantially simplifies the specific analysis of receptors' mobility in the membrane. However, expression of transgenic fluorescently tagged receptors can potentially lead to their competition with endogenous receptor population. As a consequence, the tagged receptor-based dynamics in FRAP experiments often exceeds the actual mobility of endogenous receptors.

In contrast, the direct monitoring of single endogenous molecules is much more informative. The individual motion of molecules can give an idea about their dwell time and density distribution in the membrane. This becomes particularly relevant when the location of individual molecules is important for their function, which was shown for the vesicular release of neurotransmitter. Activation of several, in extreme case a single, calcium channels is sufficient to trigger the release of one vesicle in a close (20–50 nm) proximity (Eggermann et al., 2012). Given the spatial dimension of most synapses, with a diameter of active zone in the range of 300-500 nm, molecular motions can be relevant in influencing the properties of synaptic transmission. The typical values of diffusion constants (0.005-0.5 µm²/s) mean a potential displacement for approx. 10-100 nm in 10 ms. The number of voltage-gated calcium channels (VGCCs), adhesion molecules and receptors for cortical synapses (e.g., hippocampal CA3-CA1 synapse) is between 10-150 molecules. The question is how the density of molecules restricts their mobility.

The visualization of local distribution and motion in membrane compartments like synapses requires the direct detection of single molecules over time. In this context, the emission properties of the fluorophore, size, the affinity and valence of binding to the ligand (e.g., primary antibodies, nanobodies), as well as the tagging density are crucial parameters. Beside correlation fluorescent microscopy, camera-based detection of single molecules over time (single particle tracking, SPT) is the most widely applied technique. The local fluorescence maximum (centroid) allows to define the location of the fluorophore with a precision of 10-40 nm (Figure 1A). Once the localisation is performed for single images, the positions of individual fluorophores can be connected over time (at frame rate) to create their trajectories (motion paths) (Figure 1B). The frame rate for representation of diffusive motion depends upon the number of emitted photons per time unit,

which determines the localisation precision for individual fluorophores. In experiments with living cells, one should find a compromise between the strength of light illumination, phototoxicity for the cell and precision of measurements. Therefore, individual trajectories often provide only a rough estimate of the reality (Figure 1C). The following analysis of these trajectories involves calculation of the mean square displacement (MSD) and enables to characterise the type of motion (free diffusion, restricted diffusion, etc.), explored surface and the diffusion coefficients (Figure 1D, E). Depending upon the used fluorophore, molecules can be monitored for a few seconds (single fluorescent dyes) or for several minutes (quantum dots). Later, the changes in diffusive behaviour can be directly correlated with the position in the membrane (Figure 2). Individual molecular interactions are often very transient and, due to limited temporal resolution, cannot be observed directly. Further statistical analysis based on the displacement of a molecule between two time points allows to estimate, regardless of individual observation periods, the dwell time and surface density of molecules within small membrane compartments (Hoze et al., 2012; Renner et al., 2017).

Cellular membrane as a dynamic compartment

In conjunction with the insulating properties of cellular membrane, the specific distribution of ion channels is critical for electrical activity of neurons. Apart from that, the thermal energy stored in biological membranes causes the permanent Brownian molecular motion of both lipids and the membrane-embedded proteins. The maintenance of local differences in density of ion channels, for instance in the synaptic membrane or in axon hillock, depends on their anchoring and the existing diffusion barriers in the membrane. Therefore, the diffusive behaviour of individual molecules in the cellular membrane is very irregular and influenced by direct and indirect interactions with neighbouring molecules. Here, the lateral interactions within the membrane, as well as vertical interactions with membrane-associated structures on the inner and outer leaflet of the membrane, play a dominant role. The liberty of lateral mobility within cellular membrane is determined by the density of integral protein complexes and the local lipid composition of the membrane. An impressive example of inhomogeneous membrane organisation is the axonal initial segment (AIS). With its very high density of ion channels, AIS acts as initiation area of the action poten-

Analysis of the surface diffusion of membrane associated molecules

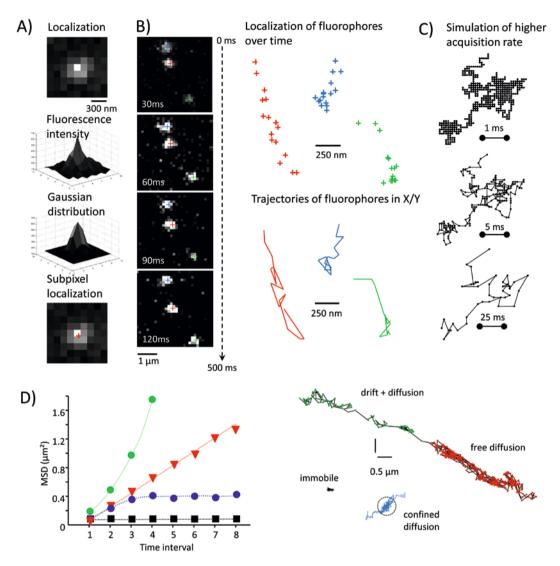


Fig. 1: Analysis of molecular mobility in the cellular membrane with Single Particle Tracking (SPT). A) Shown are the steps needed to localize the fluorophore in the plane of the picture. B) Time series for three fluorophores allow to create localisation maps, as well as trajectories of individual molecules over time. Those trajectories can be used for further analysis of the diffusive behaviour of the molecule and the explored surface. C) Simulation of a higher acquisition rate illustrates the improved representation of the explored surface over time. Following parameters were used: 1 s total acquisition time at acquisition rates of 25, 100, and 200 frames per second, the diffusion coefficient was set to $0.2 \, \mu \text{m}^2/\text{s}$. D) The quantification of diffusion coefficient and diffusion behaviour can be based on the calculation of the mean square displacement (MSD) over time interval. The deviation from free Brownian diffusion can be clearly visualised by the plot of the MSD versus time. Free Brownian diffusion (red), diffusion plus direct motion (green), confined diffusion (blue) and immobile particle (black) are depicted, with examples of trajectories along neurites represented in the corresponding colours.

tial, as well as diffusion barrier between somatodendritic and axonal compartments (Nakada et al., 2003; Winckler et al., 1999). Being present in all tubular processes of a neuron, cytoskeleton is built by actin rings that are bound via link protein adducin to spectrin filaments laid along the axon (Xu et al., 2013). In AIS, cytoskeleton serves as an anchor for scaffold proteins such as Ankyrin-G and

thereby acts as an aggregation point for ion channels. In addition to the complexity of membrane composition, the tubular geometry of the membrane in neurites has impact on the diffusive motion of molecules (Domanov et al., 2011). The thinner neuronal processes are, the more restricted is the diffusion of membrane-associated molecules, which is particularly pronounced in thin post-

Single Particel Tracking in cultured brain slices

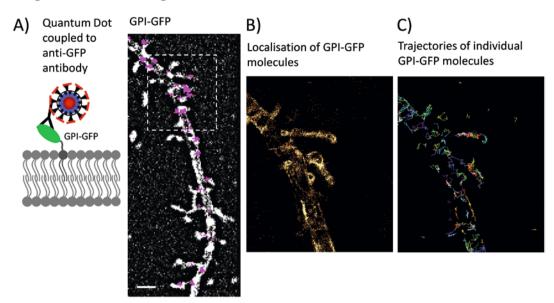


Fig. 2: Single Particle Tracking (SPT) in cultured brain slices. A) A schematic representation of surface molecule GPI-GFP, labelled with an anti-GFP antibody-coupled quantum dot (QD). QDs have several advantages that make them particularly interesting for SPT in cultured brain slices, namely their bright fluorescence, blinking emission and the broad excitation spectrum. These properties allow to detect QDs in the optically heterogeneous environment of a brain slice, to identify single QDs by their blinking emission and to reduce the impact of auto fluorescence in the preparation due to the large Stokes shift between excitation and emission of QDs. B) Position of single QDs (magenta) in the background image of a dendrite transfected with GPI-GFP. The tracking of individual QDs over time allows the reconstruction of the membrane outline through pooling the individual positions over time (here: 1000 frames within 30 s). C) Reconstruction of trajectories is often complicated due to the blinking of the QDs and the crossover of neighbouring particles in the plane of view. For further information, see (Biermann et al., 2014).

synaptic spine necks. Further factors contributing to the non-uniform distribution of membrane proteins include local endo/exocytosis and formation of transmembrane protein clusters, interaction with extracellular matrix and electrostatic interactions (Trimble and Grinstein, 2015). The mobility of transmembrane proteins can be also influenced by the structure of the membrane itself and presence of membrane-associated structures on the surface.

Dynamics of postsynaptic signalling proteins

The dynamic distribution of receptors in the postsynaptic membrane was found equally important for the efficacy of information transfer in inhibitory and excitatory synapses. The mobility of receptors in glutamatergic synapses was studied most extensively, thus will be described further in detail.

Starting from the release of the glutamate into synaptic cleft, the diffusion of glutamate in extracellular space

determines its signalling action as neurotransmitter. The release of one vesicle of glutamate is effective for signalling function within approx. 100 µs primarily due to low affinity of AMPA receptors (AMPARs) to glutamate. Depending on the composition, the EC₅₀ value of AMPARs for glutamate is between 0.5-2.0 mM. This means that AMPARs within a radius of approx. 100 nm can be activated upon release of single vesicle, which contains 2,000-5,000 glutamate molecules (Diamond and Jahr, 1997). In turn, the spatial arrangement, density and composition of postsynaptic AMPARs define the amplitude of postsynaptic current response. Since we focus here on the lateral mobility of molecules in the membrane, several questions may arise. How many receptors will be activated upon release of one vesicle with neurotransmitter? How stable is anchoring of receptors in the membrane? How the local density of receptors in the synapse can be modulated?

Synaptic structures seen in electron microscopic images suggest that stochastic motion of postsynaptic signalling proteins should be massively arrested due to their interconnections with membrane-associated scaffold proteins and the cytoskeleton. However, the intensive studies of the transport and the lateral diffusion of AM-PARs revealed the fluctuation of receptors and associated signalling molecules as a central mechanism of synaptic plasticity. The analysis of lateral diffusion of receptors and lipids shows that diffusive behaviour of membrane-integrated molecules changes between free and restricted motion. For the receptors, such "stop and go" pattern potentially reflects their association/dissociation with intracellular scaffold proteins. AMPARs are accumulated in the synapse primarily through binding to PSD-95. In inhibitory GABAergic and glycinergic synapses, gephyrin plays similar role as central scaffold protein. Previously, the C-terminal binding motifs of individual AMPAR subunits to PSD-95 (C-terminal PDZ binding motif) were proposed as a basis of their direct interaction (Shi et al., 2001). However, these interactions of the receptor subunits with PSD-95 are too weak and could not fully explain stabilization of AMPARs upon induction of long-term synaptic plasticity (Kim et al., 2005). Instead, it appeared that synaptic anchoring of receptors can be mediated by other binding partners. Indeed, the discovery of receptor-associated proteins like TARPs (transmembrane AMPA receptor regulatory proteins), CKAMP44 (cysteine-knot AM-PAR modulating protein 44), Shisa and Cornichon shed new light on the molecular organisation of postsynaptic membrane. These molecules are necessary for the intracellular transport of AMPARs to membrane and mediate their anchoring to scaffold proteins. Owing to the half-life of individual receptors or receptor-associated molecules, their stabilization in the synapse can last only for a short time. Thus, the transient interaction of receptors and associated proteins is an essential part of synaptic function and plasticity. Furthermore, the observation of individual receptors in the active synapse enables to better understand the temporal encoding of plasticity as a sequence of molecular interactions. In various studies of the function of TARPs, such flexible interactions were demonstrated in different time intervals.

Stargazin (TARPy-2), which was originally described as auxiliary y subunit of VGCCs (mice with stargazin mutation have characteristic stargazing posture), is important for the trafficking, synaptic surface expression and kinetic properties of AMPARs predominantly in the cerebellum. Moreover, TARPy-2 mediates the association of AMPARs with PSD-95 (Chen et al., 2000). The monitoring of individual receptors and TARPy-2 per se showed that the association of TARPy-2 with PSD-95 is essential for the stability and accumulation of AMPARs. This approach also demonstrated that the majority of receptors both within and outside the synapse is associated with TARPy-2 (Bats et al., 2007). Changes in synaptic activity can lead to phosphorylation of C-terminus of TARPy-2, thereby affecting the binding affinity to PSD-95 (Opazo et al., 2010). Hence, the synaptic accumulation of AMPARs can be modulated within a time interval of seconds to a few minutes. The loss (mobilisation) or gain (immobilisation) of binding to intracellular scaffold proteins is in steady competition with available thermal energy of the membrane.

A particularly interesting scenario, which couples the association/dissociation between AMPARs and TARPy-2 to both the dynamics of AMPARs and their functional state, was recently proposed. Here, the association of receptor with TARPy-2 defines the sensitivity of the postsynaptic site to glutamate. Activation of the receptor upon binding to glutamate always leads to structural change in the extracellular domain of the receptor, which results in the opening of the channel. However, this glutamate-dependent conformational change is very short and followed by another change in conformation, which leads to desensitization of the receptor. In this state, AMPARs dissociate from TARPy-2 and lose the TARPy-2-mediated anchoring to scaffold protein PSD-95. The unbinding of glutamate sets the receptor back to closed but activatable state, and the receptor can again associate with TARPy-2.

It is conceivable that short-term loss of binding to PSD-95 can potentially be beneficial for the replacement of desensitized AMPARs by naïve receptors. The packing density of neighbouring integral proteins, also referred to as "molecular crowding", restricts the fast diffusion of desensitized receptors away from the synapse. Thus, the presynaptic release of glutamate initiates the displacement of postsynaptic receptors within a few nanometres (Constals et al., 2015).

These two examples show that indirect interactions of receptor with scaffold protein enable a substantially finer control of the receptor distribution. The proteomic analysis of AMPAR complexes revealed further binding partners that can be associated in different combinations with AMPARs (Schwenk et al., 2012; Schwenk et al., 2009). The non-uniform distribution of AMPAR subunits and associated proteins in different brain regions reflects a very complex molecular configuration of glutamatergic synapses, with the lateral mobility of AMPARs being functionally relevant for both short- and long-term synaptic changes.

Surface diffusion of AMPARs as a variable of synaptic plasticity

The exemplified mechanisms of dynamic redistribution of AMPARs lead to a question how stochastic changes in the receptor population can affect the synaptic plasticity. Postsynaptic variables of short-term plasticity include the kinetic properties of AMPARs that can be influenced by association with accessory proteins. In synapses with high release probability, a subpopulation of AMPARs is likely desensitized due to recent presynaptic stimulations and therefore contributes to the attenuation of the postsynaptic response. An artificial immobilisation of AM-PARs during a repetitive synaptic activation leads towards even more pronounced synaptic depression (Heine et al., 2008). This demonstrates that lateral exchange of receptors, which implies the replacement of desensitized receptors by naïve ones that can be activated, partially compensates the depression (Figure 3A, B). The described above dissociation of receptors and TARPy-2 can explain how the lateral exchange of receptors can be driven by rapid changes in binding affinities to intracellular scaffold. Notably, association with other accessory proteins can result to different effects on the kinetic properties of AMPARs, particularly desensitisation (von Engelhardt et al., 2010). The dynamics of components of postsynaptic membrane should be therefore always considered together with the molecular composition, which varies strongly between different brain regions (Schwenk et al., 2014).

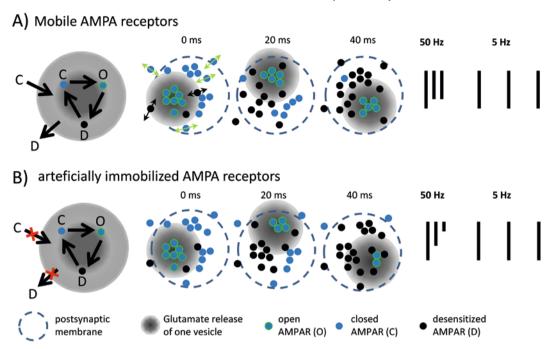
Long-term potentiation of synaptic transmission (LTP), postulated as one of the mechanisms of memory formation, can be triggered by changing the probability of vesicular release of neurotransmitter and/or by changes in the number, conductance and kinetic properties of receptors. The change in the number of AMPARs was described to be caused primarily by recruitment of receptors into the postsynaptic density. First, local exocytosis of intracellular AMPARs to postsynaptic membrane was proposed as a molecular mechanism. It is however plausible that a faster increase in the number of receptors can be achieved by recruitment of perisynaptic/extrasynaptic receptors that are already present in the membrane. Extrasynaptic AMPARs were functionally detected using iontophoretic or photolytic application of glutamate (Liu et al., 1999). Furthermore, tagging of individual receptors revealed that extrasynaptic population of AMPARs is very mobile (Heine et al., 2008; Liu et al., 1999). Using a combination of the direct manipulation of receptor recycling (endo/exocytosis) and restriction of lateral mobility by biotin-avidin-mediated cross-linking of receptors, the temporal order of receptors' recruitment to synapse has been demonstrated. Remarkably, persistent immobilisation of AMPARs in the cellular membrane leads to a complete blockade of LTP induction. The impairment of AMPAR exocytosis induced by perfusion of postsynaptic neurons with tetanus toxin has no effect on the transient post-tetanic potentiation,

but completely prevents the induction of LTP (Figure 3C, D). Further variation of these two experiments in different experimental systems (in vivo, acute and cultured slices) confirms that lateral mobility of AMPARs is required for LTP induction. Moreover, restriction of lateral mobility of AMPARs in vivo can block the hippocampus-dependent fear conditioning at initial phase (Penn et al., 2017). Apparently, rapid redistribution of receptors is a necessary process to respond to acute changes in synaptic activity, and to maintain thereby a "mobile memory" of activity. The composition of receptor complex comprising various interaction partners can strongly affect such "mobile memory".

Surface diffusion of presynaptic signalling proteins

Using localisation microscopy methods, it was shown that presynaptic signalling molecules, such as VGCCs, SNARE proteins and adhesion molecules, diffuse in the membrane (Bademosi et al., 2017; Fu and Huang, 2010; Neupert et al., 2015; Schneider et al., 2015). However, little is known about the impact of such dynamics on the release of synaptic vesicles. Given the low density of VGCCs in the presynaptic membrane, one can speculate that a dynamic localisation is particularly relevant. As demonstrated in several studies, the vesicle and VGCC must be in a very close proximity (< 100 nm) for the release of fusion-ready vesicle to occur (Eggermann et al., 2012). In conjunction with rather low affinity of vesicular calcium sensors to free intracellular calcium, short opening time of VGCCs defined by action potential's duration and the control of intracellular calcium by calcium-binding proteins, determine the spatial dimension (Eggermann et al., 2012). In this scenario, mobile VGCCs provide the possibility to temporarily reach the required proximity to the vesicle. The above mentioned influence of the post-synapse on the release probability points to different complexes of adhesion molecules that participate in the local organisation of presynaptic membrane (Missler et al., 2003; Sylwestrak and Ghosh, 2012). Another factor that tunes the probability of "transient coupling" between the VGCC and vesicle implies direct and indirect interaction of channels with scaffold proteins. Direct protein-protein interactions of the C-terminus of VGCC with Rab interacting molecule (RIM) and RIM binding protein have massive impact on the accumulation and positioning of VGCCs (Acuna et al., 2016; Kaeser et al., 2011). In turn, interaction of these proteins with other scaffold proteins in the cytomatrix of presyn-

Contribution of mobile AMPARs to short-term plasticity



Contribution of mobile AMPARs receptors to long-term potentiation

C) postsynaptic block of AMPAR exocytosis

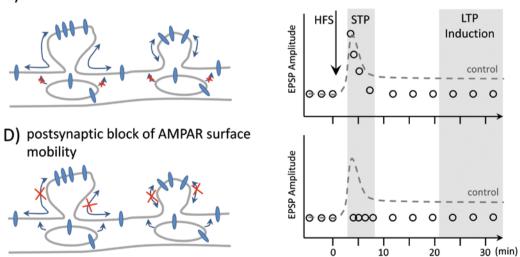


Fig. 3: Schematic representation of the impact of mobile AMPARs on synaptic activity and plasticity. A) The kinetic states of AMPAR that are relevant for the impact of AMPARs' diffusion on short-term plasticity. Here, the recovery from desensitisation is the time-limiting factor that underlies an increasing population of desensitized receptors over time in case of high-frequency synaptic activation (>10 Hz). The individual indicated kinetic states are: closed receptors (C), open receptors (O) and desensitized receptors (D). In case of mobile AMPARs in the membrane, an accumulation of desensitized AMPARs can be partially compensated by lateral diffusion. B) An artificial cross-link of surface AMPARs induces a stronger depression of high-frequency stimulated synapses as indicated in the sketch, whereas responses to lower frequencies ≤ 5Hz are not affected by AMPARs' immobilisation (see also Heine et al. 2008). C) Illustration of the contribution of AMPARs to the long-term synaptic potentiation. The postsynaptic blockade of AMPAR exocytosis by tetanus toxin prevents the induction of LTP (within first 30 min after tetanisation), whereas the post-tetanic potentiation or short-term potentiation (STP) remain unaltered. D) Global immobilisation of surface AMPARs before and after tetanisation completely prevents plastic changes of the synapse, modified after Penn et al. 2017.

apse (e.g., Bassoon, Munc13, ELKS) are also involved into recruitment and positioning of channels (Biederer et al., 2017).

Estimation of the local density of pre- (RIM) and postsynaptic (PSD-95) scaffold proteins using localisation microscopy methods (STORM/PALM) supports the existence of so called nanocolumns, which optimise the interplay between the vesicle release and the density of postsynaptic receptors (Tang et al., 2016). Such nanocolumns can serve as both transmembranal obstacles and intracellular dock station for diffusive VGCC, thereby defining their activity range. On the other hand, the mobility of VGCCs (Schneider et al., 2015) makes possible that individual channels and ready releasable vesicles meet each other. The time span of such proximal interaction should have direct influence on the number of vesicles to be released. The monitoring of the vesicle fusion over time shows that localisation of release sites always changes between two time points, thus supporting the idea of transient coupling of the channel and vesicle (Maschi and Klyachko, 2017; Tang et al., 2016).

An additional factor that defines the transient character of coupling between channel and vesicle is the small number of VGCCs in the presynaptic membrane. At resting membrane potential, around 50% of VGCCs are inactivated, i.e. functionally unavailable, and cannot contribute to neurotransmitter release and synaptic transmission. In this context, a continues shuffling of calcium channels in the presynaptic membrane is likely to increase the chance of coupling between active channel and a vesicle and can, at least partially, compensate this effect.

Overview

Growing body of evidence accumulated in last decades shows an astonishing structural complexity of both preand postsynaptic molecular machinery in central synapses of mammalian brain. With the development of new imaging techniques and molecular tools, it becomes clearer that chemical synapse is not static, but a very dynamic system. The stochastic dynamics of membrane-integrated proteins is particularly meaningful for interactions of various proteins with very variable binding affinities. Thus, high flexibility is possible even in small spatial domains. The dynamic organisation of the synapse over time plays an important role in the formation and maturation of synapses, as well as for the induction of synaptic plasticity. In relation to recent studies of the function of mobile AMPARs, one can state that activity-triggered

changes in surface dynamics of receptors and ion channels can be considered as a "molecular memory" of recent synaptic activity. Albeit, it is kept for only short period of time, spatial rearrangement of membrane-associated molecules provides a structural basis for storage of temporal features of previous input patterns. In any given moment, configuration of numerous molecular partners in crowded microenvironment of synapses powerfully affects the synaptic responses to the subsequent stimuli, thereby representing the initial stage of information processing and serving as a link from short-term modification of synaptic transmission to long-term memories in neuronal networks. Further investigation of molecular dynamics in synapses will help to better understand the plasticity of neuronal networks. Potentially, studies taking into account the brain region-specific expression of molecules can help in developing novel strategies to treat neuronal disorders. Recently, such an approach has been proposed for accessory AMPAR protein TARPy-8 (Maher et al., 2017).

Acknowledgment: We thank Dr. Ulrich Thomas, Jennifer Heck and Oliver Klatt for critics and corrections of the manuscript, as well as Dr. Andreas Voigt for Monte Carlo simulations of diffusive behaviour of single molecules in the membrane. We also thank the Federal State Sachsen-Anhalt (EFRE), the CBBS, the Leibniz Institute for Neurobiology (Magdeburg) and the Schram Foundation for financial support.

Glossary

AMPAR

	propionic acid (AMPA) receptor			
Cornichon	CNIHs are small, three-transmembrane-domain			
	proteins that bind directly to AMPAR			
CKAMP44	cysteine-knot AMPAR modulating protein 44			
ELKS	protein rich in the amino acids E, L, K and S			
GPI-GFP	glycosylphosphatidylinositol linked to green			
	fluorescent protein, used as reporter of lipid			
	dynamics in the outer leaflet of the membrane			
LTP	Long-term potentiation			
Munc13	priming factor for vesicular fusion			
NMDAR	N-methyl-D-aspartate receptor			
PDZ	PSD-95/discs large/zonula occludens-1			
PSD-95	postsynaptic density protein 95, which has			
	three PDZ-domains and a MAGUK-domain			
	(membrane-associated guanylate kinase)			
RIM	RAB interacting molecule			
RIM binding protein	RAB interacting molecule binding protein			
SNARE	soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor			

attachment receptor

α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole

Shisa single-transmembrane protein characterized by an N-terminal cysteine-rich domain and a

proline-rich C-terminal region

TARP transmembrane AMPA receptor regulatory protein, type I TARPs comprise the subunits

y2, y3, y4, and y8, type II TARPs comprise the

subunits y5 and y7

References

- Abbott, L. F., and Regehr, W. G. (2004). Synaptic computation. Nature 431, 796-803.
- Acuna, C., Liu, X., and Sudhof, T. C. (2016). How to Make an Active Zone: Unexpected Universal Functional Redundancy between RIMs and RIM-BPs. Neuron 91, 792-807.
- Attardo, A., Fitzgerald, J. E., and Schnitzer, M. J. (2015). Impermanence of dendritic spines in live adult CA1 hippocampus. Nature 523, 592-596.
- Atwood, H. L., and Bittner, G. D. (1971). Matching of excitatory and inhibitory inputs to crustacean muscle fibers. J Neurophysiol 34, 157-170.
- Bademosi, A. T., Lauwers, E., Padmanabhan, P., Odierna, L., Chai, Y. J., Papadopulos, A., Goodhill, G. J., Verstreken, P., van Swinderen, B., and Meunier, F. A. (2017). In vivo single-molecule imaging of syntaxin1A reveals polyphosphoinositide- and activity-dependent trapping in presynaptic nanoclusters. Nat Commun 8, 13660.
- Bao, J., Reim, K., and Sakaba, T. (2010). Target-dependent feedforward inhibition mediated by short-term synaptic plasticity in the cerebellum. J Neurosci 30, 8171-8179.
- Bats, C., Groc, L., and Choquet, D. (2007). The interaction between Stargazin and PSD-95 regulates AMPA receptor surface trafficking. Neuron 53, 719-734.
- Biederer, T., Kaeser, P. S., and Blanpied, T. A. (2017). Transcellular Nanoalignment of Synaptic Function. Neuron 96, 680-696.
- Biermann, B., Sokoll, S., Klueva, J., Missler, M., Wiegert, J. S., Sibarita, J. B., and Heine, M. (2014). Imaging of molecular surface dynamics in brain slices using single-particle tracking. Nat Commun 5, 3024.
- Branco, T., Staras, K., Darcy, K. J., and Goda, Y. (2008). Local dendritic activity sets release probability at hippocampal synapses. Neuron 59, 475-485.
- Carroll, R. C., Beattie, E. C., Xia, H., Luscher, C., Altschuler, Y., Nicoll, R. A., Malenka, R. C., and von Zastrow, M. (1999). Dynamin-dependent endocytosis of ionotropic glutamate receptors. Proc Natl Acad Sci U S A 96, 14112-14117.
- Celebrano, M., Kukura, P., Renn, A., and Sandoghdar, V. (2011). Single-molecule imaging by optical absorption. Nature Photonics 5, 95.
- Chen, L., Chetkovich, D. M., Petralia, R. S., Sweeney, N. T., Kawasaki, Y., Wenthold, R. J., Bredt, D. S., and Nicoll, R. A. (2000). Stargazin regulates synaptic targeting of AMPA receptors by two distinct mechanisms. Nature 408, 936-943.
- Constals, A., Penn, A. C., Compans, B., Toulme, E., Phillipat, A., Marais, S., Retailleau, N., Hafner, A. S., Coussen, F., Hosy, E., et al. (2015). Glutamate-Induced AMPA Receptor Desensitization

- Increases Their Mobility and Modulates Short-Term Plasticity through Unbinding from Stargazin. Neuron 85, 787-803.
- Diamond, J. S., and Jahr, C. E. (1997). Transporters buffer synaptically released glutamate on a submillisecond time scale. J Neurosci 17, 4672-4687.
- Domanov, Y. A., Aimon, S., Toombes, G. E., Renner, M., Quemeneur, F., Triller, A., Turner, M. S., and Bassereau, P. (2011). Mobility in geometrically confined membranes. Proc Natl Acad Sci U S A 108, 12605-12610.
- Eggermann, E., Bucurenciu, I., Goswami, S. P., and Jonas, P. (2012). Nanodomain coupling between Ca(2)(+) channels and sensors of exocytosis at fast mammalian synapses. Nat Rev Neurosci 13, 7-21.
- Engert, F., and Bonhoeffer, T. (1999). Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. Nature 399, 66-70.
- Fu, Y., and Huang, Z.J. (2010). Differential dynamics and activity-dependent regulation of alpha- and beta-neurexins at developing GABAergic synapses. Proc Natl Acad Sci U S A 107, 22699-22704.
- Gulyas, A. I., Megias, M., Emri, Z., and Freund, T. F. (1999). Total number and ratio of excitatory and inhibitory synapses converging onto single interneurons of different types in the CA1 area of the rat hippocampus. J Neurosci 19, 10082–10097.
- Heine, M., Groc, L., Frischknecht, R., Beique, J. C., Lounis, B., Rumbaugh, G., Huganir, R. L., Cognet, L., and Choquet, D. (2008). Surface mobility of postsynaptic AMPARs tunes synaptic transmission. Science 320, 201-205.
- Hoze, N., Nair, D., Hosy, E., Sieben, C., Manley, S., Herrmann, A., Sibarita, J. B., Choquet, D., and Holcman, D. (2012). Heterogeneity of AMPA receptor trafficking and molecular interactions revealed by superresolution analysis of live cell imaging. Proc Natl Acad Sci U S A 109, 17052-17057.
- Kaeser, P. S., Deng, L., Wang, Y., Dulubova, I., Liu, X., Rizo, J., and Sudhof, T. C. (2011). RIM proteins tether Ca2+ channels to presynaptic active zones via a direct PDZ-domain interaction. Cell 144, 282-295.
- Kerchner, G. A., and Nicoll, R. A. (2008). Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. Nat Rev Neurosci 9, 813-825.
- Kim, C. H., Takamiya, K., Petralia, R. S., Sattler, R., Yu, S., Zhou, W., Kalb, R., Wenthold, R., Huganir, R., and M-334* (2005). Persistent hippocampal CA1 LTP in mice lacking the C-terminal PDZ ligand of GluR1. Nat Neurosci 8, 985-987.
- Kittler, J. T., and Moss, S. J. (2003). Modulation of GABAA receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition. Curr Opin Neurobiol 13, 341-347.
- Lasne, D., Blab, G. A., Berciaud, S., Heine, M., Groc, L., Choquet, D., Cognet, L., and Lounis, B. (2006). Single nanoparticle photothermal tracking (SNaPT) of 5-nm gold beads in live cells. Biophys J 91, 4598-4604.
- Liu, G., Choi, S., and Tsien, R. W. (1999). Variability of neurotransmitter concentration and nonsaturation of postsynaptic AMPA receptors at synapses in hippocampal cultures and slices. Neuron 22, 395-409.
- Luscher, C., Xia, H., Beattie, E. C., Carroll, R. C., von Zastrow, M., Malenka, R. C., and Nicoll, R. A. (1999). Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity. Neuron 24, 649-658.

- Maher, M. P., Matta, J. A., Gu, S., Seierstad, M., and Bredt, D. S. (2017). Getting a Handle on Neuropharmacology by Targeting Receptor-Associated Proteins. Neuron 96, 989-1001.
- Markram, H., Wang, Y., and Tsodyks, M. (1998). Differential signaling via the same axon of neocortical pyramidal neurons. Proc Natl Acad Sci U S A 95, 5323-5328.
- Maschi, D., and Klyachko, V. A. (2017). Spatiotemporal Regulation of Synaptic Vesicle Fusion Sites in Central Synapses. Neuron 94, 65-73 e63.
- Megias, M., Emri, Z., Freund, T. F., and Gulyas, A. I. (2001). Total number and distribution of inhibitory and excitatory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. Neuroscience 102,
- Missler, M., Zhang, W., Rohlmann, A., Kattenstroth, G., Hammer, R. E., Gottmann, K., and Sudhof, T. C. (2003). Alpha-neurexins couple Ca2+ channels to synaptic vesicle exocytosis. Nature 423, 939-948.
- Nakada, C., Ritchie, K., Oba, Y., Nakamura, M., Hotta, Y., Iino, R., Kasai, R. S., Yamaguchi, K., Fujiwara, T., and Kusumi, A. (2003). Accumulation of anchored proteins forms membrane diffusion barriers during neuronal polarization. Nat Cell Biol 5, 626-632.
- Neupert, C., Schneider, R., Klatt, O., Reissner, C., Repetto, D., Biermann, B., Niesmann, K., Missler, M., and Heine, M. (2015). Regulated Dynamic Trafficking of Neurexins Inside and Outside of Synaptic Terminals. J Neurosci 35, 13629-13647.
- Opazo, P., Labrecque, S., Tigaret, C. M., Frouin, A., Wiseman, P. W., De Koninck, P., and Choquet, D. (2010). CaMKII triggers the diffusional trapping of surface AMPARs through phosphorylation of stargazin. Neuron 67, 239-252.
- Penn, A. C., Zhang, C. L., Georges, F., Royer, L., Breillat, C., Hosy, E., Petersen, J. D., Humeau, Y., and Choquet, D. (2017). Hippocampal LTP and contextual learning require surface diffusion of AMPA receptors. Nature 549, 384-388.
- Pouille, F., and Scanziani, M. (2004). Routing of spike series by dynamic circuits in the hippocampus. Nature 429, 717-723.
- Renner, M., Wang, L., Levi, S., Hennekinne, L., and Triller, A. (2017). A Simple and Powerful Analysis of Lateral Subdiffusion Using Single Particle Tracking. Biophys J 113, 2452-2463.
- Ritchie, K., and Kusumi, A. (2003). Single-particle tracking image microscopy. Methods Enzymol 360, 618-634.
- Schneider, R., Hosy, E., Kohl, J., Klueva, J., Choquet, D., Thomas, U., Voigt, A., and Heine, M. (2015). Mobility of calcium channels in the presynaptic membrane. Neuron 86, 672-679.
- Schwenk, J., Baehrens, D., Haupt, A., Bildl, W., Boudkkazi, S., Roeper, J., Fakler, B., and Schulte, U. (2014). Regional diversity and developmental dynamics of the AMPA-receptor proteome in the mammalian brain. Neuron 84, 41-54.
- Schwenk, J., Harmel, N., Brechet, A., Zolles, G., Berkefeld, H., Muller, C. S., Bildl, W., Baehrens, D., Huber, B., Kulik, A., et al. (2012). High-resolution proteomics unravel architecture and molecular diversity of native AMPA receptor complexes. Neuron 74, 621-633.
- Schwenk, J., Harmel, N., Zolles, G., Bildl, W., Kulik, A., Heimrich, B., Chisaka, O., Jonas, P., Schulte, U., Fakler, B., et al. (2009). Functional proteomics identify cornichon proteins as auxiliary subunits of AMPA receptors. Science 323, 1313-1319.
- Shi, S., Hayashi, Y., Esteban, J. A., and Malinow, R. (2001). Subunitspecific rules governing AMPA receptor trafficking to synapses in hippocampal pyramidal neurons. Cell 105, 331-343.

- Sylwestrak, E. L., and Ghosh, A. (2012). Elfn1 regulates targetspecific release probability at CA1-interneuron synapses. Science 338, 536-540.
- Tang, A. H., Chen, H., Li, T. P., Metzbower, S. R., MacGillavry, H. D., and Blanpied, T. A. (2016). A trans-synaptic nanocolumn aligns neurotransmitter release to receptors. Nature 536, 210-214.
- Thomas, P., and Smart, T. G. (2006). Receptor Dynamics at the Cell Surface Studied Using Functional Tagging. In The Dynamic Synapse: Molecular Methods in Ionotropic Receptor Biology, Kittler, J. T. and Moss, S. J., eds. (Boca Raton (FL)).
- Tovar, K. R., and Westbrook, G. L. (1999). The incorporation of NMDA receptors with a distinct subunit composition at nascent hippocampal synapses in vitro. J Neurosci 19, 4180-4188.
- Trimble, W. S., and Grinstein, S. (2015). Barriers to the free diffusion of proteins and lipids in the plasma membrane. J Cell Biol 208, 259-271.
- von Engelhardt, J., Mack, V., Sprengel, R., Kavenstock, N., Li, K. W., Stern-Bach, Y., Smit, A. B., Seeburg, P. H., and Monyer, H. (2010). CKAMP44: a brain-specific protein attenuating short-term synaptic plasticity in the dentate gyrus. Science 327, 1518-1522,
- Winckler, B., Forscher, P., Mellman, I., and M-253* (1999). A diffusion barrier maintains distribution of membrane proteins in polarized neurons. Nature 397, 698-701.
- Xu, K., Zhong, G., and Zhuang, X. (2013). Actin, spectrin, and associated proteins form a periodic cytoskeletal structure in axons. Science 339, 452-456.
- Young, S. H., and Poo, M. M. (1983). Rapid lateral diffusion of extrajunctional acetylcholine receptors in the developing muscle membrane of Xenopus tadpole. J Neurosci 3, 225-231.
- Zucker, R. S., and Regehr, W. G. (2002). Short-term synaptic plasticity. Annu Rev Physiol 64, 355-405.

Article note: German version available at https://doi.org/10.1515/nf-2017-0042

Bionotes



Dr. Martin Heine

Research Group "Molekular Physiology" at Leibniz Institute for Neurobiology Magdeburg, Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Germany; Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Center for Behavioral Brain Sciences, 39120 Magdeburg, Germany

Mail: mheine@lin-magdeburg.de

Martin Heine studied biology at the Friedrich Schiller University Jena. In his PhD study he investigated the distribution of serotonin receptors in hippocampal neurons and their contribution to dendritic integration properties of CA1 neurons in the lab of Prof. D.W. Richter at the Georg August University in Göttingen. After the defence in 2002 Martin joined the group of Prof. D. Choquet in Bordeaux (France), where he investigated the functional contribution of AMPAR mobility to synaptic plasticity. In 2007 he went back to Germany and joined the Department of Neurochemistry

at the Leibniz Institute of Neurobiology (LIN) headed by Prof. E. Gundelfinger. In 2009, M. Heine became an independent research group leader at the LIN. His main interests are the local dynamic organization of ion channels and adhesion molecules, as well as the impact of this stochastic variable on neuronal activity in neurons and neuronal networks.



Dr. Arthur Bikbaev Research Group "Molekular Physiology" at Leibniz Institute for Neurobiology Magdeburg, Brenneckestraße 6, 39118 Magdeburg, Germany Mail: abikbaev@lin-magdeburg.de

Arthur Bikbaev studied biology at Bashkir State University (Ufa, Russia). In his PhD study carried out at Bashkir State University and Lomonosov Moscow State University, he investigated the pathogenic mechanisms of the temporal lobe and absence forms of epilepsy. After defence, he moved to the group of Prof. D. Manahan-Vaughan at Ruhr University Bochum to study the relationship between hippocampal synaptic plasticity and network oscillations in vivo. In 2009, Arthur joined the group of Dr. Martin Heine to address the development of anatomic and effective connectivity in neuronal microcircuits in vitro and to analyse the transfer and processing of information in neuronal networks.

Übersichtsartikel

Alejandro Villarreal, Henriette Franz und Tanja Vogel*

Die Rolle von Histonmethylierungen in der Entwicklung des zentralen Nervensystems und bei Neuralrohrdefekten

https://doi.org/10.1515/nf-2018-0001

Zusammenfassung: Es ist essenziell, die Vorgänge, die während der Entwicklung des zentralen Nervensystems (ZNS) ablaufen, zu verstehen, um Krankheitsbilder wie Mikrozephalie oder Neuralrohrdefekte, welche aus fehlerhaften Prozessen während der Entwicklung des ZNS resultieren, zu entschlüsseln.

Epigenetische Mechanismen sind spatiotemporale Regulationsmechanismen, die auf die Genexpression Einfluss nehmen. Sie sind in mannigfaltige zelluläre Vorgänge involviert, unter anderem in die Zelldifferenzierung. Folglich besteht großer Bedarf, diese Mechanismen in Hinblick auf Entwicklung und Krankheitsbilder zu erforschen. In dem vorliegenden Artikel werden wir Histonmethylierung als epigenetische Modifikation beleuchten und die Mechanismen erläutern, wie sie Genexpression und Zelldifferenzierung während der Entwicklung des zentralen Nervensystems, sowie neuraler Differenzierung beeinflussen. Ferner werden wir den Zusammenhang zwischen Histonmethylierung und der Ätiologie von Neuralrohrdefekten diskutieren. Es wird besonders auf die Rolle von disruptor of telomeric silencing like 1 (DOT1L) und Histon H3 Lysin 79-Methylierung (H3K79me) eingegangen, welche eine ungewöhnliche Histonmethylierung darstellt, jedoch relevant für die fehlerfreie Entwicklung des zentralen Nervensystems ist.

Schlüsselwörter: Entwicklung; neurale Differenzierung; Epigenetik; Histonmethylierung; Neuralrohrdefekte

Einleitung

In einem multizellulären Organismus wie dem menschlichem Körper stammen alle Zellen von einer einzigen Zelle, der Zygote ab, die aus der Verschmelzung von Ei und Spermium hervorgeht. Nach der Befruchtung proliferiert die Zygote und es bilden sich zahlreiche andere Zellen, Gewebe und Organe - bis sich ein ganzer Organismus ergeben hat. Dieser Prozess wird Embryogenese genannt. Ein zentrales Ereignis während der Embryogenese ist die Gastrulation - die Phase, in der sich die drei Keimblätter ausbilden (Kiecker et al., 2016; Solnica-Krezel und Sepich, 2012; Tseng et al., 2017). Die Keimblätter werden als Endoderm, Mesoderm und Ektoderm bezeichnet. Im Laufe der weiteren Entwicklung geht aus dem Ektoderm das Neuralrohr hervor, aus welchem wiederum das zentrale Nervensystem entsteht (Greene und Copp, 2014; Smith und Schoenwolf, 1997) (Abbildung 1A). Das zentrale Nervensystem umfasst zwei zentrale anatomische Strukturen: das Gehirn und das Rückenmark. Diese Strukturen beinhalten unterschiedliche Arten von Neuronen, welche im Körper elektrische Signale ausschütten und empfangen. Neben den Neuronen sind Astrozyten, Oligodendroyzten und Mikroglia ebenso Zellen des zentralen Nervensystems (Abbildung 1B). Astrozyten versorgen Neurone mit Metaboliten, regulieren synaptische Übertragung, sind an der Bildung der Blut-Hirn-Schranke beteiligt und besitzen neuroprotektive Eigenschaften bei Hirnverletzungen. Oligodendrozyten bilden die Myelinscheiden, welche die neuronalen Axone umgeben. Interessanterweise haben alle Zellarten außer Mikroglia, welche aus Vorläuferzellen im Dottersack hervorgehen, einen gemeinsamen Ursprung im zentralen Nervensystem. Sie gehen allesamt aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle hervor. Diese zunächst multipotenten Vorläuferzellen sind neurale Stammzellen, welche im Neuralrohr angesiedelt sind. Während der Entwicklung des zentralen Nervensystems erwerben diese neuralen Stammzellen die Fähigkeit zu proliferieren, um mehr Stammzellen zu generieren oder aber die Fähigkeit,

^{*}Korrespondenzautorin: Tanja Vogel, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Medizinische Fakultät, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Embryologie, Albertstr. 17, 79104 Freiburg, Deutschland, E-Mail: Tanja.Vogel@anat.uni-freiburg.de Alejandro Villarreal, Henriette Franz, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Medizinische Fakultät, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Embryologie, Albertstr. 17, 79104 Freiburg, Deutschland, E-Mail: Alejandro.Villarreal@anat.uni-freiburg.de, Henriette.Franz@anat.uni-freiburg.de

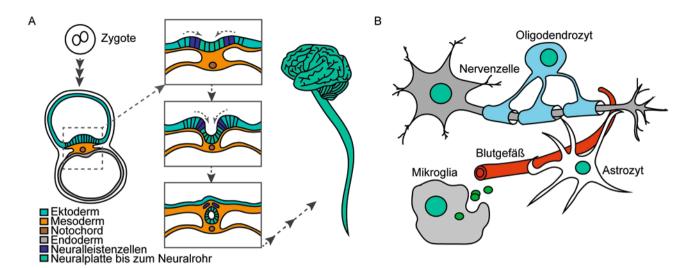


Abb. 1: A. Die Entwicklung von der Zygote über das Neuralrohr bis hin zum ZNS beim Menschen. **B.** Neurone, Astrozyten, Oligodendrozyten und Mikroglia sind die wichtigsten Zellarten des ZNS.

den Differenzierungsprozess zu initiieren, welcher in der Neuro-, Astro- oder Oligodendrogenese mündet. Während proliferative Zellteilung zu der Entstehung einer Tochterzellgeneration mit dem gleichen Entwicklungspotenzial führt, wird durch die differenzierende Zellteilung das Potenzial der Zelle eingeschränkt und für die Tochterzelle ein bestimmtes Zellschicksal festgelegt. Um die Proliferation aufzuhalten und die Differenzierung zu initiieren, bedarf es bestimmter Signale. Neurale Stammzellen limitieren also schrittweise ihre proliferativen Eigenschaften und lenken ihr differenzierendes Potenzial in eine bestimmte Richtung – ein Phänomen, welches als Zellschicksal bezeichnet wird (Hirabayashi und Gotoh, 2010; Qiao et al., 2016; Tang et al., 2015).

Was jedoch macht ein Neuron zu einem Neuron, einen Astrozyten zu einem Astrozyten und einen Oligodendrozyten zu einem Oligodendrozyten? Wie weiß eine Zelle, welchen Phänotyp und welche Funktionen sie annehmen muss? Wie wird ein festgelegtes Zellschicksal beibehalten und nicht wieder rückgängig gemacht? Seit Langem ist bekannt, dass das Zellschicksal und somit Zellfunktion durch die Aktivität oder Transkription bestimmter Gene bestimmt wird. Jede einzelne Zelle stammt von der Zygote ab; somit haben alle Zellen die gleiche DNA-Sequenz und Genkomposition. Die Entscheidung, zu welchem Zelltyp sich eine Zelle entwickelt, hängt davon ab, welche Gene zu einem bestimmten Zeitpunkt aktiviert werden. Es ist also von wesentlicher Bedeutung, zu verstehen, nach welchen Kriterien diese Gene ausgewählt werden und wie deren Transkription aktiviert, reprimiert oder in der Balance gehalten wird, je nachdem, welches Zellschicksal angestrebt wird. Es gibt zahlreiche und vielfältige Mechanismen, mit

welchen auf die Gentranskription Einfluss genommen werden kann. In dem vorliegenden Artikel werden wir uns ausschließlich auf epigenetische Mechanismen beschränken, welche Histonmodifikationen mit einschließen und darstellen, wie diese Proteinmodifizierungen die Gentranskription im Bezug auf Zelldifferenzierung im zentralen Nervensystem beeinflussen.

Die Chromatinstruktur

Histone sind kleine Proteine, welche die Fähigkeit besitzen, DNA zu binden. Die strukturelle Einheit von Histonen und DNA wird als Chromatin bezeichnet. Jeweils zwei der Kernhistone, H2A, H2B, H3 und H4 schließen sich zu einem Oktamer zusammen. 146 bp der DNA winden sich 1,5-mal um jedes Histonoktamer. Die kleinste Vepackungseinheit des Chromatins, der DNA-Histon-komplex, wird als Nukleosom bezeichnet. Ein fünfter Histontyp befindet sich außerhalb des Nukleosoms. Dieses stellt das Verbindungshiston H1 dar, welches auf höherer Ebene dazu dient, DNA kompakt zu verpacken (Cutter und Hayes, 2015; Lawrence et al., 2016). Genauso wie andere zelluläre Proteine unterliegen Histone nach ihrer Synthese chemischen Modifikationen. Der Vorgang der Proteinsynthese wird als Translation bezeichnet und die darauffolgenden chemischen Veränderungen der Proteine als posttranslationale Modifikationen. Posttranslationale Modifikationen ermöglichen Proteinen beispielsweise eine veränderte enzymatische Aktivität, Interaktion mit bestimmten Proteinen oder die Lokalisierung innerhalb eines bestimmten

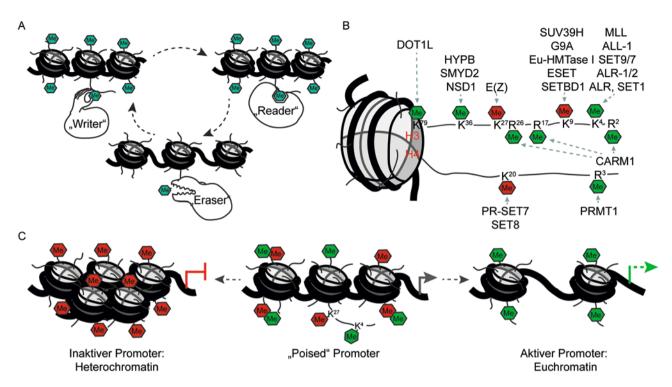


Abb. 2: A. Schreiber (writer)-, Leser (reader)- und Auslöscher (eraser)-Proteine von Histon-Modifikationen. B. Modifikatoren von Histon-Methylierungen und ihre writer Enzyme. Grün: Transkriptions-Aktivierung, Rot: Transkriptions-Repression. C. Bivalente Promoter sind gleichzeitig mit aktivierenden und reprimierenden Modifikationen versehen. Während der Entwicklung einer bestimmten Zellart bleibt eine Modifikation erhalten und das entsprechende Gen wird aktiviert oder reprimiert.

zelluären Kompartments. Von diesen posttranslationalen Modifikationen wurden bislang die folgenden am besten untersucht: Acetylierung, Phosphorylierung, Methylierung, Desaminierung, Ubiquitinierung, ADP-Ribosylierung und Sumoylierung (Lawrence et al., 2016; Peserico und Simone, 2011; Prachayasittikul et al., 2017; Yang und Seto, 2007). Die posttranslationale Modifikation von Histonen zählt zu den epigenetischen Modifizierungen, da sie das Potenzial besitzen, in die nächste Zellgeneration weitergereicht zu werden. Zusätzlich besitzen sie bestimmte Informationen bezüglich des Transkriptionsstatus des entsprechenden genomischen Lokus. Diese Modifikationen werden durch Enzyme gesteuert, die sogenannten "Schreiber" (writer), durch die "Leser" (reader) Moleküle erkannt und durch "Auslöscher" (eraser) wieder entfernt (Abbildung 2A). Somit sind posttranslationale Modifikationen sehr anpassungsfähig und stellen eine weitere Möglichkeit dar, zusätzliche vererbbare Information neben dem genetischen Code zu liefern. Unterschiedliche posttranslationale Histonmodifikationen verändern die Struktur des Chromatins, indem sie sie mehr (offenes Chromatin) oder weniger (geschlossenes Chromatin) zugänglich für die Transkriptionsmaschinerie machen. Dieser Mechanismus ist äußerst wichtig, da offenes Chromatin ge-

wöhnlich Gene enthält, welche aktiv transkribiert werden, in geschlossenem Chromatin hingegen werden Gene nicht transkribiert. Offenes und aktives Chromatin wird als Euchromatin bezeichnet, geschlossenes Chromatin als Heterochromatin (Cutter und Hayes, 2015; Luger et al., 2012; Venkatesh und Workman, 2015).

Regulierung der Chromatinzugänglichkeit durch Histonmodifikationen

Histone können an bestimmten Aminosäuren modifiziert werden. Sowohl die Position der modifizierten Aminosäure im Histon, als auch die chemische Gruppe, welche an die Aminosäure gebunden ist, enthalten Information bezüglich der Chromatinzugänglichkeit. Posttranslationale Modifikationen haben Einfluss auf die Interaktion zwischen den positiv geladenen Histonen und den negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA. Wird diese Interaktion z.B. durch eine Erhöhung der Negativladung an den Histonen abgeschwächt, wird das Chromatin offener und zugänglicher für Transkriptionsfaktoren. Dies kann dadurch erzielt werden, indem ein Histon beispielsweise

acetyliert und somit die Stabilität des gesamten Nukleosoms herabgesetzt wird. Histonacetylierung wirkt folglich als Transkriptionsaktivator.

Die Auswirkungen von Histonmethylierungen auf die transkriptionale Aktivität sind jedoch um einiges vielfältiger. Abhängig von der Position der Aminosäure kann eine Methylierung entweder Aktivierung oder Ausschalten eines bestimmten Gens bewirken (Abbildung 2B). Lysin (K) kann mono-, di- oder trimethyliert werden (mel, me2 und me3), wohingegen Arginin (R) aufgrund seiner sterischen Eigenschaften nur me1 und me2 ermöglicht. Jedoch spielt nicht nur der Grad der Methylierung eine Rolle bezüglich der Genaktivität, sondern auch die Position der Aminosäure. So resultiert beispielsweise die Trimethylierung von Histon 3 an Lysin 9 oder Lysin 27 (H3K9me3 bzw. H3K27me3) in einer Genrepression. Andererseits bewirken H3K4me3 und H3K36me3 die Initiation sowie Elongation der Transkription (Lawrence et al., 2016; Peterson und Laniel, 2004). Eine weitere Variable ist die Position der Histonmethylierung innerhalb eines bestimmten Gens. So befindet sich H3K4me1 z.B. in genomischen Regionen, welche die Gentranskription erhöhen, auch bekannt als aktive Verstärker (enhancer), wohingegen sich H3K4me3 in Regionen des Genoms befindet, welche die Gentranskription initiieren, bekannt als aktive Promoter (Heintzman et al., 2007; Shlyueva et al., 2014). Das Zusammenspiel aller Histonmodifikationen innerhalb des Genoms wird als der sogenannte "Histon-Code" bezeichnet, welcher wiederum die Transkription einzelner Gene bestimmt und somit auch das Schicksal der betroffenen Zelle.

Besonders während der Entwicklung von Zellen und Geweben befinden sich teilweise aktive und repressive Histonmodifikationen gleichzeitig an ein und demselben regulatorischen Element. Wenn beispielsweise ein solcher Histon-Code in der Promoterregion upstream der transkriptionellen Startregion angesiedelt ist, wird dieser bivalenter Promoter genannt. Grund dafür ist, dass diese Promoter, welche gleichzeitig aktivierenden H3K4me3 und dem repressiven H3K27me3 bzw. H3K9me3 aufweisen, sich in einem sogenannten bivalenten Zustand befinden (Abbildung 2C). Das downstream Gen eines bivalenten Promoters bleibt in der Regel inaktiv. Aber es bedarf lediglich der Entfernung der repressiven Histonmethylierung, um dieses Gen zu aktivieren, da die Information hierfür bereits vorhanden ist. Dieser bivalente Zustand ermöglicht somit eine rasche temporale Aktivierung der Genexpression, was eine essenzielle Voraussetzung für fehlerfreie Differenzierungsprozesse ist (Harikumar und Meshorer, 2015; Hirabayashi und Gotoh, 2010).

Weiterhin kann sich die Bildung einer bestimmten Histonmodifizierung positiv oder negativ auf die Ausbildung einer zweiten auswirken. Ein Beispiel hierfür ist die Ubiquitinierung von H2B, welche die Dimethylierung von H3K79 durch die Methyltransferase disruptor of teleomeric silencing-like 1 (DOT1L) (Abbildung 3A) unterstützt. Dieses Konzept wird als "Histon Crosstalk" bezeichnet (Suganuma und Workman, 2008; Nguyen und Zhang, 2011; Zhang et al., 2015).

Für die Zelldifferenzierung wird sowohl Genrepression als auch Genaktivierung benötigt. Beide Prozesse müssen in einem minuziösen temporospatialen Zusammenspiel erfolgen, um die fehlerfreie Differenzierung einer Zelle zu gewährleisten. Viele Transkriptionsfaktoren stimmen die Expression unterschiedlicher Gene aufeinander ab, wofür sie Zugang zum Chromatin benötigen und mit enhancer oder Promoterregionen interagieren müssen. Folglich sind Histonmodifikationen wichtige upstream Regulatoren, da durch diese die Zugänglichkeit des Chromatins reguliert wird. Außer dieser Histonmodifikationen gibt es noch andere molekulare Mechanismen, wie z. B. nicht-kodierende RNA oder DNA-Methylierung, durch welche die Aktivität von Transkriptionsfaktoren sowie die Chromatinzugänglichkeit zusätzlich reguliert werden können (Imamura et al., 2014).

Histonmodifikationen während der neuralen Zelldifferenzierung

Im Laufe der Entwicklung und Differenzierung wird das Potenzial von Stammzellen kontinuierlich limitiert (Hirabayashi und Gotoh, 2010; Lomvardas und Maniatis, 2016). Wie bereits erwähnt, differenzieren neurale Stammzellen bereits früh zu Neuronen und erlangen im Laufe der späteren Entwicklung die Fähigkeit, sich zu Astrozyten zu differenzieren. Die Umlenkung des transkriptionellen Programms, was die Voraussetzung für die Differenzierung zu einem bestimmten Zelltyp ist, geht mit Chromatinmodifikationen einher. Im Detail werden Gene, welche an Differenzierungsprozessen beteiligt sind, in Abhängigkeit von den Histonmodifikationen am entsprechenden Promoter aktiviert. Ein Beispiel hierfür ist Ngn1 (Neurogenin 1), ein Gen, das ausschließlich in neuralen Stammzellen exprimiert wird, welche dazu bestimmt sind, zu Neuronen zu differenzieren (neurogene neurale Stammzellen) (Hirabayashi und Gotoh, 2010; Hirabayashi et al., 2004). In der embryonalen Stammzelle ist der Promoter von Ngn1 mit repressiven und aktivierenden Modifikationen ausgestattet (H3K27me3 bzw. H3K4me3). Die repressive Modifizierung H3K9me3 ist in diesem Stadium ebenfalls am Ngn1 Promoter vorhanden. Während der Differenzierung ändert

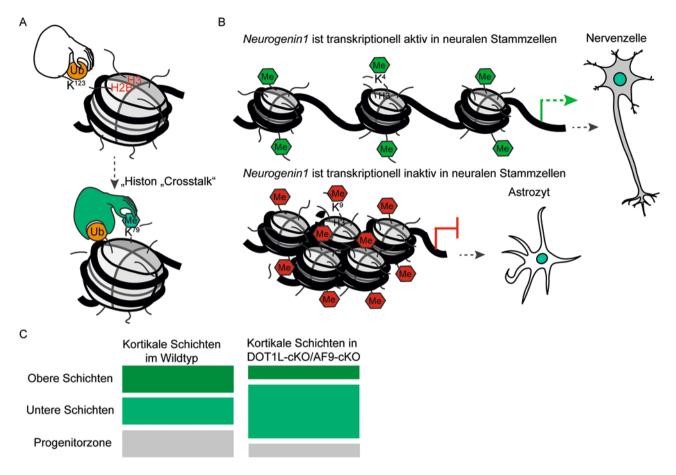


Abb. 3: A. Beispiel des Histon-Crosstalks: die Ubiquitinierung von H2B Lysin 123 (H2Bub) ermöglicht die Methylierung von H3 Lysin 79 (H3K79). B. Das Schicksal einer neuralen Stammzelle (NSC, neural stem cell) wird durch die Modifikation des Nan1 Promoter und dessen Expression bestimmt. Die Methylierung von H3 Lysin 4 (H3K4) am Nan1 Promoter in NSCs führt zur Expression des Nan1 Gens und legt somit ein neuronales Zellschicksal fest. Erfolgt die Methylierung jedoch an H3 Lysin 9 (H3K9), hat dies die Repression von Ngn1 zur Folge und führt zum Zellschicksal eines Astrozyten. C. Knockout von Af9 oder Dot1l führt zur Bildung von Neuronen, die Marker exprimieren, welche charakteristisch für die unteren Schichten im zerebralen Kortex sind. Die Anzahl der Neuronen in den oberen Schichten und neuraler Stammzellen in der Vorläufer Zone wird dadurch verringert.

sich dieser bivalente Zustand des Promoters, indem die repressiven Modifikationen entfernt werden. In diesem Falle differenziert die embryonale Stammzelle zu einem Neuron, in welchem Ngn1 aktiv ist (Hirabayashi und Gotoh, 2010; Mikkelsen et al., 2007). Im Gegensatz dazu differenziert die neurale Stammzelle zu einem Astrozyten, wenn Ngn1 reprimiert bleibt (Abbildung 3B). Die epigenetische Regulierung von Ngn1 stellt ein gutes Beispiel dafür dar, wie ein bivalenter Promoter einen aktivierenden oder repressiven Zustand annehmen kann, was wiederum das Schicksal der betroffenen Zelle bestimmt (Neuron oder Astrozyt).

Ein weiteres Beispiel ist der Promoter des Gfap Gens, welches für GFAP (glial fibrillary acidic protein) in Astrozyten kodiert. Während der Differenzierung von Astrozyten wird Gfap aktiviert, wohingegen es in Neuronen inaktiv ist. Die Aktivierung von Gfap erfolgt durch den Austausch des repressiven H3K9me3 am Gfap Promoter durch das aktivierende H3K4me3 ersetzt (Song und Ghosh, 2004; Takouda et al., 2017).

Die Rolle von Histonmethylierungen für Funktion und Erkrankungen des zentralen Nervensystems

Es ist durch zahlreiche Studien belegt, dass Histonmethylierungen eine wichtige Rolle in der Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems spielen. So wurde beispielsweise durch post mortem Studien an menschlichen Gehirnen gezeigt, dass Mutationen in ChromatinLesern wie euchromatic histone lysine methyltranferase 1 (EHMT1), einer H3K9-Methyltransferase und lysin demethylase 5C (KDM5C), einer H3K4-Demethylase, mit geistiger Behinderung in Verbindung gebracht werden (Akbarian und Huang, 2009). Der Promoter der Glutamatrezeptoruntereinheit2 (NMDA2), essenziell für exzitatorische Synapsen, weist in den Gehirnregionen bzw. während den Entwicklungsphasen, in denen dieses Gen aktiv ist, die aktivierenden Modifikationen H3K4me2/ me3, jedoch nicht die repressive H3K27me3 auf. Während der Aktivität von Neuronen sowie Entwicklungsprozessen kommen also Histonmethylierungen zum Einsatz, um die Genexpression in einer regionspezifischen Art und Weise zu regulieren (Stadler et al., 2005). Weiterhin ergaben Untersuchungen an humanen Frontallappen, dass die Konzentration von H3K4me3 in Schizophrenie-Patienten reduziert ist (Huang et al., 2007). Rückenmarkspathologien, wie z.B. Neuralrohrdefekte, entstehen durch fehlerhafte Vorgänge während des Entwicklungsstadiums, in dem sich das Neuralrohr schließt (Greene und Copp, 2014). Beim Menschen kann die Exposition der Mutter gegenüber Substanzen, die epigenetische Mechanismen beeinflussen können, zu Neuralrohrdefekten und Verhaltensstörungen in der nachfolgenden Generation führen (Banik et al., 2017). So wird beispielsweise Folsäure (Vitamin B9) Frauen routinemäßig während der Schwangerschaft verabreicht, um so das Risiko für Neuralrohrdefekte beim Kind zu senken (Bhargava und Tyagi, 2014; Blom, 2009). Folsäure wird für die Umwandlung von Homozystein zu Methionin benötigt, welches weiter zu S-Adenosyl-Methionin (SAM) methyliert werden kann. SAM stellt die Methylgruppen für Methylierungsreaktionen zur Verfügung, einschließlich derer, die für Histonmethylierungen benötigt werden. Somit kann eine geringe Konzentration an Folsäure die Reduktion von SAM zur Folge haben und dadurch eine Hypomethylierung von Histonen bewirken. Wie bereits erläutert, bedarf es einer korrekten Histonmethylierung, um die fehlerfreie Transkription zu unterschiedlichen Stadien der Zellentwicklung sicherzustellen. In der Tat häufen sich die Hinweise auf eine Korrelation zwischen Neuralrohrdefekten und fehlerhafter Histonmethylierung wie z.B. H3K79me (Wilde et al., 2014; Zhang et al., 2013a). Der Gehalt an H3K79me ist in Patienten mit Neuralrohrdefekten signifikant niedriger als in gesunden Probanden (Zhang et al., 2013b). Diese Studien, kombiniert mit unseren Beobachtungen, dass DOT1L an neuronaler Differenzierung beteiligt ist, machen DOT1L und H3K79me zu neuen, wertvollen Kandidaten, um neuartige und effektive Therapiemöglichkeiten für Neuralrohrdefekte zu entwickeln. Im nachfolgenden Abschnitt werden wir den neuesten Stand der Forschung darüber erläutern, wie

DOT1L und H3K79me auf die Entwicklung des zentralen Nervensystems Einfluss nehmen.

DOT1L und H3K79 – Methylierung

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Methylierungen ist H3K79me nicht am Histonschwanz, der aus dem Nukleosom herausragt, lokalisiert, sondern befindet sich in der globulären Domäne vonn H3 (Abbildung 2B). H3K79me wird durch DOTL1 mono-, di- und trimethyliert. H3K79me1, me2 und me3 sind zu unterschiedlichen Anteilen in der kodierenden Region des Genoms verteilt. H3K79me1 ist hauptsächlich im mittleren Bereicht eines Gens zu finden, während sich H3K79me2/3 mehr auf die Startregion der Transkription (transcription starting site, TSS) beschränken (Deshpande et al., 2012, 2014). H3K79me2 ist in Bereichen lokalisiert, in denen aktive Transkription stattfindet (Nguyen und Zhang, 2011; Vlaming und van Leeuwen, 2016). Jedoch wird nicht jedes transkriptionell aktives Gen durch H3K79me2 markiert. Zusätzlich zeigten wir und andere Gruppen, dass die transkriptionelle Aktivität von bestimmten Genen wie z.B. Tbr1 (T Box Brain 1) (Büttner et al., 2010), ER Stress-Gene im Gehirn (Roidl et al., 2016) oder ENaCα (Scnn1a, sodium channel, nonvoltage-gated 1 alpha) in der Niere (Zhang et al., 2006) mit einer geringeren H3K79me2 einhergeht. Die Information von H3K79me scheint also spezifisch für ein bestimmtes Gen zu sein, abhängig vom Grad der Methylierung und der Lage innerhalb des Gens selbst. Es ist bemerkenswert, dass bislang weder eraser noch reader für H3K79me bekannt sind, was die genaue Funktion dieser Modifizierung weiterhin im Unklaren lässt.

Es wurde gezeigt, dass DOT1L für die Differenzierung von Kardiomyozyten sowie für die Entwicklung des Herzens, Hämatopoese und Knochenentwicklung benötigt wird (Cattaneo et al., 2016; Monteagudo et al., 2017). DOTL1 ist essenziell für die Differenzierung von Stammzellen, zum Beispiel zu Neuronen; jedoch wird es nicht für die Erhaltung der Pluripotenz von Stammzellen benötigt (Barry et al., 2009). Jüngste Studien zeigten, dass DOT1L eine Rolle bei Alterungsprozessen der Zelle spielt (obgleich die genauen Mechanismen noch nicht erforscht sind) und DOT1L-Inhibierung die Zellreprogrammierung unterstützt (Onder et al., 2012; Soria-Valles et al., 2015a, 2015b). Daten aus unserer Gruppe konnten zeigen, dass DOT1L und H3K79me die Proliferation von neuralen Stammzellen aus dem zerebralen Kortex begünstigen und dass aktives DOT1L die Transkription von ER (endoplasmatisches Retikulum) Stress-Genen in vitro unterdrückt (Roidl et

al., 2016). In vivo beeinflusst DOT1L das transkriptionelle Programm, das für die Differenzierung von bestimmten Unterarten von Neuronen benötigt wird. Diese sind in unterschiedlichen neuronalen Schichten des zerebralen Kortex zu finden und werden unterschiedlichen Zeitpunkten der Entwicklung gebildet (Büttner et al., 2010; Franz et al., in Revision) (Abbildung 3C). Wie bereits erwähnt, wird DOT1L für die Differenzierung unterschiedlicher Zelltypen in diversen Organen benötigt. Der genaue Mechanismus jedoch, über den die H3K79me-Modifizierung von der Transkriptionsmaschinerie interpretiert wird, wird weiterhin diskutiert und ist bislang nicht geklärt (Vlaming und van Leeuwen, 2016).

Die Rekrutierung von DOT1L zum Chromatin durch Chromatin reader

DOT1L interagiert mit anderen Proteinen, um Zugang zu bestimmten Regionen des Genoms zu bekommen. So interagiert DOT1L zum Beispiel mit der RNA-Polymerase II, was den erhöhten Gehalt an H3K79me nahe der TSS oder die Verteilung von H3K79me über die gesamte kodierende Region erklären könnte (Kim et al., 2012). Mohan et al., 2010 zeigten, dass DOT1L einen Proteinkomplex bildet, der als DotCom bezeichnet wird. Dieser Komplex beinhaltet zwei Interaktionspartner von DOT1L, zum einen Myeloid/Lymphoid oder mixed-lineage leukemia 3 (MLLT3/AF9) und zum anderen 10 (MLLT10/AF10), welche in der Lage sind, unterschiedliche Chromatinzustände zu "lesen". AF9 bindet acetylierte Histone (Li et al., 2014), wohingegen AF10 nicht-modifiziertes H3K27 bindet (Chen et al., 2015). Somit werden AF9 und AF10 zu bestimmten genomischen Regionen rekrutiert, an denen dann das entsprechende Chromatin durch deren Interaktion mit DOT1L an H3K79 methyliert wird. Dieses Zusammenspiel zwischen acetylierten und H3K79me-Regionen ist ein wichtiger Mechanismus im Krankheitsbild der Leukämie, wo Fusionsproteine von MLL und AF9 oder AF10 die Rekrutierung von DOT1L an Gene ermöglichen, welche Tumorentwicklung und -wachstum bewirken (Chen et al., 2013; Deshpande et al., 2012, 2014; Kuntimaddi et al., 2015). Wir berichteten bereits, dass AF9 DOT1L zum Chromatin im zerebralen Kortex rekrutiert und dass die AF9-DOT1L Interaktion für die Repression der Expression von TBR1 im sich entwickelnden Gehirn verantwortlich ist (Büttner et al., 2010). Indem DOT1L die Expression von TBR1 reprimiert, legt es möglicherweise das Zellschicksal eines Neurons als das eines der oberen Schicht fest (Büttner et al., 2010; Franz et al., in Revision).

Es gibt noch weitere Beispiele für das Zusammenspiel von H3K79me und anderen Histonmodifikationen. Die Ubiquitinierung von Histon 2B (H2Bub) ermöglicht die Methylierung von H3K79 durch DOT1L (Mc Ginty et al., 2008; Mohan et al., 2010; Wang et al., 2013). Diese Rekrutierung von DOT1L wurde bislang noch nicht an Neuronen untersucht, die sich gerade in der Differenzierung befinden, obgleich wir zeigen konnten, dass H2Bub für die Differenzierung von neuralen Stammzellen benötigt wird. Interessanterweise bedarf es ebenso der Ubiquitin-Ligase RNF40, die an H2Bub beteiligt ist, um den bivalenten Zustand (H3K4me3/H3K27me3) von Genen neuronaler Abstammung aufzuheben und deren Aktivierung zu initiieren (H3K4me3) (Karpiuk et al., 2012).

Zusammenfassung

Histonmethylierungen spielen eine zentrale Rolle in der neuralen Differenzierung und der Entwicklung des zentralen Nervensystems. Die Embryogenese ist ein äußerst komplexer Prozess und auf vielfältige Weise anfällig für Störungen. Somit kann alles, was Einfluss auf diese epigenetischen Mechanismen hat, wie z.B. Mutationen in Genen, welche Chromatinmodifizierer, reader und eraser kodieren, eine fehlerfreie Entwicklung stören. Dies gilt nicht nur für die Entwicklung des zentralen Nervensystems, da die zentrale Bedeutung der Umstrukturierung des Chromatins auch für die Differenzierung anderer Gewebe beschrieben wurde (Ghayor und Weber, 2016; Martinez et al., 2015). Aufgrund dieser Entdeckungen werden derzeit weitergehende Methoden und Ansätze erforscht, mit welchen Chromatinmodifizierungen und Mechanismen der Chromatinumstrukturierung im Detail untersucht werden können (Stricker et al., 2017).

Ein detailliertes Verständnis der Mechanismen, mit denen diese Histonmodifikationen Entwicklungsprozesse beeinflussen, ist nicht nur nötig, um das allgemeine Prinzip der Genexpressionskontrolle zu verstehen, sondern ist auch eine vielversprechende Basis für die Entwicklung neuer Arzneimittel. Zusätzlich birgt es großes Potenzial für die Entwicklung von präventiven Strategien und Therapien für verschiedene Pathologien, einschließlich neurologischen und psychiatrischen Krankheitsbildern.

Danksagung: Wir danken SFB992 Medical Epigenetics, finanziert von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, für die Unterstützung von TV (A03), sowie IBRO (International Brain Research Organization), dem DAAD (Deutscher Akademischer Austausch Dienst) und dem argentinischen

Bildungsministerium für die postdoktoralen Stipendien, welche AV verliehen wurden.

Übersetzung: Dr. Joo-Hee Wälzlein

Literatur

- Akbarian, S. and Huang, H.-S. (2009). Epigenetic Regulation in Human Brain - Focus on Histone Lysine Methylation. Biol. Psychiatry 65, 198-203.
- Banik, A., Kandilya, D., Ramya, S., Stünkel, W., Chong, Y. S. and Dheen, S. T. (2017). Maternal Factors that Induce Epigenetic Changes Contribute to Neurological Disorders in Offspring. Genes 8.
- Barry, E. R., Krueger, W., Jakuba, C. M., Veilleux, E., Ambrosi, D. J., Nelson, C. E. and Rasmussen, T. P. (2009). ES cell cycle progression and differentiation require the action of the histone methyltransferase Dot1L. Stem Cells (Dayt. Ohio) 27,
- Bhargava, S., and Tyagi, S. C. (2014). Nutriepigenetic regulation by folate-homocysteine-methionine axis: a review. Mol. Cell Biochem. 387, 55-61.
- Blom, H. J. (2009). Folic acid, methylation and neural tube closure in humans. Birth Defects Res. Part A-Clin. Mol. Teratol. 85, 295-302.
- Büttner, N., Johnsen, S. A., Kügler, S. and Vogel, T. (2010). Af9/Mllt3 interferes with Tbr1 expression through epigenetic modification of histone H3K79 during development of the cerebral cortex. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107, 7042-7047.
- Cattaneo, P., Kunderfranco, P., Greco, C., Guffanti, A., Stirparo, G. G., Rusconi, F., Rizzi, R., Di Pasquale, E., Locatelli, S. L., Latronico, M. V. G. et al. (2016). DOT1L-mediated H3K79me2 modification critically regulates gene expression during cardiomyocyte differentiation. Cell Death Differ. 23, 555-564.
- Chen, L., Deshpande, A., Banka, D., Bernt, K. M., Dias, S., Buske, C., Olhava, E. J., Daigle, S. R., Richon, V. M., Pollock, R. M. et al. (2013). Abrogation of MLL-AF10 and CALM-AF10 mediated transformation through genetic inactivation or pharmacological inhibition of the H3K79 methyltransferase Dot1l. Leukemia 27, 813-822.
- Chen, S., Yang, Z., Wilkinson, A. W., Deshpande, A. J., Sidoli, S., Krajewski, K., Strahl, B. D., Garcia, B. A., Armstrong, S. A., Patel, D. J. et al. (2015). The PZP Domain of AF10 Senses Unmodified H3K27 to Regulate DOT1L-Mediated Methylation of H3K79. Mol. Cell 60, 319-327.
- Cutter, A. R. and Hayes, J. J. (2015). A brief review of nucleosome structure. FEBS Lett. 589, 2914-2922.
- Deshpande, A. J., Bradner, J., and Armstrong, S. A. (2012). Chromatin modifications as therapeutic targets in MLL-rearranged Leukemia. Trends Immunol. 33, 563-570.
- Deshpande, A. J., Deshpande, A., Sinha, A. U., Chen, L., Chang, J., Cihan, A., Fazio, M., Chen, C.-W., Zhu, N., Koche, R. et al. (2014). AF10 regulates progressive H3K79 methylation and HOX gene expression in diverse AML subtypes. Cancer Cell 26, 896-908.

- Ghayor, C. and Weber, F. E. (2016). Epigenetic Regulation of Bone Remodeling and Its Impacts in Osteoporosis. Int. J. Mol. Sci. 17.
- Greene, N. D. E. and Copp, A. J. (2014). Neural tube defects. Annu. Rev. Neurosci. 37, 221-242.
- Harikumar, A. and Meshorer, E. (2015). Chromatin remodeling and bivalent histone modifications in embryonic stem cells. EMBO Rep. 16, 1609-1619.
- Heintzman, N. D., Stuart, R. K., Hon, G., Fu, Y., Ching, C. W., Hawkins, R. D., Barrera, L. O., Van Calcar, S., Qu, C., Ching, K. A. et al. (2007). Distinct and predictive chromatin signatures of transcriptional promoters and enhancers in the human genome. Nat. Genet. 39, 311-318.
- Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. (2010). Epigenetic control of neural precursor cell fate during development. Nat. Rev. Neurosci. 11, 377-388
- Hirabayashi, Y., Itoh, Y., Tabata, H., Nakajima, K., Akiyama, T., Masuyama, N. and Gotoh, Y. (2004). The Wnt/beta-catenin pathway directs neuronal differentiation of cortical neural precursor cells. Dev. Camb. Engl. 131, 2791-2801.
- Huang, H.-S., Matevossian, A., Whittle, C., Kim, S. Y., Schumacher, A., Baker, S. P. and Akbarian, S. (2007). Prefrontal Dysfunction in Schizophrenia Involves Mixed-Lineage Leukemia 1-Regulated Histone Methylation at GABAergic Gene Promoters. J. Neurosci. 27, 11254-11262.
- Imamura, T., Uesaka, M. and Nakashima, K. (2014). Epigenetic setting and reprogramming for neural cell fate determination and differentiation. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 369.
- Karpiuk, O., Najafova, Z., Kramer, F., Hennion, M., Galonska, C., König, A., Snaidero, N., Vogel, T., Shchebet, A., Begus-Nahrmann, Y. et al. (2012). The Histone H2B Monoubiquitination Regulatory Pathway Is Required for Differentiation of Multipotent Stem Cells. Mol. Cell 46, 705-713.
- Kiecker, C., Bates, T. and Bell, E. (2016). Molecular specification of germ layers in vertebrate embryos. Cell. Mol. Life Sci. CMLS 73, 923-947.
- Kim, S.-K., Jung, I., Lee, H., Kang, K., Kim, M., Jeong, K., Kwon, C. S., Han, Y.-M., Kim, Y. S., Kim, D. et al. (2012). Human histone H3K79 methyltransferase DOT1L protein [corrected] binds actively transcribing RNA polymerase II to regulate gene expression. J. Biol. Chem. 287, 39698-39709.
- Kuntimaddi, A., Achille, N. J., Thorpe, J., Lokken, A. A., Singh, R., Hemenway, C. S., Adli, M., Zeleznik-Le, N. J. and Bushweller, J. H. (2015). Degree of Recruitment of DOT1L to MLL-AF9 Defines Level of H3K79 Di- and Tri-methylation on Target Genes and Transformation Potential. Cell Rep. 11, 808-820.
- Lawrence, M., Daujat, S. and Schneider, R. (2016). Lateral Thinking: How Histone Modifications Regulate Gene Expression. Trends Genet. TIG 32, 42-56.
- Li, Y., Wen, H., Xi, Y., Tanaka, K., Wang, H., Peng, D., Ren, Y., Jin, Q., Dent, S. Y. R., Li, W. et al. (2014). AF9 YEATS Domain Links Histone Acetylation to DOT1L-Mediated H3K79 Methylation. Cell 159, 558-571.
- Lomvardas, S. and Maniatis, T. (2016). Histone and DNA Modifications as Regulators of Neuronal Development and Function. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 8.
- Luger, K., Dechassa, M. L. and Tremethick, D. J. (2012). New insights into nucleosome and chromatin structure: an ordered state or a disordered affair? Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 13, 436-447.

- Martinez, S. R., Gay, M. S. and Zhang, L. (2015). Epigenetic mechanisms in heart development and disease. Drug Discov. Today 20, 799-811.
- McGinty, R. K., Kim, J., Chatterjee, C., Roeder, R. G. and Muir, T. W. (2008). Chemically ubiquitylated histone H2B stimulates hDot1L-mediated intranucleosomal methylation. Nature 453,
- Mikkelsen, T. S., Ku, M., Jaffe, D. B., Issac, B., Lieberman, E., Giannoukos, G., Alvarez, P., Brockman, W., Kim, T.-K., Koche, R. P. et al. (2007). Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. Nature 448, 553.
- Mohan, M., Herz, H.-M., Takahashi, Y.-H., Lin, C., Lai, K. C., Zhang, Y., Washburn, M. P., Florens, L. and Shilatifard, A. (2010). Linking H3K79 trimethylation to Wnt signaling through a novel Dot1-containing complex (DotCom). Genes Dev. 24, 574-589.
- Monteagudo, S., Cornelis, F. M. F., Aznar-Lopez, C., Yibmantasiri, P., Guns, L.-A., Carmeliet, P., Cailotto, F. and Lories, R. J. (2017). DOT1L safeguards cartilage homeostasis and protects against osteoarthritis. Nat. Commun. 8, 15889.
- Nguyen, A. T. and Zhang, Y. (2011). The diverse functions of Dot1 and H3K79 methylation. Genes Dev. 25, 1345-1358.
- Onder, T. T., Kara, N., Cherry, A., Sinha, A. U., Zhu, N., Bernt, K. M., Cahan, P., Marcarci, B. O., Unternaehrer, J., Gupta, P. B. et al. (2012). Chromatin-modifying enzymes as modulators of reprogramming. Nature 483, 598-602.
- Peserico, A., and Simone, C. (2011). Physical and Functional HAT/ HDAC Interplay Regulates Protein Acetylation Balance. J. Biomed. Biotechnol. 2011.
- Peterson, C. L. and Laniel, M.-A. (2004). Histones and histone modifications. Curr. Biol. 14, R546-R551.
- Prachayasittikul, V., Prathipati, P., Pratiwi, R., Phanus-Umporn, C., Malik, A. A., Schaduangrat, N., Seenprachawong, K., Wongchitrat, P., Supokawej, A., Prachayasittikul, V. et al. (2017). Exploring the epigenetic drug discovery landscape. Expert Opin. Drug Discov. 12, 345-362.
- Qiao, Y., Yang, X. and Jing, N. (2016). Epigenetic regulation of early neural fate commitment. Cell. Mol. Life Sci. 73, 1399-1411.
- Roidl, D., Hellbach, N., Bovio, P. P., Villarreal, A., Heidrich, S., Nestel, S., Grüning, B. A., Boenisch, U. and Vogel, T. (2016). DOT1L Activity Promotes Proliferation and Protects Cortical Neural Stem Cells from Activation of ATF4-DDIT3-Mediated ER Stress In Vitro. Stem Cells (Dayt. Ohio) 34, 233-245.
- Shlyueva, D., Stampfel, G. and Stark, A. (2014). Transcriptional enhancers: from properties to genome-wide predictions. Nat. Rev. Genet. 15, 272-286.
- Smith, J. L. and Schoenwolf, G. C. (1997). Neurulation: coming to closure. Trends Neurosci. 20, 510-517.
- Solnica-Krezel, L. and Sepich, D. S. (2012). Gastrulation: making and shaping germ layers. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 28, 687-717.
- Song, M.-R. and Ghosh, A. (2004). FGF2-induced chromatin remodeling regulates CNTF-mediated gene expression and astrocyte differentiation. Nat. Neurosci. 7, 229-235.
- Soria-Valles, C., Osorio, F. G., Gutiérrez-Fernández, A., De Los Angeles, A., Bueno, C., Menéndez, P., Martín-Subero, J. I., Daley, G. Q., Freije, J. M. P. and López-Otín, C. (2015a). NF-κB activation impairs somatic cell reprogramming in ageing. Nat. Cell Biol. 17, 1004-1013.

- Soria-Valles, C., Osorio, F. G. and López-Otín, C. (2015b). Reprogramming aging through DOT1L inhibition. Cell Cycle 14, 3345-3346.
- Stadler, F., Kolb, G., Rubusch, L., Baker, S. P., Jones, E. G. and Akbarian, S. (2005). Histone methylation at gene promoters is associated with developmental regulation and region-specific expression of ionotropic and metabotropic glutamate receptors in human brain. J. Neurochem. 94, 324-336.
- Stricker, S. H., Köferle, A. and Beck, S. (2017). From profiles to function in epigenomics. Nat. Rev. Genet. 18, 51-66.
- Suganuma, T. and Workman, J. L. (2008). Crosstalk among Histone Modifications. Cell 135, 604-607.
- Takouda, J., Katada, S. and Nakashima, K. (2017). Emerging mechanisms underlying astrogenesis in the developing mammalian brain. Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 93, 386-398.
- Tang, K., Peng, G., Qiao, Y., Song, L. and Jing, N. (2015). Intrinsic regulations in neural fate commitment. Dev. Growth Differ. 57,
- Tseng, W.-C., Munisha, M., Gutierrez, J. B. and Dougan, S. T. (2017). Establishment of the Vertebrate Germ Layers. Adv. Exp. Med. Biol. 953, 307-381.
- Venkatesh, S. and Workman, J. L. (2015). Histone exchange, chromatin structure and the regulation of transcription. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 16, 178-189.
- Vlaming, H. and van Leeuwen, F. (2016). The upstreams and downstreams of H3K79 methylation by DOT1L. Chromosoma.
- Wang, E., Kawaoka, S., Yu, M., Shi, J., Ni, T., Yang, W., Zhu, J., Roeder, R. G. and Vakoc, C. R. (2013). Histone H2B ubiquitin ligase RNF20 is required for MLL-rearranged leukemia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110, 3901-3906.
- Wilde, J. J., Petersen, J. R. and Niswander, L. (2014). Genetic, epigenetic, and environmental contributions to neural tube closure. Annu. Rev. Genet. 48, 583-611.
- Yang, X.-J. and Seto, E. (2007). HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. Oncogene 26, 5310-5318.
- Zhang, Q., Xue, P., Li, H., Bao, Y., Wu, L., Chang, S., Niu, B., Yang, F. and Zhang, T. (2013a). Histone modification mapping in human brain reveals aberrant expression of histone H3 lysine 79 dimethylation in neural tube defects. Neurobiol. Dis. 54, 404-413.
- Zhang, Q., Xue, P., Li, H., Bao, Y., Wu, L., Chang, S., Niu, B., Yang, F. and Zhang, T. (2013b). Histone modification mapping in human brain reveals aberrant expression of histone H3 lysine 79 dimethylation in neural tube defects. Neurobiol. Dis. 54, 404-413.
- Zhang, T., Cooper, S. and Brockdorff, N. (2015). The interplay of histone modifications - writers that read. EMBO Rep. 16, 1467-1481.
- Zhang, W., Xia, X., Jalal, D. I., Kuncewicz, T., Xu, W., Lesage, G. D. and Kone, B. C. (2006). Aldosterone-sensitive repression of ENaCalpha transcription by a histone H3 lysine-79 methyltransferase. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 290, C936-946.

Anmerkung: Englische Version des Artikels online verfügbar unter https://doi.org/10.1515/nf-2018-A001

Autoreninformationen



Prof. Dr. Tanja Vogel

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Medizinische Fakultät, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Embryologie, Albertstr. 17, 79104 Freiburg, Deutschland

Tel.: +49 761 203 5086

E-Mail: Tanja.Vogel@anat.uni-freiburg.de

Prof. Dr. Tanja Vogel studierte an der Universität Hannover Biochemie (1994) und promovierte zum Dr. rer. nat. am Institut für Humangenetik an der Medizinischen Hochschule Hannover (1997). Ihre Zeit als Postdoktorandin verbrachte sie zunächst am MRC Human Genetics Unit in Edinburgh und anschließend am MPI für Biophysikalische Chemie in Göttingen. Ab 2005 war sie Gruppenleiterin in der Abteilung für Neuroanatomie am Zentrum für Anatomie der Universitätsmedizin Göttingen. Ihre Habilitation schloss sie im Jahre 2010 im Fachbereich Anatomie ab. Für ihre Habilitation wurde ihr die Auszeichnung der besten Habilitation der Universitätsmedizin verliehen. Zum Sommersemester 2011 wechselte Frau Prof. Vogel an die Universität Freiburg. Seit 2014 ist sie kommissarische Leiterin der Abteilung für Molekulare Embryologie des Instituts für Anatomie und Zellbiologie.

Die Forschungsschwerpunkte von Frau Prof. Vogel liegen auf dem Gebiet der Neurobiologie: Epigenetische Histon-Modifikationen in ZNS-Entwicklung und Funktion, TGFß Signale der neuronalen Stammzelldifferenzierung und nicht-kodierende RNAs in neurologischen Entwicklungsstörungen.



Alejandro Villarreal

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Medizinische Fakultät, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Embryologie, Albertstr. 17, 79104 Freiburg, Deutschland

Tel.: +49 761 203 5108

E-Mail: Alejandro.Villarreal@anat.unifreiburg.de

Dr Alejandro Villarreal studierte Biologie an der Buenos Aires Universität. Er promovierte bis 2014 bei Dr. Alberto Javier Ramos mit einer Studie über reaktive Astrocyten in einem Schlaganfallmodell. Er ist Prof. Dr Vogel's Gruppe als Postdoktorand beigetreten, um Fachwissen im Forschungsbereich Epigenetik und Histonmodifikationen zu erwerben. Seine Forschungsinteressen liegen in den Bereichen Nervenzellendifferenzierung, in der Entwicklunsgbiologie und Gehirnschäden.



Dr. Henriette Franz

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Medizinische Fakultät, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Embryologie, Albertstr. 17, 79104 Freiburg, Deutschland

Tel.: +49 761 203 5108

E-Mail: Henriette.Franz@anat.uni-freiburg.

Frau Dr. Henriette Franz hat an der Universität Leipzig Biochemie (2005) studiert und am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen zum Dr. rer. nat. (2010) promoviert. Als Postdoktorandin forschte sie zuerst am Zentrum für klinische Forschung der Uniklinik Freiburg (2015) und ist nun am Institut für Anatomie und Zellbiologie an der Universität Freiburg in der Lehre und in der Forschung tätig. Ein Schwerpunkt von Frau Dr. Franz ist die Neuroepigenetik.

Alejandro Villarreal, Henriette Franz and Tanja Vogel*

Histone methylations in the developing central nervous system and in neural tube defects

https://doi.org/10.1515/nf-2018-A001

Abstract: Understanding central nervous system genesis is of crucial relevance to decode different human diseases such as microcephaly or neural tube defects, which arise from incorrect developmental processes. Epigenetic mechanisms regulate gene expression in a spatio-temporal manner and are implicated in diverse cellular actions one of which is cell differentiation. Therefore, the study of these mechanisms is of great relevance in the context of development and disease. In this article, we will review histone methylations as epigenetic modification and how they impact on gene expression and cell differentiation in central nervous system development and neural differentiation. Further, we will discuss an emerging link between histone methylation in the etiology of neural tube defects. We will specifically highlight the role of the disruptor of telomeric silencing like 1 (DOT1L) and histone H3 lysine 79 methylation (H3K79me), which is an unusual histone modification with implication for proper central nervous system development.

Keywords: Development; Neural Differentiation; Epigenetics; Histone Methylation; Neural Tube Defects

Introduction

In a multicellular organism like human beings, all cells in the body originate from one single cell, the zygote, which results from the fusion between egg and sperm. After fertilization, the zygote will proliferate giving rise to many other cells, tissues, and organs until reaching a complete body in a process named embryogenesis. One of the hallmarks during embryogenesis is the gastrulation step, in which the three germ layers are formed (Kiecker et al.,

Alejandro Villarreal, Henriette Franz, Institute for Anatomy and Cell Biology, Department of Molecular Embryology, Medical Faculty, Albert-Ludwigs-University Freiburg, 79104 Freiburg, Germany, Mail: Alejandro.Villarreal@anat.uni-freiburg.de, Henriette.Franz@anat.uni-freiburg.de

2016; Solnica-Krezel and Sepich, 2012; Tseng et al., 2017). These layers are endoderm, mesoderm and ectoderm. Further on during development, the ectoderm will give rise to the neural tube, from where the central nervous system derives (Greene and Copp, 2014; Smith and Schoenwolf, 1997) (Figure 1A). The central nervous system comprises two gross anatomical structures: the brain and the spinal cord. These structures contain multiple types of neurons, which transmit and receive electric signals throughout the body. Besides the neurons, astrocytes, oligodendrocytes and microglial cells are also part of the central nervous system (Figure 1B). Astrocytes provide metabolic support to neurons, regulate synaptic transmission, are involved in the formation of the blood brain barrier and have neuroprotective effects during brain injury. Oligodendrocytes generate the myelin sheets around neuronal axons. An interesting fact is that, except for microglial cells, which derive from precursors originating in the yolk sac, all the other cell types share a common origin in the central nervous system. That means that they derive from a common precursor cell. These initially multipotent precursors are the neural stem cells that reside in the neural tube. During central nervous system development, the neural stem cells adapt the potential to either proliferate to produce more stem cells or to enter differentiation in the consecutive processes of neuro-, astro- or oligodendrogenesis. Whereas proliferative cell division leads to a daughter cell generation with the same developmental potential, differentiative cell division comes along with a restricted potential and the daughter cell is determined to adapt a certain cell fate. Specific signals are needed to stop the proliferation and to start differentiation. Thus, the neural stem cell gradually restricts and redirects its proliferative or differentiative potential, a phenomenon called cell commitment (Hirabayashi and Gotoh, 2010; Qiao et al., 2016; Tang et al., 2015).

But what makes a neuron to be a neuron, an astrocyte to be an astrocyte and an oligodendrocyte to be what it needs to be? How does a cell know which phenotype and function to adopt? How is a fate maintained and not reverted? Since years, we know that the activity or transcription of specific genes determine cell fate and function. All cells originated from the zygote, and therefore all cells have the same DNA sequence and composition of

^{*}Corresponding author: Tanja Vogel, Institute for Anatomy and Cell Biology, Department of Molecular Embryology, Medical Faculty, Albert-Ludwigs-University Freiburg, 79104 Freiburg, Germany, Mail: Tanja.Vogel@anat.uni-freiburg.de

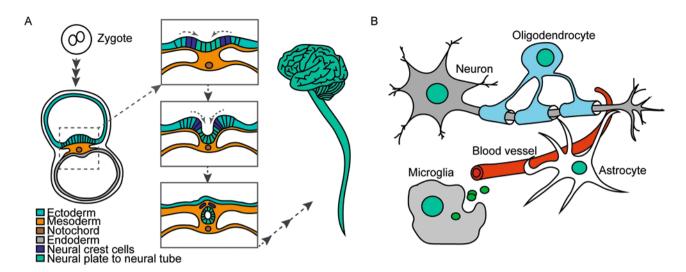


Fig. 1: A. Development from zygote over neural tube to CNS in humans. B. Neurons, Astrocytes, oligodendrocytes and microglia are main cell types of the CNS.

genes. But to drive different cell fates it is necessary that specific subsets of genes are active at precise time points. Thus, it is important to understand how the subsets of genes are selected and how the expression of these genes is activated, repressed or balanced to adapt a different cell fate. There is a plethora of molecular mechanisms known to be involved in the regulation of gene transcription. In this review, we will focus solely on epigenetic mechanisms that include histone modifications and how these protein modifications influence gene transcription in the context of cell differentiation in the central nervous system.

Structure of the chromatin

Histones are small proteins that have the capacity to bind DNA. The structural unit of histone proteins and DNA is called chromatin. Two of each core histones, H2A, H2B, H3 and H4 associate to form an octamer. 146 bp of the DNA wraps approx. 1,5 times around each histone octamer. This smallest compaction unit of the chromatin, the DNA-histone core complex, is called nucleosome. A fifth type of histone localises outside of the nucleosome. This is the linker histone H1 that serves on a higher level to compact the DNA (Cutter and Hayes, 2015; Lawrence et al., 2016). Histones undergo chemical modifications after they are synthesized, as other proteins in the cell. The process of protein synthesis is called translation and the subsequent chemical changes of proteins are known as posttranslational modifications. Posttranslational modifications induce different states of a protein that allow e.g. for different enzymatic activity, protein interactions, or localisation within a specific cellular compartment. Among the posttranslational modifications of histones the following have been widely studied: acetylation, phosphorylation, methylations, deamination, ubiquitination, ADP ribosylation and sumovlation (Lawrence et al., 2016; Peserico and Simone, 2011; Prachayasittikul et al., 2017; Yang and Seto, 2007). Posttranslational modifications of histones are epigenetic modifications as they have the potential to be transmitted into the next cell generation and they carry specific information about the transcriptional status of the associated genomic locus. They are set by enzymes, the writers, interpreted by binding proteins, the readers, and removed by erasers (Figure 2A). Therefore, posttranslational modifications can be highly flexible and provide another layer of genetic information extending the genetic code. The different posttranslational modifications on the histones affect e.g. the structure of the chromatin by either making it more (open chromatin) or less (closed chromatin) accessible for the transcriptional machinery. This mechanism is very important since open chromatin usually contains genes that are actively transcribed. On the other hand, if the chromatin has a closed configuration, genes will be silent and not transcribed. Open and active chromatin is known as euchromatin, whereas silent chromatin is called heterochromatin (Cutter and Hayes, 2015; Luger et al., 2012; Venkatesh and Workman, 2015).

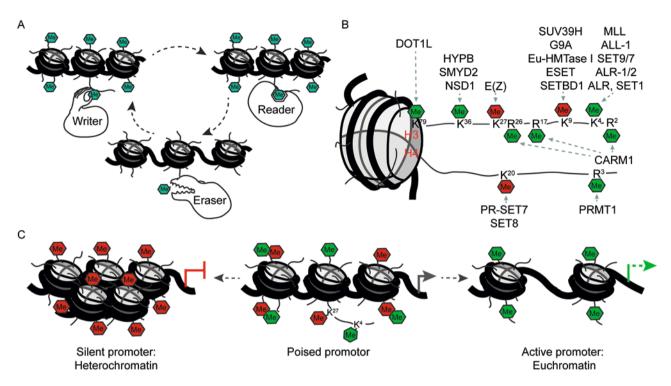


Fig. 2: A. Writer, reader and eraser proteins of histone modifications. B. Histone methylation marks and their writing enzymes. Green: activation of transcription. Red: repression of transcription. C. Poised promoters carry activating and repressing modifications at the same time. During development of specific cell types one of the modifications remains and the respective gene will be activated or repressed.

Regulation of chromatin accessibility by histone modifications

Histones can be modified at specific amino acids. Both the position of the modified amino acids in the histone as well as the chemical group that is attached to the amino acid bear information on chromatin accessibility. Posttranslational modifications can alter the interaction between the positively charged histones and the negatively charged phosphate groups of the DNA. Chromatin will become open and accessible to transcription factors if the interaction is less strong, e.g. through addition of negative charges into the histone. This is achieved if a histone becomes for example acetylated. Acetylation of a histone will thus reduce stability of the whole nucleosome. Therefore, histone acetylation is transcriptionally activating.

The outcome of histone methylations with regard to transcriptional activity is more diverse. Depending on the position of the amino acid, a methylation can result in the activation or repression of a gene (Figure 2B). Lysine (abbreviated as K) can be mono, di and trimethylated (me1, me2 and me3), while arginine (R) only carries me1 and me2 for steric reasons. Not only the degree of methylation but also the position of the amino acid influences the outcome for gene activity. For example, trimethylation of histone 3 at lysine 9 or lysine 27 (H3K9me3 and H3K27me3, respectively), results in repression of gene expression. On the other hand, H3K4me3 and H3K36me3 participate in transcriptional initiation and elongation (Lawrence et al., 2016; Peterson and Laniel, 2004). A further variability is the position of the histone methylation within a gene. For example, H3K4me1 is located at genomic regions which increase gene transcription, known as enhancers, whereas H3K4me3 is present at genomic regions which initiate the transcription of a gene, known as active promoters (Heintzman et al., 2007; Shlyueva et al., 2014). The combination of all histone modifications within a genome establishes a "histone code" which determines the transcription of specific genes and thereby cellular commitment.

Especially during development, active and repressive histone modifications sometimes coexist at the same regulative elements. For example, if such a histone code is located in the promoter region upstream of the transcriptional start site, this promoter is called "poised". The reason for this is that these promoters, which are marked at the same time with the activating H3K4me3 and the repressing H3K27me3 or H3K9me3, respectively, are within a so called bivalent state (Figure 2C). The downstream gene of poised promoters will generally be not active. However,

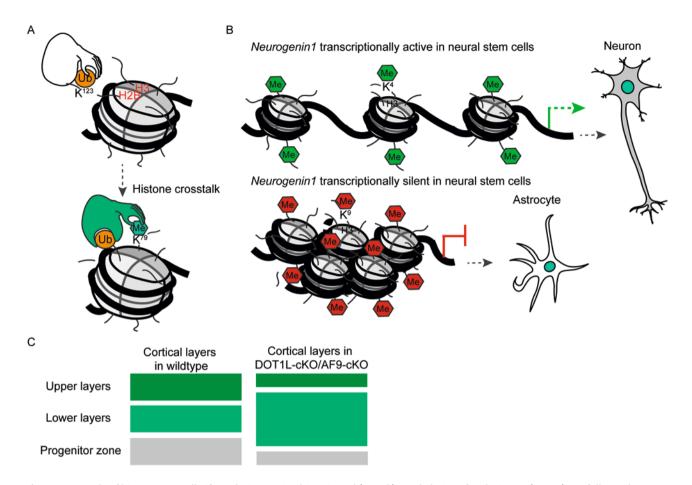


Fig. 3: A. Example of histone crosstalk: if H2B lysine 123 is ubiquitinated (H2Bub), methylation of H3 lysine 79 (H3K79) can follow subsequently. **B.** The cell fate of neural stem cells (NSCs) is dependent on the modification status of the *Ngn1* promotor and its expression. Methylation on H3 lysine 4 (H3K4) at the *Ngn1* promotor in NSCs leads to expression of the *Ngn1* gene and a neuronal cell fate. However, methylation on H3 lysine 9 (H3K9) leads to repression on *Ngn1* and an astrocytic cell fate. **C.** The knockout of *Af9* or *Dot1l* leads to generation of neurons expressing markers characteristic for lower layers in the cerebral cortex. The number of upper layer neurons and of neural stem cells in the progenitor zone are reduced.

it only requires the removal of the repressive histone methylation for the activation of the gene, as the activating information is already in place. This bivalent state therefore allows a fast temporal activation of gene expression which is of crucial importance for proper differentiation (Harikumar and Meshorer, 2015; Hirabayashi and Gotoh, 2010).

Furthermore, the establishment of one particular histone mark can positively or negatively influence the deposition of a second. An example of this is the ubiquitination of H2B, which facilitates di-methylation of H3K79 by the methyltransferase Disruptor of Teleomeric Silencing-like 1 (DOT1L) (Figure 3A). This concept is known as "histone crosstalk" (Suganuma and Workman, 2008; Nguyen and Zhang, 2011; Zhang et al., 2015.)

Activation but also repression of genes is required for cell differentiation. Both events must occur in a correct temporo-spatial manner to ensure proper differentiation. Many transcription factors orchestrate gene expression for which they need to access the chromatin and to interact e.g. with enhancer or promoter regions. Thereby, histone modifications are important upstream regulators, since they will regulate the accessibility of the chromatin. Beside histone modifications there are other molecular mechanisms like non coding RNAs, or DNA methylation, by which the activity of transcription factors and chromatin accessibility are regulated additionally (Imamura et al., 2014).

Histone modifications during neural cell differentiation

During development and differentiation the fate potential of stem cells becomes sequentially more restricted (Hirabayashi and Gotoh, 2010; Lomvardas and Maniatis, 2016). As mentioned above, neural stem cells differentiate early in development into neurons and in later developmental stages they acquire the potential to differentiate into astrocytes. The switch of the transcriptional program underlying the differentiation into a different cell type is accompanied by chromatin modifications. More specifically, genes involved in differentiation become activated depending on the histone modifications located on the respective promoter. An example of this is, Ngn1 (Neurogenin 1), a gene which is only expressed in neural stem cells that are committed to acquire a neuronal cell fate (neurogenic neural stem cells) (Hirabayashi and Gotoh, 2010; Hirabayashi et al., 2004). At the embryonic stem cell stage, the promoter of Ngn1 contains repressive and activating marks (H3K27me3 and H3K4me3, respectively). The repressive mark H3K9me3 is also present at the Ngn1 promoter at this stage. During differentiation, this bivalent (poised) state of the promoter is resolved by removing the repressive marks. In such case, embryonic stem cells differentiate into neurons where Ngn1 is active (Hirabayashi and Gotoh, 2010; Mikkelsen et al., 2007). In contrast, if Ngn1 stays repressed, the neural stem cells differentiate into astrocytes (Figure 3B). The epigenetic regulation of *Ngn1* represents an example of how a poised promoter can resolve into a defined state (active or repressed) with consequences for cell type commitment (neuron or astrocyte).

Another example is the promotor of the *Gfap* gene that encodes for the astrocytic protein GFAP (Glial fibrillary acidic protein). During astrocyte differentiation this gene is activated, whereas it is repressed in neurons. During astrocyte differentiation, the repressive H3K9me3 at the Gfap promoter is replaced by the activating H3K4me3 (Song and Ghosh, 2004; Takouda et al., 2017).

Histone methylations in central nervous system function and disease

A growing body of data shows that histone methylations have important impact on central nervous system development and function. E.g. postmortem studies of human brains show that mutations in chromatin writers like Euchromatic Histone Lysine Methyltransferase 1 (EHMT1), an H3K9 methyltransferase, and Lysine Demethylase 5C (KDM5C), an H3K4 demethylase, are linked to mental retardation (Akbarian and Huang, 2009). The promoter of glutamate receptor subunits (NMDA2), which are critical for excitatory synapses, have the activating marks H3K4me2/me3 and lack the repressive mark H3K27me3 in those regions of the brain and at specific ages of development in which these genes are active. Thus, neuronal activity and development hijack histone methylations to regulate gene expression in a region specific way (Stadler et al., 2005). Further, H3K4me3 levels are decreased in schizophrenia when analysed in human frontal lobe samples (Huang et al., 2007). Spinal cord pathologies such as neural tube defects arise through developmental defects at a time when the neural tube closes (Greene and Copp, 2014). In humans, maternal exposure to compounds that affect epigenetic mechanisms provoke neural tube defects and other behavioural disorders in the offspring (Banik et al., 2017). For example folic acid (Vitamin B9) is routinely administrated to women during pregnancy, to reduce the risk of neural tube defects in the child (Bhargava and Tvagi, 2014; Blom, 2009). Folic acid is used for the conversion of homocysteine to methionine, which can be methlated to S-adenosyl-methionine (SAM). SAM provides the methyl group for methylation reactions, including methylation of histones. Thus, low levels of folic acid can result in a reduction of SAM, and hypomethylation of histones. As we have outlined above, proper histone methylation secures correct activation of transcriptional programs in various cell states. Indeed, there is emerging evidence for a correlation between neural tube defects and aberrant histone methylation such as H3K79me (Wilde et al., 2014; Zhang et al., 2013a). H3K79me levels in neural tube defect patients were significantly lower compared to healthy humans (Zhang et al., 2013b). This result, together with our observations that DOT1L is involved in neuronal differentiation, makes DOT1L and H3K79me important novel targets to study with the aim of designing new and effective therapeutic strategies against neural tube defects. In the following we will therefore enlighten the state-of-the-art on how DOT1L and H3K79me influence central nervous system development.

DOT1L and H3K79 methylation

In contrast to other methylations described above, H3K79me is not located in the histone tails that stick out of the nucleosome, but it is found in the globular domain of H3 (Figure 2B). H3K79 is mono, di and trimethylated by DOT1L. H3K79me1, me2 or me3 are differently distributed in the coding regions of the genome. H3K79me1 is mainly localised in the gene body, but H3K79me2/3 are more restricted to the transcription starting site (TSS) (Deshpande et al., 2012, 2014). H3K79me2 seems very confined to regions of active transcription (Nguyen and Zhang, 2011; Vlaming and van Leeuwen, 2016). However, not every transcriptional active gene is marked with H3K79me2. In addition, we and others observed that transcriptional activation of specific genes, such as Tbr1 (T Box Brain 1) (Büttner et al., 2010) or ER stress genes in the brain (Roidl et al., 2016), or ENaCα (Scnn1a, Sodium Channel, Nonvoltage-gated 1 alpha) in the kidney (Zhang et al., 2006), comes along with decreased levels of H3K79me2. Thus, the information of H3K79me seems gene specific, dependent on the degree of methylation, and the location within the gene. It is of note that neither eraser nor reader of H3K79me is known as yet, which renders the meaning of this mark still enigmatic.

It has been shown that DOT1L is required for cardiomyocyte differentiation, heart development, hematopoiesis and bone development (Cattaneo et al., 2016; Monteagudo et al., 2017). DOT1L is crucial for stem cell differentiation e.g. into neurons, however it is not required for maintaining stem cell pluripotency (Barry et al., 2009). Recent studies showed that DOT1L is involved in the process of cell aging (through mechanisms not yet understood) and its inhibition facilitates cell reprogramming (Onder et al., 2012; Soria-Valles et al., 2015a, 2015b). Our own work demonstrated that DOT1L and H3K79me promote proliferation of neural stem cells from the cerebral cortex and that DOT1L activity represses endoplasmic reticulum (ER) stress gene transcription in vitro (Roidl et al., 2016). In vivo, DOT1L influences transcriptional programs that are necessary to allow differentiation of specific neuronal subtypes, which reside in different neuronal layers within the cerebral cortex and which are generated at different developmental time points (Büttner et al., 2010, Franz et al., in revision) (Figure 3C). DOT1L is, as mentioned above, required for differentiation of different cell types in various organ systems. But the way in which the H3K79me mark is interpreted by the transcriptional machinery, remains under debate and is still not resolved as yet (Vlaming and van Leeuwen, 2016).

Recruitment of DOT1L to the chromatin through chromatin readers

DOT1L interacts with other proteins to access specific regions of the genome. For example, DOT1L interacts with RNA polymerase II, which might explain the increased H3K79me near the TSS or H3K79me distribution over entire coding regions (Kim et al., 2012). Mohan et al., 2010 reported that DOT1L forms a protein complex known as DotCom. This complex includes two interactors of DOT1L namely Myeloid/Lymphoid or Mixed-Lineage Leukemia 3 (MLLT3/AF9) and 10 (MLLT10/AF10) which are able to "read" different states of the chromatin. AF9 binds acetylated histones (Li et al., 2014), whereas AF10 binds unmodified H3K27 (Chen et al., 2015). In this way, AF9 and AF10 are recruited to specific genomic regions, and through their interaction with DOT1L the respective chromatin is methylated at H3K79. This crosstalk between acetylated and H3K79me regions is an important mechanism in leukaemia, where fusion proteins of MLL and AF9 or AF10 confer arbitrary presence of DOT1L at genes that drive tumour development and progression (Chen et al., 2013; Deshpande et al., 2012, 2014; Kuntimaddi et al., 2015). We reported that AF9 recruits DOT1L to the chromatin in the cerebral cortex, and that AF9-DOT1L interaction is responsible for repressing TBR1 expression in the developing brain (Büttner et al., 2010). In this way, by repressing TBR1 expression DOT1L may be promoting a neuronal fate commitment towards an upper layer identity (Büttner et al., 2010; Franz et al., in revision).

There are further examples of crosstalks between H3K79me and other histone modifications. Ubiquitination of histone 2B (H2Bub) facilitates methylation of H3K79 by DOT1L (McGinty et al., 2008; Mohan et al., 2010; Wang et al., 2013). This mechanism of DOT1L recruitment is not yet explored in differentiating neurons, even though we showed that H2Bub is required for neural stem cell differentiation. Interestingly RNF40, the ubiquitin ligase involved in H2Bub, is also necessary to resolve a bivalent state (H3K4me3/H3K27me3) of neuronal lineage specific genes towards activation (H3K4me3) (Karpiuk et al., 2012).

Concluding remarks

Histone methylations play important roles in neural differentiation and central nervous system development. Because embryogenesis is a very complex process it can be disturbed in various ways. Therefore, anything that disturbs these epigenetic mechanisms, e.g. mutations in genes coding for chromatin modifiers, readers and erasers, might impact on proper development. This statement is not only valid for development of the central nervous system, since the relevance of chromatin remodelling mechanisms has been shown during the differentiation of other tissues as well (Ghayor and Weber, 2016; Martinez et al., 2015). As a consequence of these discoveries, more techniques and approaches are being developed to specifically study chromatin modifying and remodelling mechanisms (Stricker et al., 2017). Understanding in detail how histone modifications influence development is not only of relevance to understand general principles of gene expression control, but it is also a promising platform for drug discovery, and development of preventive strategies and therapeutic treatments for various diseases including neurological and psychiatric pathologies.

Acknowledgments: We acknowledge the Deutsche Forschungsgemeinschaft funded CRC992 Medical Epigenetics for funding to TV (A03) and IBRO (International Brain Research Organization), DAAD (Deutscher Akademisher Austausch Dienst) and the Argentinean Ministry of Education for the postdoctoral scholarships awarded to AV.

Bibliography

- Akbarian, S., and Huang, H.-S. (2009). Epigenetic Regulation in Human Brain - Focus on Histone Lysine Methylation. Biol. Psychiatry 65, 198-203.
- Banik, A., Kandilya, D., Ramya, S., Stünkel, W., Chong, Y. S., and Dheen, S. T. (2017). Maternal Factors that Induce Epigenetic Changes Contribute to Neurological Disorders in Offspring. Genes 8.
- Barry, E. R., Krueger, W., Jakuba, C. M., Veilleux, E., Ambrosi, D. J., Nelson, C. E., and Rasmussen, T. P. (2009). ES cell cycle progression and differentiation require the action of the histone methyltransferase Dot1L. Stem Cells Dayt. Ohio 27, 1538-1547.
- Bhargava, S., and Tyagi, S. C. (2014). Nutriepigenetic regulation by folate-homocysteine-methionine axis: a review. Mol. Cell. Biochem. 387, 55-61.
- Blom, H. J. (2009). Folic acid, methylation and neural tube closure in humans. Birt. Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol. 85, 295-302.
- Büttner, N., Johnsen, S. A., Kügler, S., and Vogel, T. (2010). Af9/Mllt3 interferes with Tbr1 expression through epigenetic modification of histone H3K79 during development of the cerebral cortex. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107, 7042-7047.
- Cattaneo, P., Kunderfranco, P., Greco, C., Guffanti, A., Stirparo, G. G., Rusconi, F., Rizzi, R., Di Pasquale, E., Locatelli, S. L., Latronico, M. V. G., et al. (2016). DOT1L-mediated H3K79me2 modification

- critically regulates gene expression during cardiomyocyte differentiation. Cell Death Differ. 23, 555-564.
- Chen, L., Deshpande, A., Banka, D., Bernt, K. M., Dias, S., Buske, C., Olhava, E. J., Daigle, S. R., Richon, V. M., Pollock, R. M., et al. (2013). Abrogation of MLL-AF10 and CALM-AF10 mediated transformation through genetic inactivation or pharmacological inhibition of the H3K79 methyltransferase Dot1l. Leukemia 27, 813-822.
- Chen, S., Yang, Z., Wilkinson, A. W., Deshpande, A. J., Sidoli, S., Krajewski, K., Strahl, B. D., Garcia, B. A., Armstrong, S. A., Patel, D. J., et al. (2015). The PZP Domain of AF10 Senses Unmodified H3K27 to Regulate DOT1L-Mediated Methylation of H3K79. Mol. Cell 60, 319-327.
- Cutter, A. R., and Hayes, J. J. (2015). A brief review of nucleosome structure. FEBS Lett. 589, 2914-2922.
- Deshpande, A. J., Bradner, J., and Armstrong, S. A. (2012). Chromatin modifications as therapeutic targets in MLL-rearranged Leukemia. Trends Immunol. 33, 563-570.
- Deshpande, A. J., Deshpande, A., Sinha, A. U., Chen, L., Chang, J., Cihan, A., Fazio, M., Chen, C.-W., Zhu, N., Koche, R., et al. (2014). AF10 regulates progressive H3K79 methylation and HOX gene expression in diverse AML subtypes. Cancer Cell 26, 896-908.
- Ghayor, C., and Weber, F. E. (2016). Epigenetic Regulation of Bone Remodeling and Its Impacts in Osteoporosis. Int. J. Mol. Sci. 17.
- Greene, N. D. E., and Copp, A. J. (2014). Neural tube defects. Annu. Rev. Neurosci. 37, 221-242.
- Harikumar, A., and Meshorer, E. (2015). Chromatin remodeling and bivalent histone modifications in embryonic stem cells. EMBO Rep. 16, 1609-1619.
- Heintzman, N. D., Stuart, R. K., Hon, G., Fu, Y., Ching, C. W., Hawkins, R. D., Barrera, L. O., Van Calcar, S., Qu, C., Ching, K. A., et al. (2007). Distinct and predictive chromatin signatures of transcriptional promoters and enhancers in the human genome. Nat. Genet. 39, 311-318.
- Hirabayashi, Y., and Gotoh, Y. (2010). Epigenetic control of neural precursor cell fate during development. Nat. Rev. Neurosci. 11,
- Hirabayashi, Y., Itoh, Y., Tabata, H., Nakajima, K., Akiyama, T., Masuyama, N., and Gotoh, Y. (2004). The Wnt/beta-catenin pathway directs neuronal differentiation of cortical neural precursor cells. Dev. Camb. Engl. 131, 2791-2801.
- Huang, H.-S., Matevossian, A., Whittle, C., Kim, S. Y., Schumacher, A., Baker, S. P., and Akbarian, S. (2007). Prefrontal Dysfunction in Schizophrenia Involves Mixed-Lineage Leukemia 1-Regulated Histone Methylation at GABAergic Gene Promoters. J. Neurosci. 27, 11254-11262.
- Imamura, T., Uesaka, M., and Nakashima, K. (2014). Epigenetic setting and reprogramming for neural cell fate determination and differentiation. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 369.
- Karpiuk, O., Najafova, Z., Kramer, F., Hennion, M., Galonska, C., König, A., Snaidero, N., Vogel, T., Shchebet, A., Begus-Nahrmann, Y., et al. (2012). The Histone H2B Monoubiquitination Regulatory Pathway Is Required for Differentiation of Multipotent Stem Cells. Mol. Cell 46, 705-713.
- Kiecker, C., Bates, T., and Bell, E. (2016). Molecular specification of germ layers in vertebrate embryos. Cell. Mol. Life Sci. CMLS 73, 923-947.
- Kim, S.-K., Jung, I., Lee, H., Kang, K., Kim, M., Jeong, K., Kwon, C. S., Han, Y.-M., Kim, Y. S., Kim, D., et al. (2012). Human

- histone H3K79 methyltransferase DOT1L protein [corrected] binds actively transcribing RNA polymerase II to regulate gene expression. J. Biol. Chem. 287, 39698-39709.
- Kuntimaddi, A., Achille, N. J., Thorpe, J., Lokken, A. A., Singh, R., Hemenway, C. S., Adli, M., Zeleznik-Le, N. J., and Bushweller, J. H. (2015). Degree of Recruitment of DOT1L to MLL-AF9 Defines Level of H3K79 Di- and Tri-methylation on Target Genes and Transformation Potential. Cell Rep. 11, 808-820.
- Lawrence, M., Daujat, S., and Schneider, R. (2016). Lateral Thinking: How Histone Modifications Regulate Gene Expression. Trends Genet. TIG 32, 42-56.
- Li, Y., Wen, H., Xi, Y., Tanaka, K., Wang, H., Peng, D., Ren, Y., Jin, Q., Dent, S. Y. R., Li, W., et al. (2014). AF9 YEATS Domain Links Histone Acetylation to DOT1L-Mediated H3K79 Methylation. Cell 159, 558-571.
- Lomvardas, S., and Maniatis, T. (2016). Histone and DNA Modifications as Regulators of Neuronal Development and Function. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 8.
- Luger, K., Dechassa, M. L., and Tremethick, D. J. (2012). New insights into nucleosome and chromatin structure: an ordered state or a disordered affair? Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 13, 436-447.
- Martinez, S. R., Gay, M. S., and Zhang, L. (2015). Epigenetic mechanisms in heart development and disease. Drug Discov. Today 20, 799-811.
- McGinty, R. K., Kim, J., Chatterjee, C., Roeder, R. G., and Muir, T. W. (2008). Chemically ubiquitylated histone H2B stimulates hDot1L-mediated intranucleosomal methylation. Nature 453, 812-816.
- Mikkelsen, T. S., Ku, M., Jaffe, D. B., Issac, B., Lieberman, E., Giannoukos, G., Alvarez, P., Brockman, W., Kim, T.-K., Koche, R. P., et al. (2007). Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. Nature 448, 553.
- Mohan, M., Herz, H.-M., Takahashi, Y.-H., Lin, C., Lai, K. C., Zhang, Y., Washburn, M. P., Florens, L., and Shilatifard, A. (2010). Linking H3K79 trimethylation to Wnt signaling through a novel Dot1-containing complex (DotCom). Genes Dev. 24, 574-589.
- Monteagudo, S., Cornelis, F. M. F., Aznar-Lopez, C., Yibmantasiri, P., Guns, L.-A., Carmeliet, P., Cailotto, F., and Lories, R. J. (2017). DOT1L safeguards cartilage homeostasis and protects against osteoarthritis. Nat. Commun. 8, 15889.
- Nguyen, A. T., and Zhang, Y. (2011). The diverse functions of Dot1 and H3K79 methylation. Genes Dev. 25, 1345-1358.
- Onder, T. T., Kara, N., Cherry, A., Sinha, A. U., Zhu, N., Bernt, K. M., Cahan, P., Marcarci, B. O., Unternaehrer, J., Gupta, P. B., et al. (2012). Chromatin-modifying enzymes as modulators of reprogramming. Nature 483, 598-602.
- Peserico, A., and Simone, C. (2011). Physical and Functional HAT/ HDAC Interplay Regulates Protein Acetylation Balance. J. Biomed. Biotechnol. 2011.
- Peterson, C. L., and Laniel, M.-A. (2004). Histones and histone modifications. Curr. Biol. 14, R546-R551.
- Prachayasittikul, V., Prathipati, P., Pratiwi, R., Phanus-Umporn, C., Malik, A. A., Schaduangrat, N., Seenprachawong, K., Wongchitrat, P., Supokawej, A., Prachayasittikul, V., et al. (2017). Exploring the epigenetic drug discovery landscape. Expert Opin. Drug Discov. 12, 345-362.
- Qiao, Y., Yang, X., and Jing, N. (2016). Epigenetic regulation of early neural fate commitment. Cell. Mol. Life Sci. 73, 1399-1411.
- Roidl, D., Hellbach, N., Bovio, P. P., Villarreal, A., Heidrich, S., Nestel, S., Grüning, B. A., Boenisch, U., and Vogel, T. (2016). DOT1L

- **Activity Promotes Proliferation and Protects Cortical Neural** Stem Cells from Activation of ATF4-DDIT3-Mediated ER Stress In Vitro. Stem Cells Dayt. Ohio 34, 233-245.
- Shlyueva, D., Stampfel, G., and Stark, A. (2014). Transcriptional enhancers: from properties to genome-wide predictions. Nat. Rev. Genet. 15, 272-286.
- Smith, J. L., and Schoenwolf, G. C. (1997). Neurulation: coming to closure. Trends Neurosci. 20, 510-517.
- Solnica-Krezel, L., and Sepich, D. S. (2012). Gastrulation: making and shaping germ layers. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 28,
- Song, M.-R., and Ghosh, A. (2004). FGF2-induced chromatin remodeling regulates CNTF-mediated gene expression and astrocyte differentiation. Nat. Neurosci. 7, 229-235.
- Soria-Valles, C., Osorio, F. G., Gutiérrez-Fernández, A., De Los Angeles, A., Bueno, C., Menéndez, P., Martín-Subero, J. I., Daley, G. Q., Freije, J. M. P., and López-Otín, C. (2015a). NF-κB activation impairs somatic cell reprogramming in ageing. Nat. Cell Biol. 17, 1004-1013.
- Soria-Valles, C., Osorio, F. G., and López-Otín, C. (2015b). Reprogramming aging through DOT1L inhibition. Cell Cycle 14, 3345-3346.
- Stadler, F., Kolb, G., Rubusch, L., Baker, S. P., Jones, E. G., and Akbarian, S. (2005). Histone methylation at gene promoters is associated with developmental regulation and region-specific expression of ionotropic and metabotropic glutamate receptors in human brain. J. Neurochem. 94, 324-336.
- Stricker, S. H., Köferle, A., and Beck, S. (2017). From profiles to function in epigenomics. Nat. Rev. Genet. 18, 51-66.
- Suganuma, T., and Workman, J. L. (2008). Crosstalk among Histone Modifications. Cell 135, 604-607.
- Takouda, J., Katada, S., and Nakashima, K. (2017). Emerging mechanisms underlying astrogenesis in the developing mammalian brain. Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 93, 386-398.
- Tang, K., Peng, G., Qiao, Y., Song, L., and Jing, N. (2015). Intrinsic regulations in neural fate commitment. Dev. Growth Differ. 57,
- Tseng, W.-C., Munisha, M., Gutierrez, J. B., and Dougan, S. T. (2017). Establishment of the Vertebrate Germ Layers. Adv. Exp. Med. Biol. 953, 307-381.
- Venkatesh, S., and Workman, J. L. (2015). Histone exchange, chromatin structure and the regulation of transcription. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 16, 178-189.
- Vlaming, H., and van Leeuwen, F. (2016). The upstreams and downstreams of H3K79 methylation by DOT1L. Chromosoma.
- Wang, E., Kawaoka, S., Yu, M., Shi, J., Ni, T., Yang, W., Zhu, J., Roeder, R. G., and Vakoc, C. R. (2013). Histone H2B ubiquitin ligase RNF20 is required for MLL-rearranged leukemia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110, 3901-3906.
- Wilde, J. J., Petersen, J. R., and Niswander, L. (2014). Genetic, epigenetic, and environmental contributions to neural tube closure. Annu. Rev. Genet. 48, 583-611.
- Yang, X.-J., and Seto, E. (2007). HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. Oncogene 26, 5310-5318.
- Zhang, Q., Xue, P., Li, H., Bao, Y., Wu, L., Chang, S., Niu, B., Yang, F., and Zhang, T. (2013a). Histone modification mapping in human brain reveals aberrant expression of histone H3 lysine

79 dimethylation in neural tube defects. Neurobiol. Dis. 54, 404-413.

Zhang, Q., Xue, P., Li, H., Bao, Y., Wu, L., Chang, S., Niu, B., Yang, F., and Zhang, T. (2013b). Histone modification mapping in human brain reveals aberrant expression of histone H3 lysine 79 dimethylation in neural tube defects. Neurobiol. Dis. 54, 404-413

Zhang, T., Cooper, S., and Brockdorff, N. (2015). The interplay of histone modifications - writers that read. EMBO Rep. 16, 1467-1481

Zhang, W., Xia, X., Jalal, D. I., Kuncewicz, T., Xu, W., Lesage, G. D., and Kone, B. C. (2006). Aldosterone-sensitive repression of ENaCalpha transcription by a histone H3 lysine-79 methyltransferase. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 290, C936-946.

Article note: German version available at https://doi.org/10.1515/nf-2018-0001

Bionotes



Prof. Dr. Tanja Vogel Institute for Anatomy and Cell Biology, Department of Molecular Embryology, Medical Faculty, Albert-Ludwigs-University Freiburg, 79104 Freiburg, Germany,

Mail: Tanja.Vogel@anat.uni-freiburg.de

Phone: +49 761 203-5086

Prof. Dr. Tanja Vogel studied biochemistry at the University of Hanover (1994). rer. nat. at the Institute of Human Genetics at the Hannover Medical School (1997). She spent her time as a postdoc at the MRC Human Genetics Unit in Edinburgh and then at the MPI for Biophysical Chemistry in Göttingen. From 2005 she was group leader in the Department of Neuroanatomy at the Center for Anatomy of the University Medicine of Göttingen. She completed her habilitation in 2010 in the Department of Anatomy. For her habilitation she was awarded the distinction of the best habilitation of the Medical Faculty. For the summer semester 2011, Prof. Vogel moved to the University of Freiburg. Since 2014 she has been Acting Director of the Department of Molecular Embryology at the Institute of Anatomy and Cell Biology. Prof. Vogel's research interests lie in the field of neurobiology: epigenetic histone modifications in CNS development and function, TGFB signals of neuronal stem cell differentiation and non-coding RNAs in neurological developmental disorders.



Alejandro Villarreal

Institute for Anatomy and Cell Biology, Department of Molecular Embryology, Medical Faculty, Albert-Ludwigs-University Freiburg, 79104 Freiburg, Germany, Phone: +49 761 203-5108 Mail: Alejandro.Villarreal@anat.uni-freiburg.de

Mr. Dr. Alejandro Villarreal studied biology at Buenos Aires University. He received his doctorate in 2014 with Dr. Alberto Javier Ramos with a study on reactive astrocytes in a brain stroke model. He joined Prof. Dr Vogel's group as a postdoctoral researcher to gain expertise in epigenetics and histone modification research. His research interests include neural cell differentiation, developmental biology and brain injury.



Dr. Henriette Franz

Institute for Anatomy and Cell Biology, Department of Molecular Embryology, Medical Faculty, Albert-Ludwigs-University Freiburg, 79104 Freiburg, Germany, Phone: +49 761 203-5108

Mail: Henriette.Franz@anat.uni-freiburg.de

Dr. Henriette Franz graduated in Biochemsitry at the University of Leipzig in 2005. She earned her PhD at the Max Planck Institute for Biophysical Chemistry, Göttingen in 2010. For her postdoctoral specialization, Dr. Franz moved to the Center for Clinical Research at the University of Freiburg. Since 2015 she is conducting research and teaching in the field of Neuroepigenetics at the Department of Molecular Embryology at the Institute of Anatomy and Cell Biology in Freiburg.

Übersichtsartikel

Martin Heisenberg*

"Mind from Matter?" - Über Verhalten und Gehirn

https://doi.org/10.1515/nf-2018-0002

Zusammenfassung: Wie hat die Darwin'sche Evolution aus toter Materie den menschlichen Geist (die Seele; engl. mind) hervorgebracht? Aus diesem langen, komplizierten Prozess nimmt der vorliegende Aufsatz einen wichtigen Abschnitt heraus, den vom tierischen Verhalten zur Tier-Seele (animal mind). Der Lebensprozess hat zwei Domänen: Die Erhaltung der internen Stabilität und die Wechselwirkung zwischen dem Organismus und der Welt. Bei Tieren sind diese Wechselwirkungen als Verhalten organisiert. In der Evolution entsteht nützliches Verhalten, weil dieses der Fitness zugutekommt. Angesichts des Reichtums der Welt und der Offenheit der Zukunft wird die Organisation des Verhaltens immer komplexer und indirekter (Metaorganisation). Dieses Konzept wird in dem vorliegenden Aufsatz mit Verhaltensstudien an der Fliege Drosophila dokumentiert.

Schlüsselwörter: Biologische Evolution; tote Materie; Verhaltensorganisation; Leben, Seele, Geist

Max Delbrück, einer der Begründer der molekularen Genetik, schrieb vor etwa 40 Jahren ein Buch mit dem Titel "Mind from Matter?" (Delbrück, 1986). Schon seit Beginn der Neuzeit wird über das Verhältnis zwischen der materiellen und der psychischen Wirklichkeit nachgedacht. René Descartes hatte ihre Verschiedenartigkeit mit der Vorstellung von zwei unvereinbaren Seinsweisen hervorgehoben, eine Vorstellung, die heute als ontologischer Dualismus bezeichnet wird. Mit der Entwicklung der Naturwissenschaften und speziell Darwins Evolutionslehre entdeckte man mehr und mehr Übergänge und Gemeinsamkeiten. Zur Zeit Delbrücks herrschte unter Naturwissenschaftlern schon die Vorstellung, dass psychische Prozesse im Gehirn stattfinden. Allerdings lag die Antwort auf die Frage, wie diese und die physiologischen Prozesse sich gegenseitig beeinflussen, noch weitgehend im Dunkel.

Als Naturalist nimmt man an, dass im Lauf der Evolution aus abiotischer Materie zunächst das Leben entstand, lebende Materie. Das waren zunächst vermutlich Gruppen sich durch zyklische Autokatalyse vermehrender Moleküle, deren Zusammengehörigkeit vielleicht schon durch eine sie umhüllende Membran gesichert war. Diese getrennten Organismen diversifizierten sich weiter und entwickelten als Bestandssicherung die Verdopplung, wie wir sie heute von den Einzellern kennen, Myriaden von einzigartigen, gegen ihre Umwelt weitgehend abgeschlossenen Wesen. Später entwickelten sich die Vielzeller und ihre zyklische Regeneration. Mit der Fortbewegung im Raum entstanden in einem Teil der Lebewesen Verhalten und Gehirn, mit der Sozialisation die Kommunikation und der Geist (englisch: mind). Mit dem Fragezeichen in seinem Titel zeigte Delbrück, dass er diesem Scenario allerdings selbst noch etwas verwundert gegenüber stand. Offenbar war für ihn die Frage noch nicht abgeschlossen. Ich will sie in diesem Aufsatz noch einmal aufnehmen, um aus der heutigen Sicht der Verhaltensforschung die Entstehung des Mentalen in der Biomaterie etwas plausibler zu machen.

Soweit wir bisher wissen, ist das Leben ein einmaliger, einzigartiger, aber außerordentlich vielgestaltiger Prozess. Ob die Grundprinzipien der Bestandssicherung und Diversifizierung in ähnlichen Prozessen auch in anderen Gegenden des Universums verwirklicht sind, wissen wir nicht, und ich sehe auch keine rationale Möglichkeit, Wahrscheinlichkeiten dafür anzugeben, dass solche Behauptungen zutreffen. Die Entstehung des Lebens zieht sich bis heute hin. Die Evolution ist Schöpfung: Überall in der Biosphäre entsteht Neues, das vorher nicht da war und sich nicht zwingend aus früheren Zuständen des Universums ableiten lässt. Wir können rückblickend vielleicht rekonstruieren, wie etwas entstanden ist, aber selbst ein allwissender Übermensch könnte nicht vorhersehen, was in Zukunft entstehen wird. Das gilt besonders für die biologische Evolution.

Lebewesen sind, wie gesagt, Unikate in einem für die Evolution signifikanten Sinn. Jeder von uns ist eines davon. Ein wesentliches Element ihrer Organisation ist der hohe Grad ihrer *Autonomie*. Jedes ist weitgehend auf sich selbst gestellt. Jedes erlebt die Welt zunächst nur aus seiner Sicht. Wohl kaum etwas anderes ist für ein Lebewesen

^{*}Korrespondenzautor: Martin Heisenberg, Julius-Maximilians Universität Würzburg, Rudolf-Virchow-Zentrum, D15, Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg, Deutschland, E-Mail: heisenberg@ biozentrum.uni-wuerzburg.de

so einschneidend, wie die Grenze zwischen sich selbst und dem Rest der Welt, zwischen eigen und fremd, innen und außen. Die Lebewesen können Eigenschaften haben, die noch nie eines vor ihnen hatte und die man später, wenn sie sich bewährt und unter den Nachkommen verbreitet haben, als neu entstandene Funktionen oder Strukturen beschreiben kann. Auch in der Welt des Geistes entsteht ständig Neues durch unser Denken, Reden und Handeln. Dort ist die Entstehung des Neuen am offensichtlichsten.

Bei der Entstehung des Neuen kommt eine Grundeigenschaft der Materie zum Tragen, die Aktivität. Vorgänge können ohne erkennbare hinreichende Ursachen von selbst in Gang kommen. Bei der Radioaktivität zerfällt ein Atom z.B., ohne dass der Zeitpunkt des Zerfalls vorher schon genau feststeht. An dem Prozess ist der ontologische Zufall beteiligt. Man könnte diesen als den Übergang vom Nicht-Sein zum Sein bezeichnen, als ein Schöpfungsereignis.

In lebender Materie macht sich die Aktivität deutlicher bemerkbar als in toter. Eine Zelle teilt sich, ein Bakterium verändert von sich aus seinen Ort, ein neuer Trieb entsteht an einem Zweig, etc.. Bei Tieren zeigt sich die Aktivität noch deutlicher. Verhalten ist in der Regel aktiv. Das Tier initiiert von sich aus spontan ein Verhalten. Die Kausalkette, die zur Aktivierung eines Verhaltens führt, hat im Tier angefangen. Jeder kennt das so auch von sich selbst. Wir sind Akteure. Unsere Sprache hat eine eigene Verbform dafür, das Aktiv.

Damit sind wir schon beim Verhalten. Das Lebewesen ist nicht vollständig abgeschlossen und nicht allein. Das Verhalten ist der Umgang eines Lebewesens mit der Welt und den anderen Lebewesen.

Der einzelne Verhaltensvorgang ist ein Teil des Evolutionsprozesses. Schon jedes Tier kann mit seinem Verhalten zur Selektion, zur weiteren Entwicklung der Biosphäre beitragen. Die Selektion findet schon im Verhalten statt: Eine Mutation, die unter keinen Umständen irgendwelche Auswirkungen auf den Reproduktionserfolg eines Tieres und den seiner Nachkommen hat, ist im evolutionsbiologischen Sinn inert. Das einzelne Verhalten kann für den Reproduktionserfolg gut oder schlecht sein. Da es hier nicht um die Moral geht, werde ich es als 'adaptiv' oder ,nicht-adaptiv' im evolutionsbiologischen Sinn bezeichnen. Anders gesagt, das Verhalten eines Tieres leistet einen größeren oder kleineren Beitrag zur Fortpflanzung seiner Gene, zur Stabilität dieses zyklischen Erneuerungsprozesses Leben. Das richtige Verhalten ist das, was ein Tier für sein gutes Leben beitragen kann.

Das Gehirn hat sich in der Evolution für die Organisation des Verhaltens entwickelt. Diese Beziehung ist unübersehbar. Je vielfältiger und besser das Verhalten, desto

größer das Gehirn. Zum Beispiel sind bestimmte Tunikaten in einer ersten Lebensphase aktiv mobil, dann geben sie ihre Mobilität auf und machen sich am Untergrund fest. Im ersten Lebensabschnitt haben sie ein Zentralnervensystem, für den zweiten bauen sie es ab. Es ist zu kostspielig. Ein anderes Beispiel ist die Fliege Drosophila: Als Larve ohne Gliedmaßen hat sie zunächst einen kleinen Aktionsradius und ein sehr bescheidenes Verhaltensrepertoire. Man sagt, sie sei vor allem auf Nahrungssuche. Mit der Metamorphose vervielfältigt sich ihr Verhalten und ihr Aktionsradius nimmt gewaltig zu. Das Volumen des Gehirns verzehnfacht sich.

Die Tiere, die mobil sind, mehrere bilateral symmetrische Paare von Gliedmaßen haben, sich in der Welt zurechtfinden, fressen, kommunizieren, kopulieren, kämpfen, Probleme lösen, Schutz suchen, schlafen und durch den Winter kommen müssen, ähneln sich in der basalen Grundorganisation ihres Verhaltens. Diese Ähnlichkeit zeigt sich offenbar auch in der strukturellen Organisation des Gehirns. Man kennt weitreichende strukturelle Homologien zwischen den Gehirnen der Säuger und Insekten (Strausfeld und Hirth, 2013), wie der Fund eines fossilen Gehirns des gemeinsamen Vorfahren Fuxianhuia protensa vor 500 Millionen Jahren aus einem Steinbruch in der Nähe von Kunming in Süd-China nahelegt.

Mit der aktiven Fortbewegung in einer unbekannten Welt und mit einer offenen Zukunft ist die gute Organisation des Verhaltens eine große, oft nur unvollkommen lösbare Aufgabe. Evolutionsbiologisch betrachtet haben sich mit der Zeit immer anspruchsvollere Formen der Verhaltensorganisation gebildet. Einfache Regeln wie: "Es wird dunkel: schlafen gehen!" oder: "Der Energievorrat geht zu Ende: Futter suchen!" führen oft nicht zum gewünschten Ergebnis. So haben sich mit der Zeit auch Organisationsformen entwickelt, bei denen viele konditionale Bedingungen zusammenwirken, Formen, die an veränderte Bedingungen angepasst werden können, die die Verhaltensorganisation nicht unmittelbar, sondern nur indirekt und nur gegebenenfalls verbessern.

Nehmen wir die Tätigkeit eines Verlegers. Er stellt Bücher her und verkauft möglichst viele von ihnen. Das ist so, aber mit dieser Aussage hat man keine erschöpfende Jobbeschreibung. Sein Arbeitsplan ist weitaus vielseitiger. Er muss Manuskripte lesen und redigieren, u. U. Autoren suchen und mögliche Buchprojekte mit ihnen diskutieren, er muss den spezifischen Bedarf in den verschiedenen Zweigen des Buchmarkts untersuchen. Lesereisen für Autoren organisieren, Kundenkontakte pflegen, nicht nur mit den Endverbrauchern, sondern auch mit Versandhäusern, Buchläden und Bibliotheken, neue Produktionsund Lesemethoden im Auge behalten, usw., usw., All diese Tätigkeiten verbessern die Qualität und beflügeln den Verkauf der Bücher indirekt. Die eigentliche Herstellung und der Verkauf nehmen nur einen kleinen Teil der Arbeitsplanung ein.

So ist es auch mit der Verhaltensorganisation. Das Leben ist das gestaltete Verhalten. In jedem Moment und an jedem Ort ist das richtige Verhalten gefragt, mit der richtigen oder zumindest einer guten Wirkung. Es soll dem Tier nützen. Nur so kann es ihm die Fitness für die Weitergabe seiner Gene verschaffen.

Das Verhalten spielt sich als Interaktion mit der Welt ab. Dafür entwickelt z.B. auch schon das Tiergehirn ein Modell der Welt. Dieses ist zum Teil von den Vorfahren ererbt und durch die eigene Erfahrung weiter angepasst. Das Tier muss die aktuellen Gegebenheiten der Welt kennenlernen, um sich richtig verhalten zu können. Es muss lernen, unter welchen Umständen, wann und wo sein Verhalten welche Wirkungen hat. Schon wenn es z. B. irgendwo regungslos sitzt, liefern seine Sinne ihm u. U. nützliche Informationen für das Verhalten, das es vielleicht später ausführen wird. Das Tier erwirbt schon Orientierung. Es kann sein Verhalten vorher auf die dann aktuellen Gegebenheiten der Umgebung einstellen.

Alles, was im Gehirn neben der direkten Verhaltensorganisation vor sich geht, das Mentale, das Psychische, die Gefühle, das Denken, das Wissen, die Mathematik, die Kunst, alles kann man im Licht der biologischen Evolution ebenfalls als Teil der Verhaltensorganisation verstehen, allerdings im Hintergrund. Das folgt aus der Annahme, dass auch die mentalen Gehirnprozesse im wesentlichen auf dem Weg über das Verhalten relevant für die Fortpflanzung der eigenen Gene werden, d. h. nur so die Lebensstabilität und den Fortpflanzungserfolg beeinflussen.

Man geht heute davon aus, dass für die einzelnen Verhaltensmodule im Nervensystem spezifische Netzwerke vorhanden sind, die das jeweilige Verhalten ablaufen lassen, wenn sie aktiviert werden. Zentrale Mustergeneratoren' werden sie genannt. Bei großen Insekten hat man einige von ihnen auch schon identifiziert. Fast alle Aktionen sind fast immer abgeschaltet, nicht nur nachts. Die Wahrscheinlichkeit ihrer Aktivierung hängt von zahlreichen Einflüssen ab, wie Wahrnehmungen, Trieben, Stimmungen, Gefühlen, Erinnerungen, und so weiter. Die Mustergeneratoren müssen jeweils mit einer Schaltung gekoppelt sein, die die Erwartung der Wirkung der jeweiligen Aktion in den verschiedensten Lebenslagen repräsentiert. Denn, um zwischen verschiedenen Aktionen auswählen zu können, muss das Tier die zu erwartenden Wirkungen der Aktionen mit einander vergleichen. Die Wirkungen der Verhaltensakte können nicht mit Sicherheit vorhergesagt werden, schon allein, weil -wie gesagt- die Zukunft offen ist. Wenn die Wirkungen sich ändern, müssen die Erwartungen dieser Wirkungen entsprechend angepasst werden. Es ist außerordentlich aufwendig, für bestimmte Aktionen und bestimmte Lebensumstände verlässliche Wirkungserwartungen zu etablieren. Kein Wunder, dass es dazu des Gehirns bedarf.

Das Mentale als Teil der Verhaltensorganisation ist keine theoretische Annahme. Man kann es im Verhalten beobachten. Das soll in den nächsten Abschnitten an Beispielen aus der aktuellen Verhaltens- und Gehirnforschung vorgeführt werden. Die Beispiele stammen ausschließlich von einem Organismus, der Taufliege Droso-

Fliegen führen ein anderes Leben als Menschen. Das Fliegengehirn enthält etwa eine Million mal weniger Nervenzellen als unseres. Wir dürfen also davon ausgehen, dass die Verhaltensorganisation von Mensch und Fliege sehr unterschiedlich und die der Fliege entsprechend bescheidener ist. Aber wenn Mind from Matter zutrifft und es, wie vorgeschlagen, eine gemeinsame Grundorganisation des Verhaltens gibt, die auch schon bei den gemeinsamen Vorfahren vor 500 Millionen Jahren vorlag, darf man annehmen, dass sich auch schon im Fliegenverhalten die indirekte, die mentale Ebene der Verhaltensorganisation zeigt und vielleicht dort sogar leichter zu beobachten ist als beim Menschen. Hinzu kommt, dass das Fliegenverhalten unter Laborbedingungen untersucht wird, wo die Verhaltensorganisation in besonderer Weise gefordert ist. Im Folgenden ist der Leser eingeladen sich bei den Verhaltensbeispielen jeweils selbst zu überlegen, wie indirekt die Verhaltensorganisation ist.

Intentionalität: Fliegen verhalten sich intentional. Wenn ich etwas tue, will ich in der Regel damit etwas erreichen. Mein Tun hat ein Ziel, eine Absicht. Es wird immer wieder behauptet, der wesentliche Unterschied zwischen menschlichem Handeln und Verhalten von Tieren sei, dass Tiere nicht intentional wären. Diese Behauptung hat sich inzwischen nicht nur bei den Tierfreunden als falsch herausgestellt. Schon die Fliege kommt für die Aktivierung ihres Verhaltens nicht ohne die jeweilige Erwartung seiner Wirkung aus. Diese Wirkungserwartungen sind gewichtet und bewertet, d.h. einerseits wird die Zuverlässigkeit der Erwartung mitgespeichert, andererseits auch der adaptive Wert der erwarteten Wirkung im Fall ihres Eintreffens. Eine Entscheidung kann sich indirekt auswirken und die Wirkung, auf die es ankommt, weit in der Zukunft liegen. Solches Verhalten nennt man intentional.

Erlernte Hilflosigkeit: Die Erwartungen gibt es realiter im Fliegengehirn, denn man kann sie in Verhaltensexperimenten manipulieren. Ein Beispiel ist die sogenannte Erlernte Hilflosigkeit (Batsching et al., 2016): Die Fliege läuft in einer kleinen, länglichen Kammer hin und her. Man misst, wo die Fliege gerade ist und kann abhängig vom Ort der Fliege die Kammer erhitzen; z.B. kann man es so einrichten, dass die Hitze angeht, wenn die Fliege sitzen bleibt und ausgeht, wenn die Fliege wieder losläuft. Die Fliege hätte also das An- und Ausgehen der Hitze unter ihrer Kontrolle, wenn sie diesen Zusammenhang zwischen ihrem Laufverhalten und den Temperaturveränderungen an dem Ort, an dem sie gerade ist, kennen würde. Genau dies wird im Verhaltensversuch gezeigt.

Wenn die Fliege sitzen bleibt und eine Sekunde später von der Hitze getroffen wird, läuft sie meist sofort wieder los. Sie hält die Hitzepulse so kurz, dass die Temperatur meist schon wieder abfällt, bevor sie ihre volle Höhe erreicht hat und kompensiert das erzwungene kürzere Sitzen mit häufigeren Pausen.

Eine zweite Fliege in einer genauso gebauten Kammer bekommt die gleichen Hitzepulse, aber unabhängig von ihrem eigenen Verhalten. Sie muss die Hitze aushalten ohne Einfluss auf sie zu haben. Anfangs versucht sie, wenn sie gerade sitzt, der Hitze zu entkommen, aber sie unterdrückt dieses offenbar unnütze Verhalten immer häufiger. Wenn sie im Laufen von der Hitze getroffen wird, dreht sie die Laufrichtung um, lernt aber bald, dass auch das nichts nützt und gibt den Versuch auf. Nur ab und zu probiert sie noch, ob die Hitze inzwischen vielleicht doch wieder beeinflussbar ist. In der Zwischenzeit läuft sie langsamer und macht längere Pausen. Sie zeigt durch die immer häufigere Unterdrückung der Fluchtreaktion, dass sie sich nicht mehr viel von ihr verspricht. Ansonsten schont sie ihre Kräfte und verfällt in einen depressionsähnlichen Zustand (Ries et al., 2017), in dem sie auch andere Reizangebote auslässt.

Im Hin-und-Herlaufen in so einer Kammer kann man die Dauer der Ruhepausen messen. Ohne Störungen durch Hitzepulse sind die Häufigkeiten dieser Dauer nach einem bestimmten Zufallsmuster verteilt, dessen Ausbildung von bestimmten Neuronen einer zentralen Gehirnregion abhängt, die an der Orientierung im Raum beteiligt ist. Blockiert man die Synapsen dieser Neuronen, ändert sich das zeitliche Muster (Martin et al., 2001).

Ob man diese Anpassung der Wirkungserwartung an die Erfahrung und die depressionsähnliche Disposition als mental bezeichnen soll, sei dahingestellt. Dasselbe gilt für Intentionalität. Aber dass die hintergründige Verhaltensorganisation für die Fliege günstig ist, kann man nicht übersehen.

Selbst: Auch im Flug kann man Wirkungserwartungen beobachten. Das verdanken wir einer Untersuchungsmethode, die schon vor mehr als 50 Jahren entwickelt wurde (Reichardt und Wenking, 1969). Die Fliege wird am Rücken angeklebt und an einem Gerät befestigt, das die Drehkräfte um ihre senkrechte Körperachse misst, die sie entwickelt. Wenn sich in ihrem Sehfeld eine Bewegung zeigt, interpretiert sie diese zunächst als Eigendrehung und versucht mit einem Wendemanöver in die gleiche Richtung ihren Flug zu stabilisieren, merkt allerdings schon in Sekundenbruchteilen, dass ihr Verhalten keinen Erfolg hat (Heisenberg und Wolf, 1984).

In einem nächsten Schritt wird das Messgerät zu einem Flugsimulator ausgebaut. Wir hängen die Fliege in die Mitte einer zylinderförmigen Arena, auf deren innerer, senkrechter Wand wir visuelle Muster bewegen können. Aus den Drehkräften der Fliege berechnen wir, wie schnell sie sich, wäre sie frei, drehen würde und drehen das Panorama in die entgegengesetzte Richtung: Produziert die Fliege Kräfte nach rechts, dreht sich das Panorama nach links. Das verschafft der Fliege die Illusion einer eigenen Drehung. Die Fliege ergreift augenblicklich dieses Angebot und versucht, ihre scheinbare Eigendrehung zu stoppen und geradeaus zu fliegen.

Der Flugsimulator gibt uns die Möglichkeit, die Wirkung des Verhaltens gezielt zu manipulieren und damit die Wirkungserwartung als Element der Flugsteuerung sichtbar zu machen. Wir können z.B. genau in dem Moment, in dem die Wirkung eines Wendemanövers nach rechts in der Bewegung des Panoramas nach links bestehen sollte, stattdessen das Panorama ebenfalls nach rechts drehen. Diese, der normalen Erfahrung der Fliege widersprechende, Bewegungsrichtung löst bei der Fliege zunächst massive Korrekturversuche aus, die alle das Gegenteil von dem bewirken, was die Fliege erwartet. Belässt man die Fliege für eine Weile in einer solchen "verkehrten Welt" legt sich allerdings die Verwirrung, sobald die Fliege mitbekommt, dass sie nicht dem reinen Chaos ausgesetzt ist, sondern es nun eine Drehung nach links ist, welche sich, mithilfe unserer Apparatur, als eine Drehung des Panoramas nach links auswirkt. Mit anderen Worten, wie im ersten Beispiel: Wirkungserwartungen sind nicht starr, sondern können sich anpassen!

Ausprobieren: Auch Tiere geraten in Situationen, in denen sie keine ausreichenden Hinweise haben, was das richtige, das beste Verhalten sein könnte. Es gibt vielleicht Verhaltensoptionen, die in Frage kommen, aber keine hat klare Erfolgsaussichten. Dann kann man immer noch ausprobieren. Für die Fliege bedeutet Ausprobieren ein Verhalten zu aktivieren, für das sie keine hinreichend

positiv bewertete Wirkungserwartung hat. Wie gesagt, sie ist Akteur, sie agiert von sich aus, sie ist initial aktiv. Hier kommt der Zufall ins Spiel. Hier zeigt sich, dass zufälliges Verhalten adaptiv sein kann. Die Fliege registriert die Wirkung und wiederholt das Verhalten, wenn sich eine ähnliche Situation wieder ergibt. Eine neue Verhaltensreaktion ist geboren (Wolf und Heisenberg, 1986).

Die Entstehung solcher Reizreaktionszusammenhänge lässt sich im Labor direkt beobachten. Ein Beispiel haben wir schon oben im Bewegungsumkehrexperiment gesehen. In einem anderen Versuch kleben wir eine Fliege am Rücken an und setzen sie auf eine federnde Wippe. auf der sie mit ihrer Körperhaltung eine künstliche visuelle Umwelt, ein Panorama mit einem schwarzen Balken steuern kann. Drückt sie mit ihren Beinen die Wippe nach links, dreht sich der Zylinder im Uhrzeigersinn, drückt sie die Wippe nach rechts, dreht er sich im Gegenuhrzeigersinn. Die Fliege merkt sehr schnell durch Ausprobieren, dass sie es ist, die die Bewegungen des Balkens verursacht und dirigiert ihn so, dass er vor der Fliege bleibt. Offenbar versucht sie, auf die Landmarke zuzulaufen. Dieses Verhalten zeigt sie unabhängig davon, wie man die Beziehung zwischen Drehrichtung des Zylinders und Auslenkung der Wippe wählt. Genauso gut kann man die Auslenkung des Hinterleibs der Fliege verwenden, die Drehung des Zylinders zu steuern. Anders als im Flugsimulator kann die Fliege nicht auf einen schon in ihren Genen oder ihrer Erfahrung angelegten Reizreaktionszusammenhang zurückgreifen, sondern muss nach irgendeinem Verhalten suchen, das sich auf die Bewegung des Panoramas auswirkt. So lernt auch ein Kleinkind sein erstes Plastikauto zu steuern.

Aufmerksamkeit: Mit ihren vergleichsweise großen Augen erfasst die Fliege etwa 85% des Sehraumes gleichzeitig. Was sie in den verschiedenen Teilen des Sehfeldes sieht, hat aber oft unterschiedliche Verhaltensrelevanz. Kann die Fliege die Auswertung der Sehsignale auf Teile des Sehfeldes begrenzen? Hat sie Aufmerksamkeit (Sareen et al., 2011; Koenig et al., 2016)? Um dieser Frage nachzugehen, entzieht man der Fliege die Eigenkontrolle und zeigt ihr zwei schwarze Balken, den einen rechts, den anderen links vor ihr, und bewegt plötzlich beide gleichzeitig in entgegengesetzte Richtungen. Sie kann nur einer der beiden Bewegungen mit einem Versuch der Eigendrehung folgen. Was soll sie tun? Sie tut mal das eine, mal das andere. Wenn man nun aber kurz vor dem Test eine Seite für die Fliege interessant macht, indem man z.B. von dort einen angenehmen Duft auf die Fliege bläst oder indem man den Balken dort kurz hin und her wackelt, antwortet die Fliege im nachfolgenden Test bevorzugt auf diesen Balken. Sie hat ihre Aufmerksamkeit auf die Seite gelenkt, wo das Ereignis vorher stattgefunden hatte. Auch nach dem Test bleibt die Aufmerksamkeit noch für ein paar Sekunden in diesem Bereich, bis die Fliege sie möglicherweise von sich aus anderswo hin lenkt (Koenig et al., 2016).

Wahrnehmungshypothesen: Auch am Flugsimulator lässt sich zeigen, dass die Fliege, wie der Mensch im Seh-Vorgang mit mehrdeutigen Mustern, mal die eine, mal die andere Hypothese verfolgt (Toepfer et al., 2018). Wir zeigen ihr im Panorama zwei über einander liegende, fein gemusterte Texturen, die sich ohne das Zutun der Fliege relativ zu einander mit gleichmäßiger Geschwindigkeit bewegen. Aber zusätzlich steuert die Fliege beide mit ihrem Drehmoment. Sie kann ihren Flug also nur jeweils gegenüber einer der Texturen stabilisieren. Während sie das tut, muss sie die Bewegung der anderen vernachlässigen. Wie der Mensch beim Anblick des Necker-Würfels, wechselt die Fliege von sich aus zwischen den beiden Möglichkeiten hin und her. Das Sehen ist nicht nur passive Informationsaufnahme, sondern Deutung. Auch die Fliege interpretiert visuelle Reize versuchsweise. Ein größer werdender dunkler Fleck kann ein Räuber oder ein Landeplatz sein, dem die Fliege sich nährt. Von der richtigen Deutung hängt es ab, ob das gewählte Verhalten adaptiv ist (Toepfer et al., 2018).

Schlaf: Der Schlaf ist eine Phase im Verhaltensablauf. Aber ist er ein mentaler Zustand? Gibt es ihn bei der Fliege? Die Fliege ist tagsüber meist mobil und nachts oft für längere Zeit bewegungslos. Wie kann man wissen, ob das Schlaf ist? Sie legt sich nicht wie ein Hund bequem auf die Seite und ihre Augen kann sie auch nicht schließen. Der Schlaf der Fliege bleibt eine Annahme, die dadurch gestärkt wird, dass man immer mehr Übereinstimmungen zwischen Mensch und Fliege in den Symptomen findet, die man beim Menschen kennt (Huber et al., 2004). Man kann einfach einmal annehmen: Wenn sich eine Fliege für länger als 5 Minuten nicht rührt, schläft sie. Damit hat man etwas, was man messen kann. Mal sehen, wie weit man damit kommt. Es zeigt sich: Nachts hat die Fliege mehr und längere Ruhephasen als tagsüber. Während dieser Ruhephasen wird die Körperhaltung immer lässiger. Junge Fliegen verbringen mehr Zeit damit als alte, wenn man sie daran hindert, diese Ruhephasen einzuhalten, holen sie sie am nächsten Tag nach; Schlafmittel verlängern die Phasen, Kaffee verkürzt sie. Inzwischen hat man auch Gene identifiziert, die bei Fliege und Mensch den Schlaf in ähnlicher Weise beeinflussen. Heute zweifelt kaum jemand mehr daran, dass Fliegen schlafen. Wie diese spezielle Form der Verhaltensorganisation adaptiv

ist, würde man gerne genauer verstehen. Immerhin: Der Schlaf fördert die Bildung des Langzeitgedächtnisses (Seugnet et al., 2008), bei der Fliege wie bei uns. Ob die Fliege auch träumt?

Emotionen, Dispositionen, Motivationen: Hat eine Fliege Schmerz (Anderson und Adolphs, 2014)? Die Antwort ist ähnlich wie beim Schlaf. Man beobachtet die Symptome. Man findet ähnliches Vermeidungsverhalten wie bei größeren Tieren, die gleichen genetischen Sequenzen in den zuständigen Rezeptoren auf der Körperoberfläche, usw.. Schmerz ist Schmerz, auch wenn wir nicht wissen. wie es von innen ist, Fliegenschmerz zu haben.

Die Aggression bei Drosophila wird intensiv untersucht. Die Frage, die sich daran anschließt, ist, ob es auch einen emotionalen Zustand Aggressivität gibt. Es gibt nach verlorenen Kämpfen einen Zustand der Niedergeschlagenheit. Der Verlierer gibt im nächsten Kampf mit einem anderen Männchen früher auf (Asahina et al., 2014).

Die Balz wird seit über hundert Jahren bei Drosophila untersucht. Ist sie mit Gefühlen verbunden? Wiederum: Wir sind auf die Symptome angewiesen. Das Weibchen wird durch den Gesang des Männchens eingestimmt, d.h. durch den richtigen, den arteigenen Gesang wird das Weibchen das Männchen eher zur Kopulation zulassen. Ein Männchen, das immer wieder abgewiesen wird, ist tagelang demotiviert überhaupt zu balzen, auch mit jungfräulichen Weibchen, und es spricht nach dem frustrierenden Erlebnis dem Alkohol stärker zu als Männchen, die bessere Erfahrungen gemacht haben (Shoat-Ophir et al., 2012).

Auch Sucht-Phänomene lassen sich bei Drosophila beobachten. Man vergleicht z.B. die Attraktivität von zwei Gerüchen. Einen von ihnen paart man mit Alkohol. Bei niedriger Konzentration macht der Alkohol den Geruch attraktiver, d. h. der Geruch wird später im Vergleichstest vorgezogen, auch nachdem man den Alkohol weg lässt. Bei einer höheren Konzentration des Alkohols wirkt er abstoßend. Die Fliege vermeidet den Geruch, der mit dem Alkohol gepaart war. Erstaunlicherweise kehrt sich aber dieser Effekt in der Erinnerung um. Am nächsten Tag bevorzugt die Fliege den Geruch, der mit der abstoßenden Dosis Alkohol präsentiert worden war und sie behält diese Präferenz für über eine Woche bei. Die Attraktion ist so stark, dass die Fliegen dafür freiwillig über stromführende Leiterbahnen klettern (Kaun et al., 2012).

Sozialität: Fliegen sitzen gerne beisammen (Ueda und Wu, 2009). Weibchen beobachten, wo andere Weibchen ihre Eier ablegen und benützen diesen Ort dann auch. Sie geben bei der Paarung dem Männchen den Vorzug, welches sie schon bei der Paarung mit einem anderen Weibchen beobachtet haben.

So viel aus dem Fliegenlabor. Der Besuch dort sollte zeigen, dass, wo immer man die Verhaltensorganisation untersucht, man auf weitere Organisationsebenen im Hintergrund stößt, von denen man zumindest einige dem Mentalen zuschreibt. Man konnte sehen, dass sich die mentalen Gehirnprozesse als Verbesserung der Verhaltensorganisation entwickelt haben und dass sich z.B. kognitionsähnliche Prozesse auch schon in der visuellen Wahrnehmung der Fliege andeuten. Wer heute über das Verhalten und Gehirn der Taufliege arbeitet, kann oft gar nicht vermeiden, mit seinen Untersuchungen auch Fragen über das mentale Leben der Fliege zu bearbeiten.

Zurück zum Fragezeichen in Delbrücks Buchtitel: "Mind from matter?". Was hat es Delbrück so schwer gemacht zu akzeptieren, dass mentale Prozesse in der biologischen Evolution aus Materie entstanden sind? Die Antwort gibt er selbst mit einigen weiteren Fragen am Ende seines Buches: "Did we explain how mind evolved from no mind? Did we find out why so much more was delivered than was ordered...? ...does it even make sense to posit, that the capacity to know truth can arise from dead matter?" Delbrück denkt schon weiter: Es mag ja stimmen, dass der Geist in der biologischen Evolution entstanden ist, aber wir haben seine Entstehungsgeschichte nicht verstanden. Dazu müsste man wenigstens ansatzweise versuchen nachzuzeichnen, wie der Evolutionsprozess die entsprechenden Lebewesen Schritt für Schritt bis zu dem Zustand verändert hat, den wir Geist nennen. Was waren die großen und kleineren Innovationen? Wie bauten sie auf einander auf? Brauchte schon der Einzeller mentale Fähigkeiten? Wie müssen sich soziales Verhalten und Kommunikation entwickelt haben, bis der "Nährboden" für die evolutive Entwicklung der Kognition gegeben war? Haben sich nicht vielleicht auch mit der Entwicklung von Materie erst zu Leben, dann weiter zu Geist die Evolutionsprinzipien selbst entwickelt? Beginnen die Biologen nicht gerade zu verstehen, wie das Leben funktioniert? Würde der Evolutionsprozess nicht weniger abhängig vom zufälligen Auftreten der richtigen Mutationen, wenn man sie sich einzeln für die eigenen Nachkommen aussuchen könnte? Dürfte man das? Gestaltet der menschliche Geist den Lauf der Evolution nicht schon seit Adam und Eva, seit der Erkenntnis von gut und böse, schön und hässlich, wahr und falsch, aber spätestens seit der molekularen Genetik und dem Schreck über die gegenwärtige Erderwärmung entscheidend mit? Ist das Funktionieren des Evolutionsprozesses überhaupt das relevante Thema? Zu der Frage Mind from Matter?' ist der vorliegende Aufsatz ein kleiner

Beitrag. Das Buch ,Mind from Matter' ohne Fragezeichen kann bis heute niemand schreiben.

Literatur

- Anderson, D. and Adolphs, A. (2014). A framework for studying emotions across species. Cell 157, 187-200.
- Asahina, K. et al. (2014). Tachykinin-expressing neurons control male-specific aggressive arousal in Drosophila. Cell 156,
- Batsching, S., Wolf, R. and Heisenberg, M. (2016). Inescapable Stress Changes Walking Behavior in Flies - Learned Helplessness Revisited. PLoS ONE 11(11): e0167066. doi: 1371/ journal.pone.0167066.
- Delbrück, M. (1986). Mind from Matter? Blackwell Scientific Pub. Heisenberg, M. and Wolf, R. (1984). Vision in Drosophila. Springer,
- Huber, R., Hill, S., Holladay, C., Biesiadecki, M., Tonioni, G. and Cirelli, C. (2004). Sleep Homeostasis in Drosophila Melanogaster. Sleep 27, 628-639.
- Kaun, K. A., Devineni, A. V. and Heberlein, U. (2012). Drosophila melanogaster as a model to study drug addiction. J. Hum. Genet. 131, 959-975.
- Koenig, S., Wolf, R. and Heisenberg, M. (2016). Vision in Flies: Measuring the Attention Span. PLoS ONE 11 (2):e0148208. PMID:26848852. doi: 10.1371/journal.pone.0148208.
- Martin, J. R., Faure, P. and Ernst, R. (2001). The power-law distribution for walking-time intervals correlates with the ellipsoid-body in Drosophila. J. Neurogenet. 15, 205-219.
- Reichardt, W. and Wenking, H. (1969). Optical detection and fixation of objects by fixed flying flies. Naturwissenschaften 56, 424-425
- Ries, A.-S., Hermanns, T., Poeck, B. and Strauss, R. (2017). Serotonin modulates a depression-like state in Drosophila responsive to lithium treatment. Nat. Commun. 8, 15738. DOI: 10.1038/ ncomms15738.
- Sareen, P., Wolf, R. and Heisenberg, M. (2011). Attracting the Attention of a Fly. PNAS 108, 7230-7235. Koenig, S.
- Seugnet, L., Suzuki, Y., Vine, L., Gottschalk, L. and Shaw, P. J. (2008). D1 receptor activation in the mushroom bodies rescues sleeploss-induced learning impairments in Drosophila. Curr. Biol. 18, 1110-1117.
- Shohat-Ophir, G., Kaun, K. R., Azanachi, R. and Heberlein, U. (2012). Sexual deprivation increases ethanol intake in Drosophila. Science 335, 1351-1354.

- Strausfeld, N. and Hirth, F. (2013). Deep homology of arthropod central complex and vertebrate basal ganglia. Science 340, 157-161.
- Toepfer, F., Wolf, R. and Heisenberg, M. (2018). Multi-stability with ambiguous visual stimuli in Drosophila orientation behavior. PLoS Biology 16(2): e2003113. https://doi.org/10.1371/journal. pbio.2003113.
- Ueda, A. and Wu, C.-F. (2009). Effects of social isolation on neuromuscular excitability and agressive behaviors in Drosophila: altered responses by Hk and gsts1, two mutations implicated in redox regulation. J. Neurogenet. 23(4), 378-394.
- Wolf, R. and Heisenberg, M. (1986). Visual orientation in Drosophila is an operant behavior. Nature 323, 154-156.

Anmerkung: Englische Version des Artikels online verfügbar unter https://doi.org/10.1515/nf-2018-A002

Autoreninformationen



Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Heisenberg Julius-Maximilians Universität Würzburg, Rudolf-Virchow-Zentrum, D15, Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg, Deutschland

Tel.: +49 931 3184451

E-Mail: heisenberg@biozentrum.uniwuerzburg.de

Martin Heisenberg, geboren 1940 in München, studierte Chemie, Biochemie und Genetik in München und Tübingen. Als Post-Doktorand arbeitete er bei Max Delbrück am California Institute of Technology, Pasadena (1966-1968), bevor er sich bei Karl G. Götz am Max-Planck-Institut für Biologische Kybernetik, Tübingen der Verhaltensphysiologie an der Taufliege Drosophila zuwandte (1968). Dabei führte er die Genetik als Handwerkszeug in die Untersuchung von Gehirn und Verhalten ein. Seit 1975 ist er Professor an der Universität Würzburg. Seine früheren Arbeiten sind in dem Buch "Vision in Drosophila" (1984; mit R. Wolf) zusammengefasst. Weitere Schwerpunkte liegen beim olfaktorischen und visuellen Lernen, der visuellen Wahrnehmung, operanten Konditionierung, selektiven Aufmerksamkeit, Motivation, höheren "cognitiven" Leistungen und Struktur-Funktionsbeziehungen auf der Netzwerkebene. Ziel ist ein allgemeines Funktionsmodell des Gehirns auf der Basis des Verhaltens.

Martin Heisenberg*

Mind from Matter? - Via Brain and Behavior

https://doi.org/10.1515/nf-2018-A002

Abstract: How did the process of Darwinian evolution lead from dead matter to the human mind? Of this long, complicated process the present essay selects and discusses just one step, that from animal behavior to animal mind. The process of living has two aspects, the maintenance of the process in the organism and the interaction of the organism with the world. In animals the latter is organized as behavior. Behavior evolves, as it serves the fitness of the animal. The brain evolves because it improves the behavior in terms of the animal's fitness. Given the richness of the world and the openness of the future, the organization of behavior can be indirect and most intricate. The animal mind can be understood as behavioral organization at a higher level, as metaorganization. This concept is documented by behavioral studies in a particular animal, the fly Drosophila.

Keywords: Metaorganization; Darwinian evolution; biosphere; behavioral organization; animal mind

At the end of his scientific life Max Delbrück, one of the pioneers of molecular genetics, wrote a book (Delbrück, 1986) entitled: "Mind from Matter?" At that time most scientists considered the mind a part of human nature. The 'Cartesian cut' regarding mind and matter as two distinct 'substances' was out. Today the mind is thought to have appeared in this world as a process of Darwinian evolution.

As a molecular biologist one assumes that, to become alive, matter condensed and diversified from elementary particles to atoms, to molecules. Life must have started from aggregates of molecules that mutually catalyzed their synthesis. This required partitions to keep the relevant kinds of molecules together and to reduce variation. To become the first stable living organisms these aggregates of molecules still had to 'invent' precise duplication and division. Later came the metazoa with their cyclic regeneration from germ cells. Some of these creatures developed behavior, sociality, communication and one branch,

*Corresponding author: Martin Heisenberg, Julius-Maximilians Universität Würzburg, Rudolf-Virchow-Zentrum, D15, Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg, Germany, Mail: heisenberg@biozentrum.uni-wuerzburg.de

the hominids eventually language and thought. This is about what Delbrück must have had in mind.

Delbrück's book title ended with a question mark indicating how puzzled he still was regarding this scenario. He did not consider the question in the title still open. He wanted to remind us, that even if 'Mind from Matter' is true, it remains a fascinating question how the mind evolved. In the present article I take up Delbrück's book title, focusing on one particular stage in this long evolutionary process, the role of brain and behavior. This, I hope, will make the arrival of the mind in evolution a bit more plausible.

By all we know, life is a unique process in the universe, confined so far to this planet. Life on earth, the biosphere, consists of myriads of organisms and their habitats. Most of them are single cells, each one encased by a membrane, a barrier separating it from the rest of the world. The process of life takes place to a large part in these tiny compartments. Every single one is alive, living by itself. Its organization is highly autonomous. The molecular processes in this aggregate keep the balance of life and the contact to the surround across the outer barrier.

Early organisms presumably did not have behavior. This probably evolved in metazoa, multicellular organisms. Perhaps behavior started with active mobility, which dramatically enriched the organism's relations to the outside. Behavior evolved. It diversified, got more specialized, more complex. It needed to be organized. Behavior became the most significant aspect of an animal's life.

The evolutionary perspective on behavior is so interesting, because it reminds us, that the outcome of behavior and thus also the behavior itself can be good and bad. Each creature is a separate experiment. In the evolutionary perspective the main quality of an organism is its fitness, its ability to transmit its genes to the next generations. For life to be good, the animal's behavior has to be good. Behavior should contribute to the fitness of an animal. The organization of behavior is so demanding because its task is to optimize the outcome of behavior. To do the right thing, all life long.

Brains organize behavior. Brains evolved with the diversification of behavior and the deepening of its organization. The richer the behavior, the larger the brain. This relation is obvious. It is demonstrated for instance most drastically in the life cycle of certain tunicates. These animals have a mobile and a sessile form of life. In the mobile

phase they make use of their brain (cerebral ganglion) but for the sessile phase they reduce it to a negligible rudiment. Also the fruit fly, which as a larva does little else but feeding, in this stage has a 10 times smaller brain than after metamorphosis, when its full behavioral repertoire has developed.

If we accept that brain is the kind of living matter that organizes behavior, we should return to a fundamental property of matter: its intrinsic initiating activity. This is of particular relevance in the brain. Brains are endogenously active. They can initiate a behavior spontaneously. Also behavior is mostly active. Behavioral organization can be modulatory. Animals can learn, try out. Brains can operate endogenously without being tied to an external stimulus. They can organize a potential future behavior independent of its actual context. They can adequately deal with the open future.

This gets me to the central topic of this essay: If the mind has come as a result of Darwinian evolution, it must have served the animal's fitness. I would like to propose that the mind represents an indirect mode of behavioral organization, a level somewhat removed from the direct process of activating a behavior. With its mental abilities the animal prepares for potential future tasks of behavioral organization. Minds came into play, because the manifold of potential interactions between a mobile organism and the outside world is gigantic and because the comparative evaluation of behavioral options according to their future outcome is so involved.

To say it again, I consider mentality an indirect mode of behavioral organization. What do I mean by 'indirect mode'? Imagine a publishing company. One might say the core business of the company is to print and sell books. Period. In reality, however, most of the activities of the company serve this task only indirectly. The lectors have to read the manuscripts and decide whether to publish them. The publisher invites the authors to discuss potential future book projects, he analyzes the various branches of the market, advertises forthcoming books, organizes reading tours for the authors, keeps contact with bookstores, libraries and consumers, designs a new logo for the company, acquires new production methods, etc, etc.. The core task, printing books and selling them is but a minor part of what is going on in the company.

In the same vein, the organization of behavior is served indirectly in many ways. Organisms have to interact with the outside world to survive and to generate offspring. A behavior is generated because of its effects. The effects will show in the future. The future is difficult to predict. The animal has to learn what the effects of its behaviors are under different circumstances. It has goals,

it tries out, it tries to understand perceptual phenomena, it learns about the space around it, other organisms, conspecifics, dangers, opportunities, in short: the world. Much of what brains do for behavior is mental. Thinking, feeling, learning, understanding improve behavior in one way or another, may-be not always, not right in the next round of action selection but more often than not.

For the remaining part of this essay I will describe examples of brain processes serving this indirect mode of behavioral organization. All the examples will be drawn from a small animal, the fly *Drosophila*. Mobile animals with several symmetrical pairs of appendages have a common ground plan of behavioral organization, even if they are as different as flies and primates. They need to get oriented in the world, have to find food, communicate, fight, copulate, solve problems, find shelter, hide, sleep, and many other activities. These commonalities in behavioral organization even show in brain structure, as the fossil record of a common ancestor (Fuxianhuia protensa) from 500 million years ago reveals (Strausfeld and Hirth, 2013). Whether all examples to be discussed must be classified as mental, is not the main issue. The examples are just to show that already in small brains like that of Drosophila behavioral control can be indirect, action selection can be highly involved. As brain and behavior of *Drosophila* are intensely studied, we know of many examples of higher-order control in this organism.

Motion vision: One of the best-studied fields of behavioral control in flies is visual flight control (Heisenberg and Wolf, 1984), in particular motion vision. The early work on motion vision, which had been conducted on larger flies (Reichardt and Wenking, 1969), had been paradigmatic for direct behavioral control. A visual stimulus reaches the eye and elicits a behavioral response. More precisely, the movement of the image of the surround on the fly's eve elicits a syndirectional turning response that reduces the slip. This is the optomotor response. However, already this behavior is much more complex than just pushing a button for a bell. The brain has first to measure the direction of motion to activate the right behavior. Moreover, the control of optomotor behavior is much more complex than that. Only if the motion occurs outside in the world or is due to passive motion of the fly, the response is activated. If the retinal slip is caused by the fly's own behavior, it does not elicit an optomotor response. In other words, the fly makes the action selection dependent also upon the cause of the stimulus rather than just the stimulus (Wolf and Heisenberg, 1986; von Holst and Mittelstaedt, 1950).

Orientation: Visual behavior is full of examples of higher-order control. The fly has a concept of the 360° azimuth space around it. For instance, it can remember a specific dangerous orientation and avoid getting close to it (Wolf and Heisenberg, 1997). A further example: A looming shadow over the fly's head may elicit an escape jump. Before the take-off the fly assumes the right posture of its middle legs to direct the jump into the safest direction (Card and Dickinson, 2008).

Learning: As already shown in some of the examples above, action selection requires (pragmatic) knowledge of the world. Obtaining such knowledge involves learning and memory. This is one of the most intensely studied areas of brain and behavior research in *Drosophila*. Pragmatic knowledge may serve future behavior, if a corresponding situation arises. A hungry fly finds a food source emitting a certain odor and little later is exposed to a different odor without food. The next day the two odors are presented simultaneously from different directions. The fly turns towards the odor which the day before had been combined with the food. Why is this the indirect mode? Imagine the fly would escape the apparatus after the conditioning. It would most likely never get into a situation in which it would profit from what it had learned. In a natural habitat this particular odor selected for the experiment would hardly ever occur together with food (Chouhan et al., 2015).

Learning is costly. Therefore it is necessary to carefully choose which items of knowledge to store. Flies can remember the time of day something important happens for them, for instance, as just described, that in the afternoon but not in the morning a certain odor is associated with food. The flies establish time-of-day memory only if they are extremely hungry. Once this type of memory is stored, they go for the odor at the particular time of day, whether they are hungry or not. So, flies have a concept of the daily cycle and can label an event according to its phase in this cycle.

Female flies display a scent, which is irresistibly attractive for males. But if the male has to spend an afternoon together with a freshly inseminated female, which has no interest in males and this is likely to last for many days, he will lose interest in females for the days to come. So, there is another manifestation of the sense of time: time as a duration (Kelemann et al., 2007).

Intentionality: Humans often initiate a behavior because they have an intention. This is similar in flies. Flies have an expectation of the presumed outcome of the behavior they are going to activate and this expectation matters for the decision. One of the most intensely studied cases of intentionality is the approach towards a light source. Flies in a dark, narrow enclosure, if disturbed rush towards a light at the far end. This behavior is known as fast phototaxis. They do so, in order to escape into open space where they can fly away. How do we know? Because, if we temporarily immobilize their wings, they show no fast phototaxis. Flies need to continuously update their outcome expectations if they are going to use them in action selection (Gorostiza et al., 2015).

If a fly is motivated to climb across a cleft (Pick and Strauss, 2005), it first estimates the width of the cleft, next it strategically positions its hind- and middle legs, then it pushes its body forward over the cleft and stretches its front legs as far as possible to reach the other side. There the legs may extensively search for a hold. If the legs do not make it, the fly retreats. Occasionally it may even fall down into the cleft. If on the next day it happens to get to the same place, it may not even try again.

Intentionality in fly behavior rarely is as obvious as in behavioral sequences. However, one can readily study it experimentally. One can manipulate the outcome and show that the altered outcome is unexpected. The outcome must be represented in the brain regarding its value for the animal in comparison to other options and regarding its statistical validity. This may require to also learn about other aspects of the outcome (Heisenberg, 2015).

Learned helplessness: An example of outcome learning is an experiment called learned helplessness. The fly is enclosed in the so called shock-box, a narrow, completely dark alley, where it can walk or rest. Its position is recorded and it can receive mild but unpleasant electric shocks. If a shock arrives the fly tries to escape. If it is hit by the shock while resting, it immediately starts walking, while walking it turns around and walks the other way. This immediately turns off the shock. The fly shows this behavior without any prior experience. What, however, if all of a sudden the situation has changed and moving away does not terminate the shocks? If this happens again and again, the fly gives up the escape attempt. It learns that it can not do anything to control the situation and reduces the response frequency to a low level but not quite to zero. The loss of control has severe consequences. It causes a motivational state called 'learned helplessness' (Batsching et al., 2016). The fly walks more slowly, generates shorter walking bouts and longer pauses. It may also not perform in other learning experiments, as if it were depressed. Lithium and serotonin-related drugs are effective remedies (Ries et al., 2017). If the fly is undisturbed the frequency and duration of the walking bouts are controlled

in a stochastic pattern by a brain center (central complex) that also organizes the fly's orientation in space (Martin et al., 2001).

Attention: Flies show selective visual attention. In most instances a fly can perform only one behaviour at a time. It may happen, though, that different regions of the visual field may simultaneously display different matters of concern. In this case the fly will restrict its focus or window of attention to one of the regions and ignore the others. It can actively shift its 'window'. Alternatively, the window can be cued to a different position by external stimuli, visual or non-visual (Sareen et al., 2011; Koenig et al., 2016).

Perceptual hypotheses: A sensory signal may have a meaning and a relevance for the fly. Often, however, stimuli may be ambiguous. A dark patch in the visual surround of a fly may be a predator or a place where to hide. If the first evaluation triggers 'approach for hiding', this decision may have to be revised if the patch starts moving.

Some ambiguities are stable in time. They are generally termed ambiguous figure rivalries. Well known examples in human vision are multi-stable percepts such as the Necker cube or Rubin's vase. In these cases the subject looking at an image alternates stochastically between two equally plausible interpretations of what the image depicts.

Also Drosophila may experience sensory ambiguity and multi-stable perception (Toepfer et al., 2018). Confronted with a uniformly textured panorama in a virtual reality in stationary flight with the fly's turning force coupled to the motion of the panorama (closed loop), the fly adjusts its yaw torque to stabilize its virtual self-rotation. To make the visual input ambiguous, one adds a second texture. Both textures get a rotatory bias, making them move in opposite directions at a constant relative angular velocity. The fly now has two possible frames of reference for self-stabilization: either of the two single textures. Results indicate that flies continuously alternate in their behavior adjusting their yaw torque to the mutually exclusive interpretations. The brain generates an interpretation of the stimulus and activates the appropriate behavior for this 'hypothesis'. Yet, the outcome of the particular behavior is not really satisfying. So, again and again the animal tries the other interpretation.

Sleep: Flies sleep. They sleep mostly at night, but also occasionally during the day. They need sleep to consolidate long-term memory. If they are sleep-deprived for a night they make up for it with additional sleep the next day (Huber et al., 2004; Seugnet et al., 2008).

Motivational control: Emotional, dispositional states are typical higher-order elements of behavioral control (Su and Wang, 2014). They have already been mentioned several times. They are defined by their behavioral symptoms, in most cases with reference to possibly related states in humans (Anderson and Adolphs, 2014). Accordingly, flies can show states like pain, fear, zeal, tiredness, addiction (Kaun et al., 2012) and many others. They modulate the likelihood that a particular behavior is activated. Each one is involved in behavioral organization in many different wavs.

Social interactions: Flies watch other flies and organize their behavior according to what their conspecifics do. Flies live longer, if they are not alone (Shohat-Ophir et al., 2012). The male uses wing vibration to generate a courtship song for the female. The female admits the male for copulation, if the song sounds right. Male flies fight with other males. If they loose, their chance to win the next fight is reduced (Ueda and Wu, 2009).

So much with examples. Most brain and behavior projects with animals currently under investigation relate to higher-order behavioral control. The examples chosen here are an arbitrary collection. As stated at the beginning, the fly's behavior is the fly's interaction with the world. Whether life is good or bad depends among others upon the effects of all these interactions. Knowledge of the world and tentative foresight of the effects of the behavior, goals, concepts of time and space, of causality, of self and non-self, of rivals, predators, shelter, of company with conspecifics, ect., ect., may all contribute to make behavior more successful.

Mind improves behavior. This is how mind could arise in evolution from matter. The question mark in Delbrück's book title should now be a bit less puzzling, if one learns that mind arose from behavioral control and that the matter from which the mind evolved was the brain. If this indirect mode of behavioral organization would not have improved life and would not have supported the propagation of our genes, it would not have established itself in the living world. The examples of behavioral control in Drosophila showed how demanding it is to always do the right thing, throughout life. The mind makes behavior more successful. If in brain research we want to understand how the brain works, we must include studying the mind. Even with flies.

What made it so difficult for Delbrück to confirm, that mind arose from matter? At the end of the book he tells the reader why: "Did we explain how mind evolved from no mind? Did we find out why so much more was delivered than was ordered...? ...does it even make sense to posit, that

the capacity to know truth can arise from dead matter?" This should remind us, how little we still know about the mind and its evolutionary history. What were the large and small innovations? Obviously, the evolution of living matter was a fundamental prerequisite for the evolution of mind. How did behavioral organization evolve? How did the successive stages build upon each other? Did it start with active mobility or was oriented locomotion the primary demand? How important was social behavior and, in particular communication? To which extent is cultural evolution still Darwinian? Could even thinking be considered a higher level of behavioral control? 'Mind from Matter' still deserves many question marks.

References

- Anderson, D. & Adolphs, A. (2014). A framework for studying emotions across species. Cell 157, 187-200.
- Batsching, S., Wolf, R. & Heisenberg, M. (2016). Inescapable Stress Changes Walking Behavior in Flies - Learned Helplessness Revisited. PLoS ONE 11(11):e0167066. doi:1371/journal. pone.0167066.
- Card, G. & Dickinson, M. H. (2008). Visually mediated motor planning in the scape response of Drosophila. CurrBiol 18, 1300-1307.
- Chouhan, N. S., Wolf, R., Helfrich-Förster, C. & Heisenberg, M. (2015). Flies Remember the Time of Day. CurrBiol 25, 1619-1624.
- Delbrück, M. (1986). Mind from Matter? Blackwell Scientific Pub. Gorostiza, A., Colomb, J. & Brembs, B. (2015). A value-based behavioural choice underlies phototaxis in Drosophila. doi: http://dx.doi.org./10.1101/023846.
- Heisenberg, M. (2015). Outcome learning, outcome expectations, and intentionality in Drosophila. LearnMem 22, 294-298.
- Heisenberg, M. & Wolf, R. (1984). Vision in Drosophila. Springer, Berlin.
- Holst, E. von, & Mittelstaedt, H. (1950). Das Reafferenzprinzip. Wechselwirkungen zwischen Zentralnervensystem und Peripherie. Naturwissenschaften 37, 464-476.
- Huber, R., Hill, S., Holladay, C., Biesiadecki, M., Tonioni, G.& Cirelli, C. (2004). Sleep Homeostasis in Drosophila melanogaster. Sleep 27, 628-639.
- Kaun, K. A., Devineni, A. V. & Heberlein, U. (2012). Drosophila melanogaster as a model to study drug addiction. Hum Genet
- Kelemann, K., Krüttner, S., Alenius, M. & Dickson, B. (2007). Function of the Drosophila CPEB protein Orb2 in long-term courtship memory. NatNeurosci 10, 1587-1593.
- Koenig, S., Wolf, R. & Heisenberg, M. (2016). Visual Attention in Flies - Dopamine in the Mushroom Bodies Mediates the After-Effect of Cueing. PLoS ONE 11(8): e0161412. doi.10.1371/ journal.pone.0161412.
- Martin, J. R., Faure, P. & Ernst, R. (2001). The power-law distribution for walking-time intervals correlates with the ellipsoid-body in Drosophila. J. Neurogenet. 15, 205-219.

- Pick, S. & Strauss, R. (2005). Goal-driven behavioral adaptations in gap-climbing Drosophila. CurrBiol 15, 1473-14878.
- Reichardt, W. & Wenking, H. (1969). Optical detection and fixation of objects by fixed flying flies. Naturwissenschaften 56: 424-425.
- Ries, A.-S., Hermanns, T. Poeck, B. & Strauss, R. (2017). Serotonin modulates a depression-like state in Drosophila responsive to lithium treatment. Nature Communications (8:15738) DOI: 10.1038/ncomms15738.
- Sareen, P., Wolf, R. & Heisenberg, M, (2011). Attracting the Attention of a Fly. PNAS 108, 7230-7235.
- Seugnet, L., Suzuki, Y., Vine, L., Gottschalk, L. & Shaw, P. J. (2008). D1 receptor activation in the mushroom bodies rescues sleep-loss-induced learning impairments in Drosophila. Curr Biol 18, 1110-1117.
- Shohat-Ophir, G., Kaun, K. R., Azanachi, R. & Heberlein, U. (2012). Sexual deprivation increases ethanol intake in Drosophila. Science 335, 1351-1354.
- Strausfeld, N. & Hirth, F. (2013). Deep homology of arthropod central complex and vertebrate basal ganglia. Science 340, 157-161.
- Su, C.-Y. & Wang, J. W. (2014). Modulation of neural circuits: how stimulus context shapes innate behavior in Drosophila. Current Op in Neurobiol. 29, 9-16.
- Toepfer, F., Wolf, R. & Heisenberg, M. (2018). Multi-stability with ambiguous visual stimuli in Drosophila orientation behavior. PLoS Biology 16(2): e2003113. https://doi.org/10.1371/journal. pbio.2003113.
- Ueda, A. & Wu, C.-F. (2009). Effects of social isolation on neuromuscular excitability and agressive behaviors in Drosophila: altered responses by Hk and gsts1, two mutations implicated in redox regulation. J Neurogenet. 23(4), 378-394.
- Wolf, R. & Heisenberg, M. (1986). Visual orientation in Drosophila is an operant behavior. Nature 323, 154-156.
- Wolf, R & Heisenberg, M. (1997). Visual space from visual motion: Turn integration in tethered flying Drosophila. Learning & Memory 4, 318-327.

Article note: German version available at https://doi.org/10.1515/nf-2018-0002

Bionotes



Prof. Dr. Dr. h. c. Martin Heisenberg Julius-Maximilians Universität Würzburg, Rudolf-Virchow-Zentrum, D15, Josef-Schneider-Straße 2, 97080 Würzburg,

Phone: +49 931 3184451 Mail: heisenberg@biozentrum.uni-wuerzburg.de

Martin Heisenberg, born 1940 in Munich, studied Chemistry, Biochemistry and Genetics in Munich and Tübingen. As a postdoc he worked with Max Delbrück, California Institute of Technology, Pasadena (1966-1968), before he joined the group of Karl G. Götz at the Max-Planck-Institute of Biological Cybernetics, Tübingen to study brain and behavior of the fly Drosophila melanogaster. He

was one of the first to introduce Genetics as a tool in neuroethology. Since 1975 he is Professor at the University of Würzburg. His early studies of the fly visual system are summarized in a book "Vision in Drosophila" (1984; with R. Wolf). Other research foci are visual pattern recognition, the localization of memory traces, the role of initiating activity in operant behavior, perception, selective attention, and motivation. His goal is to establish a basic behavioral model of the brain.

Forschungsförderung



Onur Güntürkün* und Dagmar Timmann-Braun

Sonderforschungsbereich (SFB 1280) "Extinktionslernen"

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0037

Zusammenfassung: Im Juli 2017 etablierte die Deutsche Forschungsgemeinschaft an den Standorten Bochum, Essen, Dortmund und Marburg den SFB 1280. Ziel der Forschung des SFB ist die Aufklärung der lerntheoretischen, behavioralen, neuralen, immunologischen, genetischen und klinischen Mechanismen des Extinktionslernens der komplexesten Form des Lernens. Dieser umfassende Ansatz ist notwendig, um die verschiedenen Facetten des Extinktionslernens zu identifizieren und somit grundlagenwissenschaftliche Erkenntnisse in klinische Anwendungen zu überführen. Mit 60 % der Projekte ist die Ruhr-Universität Bochum Sprecherhochschule (Sprecher: Prof. Dr. Onur Güntürkün). Der zweitgrößte Teilverbund kommt aus der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen (stellvertretende Sprecherin: Prof. Dr. Dagmar Timmann-Braun). Weitere beteiligte Institutionen sind das Leibniz-Institut für Arbeitsforschung an der TU Dortmund sowie das Institut für Psychologie der Philipps-Universität Marburg.

Schlüsselwörter: Amygdala; Präfrontaler Cortex; Hippocampus; Lernprozesse; Phobien

Was ist Extinktionslernen?

Beginnen wir mit einem fiktiven Beispiel. Ein Mann fährt morgens mit dem Auto zur Universität und wartet tief in Gedanken versunken an einer roten Ampel. Bei Grün fährt er los und da passiert es: Reifen quietschen und im nächsten Augenblick wird er mit einem lauten Knall zur Seite

Korrespondenzautor: Onur Güntürkün, Sprecher des SFB 1280, Abteilung für Biopsychologie, Institut für Kognitive Neurowissenschaft, Fakultät für Psychologie, Ruhr-Universität Bochum, 44780 Bochum, Deutschland, E-Mail: onur.guentuerkuen@ruhr-unibochum.de

Dagmar Timmann-Braun, Ko-Sprecherin des SFB 1280, Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, 45122 Essen, Deutschland, E-Mail: dagmar.timmann-braun@uniduisburg-essen.de

geworfen; ein eiliger Autofahrer hat die rote Ampel übersehen und ist ihm in die Seite gefahren. Schon nach wenigen Tagen kann er aus der Klinik entlassen werden. Von den physischen Folgen des Unfalls ist er schnell genesen, aber etwas Neues hat sich in sein Leben geschlichen: Er hat Angst vor dem Autofahren, jedes laute Geräusch lässt sein Herz rasen. Als er merkt, dass er selbst bei Spaziergängen am Fahrbahnrand Angst erlebt, wendet er sich an einen Psychotherapeuten. Mit einer Konfrontationstherapie bekommt der Psychologe seine Angst recht schnell in den Griff. Allerdings kommt die Angst merkwürdigerweise in neuen Situationen immer wieder hoch. Es sieht so aus, als ob die Therapie nur Teile des Geschehens verändern konnte. Die Angst hört nicht auf, sein Leben zu verdunkeln

Im Kern des an diesem Beispiel geschilderten Problems steht die ungenügende Fähigkeit, die im Unfallmoment gelernte Assoziation zwischen Autoverkehr und Todesangst zu lösen. Die Entkoppelung dieser Assoziation ist der Kern des Extinktionslernens. Die psychologischen und neurobiologischen Prozesse des Erstlernens, also des Lernens neuer Assoziationen (Autoverkehr \leftrightarrow Angst), sind sehr gut untersucht. Dagegen sind die Mechanismen des Extinktionslernens bisher nur unvollständig verstanden. Wir wissen, dass es beim Erstlernen in der Amygdala zu einer schnellen synaptischen Verstärkung zwischen Zellverbänden kommt, die die konditionierten Stimuli (CS: Autofahren, Reifenquietschen, etc.) mit dem unkonditionierten Stimulus (US: Der Schmerz beim Aufprall) koppeln. Dadurch ist der CS in der Lage, die konditionierte Reaktion (CR: Angst) auszulösen (Abb. 1). Das später einsetzende Extinktionslernen beinhaltet wahrscheinlich zwei verschiedene, parallel ablaufende Vorgänge: Erstens kommt es partiell zu einer Schwächung der im Unfallmoment gelernten Assoziationen zwischen CS und US. Zweitens entwickelt sich ein inhibitorischer Lernprozess durch den der CS die CR hemmen kann. Konkret bedeutet das, dass Areale im Präfrontalkortex die Fähigkeit erwerben. beim Auftauchen der konditionierten Reize die Generierung der Angstreaktion in der Amygdala zu hemmen. Die initial gelernte Assoziation zwischen Autoverkehr (CS) und Schmerz (US) wird somit größtenteils durch das Extinkti-

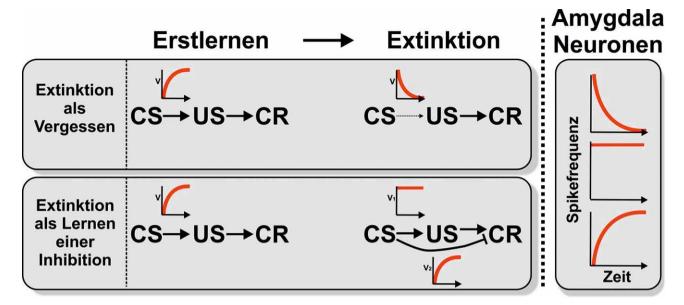


Abb. 1: Schematische Darstellung der lerntheoretischen Vorgänge und neuralen Amygdalasignale beim Erstlernen sowie bei der Extinktion. Beim Erstlernen wird eine Assoziation zwischen dem konditionierten Stimulus (CS) und dem unkonditionierten Stimulus (US) gelernt. Dadurch ist der CS in der Lage, die konditionierte Reaktion (CR) auszulösen. Für die Mechanismen der Extinktion gibt es zwei divergierende Erklärungen. Wenn Extinktion einfach nur auf einem Vergessensprozess beruht, sollte es zu einer Schwächung oder gar einem Verschwinden der CS-US Assoziation kommen. Wenn Extinktion aber das Neulernen einer Inhibition ist, dann könnte die CS-US Assoziation erhalten bleiben, während sich durch den Lernprozess zeitgleich eine Hemmung der CR durch den CS entwickelt. Die kleinen roten Kurven sollen den schematischen Verlauf der Assoziationsstärke (V) zwischen CS und US bzw. CS und CR über Zeit darstellen. Tatsächlich zeigen Ableitungen von Amygdalaneuronen beim Extinktionslernen, dass für alle drei vorhergesagten Lernmodulationen einzelne Zelltypen identifiziert werden konnten, deren Veränderung der Spike-Frequenz über Lernzeit den Prädiktionen der Lerntheorien entsprechen. Extinktion ist somit wahrscheinlich sowohl ein Vergessensprozess als auch das Lernen einer Inhibition.

onslernen nicht einfach gelöscht, sondern durch einen gelernten Inhibitionsprozess außer Kraft gesetzt. Doch beim Extinktionslernen gibt es eine Besonderheit: Während beim Erstlernen der Kontext kaum abgespeichert wird (Ort des Unfalls, Wetter beim Unfall, etc.), wird beim Extinktionslernen der Kontext mitgelernt (z.B. das Aussehen der Praxis des Psychotherapeuten). Dies geschieht durch hippocampale Mechanismen. Wenn aber unsere Beispielperson nach dem Extinktionslernen im Rahmen der Psychotherapie irgendwo an einer Straße steht, sieht sie einen ganz anderen Kontext. Dann kann es zu einem "Renewal" der Angstreaktion kommen: Durch den Kontextwechsel wird die beim Extinktionslernen erworbene Hemmung der amygdalären Angstassoziation nicht aktiviert und die Angstreaktion ist plötzlich wieder da. Psychotherapeuten versuchen deshalb Renewal zu minimieren, indem sie bei ihrer Therapie möglichst unterschiedliche Kontexte verwenden. Extinktionslernen ist somit ein Lernprozess, der sich vom Ersterwerb deutlich unterscheidet und erheblich komplexer ist, da er zusätzliche Mechanismen und ein ganzes Netzwerk von Hirnregionen benötigt.

In der Europäischen Union leiden über 60 Millionen Menschen an Angststörungen (Wittchen et al., 2011). Die

Behandlung dieser Patienten verschlingt pro Jahr über 70 Milliarden Euro (Gustavsson et al., 2011). Der Kern von Angsterkrankungen ist die verminderte Fähigkeit zum Extinktionslernen. Menschen mit Angststörungen lassen sich leichter konditionieren, haben aber Probleme, eine Extinktion zu lernen. Somit persistieren und generalisieren Ängste, die einmal gelernt wurden. Doch wahrscheinlich ist die klinische Problemlage sogar noch größer. Auch bei Patienten mit chronischen Schmerzen scheint eine verminderte Fähigkeit zum Extinktionslernen das Leiden zu vergrößern. Auch hier sind die Zahlen bedrückend: 19 % der Menschen in der Europäischen Union leiden unter chronischem Schmerz (Breivik et al., 2006). Wir brauchen dringend Forschung, um über ein verbessertes Verständnis der Mechanismen des Extinktionslernens neue Therapiekonzepte zu entwickeln, um diesen Patienten zu helfen.

Der konzeptuelle Aufbau des **SFB 1280**

Die Gründung eines SFB macht nur Sinn, wenn durch die Komplementarität der beteiligten Arbeitsgruppen ein deutlicher Forschungsmehrwert geschaffen werden kann. Dies wiederum kann nur gelingen, wenn diese Arbeitsgruppen zwar experimentell und technisch divers sind, in ihrer experimentellen Planung und ihren Fragestellungen aber einen hohen Grad an Kohärenz aufweisen. Beim SFB 1280 wurden die wissenschaftlichen Fragestellungen so strukturiert, dass sie sich zu sieben Hypothesen fassen lassen, die von den beteiligten Projekten aus unterschiedlichen Perspektiven erforscht werden. Jedes Projekt musste daher so gestaltet sein, dass es zur Beantwortung mehrerer Hypothesen beiträgt. Diese Hypothesen geben somit den wissenschaftlich-konzeptuellen Rahmen vor und sind zeitgleich experimenteller Zielpunkt der individuellen Projekte. Dies soll nun durch eine extrem verkürzte Darstellung der Hypothesen und den damit verbundenen Forschungsschwerpunkten des SFB 1280 dargestellt werden.

Hypothese 1 – Extinktionslernen beinhaltet sowohl eine Löschung der ursprünglichen Assoziation als auch das Neulernen einer Inhibition: Diese in der Psychologie umstrittene Annahme soll im SFB 1280 sowohl mit Einzelzellableitungen im Tierexperiment, als auch durch Tiefenableitungen aus dem menschlichen Kortex sowie mit behavioralen Studien untersucht werden. Bei Einzelzellableitungen mit paralleler optogenetischer Manipulation erwarten wir z.B., dass (in teilweise unterschiedlichen Hirnregionen) während der gleichen Versuchsphase einzelne Neuronen aufhören, auf den konditionierten Reiz zu reagieren, während andere Zelltypen anfangen, auf das Ausbleiben des unkonditionierten Reizes zu antworten (Abb. 1).

Hypothese 2 – Extinktionslernen aversiver und appetitiver Assoziationen äußert sich im Verhalten ähnlich, ist aber neurobiologisch partiell distinkt: Extinktionslernen wird äußerst erfolgreich mit dem Furchtkonditionierungsparadigma untersucht (z.B. im SFB-TRR 58). Doch Extinktionslernen ist nicht nur eine Domäne aversiver Assoziationen, sondern funktioniert bei appetitiven Reizen sehr ähnlich. Dadurch ist man verführt zu glauben, dass auch die neurobiologischen Mechanismen des Extinktionslernens aversiver und appetitiver Assoziationen identisch sind. Sehr wahrscheinlich ist das aber nicht vollständig der Fall, z.B. spielt das Endocannabinoid-System primär beim Extinktionslernen aversiver, aber nicht appetitiver Assoziationen eine Rolle (Marsicano et al., 2002). Auch das dopaminerge System und ein Teil der Projektionsmuster amygdalärer Neuronen zeigen deutliche Unterschiede zwischen der Verarbeitung aversiver und appetitiver Reize und Konditionierungen (Brischoux et al., 2009). Vor allem bei der Therapie der Drogensucht ist ein größeres Detailwissen über die neurobiologischen Mechanismen der Extinktion appetitiver Reize dringend notwendig. Im SFB 1280 forschen deshalb vor allem tierexperimentelle Projekte mit invasiver Elektrophysiologie sowie Bildgebungsprojekte mit Versuchspersonen bzw. Versuchstieren zu dieser Fragestellung.

Hypothese 3 – Kontextreize sind Stimuli, die nur schwach mit dem unkonditionierten Reiz assoziiert sind und durch die Interaktion zwischen Präfrontalkortex und Hippocampus das Verhalten kontrollieren: Meist wird angenommen, dass Kontextreize (in unserem Beispiel ist dies z.B. der Autoverkehr) eine andere Natur besitzen als die konditionierten Stimuli (z. B. das Reifenquietschen). Wir halten das für falsch und gehen stattdessen davon aus, dass der Unterschied zwischen diesen zwei Reizkategorien nur in ihrer Assoziationsstärke und ihrer zeitlichen Struktur liegt. Wegen des letzteren Punkts werden Kontextreize entsprechend unserer Hypothese auch primär im Hippocampus kodiert. Um diese Hypothese zu stützen sind tierxperimentelle Einzelzellableitungen mit optogenetischer Manipulation während Extinktionsversuchen, maßgeschneiderte Verhaltensexperimente am Menschen sowie theoretisch-neurowissenschaftliche Untersuchungen mit lernenden Robotern geplant.

Hypothese 4 - Die Amygdala ist ein spezialisiertes corticostriatales System: Schon Swanson und Petrovich (1998) stellten fest, dass die Amygdala keine natürliche Entität ist, sondern aus einer pallialen, Cortex-ähnlichen und einer striatalen, Basalganglien-äquivalenten Region zusammengesetzt ist (Abb. 2). Diese Einsicht hat immense Implikationen, da wir dann erwarten könnten, dass wir bei Extinktionsexperimenten Amygdala-äquivalente Kodierungsprozesse in corticostriatalen Schaltkreisen erwarten müssen. Diese Hypothese wird von praktisch allen Teilprojekten untersucht, die mit Einzellableitungen bei Tiermodellen, Tiefenableitungen beim Menschen sowie Bildgebungsverfahren arbeiten.

Hypothese 5 – Das neurale Extinktionsnetzwerk ist erheblich größer als die Trias aus Amygdala, Hippocampus und Präfrontalkortex: Bereits in Hypothese 4 wurde argumentiert, dass weite Teile des corticostriatalen Systems wahrscheinlich am Extinktionsgeschehen partizipieren. Eine wichtige weitere Struktur ist das Cerebellum, welches

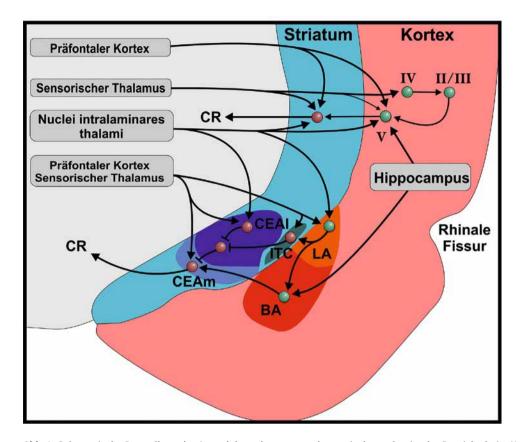


Abb. 2: Schematische Darstellung der Amygdala und angrenzender corticaler und striataler Bereiche beim Nager. Warme Farben stellen palliale/corticale, kalte Farben striatale Territorien dar. Römische Zahlen benennen Kortexschichten. Die Afferenzen des Kortex und des Striatums sowie ihre Interkonnektivitäten zeigen große Ähnlichkeiten zu denen der pallialen und striatalen Amygdala. Die striatale Amygdala besitzt teilwiese auch pallidale Anteile. Abkürzungen: BLA: basolaterale Amygdala; CEA: centraler Nucleus der Amygdala; ITC: intercalated cell cluster; LA: lateraler Nucleus der Amygdala; BA: basale Amygdala; CEAl: lateraler Anteil des centralen Nucleus der Amygdala; CEAm: medialer Anteil des centralen Nucleus der Amygdala.

wahrscheinlich sowohl das Erlernen des Kontextes moduliert als auch bei der Extinktion der gelernten Reaktion zentral ist. Es ist lange bekannt, dass das Kleinhirn auch ein Speicherplatz gelernter Assoziationen ist. Seine Rolle bei der Extinktion, insbesondere von gelernter Furcht, ist bisher so gut wie nicht untersucht. Es gibt erste Belege, dass der cerebelläre Kortex vor allem beim Löschen von Assoziationen eine wichtige Rolle spielt (Medina et al., 2002). Im SFB 1280 sollen diese Überlegungen sowohl mit hochauflösenden Bildgebungsstudien an Kontrollpersonen und Patienten mit Kleinhirnerkrankungen als auch durch nicht-invasive Hirnstimulationsparadigmen untersucht werden. Zudem werden in einem SFB-eigenen Konsortium auch alle anderen Bildgebungsprojekte cerebelläre Aktivierungsmuster während diverser Extinktionsstudien auswerten.

Hypothese 6 - Neuroendokrine und immunologische Prozesse sind Teil des Extinktionsgeschehens: Es ist bekannt,

dass unterschiedliche Transmittersysteme wie Dopamin, Noradrenalin und Serotonin eine wichtige Rolle beim Extinktionslernen spielen. Daher sind diese Transmittersysteme Teil des SFB-Forschungsprogramms, wobei vor allem das serotonerge Systeme mit komplexen optogenetischen Verfahren untersucht werden soll. Ein Schwerpunkt im SFB 1280 liegt zudem auf Untersuchungen der stressinduzierten Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindenachse sowie des sympathischen Nervensystems. Diese Systeme haben differenzielle Wirkungen auf die Konsolidierung und den Abruf von Gedächtnisinhalten (Wolf, 2017) und werden von mehreren experimentalpsychologischen und bildgebungsbasierten Projekten erforscht. Zudem ist das Immunsystem konditionierbar und somit eine essenzielle Komponente der Lernprozesse, die dem Extinktionslernen zugrunde liegen (Hadamitzky et al., 2013). Auch dieser Aspekt wird sowohl an Versuchspersonen als auch tierexperimentell untersucht.

Hypothese 7 – Strukturspezifische Hirnreifungsgeschwindigkeiten sowie individuelle Variationen im Extinktionslernen erzeugen unterschiedliche Konditionierungs- und Pathologiemuster: Die Amygdala reift schneller als der Hippocampus. Das könnte dazu beitragen, dass bei sehr kleinen Kindern das Extinktionslernen primär aus einer Löschung der alten Assoziationen besteht, während später eine gelernte Hemmung dazukommt. Zudem kann die Untersuchung der Konditionierbarkeit von Individuen evtl. Unterschiede im Extinktionsgeschehen z. B. bei Schmerzkonditionierungen vorhersagen. Mehrere Arbeitsgruppen, die auf entwicklungspsychologische, neurologische und klinisch-therapeutische Ansätze spezialisiert sind, testen diese Hypothese. Dazu gehört auch, dass in einem Projekt eine Expositionstherapie im Scanner stattfinden soll, um die neuralen Korrelate des Extinktionslernens bei der Verhaltenstherapie zu untersuchen.

Fokusgruppen

Jeder SFB sieht sich zwei Herausforderungen ausgesetzt: Erstens, wie sollte man am besten die überlappenden Ergebnismuster aus den komplementären Forschungsprojekten wissenschaftlich abschöpfen? Zweitens, wie schafft man es, dass sich über eine Periode von 12 Jahren jedes Teilprojekt bzgl. seiner technisch-methodischen Exzellenz optimal weiterentwickelt? Aus Sicht der Organisatoren des SFB 1280 fehlt in den bisherigen Strukturen von Sonderforschungsbereichen eine entsprechende Entität, da diese kombinierten Aufgabenstellungen weder durch wissenschaftliche Teilprojekte noch durch Serviceprojekte gleichzeitig abgebildet werden. Daher kam es, zusätzlich zu den 17 wissenschaftlichen Teilprojekten, zur Gründung von zwei Fokusgruppen, die sowohl Forschungs- als auch Serviceanteile für einen bestimmten Forschungsbereich beinhalten.

Die Fokusgruppe F01 "Learning Dynamics" hat die Aufgabe, die trial-by-trial Veränderungen der neuralen und behavioralen Daten der individuellen Lerndynamiken zu analysieren. Hierbei sollen diese Analysen als Forschungsvorhaben vom Postdoc in F01 durchgeführt werden. Gleichzeitig soll diese Person peu à peu die PIs der entsprechenden Projekte in die Lage versetzen, selber solche Analysen zu implementieren. Das langfristige Ziel ist es, modellbasierte Daten aus verschiedenen Projekten zu importieren, um die evtl. unterschiedlichen Lernregeln in den verschiedenen Paradigmen und Hirnarealen zu identifizieren. Dies wäre ein längerfristiges Ziel, welches nur durch die für den SFB 1280 vorgesehene Kombination aus einer hohen Kohärenz in den experimentellen Planungen bei gleichzeitiger Divergenz in den angewandten Techniken und untersuchten biologischen Systemen möglich ist.

Die Fokusgruppe F02 "Neuroimaging" hat zum Ziel, in allen Bildgebungsprojekten modernste technische Methoden der Datenakquise und -analyse sicherzustellen und gleichzeitig metaanalytisch die Bildgebungsdaten unter hypothesengetriebenen Fragestellungen zu analvsieren. Hierzu sollen von den in F02 eingestellten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler die in den beteiligten Bildgebungsinstitutionen genutzten Scanner-Sequenzen optimiert und homogenisiert werden. Dies schafft die Möglichkeit, die Bildgebungsdaten zu integrieren, um detaillierte Struktur-Funktions-Analysen der vielen im SFB 1280 durchgeführten Studien metaanalytisch zu nutzen. Gleichzeitig werden alle Bildgebungsgruppen über den gesamten Zeitraum der SFB-Förderung durch F02 auf dem höchsten technischen und methodischen Stand gehalten.

Strukturelle Rahmenbedingungen und Zukunftsplanungen des **SFB 1280**

Die Ruhr-Universität Bochum hat eine lange Tradition neurowissenschaftlicher Verbundforschung. Dies wurde 2008 vertieft durch die Gründung des Research Departments Neuroscience, in dem Neurowissenschaftler aus verschiedensten Fakultäten vereint sind. Das Research Department verwaltet auch die exzellente und gemeinschaftliche genutzte technische Infrastruktur der Neurowissenschaften. Durch solche Mechanismen konnte parallel zum SFB 874 (Integration und Repräsentation sensorischer Prozesse; Sprecherin: Prof. Dr. Denise Manahan-Vaughan) der SFB 1280 mit einem anderen Forschungsfokus etabliert werden. Das Bochumer Rektorat wird zur Unterstützung des SFB 1280 eine W2-Professur "Neuronale Grundlagen des Lernens" in der Fakultät für Psychologie einrichten. Die Bochumer Neurowissenschaftler kooperieren im Rahmen der Universitätsallianz Ruhr sowie des SFB 1280 eng mit den Essener Kollegen und nutzen z.B. gemeinsam den Essener 7T-Humanscanner (Erwin L. Hahn Institute for Magnetic Resonance Imaging).

Der SFB 1280 bietet die einzigartige Möglichkeit, die Neurowissenschaft von Lern- und Gedächtnisprozessen in der Tiefe zu verankern und mit all seinen relevanten Komponenten zu untersuchen. In der Perspektive über 12 Jahre haben sich die Forschenden deshalb zum Ziel gesetzt, Aspekte der theoretischen Neurowissenschaft sukzessive stärker zu integrieren. Ein Mechanismus hierfür ist die Fokusgruppe F01, die von Anfang an die Analyse der Einzeltrial-Dynamik und data mining-Ansätze innerhalb des SFB erweitern soll. Ein zweiter Entwicklungspunkt sind die (epi)genetischen Komponenten des Extinktionslernens, die ab der zweiten Förderperiode human- und tierexperimentell gewonnene Analysen von lernassoziierten DNS-Methylierungsmustern sowie Histon- und DNS-Modifikationen charakterisieren sollen. Drittens sind Längsschnittuntersuchungen geplant, mit denen die ontogenetische Entwicklung des Extinktionslernens unter entwicklungspsychologischen, neurowissenschaftlichen und klinischen Perspektiven erforscht werden soll. Wir sind davon überzeugt, dass die hier geschilderte Organisation des SFB 1280 einen exzellenten Ansatz darstellt, um translationale Erkenntnisse zwischen Grundlagenforschung und klinischen Wissenschaften herzustellen. Mit dieser Forschungsstrategie wollen wir über einen Zeitraum von 12 Jahren die gemeinsamen und distinkten Mechanismen des Extinktionslernens in unterschiedlichen Systemen und Organismen analysieren.

Literatur

Breivik, H., Collett, B., Ventafridda, V., Cohen, R. and Gallacher, D. (2006). Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. Eur. J. Pain. 10, 287-333.

Brischoux, F., Chakraborty, S., Brierley, DI. and Ungless, M. A. (2009). Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 106, 4894-4899.

Gustavsson, A., Svensson, M., Jacobi, F., Allgulander, C., Alonso, J., Beghi, E., Dodel, R., Ekman, M., Faravelli, C., Fratiglioni, L., Gannon, B., Jones, D. H., Jennum, P., Jordanova, A., Jönsson, L., Karampampa, K., Knapp, M., Kobelt, G., Kurth, T., Lieb, R., Linde, M., Ljungcrantz, C., Maercker, A., Melin, B., Moscarelli, M., Musayev, A., Norwood, F., Preisig, M., Pugliatti, M., Rehm, J., Salvador-Carulla, L., Schlehofer, B., Simon, R., Steinhausen, H., Stovner, L. J., Vallat, J., Van den Bergh, P., Van Os, J., Vos, P., Xu, W., Wittchen, H., Jönsson, B. and Olesen, J. (2011). Cost of disorders of the brain in Europe 2010. Eur. Neuropsychopharmacol. 21, 718-779.

Hadamitzky, M., Engler, H. and Schedlowski, M. (2013). Learned immunosuppression: extinction, renewal, and the challenge of reconsolidation. J. Neuroimmune Pharm. 8, 180-188.

Marsicano, G., Wotjak, C. T., Azad, S. C., Bisogno, T., Rammes, G., Cascio, M. G., Hermann, H., Tang, J., Hofmann, C., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V. and Lutz, B. (2002). The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. Nature, 418, 530-534.

Medina, J. F., Nores, W. L. and Mauk, M. D. (2002). Inhibition of climbing fibres is a signal for the extinction of conditioned eyelid responses. Nature, 416, 330-333.

Swanson, L. W. and Petrovich, G. D. (1998). What is the amygdala? Trends Neurosci. 21, 323-331.

Wittchen, H. U., Jacobi. F., Rehm, J., Gustavsson, A., Svensson, M., Jonsson, B., Olesen, J., Allgulander, C., Alonso, J., Faravelli, C., Fratiglioni, L., Jennum, P., Lieb, R., Maercker, A., Van Os, J., Preisig, M., Salvador-Carulla, L., Simon, R. and Steinhausen, H. (2011). The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. Eur. Neuropsychopharmacol. 21, 655-679.

Wolf, O. T. (2017). Stress and Memory Retrieval: Mechanisms and Consequences. Curr. Opin. Behav. Sci. 14, 40-46.

Autoreninformationen



Onur Güntürkün

Sprecher des SFB 1280, Abteilung für Biopsychologie, Institut für Kognitive Neurowissenschaft, Fakultät für Psychologie, Ruhr-Universität Bochum, 44780 Bochum, Deutschland

E-Mail: onur.guentuerkuen@ruhr-unibochum.de

Onur Güntürkün ist ein türkisch-deutscher Professor für Biopsychologie an der Ruhr-Universität Bochum. Nachts halten ihn Fragen wach wie z. B. "Warum sind Gehirne asymmetrisch organisiert?" oder "Können verschieden organisierte Gehirne die gleichen Kognitionen erzeugen?". Er hat Jahre an Universitäten in Deutschland, Frankreich, den USA, Australien, Türkei, Belgien und Südafrika verbracht, forscht am liebsten an Tauben und Menschen, bekam zwei Ehrendoktortitel, ist Mitglied der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina sowie der Nordrhein-Westfälischen Akademie der Wissenschaften und erhielt verschiedenste wissenschaftliche Auszeichnungen, wie z.B. den Gottfried Wilhelm Leibniz-Preis (2013) und den Communicator-Preis (2014).



Dagmar Timmann-Braun

Ko-Sprecherin des SFB 1280, Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, 45122 Essen, Deutschland

E-Mail: dagmar.timmann-braun@uniduisburg-essen.de

Dagmar Timmann-Braun ist seit dem Jahr 2000 Professorin für Experimentelle Neurologie am Uniklinikum der Universität Duisburg-Essen und Arbeitsgruppenleiterin am Erwin L. Hahn Institute of Magnetic Resonance Imaging. Was sie antreibt ist das Ziel, Ataxie-Patienten zu helfen. Seit bald drei Jahrzehnten durchdringt sie hierfür wie kaum jemand sonst die Physiologie und Pathophysiologie des Kleinhirns. Eine Reise, die ihr eine stete Reihe von Förderungen, Ehrenfunktionen und Preisen bescherte, die sie immer wieder in die USA führte und auf der die Cerebellum-Expertin heute am 7T-Scanner Einsichten in die tiefsten Kleinhirn-Strukturen und seine wenig bekannten Rollen für die Kognition und bei Lernprozessen gewinnt.

Forschungsförderung

Konstantin Schubert und Silvio O. Rizzoli*

Kollaboratives Forschungszentrum (Sonderforschungsbereich, SFB) 1286 "Quantitative Synaptologie"

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0056

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat im Juli 2017 ein neues Kollaboratives Forschungszentrum der Neurowissenschaften in Göttingen (SFB 1286) mit dem Namen "Quantitative Synaptologie" gegründet. In dem neuen Zentrum (Referent Prof. Dr. Silvio O. Rizzoli von der Universitätsmedizin Göttingen) sollen die Nanoanatomie und -physiologie von Synapsen erforscht werden. Hierfür arbeiten Wissenschaftler aus verschiedenen Institutionen Göttingens zusammen. Dazu zählen die Universitätsmedizin Göttingen, die Georg-August-Universität Göttingen (Fakultät für Physik, Fakultät für Chemie), das Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, das Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, das Max-Planck-Institut für Dynamik und Selbstorganisation sowie das Deutsche Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen.

Es ist allgemeiner Konsens, dass Synapsen die zentralen Infomationsverarbeitungseinheiten des Gehirns sind. Ihre Funktionalität, Effektivität und Plastizität nehmen eine Schlüsselposition in sämtlichen Gehirnfunktionen ein und beeinflussen so das daraus hervorgehende Verhalten. Im Umkehrschluss ist eine Dysfunktion von Synapsen die Ursache für viele neurologische und psychiatrische Störungen. Das oberste Ziel des SFB 1286 ist es, die synaptische Weiterleitung in ausreichendem Detail zu verstehen, sodass man in der Lage ist, eine voll funktionstüchtige virtuelle Synapse *in silico* zu erzeugen. Diese soll sowohl prä- als auch postsynaptische Kompartimente beinhalten.

Unsere Vision: Nanophysiologie am Computer erforschen

Eines der Hauptziele der Zellbiologie ist es, die Aktivität von Zellen vorhersagen zu können. Voraussetzung hierfür ist ein quantitatives Verständnis aller zellulären Phänomene, um parallel dazu ein Modell aller zellulären Reaktionen zu konstruieren. Dieses Ziel scheint, zumindest innerhalb des nächsten Jahrzehnts, nicht in unserer Reichweite zu liegen. Das liegt vor allem an einem Mangel an Wissen über die Funktionsprinzipien von vielen zellulären Elementen. Ohne dieses Wissen ist es schwierig, Informationen über die Zellstruktur, egal wie detailliert diese sein mögen, in funktionelle Modelle zu überführen. Nichtsdestotrotz gibt es einen Teil der Zelle, der ausreichend gut verstanden ist, um ein quantitatives Modell in der näheren Zukunft zu ermöglichen: die Synapse. Die Synapse ist klein, beinhaltet einen begrenzten Pool an Proteinen und Organellen und hat nur eine essenzielle Hauptfunktion: Die Freisetzung von Neurotransmitter an der präsynaptischen Seite sowie dessen Rezeption an der postsynaptischen Seite. Daher sollte es möglich sein, die Zusammensetzung einer Synapse im quantitativen Maßstab zu entschlüsseln und so ihre Funktion in silico nachzubauen. Gleichzeitig jedoch ist die Synapse ausreichend komplex, um als Musterbeispiel für die allgemeine Zellfunktion zu dienen. Dies stellt sicher, dass die aus ihr abgeleiteten Prinzipien für viele andere Bereiche der Zellbiologie von Relevanz sind. Unsere Vision ist es daher, eine virtuelle Synapse zu erzeugen, die sowohl das prä-, als auch das postsynaptische Kompartiment darstellt. In dieser Hinsicht arbeiten wir nicht nur an einem strukturellen Modell, da dieses, egal wie detailreich, von geringem Nutzen wäre. Stattdessen streben wir ein dynamisch-funktionelles Modell an, das wir als Werkzeug zur Erforschung von synaptischer Funktion und Dysfunktion verwenden können.

Die Bedeutung dieser Art der Analyse wird unterstrichen durch die Tatsache, dass die durchschnittliche Prä-

^{*}Korrespondenzautor: Silvio O. Rizzoli, Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie, Universitätsmedizin Göttingen, Humboldtallee 23, 37073 Göttingen, Deutschland, E-Mail: E-Mail: srizzol@gwdg.de Konstantin Schubert, Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie, Universitätsmedizin Göttingen, Humboldtallee 23, 37073 Göttingen, Deutschland, E-Mail: k.schubert@stud.uni-goettingen.de

synapse im ZNS ein sehr geringes Zytoplasmavolumen hat (ca. 0,25 µm³). In diesem Volumen benötigt ein Protein nur ca. 150 Kopien, um die Konzentration von 1 µM zu erreichen. Diese Konzentration liegt für viele relevante Enzyme um oder über der Affinitätskonstante. Demzufolge können bereits geringe Veränderungen der Protein-Kopienzahl oder -Lokalisation signifikante funktionelle Auswirkungen haben.

In einer ersten Finanzierungsperiode werden wir Bildgebung, Biochemie, Molekularbiologie und Modellierung kombinieren, um ein strukturelles und teilweise funktionstüchtiges Modell der Synapse zu erstellen. Dieses Modell wird die allgemeine Organisation der Synapse sowie die funktionellen Prinzipien verschiedener synaptischer Nano-Mechanismen, wie etwa das synaptische Vesikel oder die aktive Zone, wiedergeben. Selbstverständlich sind wir uns bewusst, dass die eine "Durchschnittssynapse" nicht existiert und dass jede einzelne Synapse des Organismus' individuelle Eigenschaften besitzt, die sie von allen anderen Synapsen unterscheidet. Allerdings kann eine quantitative Beschreibung von einer Vielzahl von Synapsentypen, aufgrund der schieren Arbeitsmenge, nicht auf dem von uns angestrebten, detaillierten Level erfolgen. Deshalb werden wir mit zwei "Modellsynapsen" arbeiten: Einerseits der von Hippocampusneuronen, die sehr gut für bildgebende Experimente geeignet ist, und andererseits Synaptosomen (isolierte Synapsen aus dem Kortex), die sich sehr gut für biochemische Studien eignen. Indem wir die Informationen aus diesen Modellen kombinieren, werden wir die quantitative molekulare Organisation von einer, idealisierten Synapse (Prä- und Postsynapse) ableiten. Die Modellsynapse wird auf einer kleinen glutamatergen Präsynapse, gekoppelt an eine glutamaterge Postsynapse, basieren. Diese stellt mit ca. 90% den häufigsten Synapsentyp in sowohl den hippocampalen Neuronen als auch den Synaptosomen dar. Wir werden dieses strukturelle Modell mit funktionellen Parametern ergänzen, wie z.B. den Prinzipien von der Instandhaltung der Identität von Organellen, der Mobilität von synaptischen Organellen und Proteinen, oder den Prinzipien der Bildung von Membranprotein-Domänen oder postsynaptischen Verdichtungen. Die Bildung postsynaptischer Rezeptordomänen wird momentan am besten anhand von GABAergen Modellen erforscht. Daher werden wir diese Forschungsrichtung in unseren SFB einbeziehen, trotz seiner allgemeinen Ausrichtung auf die exzitatorische Signalweiterleitung durch Glutamat. Wir werden die daraus hervorgehenden quantitativen Daten nutzen, um in silico Parameter der synaptischen Aktivität und Plastizität zu eruieren. Außerdem werden wir einen Vergleich von zwei Modellen synaptischer Erkrankungen anstellen: Zum einen ein Modell, das starke phänotypische Veränderungen vom Kindheitsalter an zeigt (Autismus), zum anderen ein Modell zu neurodegenerativen Vorgängen (M. Parkinson). Die Kombination aus Plastizitäts- und Krankheitsstudie wird es uns ermöglichen, den Nutzen der quantitativen Information festzustellen. Dazu wollen wir überprüfen, ob die Kenntnis über die quantitative Organisation der Synapse uns dazu befähigt, die synaptische Plastizität sowie die Ausbildung von Erkrankungen vorherzusagen.

Jenes Modell einer Durchschnittssynapse, das aus diesen Experimenten abgeleitet werden kann, wird für keine reale, einzelne Synapse repräsentativ sein können. Allerdings wird es die Eigenschaften und molekularen Mechanismen, die für hippocampale Synapsen und Synaptosomen typisch sind, verallgemeinert zusammenfassen können. Wir werden zusätzlich diese Form der Charakterisierung erweitern und einen Typ von spezialisierten Synapsen untersuchen, nämlich die Held'sche Calyx. Diese wird Inhalt von zwei Projekten sein, in denen sich diese Synapsen am besten erforschen lassen, um ihre konkreten molekularen Prinzipien zu verstehen. Allerdings werden wir nicht versuchen, die vergleichende Analyse unterschiedlicher Synapsen weiter zu verfolgen. Unserer Ansicht nach könnten andere Forschungseinrichtungen unsere Daten über den "durchschnittlichen" Aufbau einer Synapse ausweiten. Auf der ganzen Welt können dann alle verschiedenen Arten von Synapsen erforscht werden, indem die von uns entwickelten quantitativen Bildgebungsverfahren und Analysetechniken angewendet werden.

Die erste Finanzierungsperiode soll also eine biochemische und morphologische Sicht auf die Synapse zeigen. Wir haben dies als Fokus der ersten Finanzierungsperiode gewählt, weil das quantitative biochemische Verständnis der Synapse deutlich dem funktionellen Verständnis der Synapse hinterherhängt. Wir haben die Absicht, den Aufbau der Synapse im quantitativen Maßstab zu verstehen. Auch die Veränderungen in der Physiologie der Synapse bei neuronaler Stimulation sollen analysiert werden. Die Verbindung zwischen der biochemischen Sicht auf die Synapse und ihrer Funktionalität wird in einigen wenigen Projekten der ersten Finanzierungsperiode erforscht werden. Dies soll insbesondere durch die Kooperation von experimentellen Forschungsgruppen und mathematischtheoretischen Modellierungsgruppen geschehen. Allerdings soll erst während der zweiten Finanzierungsperiode der Fokus auf diese Verbindung gelegt werden. Dann soll nämlich das Modell der "idealen Durchschnittssynapse" weiterentwickelt werden, indem es mit weiteren Krankheitsmodellen verglichen und unter verschiedenen Manipulationen der synaptischen Aktivität und Plastizität untersucht wird. In dieser zweiten Finanzierungsperiode werden wir uns außerdem darauf konzentrieren, sämtliche Methoden der Elektrophysiologie, Optogenetik und aktivitätsbezogener Bildgebung (z.B. Ca2+-gekoppelte Bildgebung) auszunutzen, um die funktionellen Aspekte der Synapse vollständig und abschließend zu quantifizieren. Die daraus hervorgegangenen Ergebnisse sollen dann mit denen aus der ersten Finanzierungsperiode sowie mit den diversen Ergebnissen aus der Literatur über synaptische Funktion und Plastizität verknüpft werden. Genetische Manipulation und Pharmakon-Anwendung sollen darüber hinaus genutzt werden, um verschiedenartige Veränderungen von synaptischen Parametern zu bestimmen. Somit soll die Aussagekraft unserer Vorhersagen über das Verhalten von Synapsen erhöht werden. Wir werden die in-silico-Modelle weiter verbessern und weitere quantitative Aspekte hinzufügen. Dies wird uns erlauben, Vorhersagen zu Parametern wie etwa synaptischer Turnover, Veränderungen in der Protein- und Organellen-Ausstattung (z. B. synaptische Vesikel-Pools oder postsynaptische Rezeptoren) oder synaptische Alterungsprozesse zu treffen. Des Weiteren werden wir in der ersten Finanzierungsperiode beginnen, die Modellierungstechniken zu entwickeln, die dafür benötigt werden, sämtliche Daten in ein großes Synapsenmodell zusammenzuführen.

Im letzten Schritt sollen in einer dritten Finanzierungsperiode die gesammelten Daten in einem Modell zusammengebracht werden. Dieses Modell wird genutzt werden, um offen gebliebene Fragen in Bezug auf synaptische Funktion und Dysfunktion anzugehen. Es wird Aufschluss geben über Synaptopathien, insbesondere solche, die durch synaptische Degeneration (z.B. durch Proteinakkumulation, synaptische Überladung oder andere Pathomechanismen) hervorgerufen werden. Das Synapsenmodell soll neue, zentrale Funktionsschritte identifizieren, die dann das Ziel weiterführender Forschung sein werden. Gleichzeitig wird ein solches Modell einen eheblichen Beitrag zur Pharmakotherapie leisten, indem es als Leitfaden für die Prävention und/oder Therapie synaptischer Dysfunktion dient. In anderen Worten: Unser Synapsenmodell wird verdeutlichen, welche Prozesse sinnvollerweise durch Therapiemaßnahmen anvisiert werden sollten und wie dies geschehen kann.

Vorausgegangene Beiträge zum **Forschungsfeld**

Obwohl die Art unserer Arbeit bisher nur sehr spärlich durchgeführt wurde, so hat sie dennoch bereits ihren Wert bewiesen. Es sollen im Folgenden zwei Beispiele beschrieben werden, bei denen uns das Wissen über Kopienzahlen von (Vesikel-)Proteinen in der Synapse geholfen hat, ihre Funktion zu verstehen. Beide der folgenden Projekte wurden von Mitgliedern des SFB 1286 durchgeführt.

Ein bedeutendes Projekt zur molekularen Anatomie wurde von Reinhard Jahrn (Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie), Henning Urlaub (Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie und Universitätsmedizin Göttingen) und Kollegen im Jahr 2006 publiziert: Die Organisation des synaptischen Vesikels (Takamori et al., 2006). Diese Publikation gab grundlegende Einsicht vor allem in die Engstellen von Freisetzung und Recycling von synaptischen Vesikeln. So sind zum Beispiel Vesikel-Fusionsproteine (SNAREs), Kalziumsensoren und Neurotransmitter-Transporter in großer Anzahl in einer Synapse vorhanden (10-70 pro Vesikel). Daher ist es unwahrscheinlich, dass diese die maximale Erregungsfrequenz der Synapse limitieren. Im Gegensatz dazu enthalten synaptische Vesikel durchschnittlich eine bis zwei Protonenpumpen. Dies lässt vermuten, dass es sich bei der Ansäuerung und Transmitterbeladung der Vesikel um eine Engstelle der synaptischen Weiterleitung handelt, da bereits der Verlust von sehr wenigen Molekülen dazu führt, dass Vesikel nicht mehr mit Neurotransmittern beladen werden können.

Die sich anschließende Quantifizierung von Proteinen in der durchschnittlichen Synapse (Synaptosom) durch Silvio Rizzoli (Universitätsmedizin Göttingen), Henning Urlaub und Kollegen gab außerdem Aufschluss über die Prozesse des Vesikelrecyclings (Wilhelm et al., 2014). Die durchschnittliche Synapse (mit ca. 380 Vesikeln) hat nur eine begrenzte Menge an Endozytosefaktoren zur Verfügung, zum Beispiel nur etwa 4000 Kopien der schweren und leichten Ketten von Clathrin. Bei ca. 150-300 benötigten Clathrinmolekülen zur Endozytose von einem Vesikel genügen diese 4000 Moleküle für das Recycling von 10-20 Vesikeln gleichzeitig. Diese Erkenntnis beendete eine Jahrzehnte andauernde Debatte über die Gründe und Bedeutung von langsamer Endozytose als Folge von starker Erregung: Sie ist einfach die Konsequenz einer begrenzten Anzahl an Endozytose-Cofaktoren. Ein weiterer andauernder Diskurs, nämlich der über die Rolle von Endosomen im Vesikel-Recyclingprozess, wurde auf ähnliche Art gelöst: Synapsen enthalten nur einige hundert Kopien von endosomalen SNARE-Proteinen (im Gegensatz zu den zehntausenden Kopien von exozytotischen SNAREs), was darauf schließen lässt, dass nur einige ausgewählte Vesikel via Endosomen recycelt werden können. Diese zwei quantitativen Studien sind heute im Standardlehrbuch für zelluläre und molekulare Biologie, "Molecular Biology oft

he Cell" von Alberts und Kollegen (Garland Science, 2014, 6. Edition), enthalten.

Die praktische Organisation des Projekts

Unser Projekt ist sehr interdisziplinär geprägt und benötigt daher die Expertise von Spezialisten aus den Feldern der Neurobiologie, Medizin, Physik, Chemie und Bioinformatik. Die Projekte, an denen sie arbeiten sind in drei Projektfelder A, B und C eingeteilt, die mit den drei Hauptzie-

len korrelieren, die wir für die erste Finanzierungsperiode formuliert haben:

- A: einen quantitativen Überblick über das synaptische Kompartiment erhalten
- B: die Prinzipien von synaptischer Funktion und Dysfunktion besser verstehen
- C: in-silico-Modelle zu synaptischer Transmission und Plastizität initiieren

Die grafische Übersicht über den SFB 1286 (Abbildung 1) zeigt die unterschiedlichen Projekte, an denen wir arbeiten. Sie konzentrieren sich auf die präsynaptische Seite (9 von 23 Projekten), die postsynaptische Seite (6 Projekte)

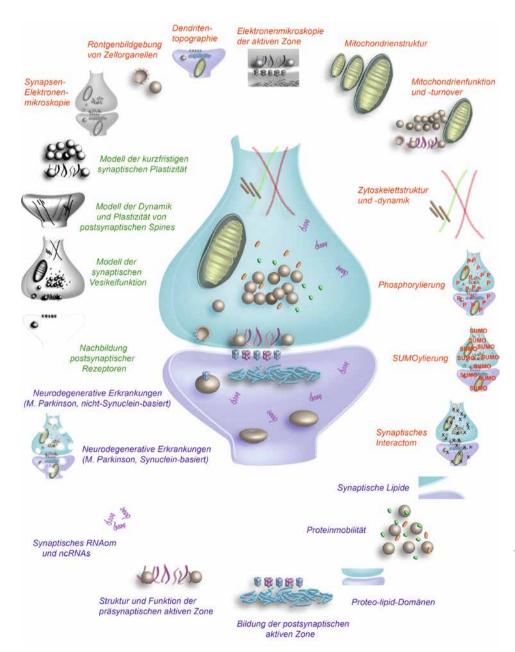


Abb. 1: Grafische Vorstellung der Projekte des SFB. Die drei Hauptgebiete des SFB sind in rot (A, quantitative Daten zur Struktur), blau (B, quantitative Daten zur Funktion) und grün (C. Modelle) beschrieben.

oder sowohl die prä- als auch die postsynaptische Seite (8 Projekte). Jede Forschungsgruppe wird einen separaten Aspekt der synaptischen Struktur und/oder Funktion charakterisieren. Von der Zusammenführung aller Projekte erhoffen wir uns den umfangreichsten Überblick über die Synapse, der je erstellt wurde.

Ausblick

Dieser SFB wird das erste funktionstüchtige Modell eines entscheidenden Elements der Nervenzelle erstellen. Uns sind keine konkurrierenden Projekte bekannt. Viele Gruppen beschäftigen sich momentan mit der allgemeinen Organisation des Gehirns, z.B. mit neuronaler Konnektivität. Allerdings erforschen, wenn überhaupt, nur wenige Gruppen die quantitative Organisation auf subzellulärer Ebene. Deshalb wird die Arbeit, die wir vorschlagen, einen einzigartigen Einfluss auf die Welt der Neurowissenschaften haben. Die quantitativen Parameter, die wir erhalten, werden Antworten auf eine große Spannweite von lange unbeantworteten Fragen der Nervenzellbiologie geben. Beispielsweise kann die Dynamik von Kalziumströmen in der Synapse besser verstanden werden, wenn die Anzahl und relative Position der Kalziumkanäle zueinander, die Kalzium-Puffermoleküle und -Speicherorte bekannt sind. Auf ähnliche Weise können elektrophysiologische Parameter der Plasmamembran besser dargestellt werden, wenn die Anzahl und Position der relevanten Kanäle bekannt sind. Die morphologischen Veränderungen der Synapse, die mit ihrer Funktion in Verbindung stehen, können im Detail verstanden werden. Zudem kann die molekulare Organisation von Zellteilen, die nicht durch Zellfraktionierung analysiert werden können, aufgedeckt werden. Dies beinhaltet auch Teile von Axonen und Dendriten, den Raum um Vesikelcluster, Mitochondrien sowie den synaptischen Spalt.

Die von uns beabsichtigte Arbeit wird uns helfen, die Organisation von Proteinen, die im Zuge von neurodegenerativen Prozessen akkumulieren, zu verstehen. Es wird möglich sein, die Rolle von Amyloid-Vorläuferproteinen und Amyloid-beta bei M. Alzheimer oder die von alpha-Synuklein bei M. Parkinson endgültig aufzuklären. Ihre Effekte auf die Synapsenphysiologie werden außerdem in einen funktionellen Kontext gestellt werden. Auf ähnliche Weise wird die Anordnung von neuronalen Membranproteinen aufgeklärt werden, z.B. die räumliche Anordnung von Fusionsproteinen (SNAREs). Wir werden die Organisation der Proteinabbau-Maschinerie (Proteasomen, Lysosomen) und ihre Rolle in lokalen Proteolyseprozessen

in Prä- und Postsynapse verstehen. Letztlich soll auch Einsicht in die lokale Proteinbiosynthese in der Synapse gewonnen werden. Dafür sollen die Position und Anzahl von mRNAs für diverse Proteine, die räumliche Organisation von Ribosomen sowie die Orte, an denen Proteine aus verschiedenen synaptischen Kompartimenten translatiert werden, untersucht werden.

Abschließend wollen wir feststellen, dass unser Versuch, die Nanophysiologie durch einen umfassenden, quantitativen Ansatz zwar zugegebenermaßen schwierig, jedoch durchaus vielversprechend ist. Er könnte elementare und innovative Ergebnisse liefern, die das hohe Risiko unserer angestrebten Forschung zu rechtfertigen vermö-

Literatur

Takamori, S., Holt, M., Stenius, K., Lemke, E. A., Grønborg, M., Riedel, D., Urlaub, H., Schenck, S., Brügger, B., Ringler, P., Müller, S. A., Rammner, B., Gräter, F., Hub, J. S., De Groot, B. L., Mieskes, G., Moriyama, Y., Klingauf, J., Grubmüller, H., Heuser, J., Wieland, F. and Jahn, R. (2006). Molecular anatomy of a trafficking organelle. Cell 127, 831-846.

Wilhelm, B. G., Mandad, S., Truckenbrodt, S., Kröhnert, K., Schäfer, C., Rammner, B., Koo, S. J., Claßen, G. A., Krauss, M., Haucke, V., Urlaub, H. and Rizzoli, S. O. (2014). Composition of isolated synaptic boutons reveals the amounts of vesicle trafficking proteins. Science 344, 1023-1028.

Autoreninformationen



Konstantin Schubert Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie, Universitätsmedizin Göttingen, Humboldtallee 23, 37073 Göttingen, Deutschland E-Mail: k.schubert@stud.uni-goettingen. de

Konstantin Schubert studiert Humanmedizin an der Universitätsmedizin Göttingen, wobei er sich besonders für das Fach der Neuro- und Sinnesphysiologie interessierte. Er absolvierte sein erstes Staatsexamen im Jahr 2016. Momentan ist er an der Forschung an Synapsen im Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie beteiligt. Dort studiert er die Nanoanatomie von Synapsen mithilfe der STED-Mikroskopie. Sein Forschungsziel ist ein quantitativer Vergleich zwischen verschiedenen Gehirnarealen bezüglich ihrer Proteinausstattung.



Silvio O. Rizzoli

Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie, Universitätsmedizin Göttingen, Humboldtallee 23, 37073 Göttingen, Deutschland E-Mail: srizzol@gwdg.de

Prof. Dr. Silvio O. Rizzoli studierte an der Universität Bukarest und erlangte dort im Jahr 2000 seinen Bachelor-Abschluss für Biochemie. In der Folge wechselte er an die Medizinische Fakultät der University of Colorado in Denver (USA) und erhielt dort im Jahr 2004 den Doktorgrad (PhD) für Physiologie. Im Rahmen seines

PhD-Programms forschte er im Labor von Prof. William Betz die Mechanismen Wiederverwertung von synaptischen Vesikeln in neuromuskulären Synapsen. Danach arbeitete er als Post-Doktorand am Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie in Göttingen, wo er im Labor von Prof. Reinhard Jahn synaptische Endosomen und die Verteilung synaptischer Proteine analysierte. Des Weiteren arbeitete er gemeinsam mit Prof. Stefan Hell an Möglichkeiten der Anwendung von superhochauflösender Mikroskopie in der Neurobiologie. 2007 wurde er Gruppenleiter am Europäischen Institut für Neurowissenschaften Göttingen. Seine Arbeitsgruppe spezialisierte sich auf die Synapsenforschung. Er setzt seine Arbeit an der Synapsenanalyse am Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie der Universitätsmedizin Göttingen fort, wo er 2014 zum Leiter des Instituts ernannt wurde.

Nachruf

Ansgar Büschges*

Nachruf auf Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Franz Huber

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0057

Am 27. April 2017 verstarb im Alter von 92 Jahren Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Franz Huber, emeritierter Professor und ehemaliger Direktor am Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen.

Franz Huber wurde am 20. November 1925 in Nussdorf im Chiemgau geboren. Schon früh wurde bei dem Jugendlichen, der auf dem elterlichen Bauernhof aufwuchs, das Interesse für die Naturwissenschaften und besonders für das Verhalten von Tieren geweckt. Seine Schulzeit wurde wie für so viele junge Menschen seines Alters durch den Ausbruch des zweiten Weltkriegs und die Einberufung zum Arbeits- und Wehrdienst an der Ostfront unterbrochen. Nach seiner Rückkehr aus amerikanischer Kriegsgefangenschaft legte er im Jahr 1946 die "Kriegsteilnehmer"-Reifeprüfung am Gymnasium in Traunstein ab, woran sich zunächst eine Ausbildung als Zimmermann anschloss. 1947 begann Franz Huber das naturwissenschaftliche Studium der Biologie, Chemie, Physik und Geografie an der Ludwig-Maximilians-Universität und der Technischen Hochschule in München, welches er 1953 mit der Promotion im Fach Zoologie mit Bestnote abschloss.

Weite Teile seiner Studienzeit wurde Franz Huber als Stipendiat der Studienstiftung des Deutschen Volkes gefördert, eine Chance, die sicherlich auch die Basis seiner beruflichen Laufbahn, aber vor allem die von ihm stets gelebte Förderung von jungen Menschen in der Wissenschaft legte. Nach der Promotion ging er im Jahr 1954 an die Universität Tübingen, wo er im Jahr 1960 habilitierte. Franz Huber erhielt im Anschluss eine Reihe von Angeboten auf Professorenpositionen in den USA, z. B. von der University of Michigan und der University of California. Schlussendlich folgte er im Jahr 1963 dem Ruf auf das Ordinariat für Zoologie und Tierphysiologie an das Zoologische Institut der Universität zu Köln, das er bis 1973 innehatte. Dann folgte er dem Ruf an das Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie in Seewiesen, dem er als einer der Direktoren vorstand. Bis zu seiner Emeritierung im Jahr 1993 leitete er am MPI Seewiesen die Abteilung Neuroethologie.

Seine wissenschaftliche Vitae wurde immer begleitet von einer enormen Begeisterung für wissenschaftliche Kooperationen im In- und Ausland, verbunden mit mehrfachen Aufenthalten in den jeweiligen Gastlaboren, z. B. an der Universität Zürich, der University of Uganda, der University of California at Los Angeles, am CalTech/USA und an der University of Michigan/USA. Es waren vor allem seine vielfältigen Kooperationspartner in den USA und seine freundschaftlichen wissenschaftlichen Kontakte weltweit, mit denen Franz Huber wesentlich dazu beitrug, die europäische Tradition analytischer Verhaltensforschung sinnesphysiologischer Prägung in die (ganz anders strukturierte und stark wirbeltierzentrierte) Forschungslandschaft Nordamerikas zu tragen und dieses in Deutschland stark besetzte Feld international zu öffnen.

Der wissenschaftliche Lebensweg von Franz Huber ist gerade aus heutiger Sicht besonders bemerkenswert, weil er entlang seiner gesamten wissenschaftlichen Schaffensperiode "seinem" Thema, welches er in seiner Doktorarbeit als für sich hochspannend identifiziert hatte, sehr erfolgreich treu bleiben konnte. Seine Doktorarbeit befasste sich mit den neuronalen Grundlagen der innerartlichen akustischen Kommunikation bei Grillen. Grillen gehören zu einer Insektengruppe, bei der Männchen mit dem Ziel der Partnerwahl spezifische Lautmuster mittels ihrer Flügel erzeugen, welche dann vorbehaltlich entsprechender Qualität zur Anlockung von weiblichen Artgenossen und zur anschließenden Paarung führen können. So konnte er durch Läsionsexperimente im Gehirn von Grillen unter anderem die Bedeutung bestimmter Areale für die Ausführung des Werbegesangs als notwendig nachweisen.

In seiner Postdoktorandenzeit (Universität Tübingen) eignete er sich neue elektrophysiologische Methoden an und verfeinerte so den Zugang zu den von ihm identifizierten Gehirnarealen der Grille und konnte lokalisierte Stimulation spezifischer Gehirnregionen durchführen (Gastaufenthalt an der Universität Zürich).

Wesentliche Erkenntnisse – nämlich zur Aufklärung der neuronalen Netzwerke, die für die Erzeugung innerartlicher Kommunikation bei Insekten verantwortlich sind (d.h. bei Männchen zur Erzeugung des Werbegesangs und bei Weibchen zur Gesangserkennung), prägten die Zeit seines wissenschaftlichen Schaffens als Ordinarius

^{*}Korrespondenzautor: Ansgar Büschges, Köln, Deutschland, E-Mail: ansgar.bueschges@uni-koeln.de

an der Universität zu Köln und dann als Direktor am MPI für Verhaltensphysiologie.

Aus eben jenen Untersuchungen wurde deutlich, dass die für die Gesänge der Männchen zu erzeugende rhythmische motorische Aktivität nicht von Netzwerken im Gehirn, sondern von spezialisierten Netzwerken im thorakalen Bauchmark erzeugt werden und dass neuronale Zentren im Gehirn die Kommandofunktion haben.

Franz Huber machte dieses Thema in den 1950er Jahren zu einem zentralen Schwerpunkt seiner Forschungsarbeit, zu einer Zeit, in der man kaum ahnen konnte, wie wichtig es in der aktuellen Forschung geworden ist: Derzeit erlebt die Entschlüsselung der Prinzipien der sog. "absteigenden Kontrolle" im Nervensystem für die Erzeugung der vielfältigen Verhaltensweisen von Tieren (d. h. die Aufklärung der neuronalen Mechanismen, mittels derer übergeordnete Zentren im Gehirn prämotorische Netzwerke in Bauch- oder Rückenmark ansteuern und kontrollieren) eine besonders erfolgreiche Entwicklung. Gerade heute, wo es für einzelne Spezies, z.B. für die Fruchtfliege, möglich ist, durch neurogenetische Techniken eine systematische Identifikation der absteigenden Bahnen vom Gehirn inklusive ihrer funktionellen Analyse vorzunehmen, erlangen die von Franz Huber gelegten Erkenntnisse zu dieser Frage hohe Aktualität. Für das Nervensystem der Weibchen hingegen konnten Franz Huber und seine Mitarbeiter schon früh zeigen, dass spezifische Filtermechanismen entlang der neuronalen Hörbahn eine wesentliche Rolle für die Verarbeitung der innerartlichen Spezifität des wahrgenommenen Werbegesangs spielen.

Franz Huber veröffentlichte mehr als 120 Originalarbeiten und Übersichtsartikel. Bei drei Büchern firmierte er als Herausgeber.

In der Forschung folgte Franz Huber seiner Überzeugung, dass es unbedingt notwendig sei, neurophysiologische Analysen in den jeweils spezifischen Verhaltenskontext einzubetten; dabei habe der Experimentator Fragen nachzugehen, die ihm die Tiere selbst und nicht vorgefasste Konzepte stellten. Mit dieser Maxime trug Franz Huber wesentlich dazu bei, das Feld einer methodisch und konzeptionell breit aufgestellten, integrativen Verhaltensphysiologie zu präzisieren. Dies wird z. B. auch in seiner Rolle als Mitorganisator des Schwerpunktprogramms "Neuronale Mechanismen des Verhaltens" der Deutschen Forschungsgemeinschaft deutlich.

Franz Huber hat mit wissenschaftlichem Weitblick und nie erlahmender Gestaltungskraft die Neuro- und Verhaltensbiologie in der zweiten Hälfte des letzten Jahrhunderts national und international in besonderer Weise geprägt. Dazu gehörte auch sein professioneller Einsatz für wissenschaftliche Fachzeitschriften, Gremien und Gesell-



Abb. 1: Franz Huber bei der Verhaltensbeobachtung an Grillen im Jahr 1952

schaften: Franz Huber war Mitglied des Advisory Boards diverser Fachzeitschriften, z.B. Journal Comparative Physiology, Gutachter für die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Beauftragter für die Max-Planck-Gesellschaft in diversen Gremien, Mitglied in verschiedenen Gremien der Deutschen Zoologischen Gesellschaft, welcher er schlussendlich 1993-1994 als Präsident vorstand. Die Deutsche Zoologische Gesellschaft würdigte seine Verdienste nicht nur mit der Karl-Ritter-von-Frisch-Medaille, sondern späterhin noch mit seiner Ehrenmitgliedschaft. Franz Huber galten diese beiden Auszeichnungen immer als besonders bedeutsam. Die Universitäten Köln, Toulouse, Odense und Zürich würdigten sein Wirken mit Ehrendoktoraten. Franz Huber war Mitglied der American Academy of Arts and Sciences, der American Philosophical Society, der Deutsche Akademie der Wissenschaften Leopoldina, sowie der Akademien der Bundesländer Bayern, Nordrhein-Westfalen und Rheinland-Pfalz. 2014 wurde er zum Fellow der International Society for Neuroethology ernannt.

DE GRUYTER Nachruf — 143

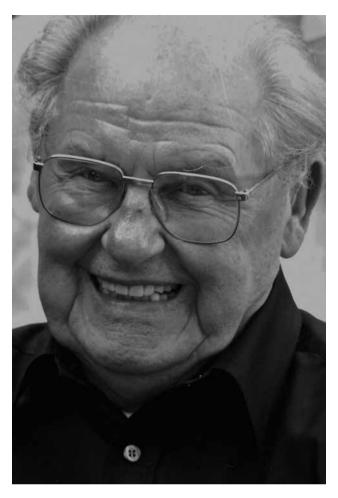


Abb. 2: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Franz Huber

Es ist Franz Huber selbst, der bei der Sicht auf seine wissenschaftlichen Verdienste immer wieder darauf verwies, dass diese ohne seine begabten MitarbeiterInnen und besonders ohne seine Ehegattin Lore nicht denkbar gewesen wären. Generationstypisch hatte Lore Schneider nach eigenem Studium und Promotion mit Auszeichnung an der Ludwigs-Maximilians-Universität in München ihrem Partner und der Familiengründung zuliebe auf eine weitere wissenschaftliche Laufbahn verzichtet. Besonders deutlich wird die Bedeutung von Lore Huber für ihren Ehemann aus den vielen persönlichen Erinnerungen Franz Hubers zu seinem Lebensweg, welche er im Jahr 2015 autobiografisch zugänglich machte (Das war mein Leben; Erinnerungen von Prof. Dr. Franz Huber).

Mit dem Tod von Franz Huber verliert die deutsche Neurowissenschaft einen ihrer renommiertesten Neuroethologen. Wir trauern um einen überaus geschätzten Kollegen, der einerseits ein wissenschaftlich erfolgreicher und aktiver Freund, Diskutant und Kollege, andererseits ein Vorbild für das professionelle Rollenverständnis eines erfahrenen Wissenschaftler war, weil er das lebte, was junge KollegInnen für die Arbeit in der Wissenschaft begeistert!

Generationen von deutschen und internationalen ZoologInnen und NeurowissenschaftlerInnen, denen es vergönnt war, mit Franz Huber zusammenzuarbeiten, mit ihm zu diskutieren oder seine Versuchsansätze und Arbeiten zu studieren, werden Franz Huber als Mensch und als einen der Väter der Neuroethologie in Erinnerung behalten.

Ansgar Büschges Köln, Dezember 2017

Danksagung: Kollegen Rüdiger Wehner, auf dessen Nachruf (erschienen in Zoologie 2017, 93–99) meine Ausführungen in vielem fuβen, möchte ich für die freundliche Durchsicht des Manuskripts herzlich danken.

Nachruf

Herta Flor* und Niels Birbaumer*

Nachruf auf Robert F. Schmidt

https://doi.org/10.1515/nf-2018-0003

Am 13. September 2017 starb wenige Tage vor seinem 85. Geburtstag der Physiologe Robert F. Schmidt in Würzburg. Robert Schmidt war langjähriges Mitglied der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft. Mit ihm verliert die deutsche Wissenschaft einen der bedeutendsten und bekanntesten Neurophysiologen. Seine Lehrbücher haben ebenso wie seine wissenschaftlichen Arbeiten die moderne Physiologie und Neurowissenschaften in Deutschland und international repräsentiert und es ist auch ihm zu danken, dass die deutsche Neurowissenschaft zu einer Spitzenposition nach ihrer fast völligen Vernichtung in der Nazizeit aufgestiegen ist. Robert F. Schmidt wurde vor allem durch sein Lehrbuch "Physiologie des Menschen" (Human Physiology, übersetzt in viele Sprachen) bekannt. Wissenschaftlich hat Robert F. Schmidt bahnbrechende Arbeiten zur synaptischen Verschaltung und präsynaptischen Hemmung im Rückenmark gemeinsam mit John Eccles verfasst und hat die sogenannten "stillen" Nozizeptoren entdeckt. Diese Arbeiten haben unser gegenwärtiges medizinisches aber auch psychologisches Verständnis von chronischen Schmerzzuständen entscheidend geprägt.

Robert Schmidt wurde am 16. September 1932 in Ludwigshafen geboren. Von 1953 bis 1959 studierte er Humanmedizin an der Universität Heidelberg und wurde 1959 zum Dr. med. promoviert. Seine von Wolfgang Trautwein betreute Doktorarbeit befasste sich mit der Wirkung von Acetylcholin und Adrenalin auf Zellen des Herzgewebes. Nach einem Jahr als Medizinalassistent am Bethanien-Krankenhaus in Heidelberg hat Robert Schmidt mit seiner jungen Familie und seinem gerade geborenen Sohn ein italienisches Emigrantenschiff bestiegen und sich in einer mehrwöchigen Reise auf den Weg nach Canberra in Australien gemacht, um mit John Eccles (später Sir John

Eccles), dem Begründer und Entdecker der Synapsenphysiologie im Nervensystem und späteren Nobelpreisträger, zu arbeiten. Fasziniert von Eccles Buch "The Physiology of Nerve Cells" hat er sofort erkannt, dass hier der Schlüssel für das Verständnis unserer Denkprozesse und unseres Verhaltens zu suchen ist. In zwei Jahren hat er in Eccles Laboratorium 24 wissenschaftliche Arbeiten publiziert, darunter in Zeitschriften wie "Nature" und "Science" und dafür 1963 seinen Ph.D. erhalten. Seine Arbeiten in Canberra befassten sich vornehmlich mit der präsynaptischen Hemmung im Rückenmark. Robert Schmidt habilitierte sich 1964. Er wurde nach der weiteren Zusammenarbeit mit Eccles in Buffalo in den USA 1971 als Ordentlicher Professor für Physiologie an die Universität Kiel berufen und 1982 an die Universität Würzburg, wo er den Lehrstuhl für Physiologie bis ins Jahr 2000 innehatte. Themen seiner Forschung waren mit seinen Kollegen Manfred Zimmermann und Wilfrid Jänig die Fortsetzung der Arbeiten über afferente Depolarisation unter Anwendung physiologischer Reizung von Mechanorezeptoren der Haut. Er arbeitete auch zu somatovegetativen Reflexen, unter anderen mit Akio Sato, der zunächst Assistent in Heidelberg und dann Professor in Tokio war. Weitere Themen seiner Forschung waren die Physiologie des Kleinhirns, Eigenschaften und Verschaltung von Muskelafferenzen und in der Würzburger Zeit insbesondere Mechanismen des Gelenkschmerzes. Im Mittelpunkt standen Eigenschaften von Nozizeptoren und die Verarbeitung nozizeptiver Prozesse im Rückenmark. So hat er zum Beispiel gemeinsam mit Hans-Georg Schaible die "schlafenden Nozizeptoren" entdeckt, die erst arbeiten, wenn Gewebe entzündet ist. Zum Thema Schmerz und Nozizeption gründete er eine Forschergruppe wie auch ein Schwerpunktprogramm der Deutschen Forschungsgemeinschaft und initiierte gemeinsam mit Hermann Handwerker den Sonderforschungsbereich 353 (Pathobiologie der Schmerzentstehung und Schmerzverarbeitung), der über viele Jahre (1992–2003) ein Exzellenzzentrum der deutschen und internationalen Schmerzforschung war. Im Jahr 2001 wurde er Honorarprofessor an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen. Von 1997 bis 2008 arbeitete er mit Carlos Belmonte als Gastforscher am Neurowissenschaftlichen Institut der Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante, in Spanien.

^{*}Korrespondenzautoren: Herta Flor, Institut für Neuropsychologie und Klinische Psychologie, Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, J5, 68159 Mannheim, Deutschland, E-Mail: herta.flor@zi-mannheim.de Niels Birbaumer, Wyss Center for Bio and Neuroengineering, Chemin des Mines 9, Genf, Schweiz; Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie der Univ. Tuebingen, Tübingen, Deutschland



Abb. 1: Robert F Schmidt

Seine enorme Popularität wurde aber weniger durch seine bahnbrechenden wissenschaftlichen Arbeiten als durch seine Lehrbücher, vor allem die "Physiologie des Menschen" begründet, welche nun in ihrer 31. Auflage vorliegt. Durch das Lehrbuch "Biologische Psychologie", zusammen mit Niels Birbaumer, hat er wesentlich die Entwicklung der Psychologie in Deutschland von einer eher geisteswissenschaftlich-kognitiv gestimmten Wis-

senschaft hin zu einer biologisch orientierten Hirnwissenschaft mitgeprägt. Durch seine langen und häufigen Forschungsaufenthalte in Japan hat er auch die fernöstliche Entwicklung der Physiologie und Schmerzforschung und die lateinamerikanische und spanische Neurowissenschaft durch die Zusammenarbeit mit Carlos Belmonte (Universität Alicante) beeinflusst. 2007 gab er gemeinsam mit William D. Willis die erste "Encyclopedia of Pain" heraus, die er mit Gerald F. Gebhart ab 2013 weiterführte.

Robert F. Schmidt hat zahlreiche Ehrungen erhalten, darunter 1985 die Warner-Lambert Lectureship for a Distinguished Foreign Scientist der Society for Neuroscience, die Mitgliedschaft in der Akademie der Wissenschaften und der Literatur Mainz, 1991 den Max Planck-Forschungspreis 1991 (für seine Kooperation mit Akio Sato in Tokio), 1996 die Ehrendoktorwürde der University of New South Wales, Sydney, Australia und 2000 das Bundesverdienstkreuz 1.Klasse, Verdienstorden der Bundesrepublik Deutschland sowie zahlreiche Ehrenmitgliedschaften in nationalen und internationalen wissenschaftlichen Gesellschaften.

Wir haben in Robert F. Schmidt nicht nur einen herausragenden Forscher und Universitätslehrer, sondern auch unseren weltoffenen und allseits gebildeten Freund und eine "Lichtgestalt" der deutschen Neurowissenschaft verloren.

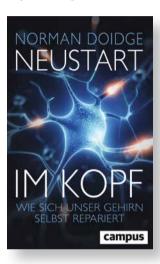
Herta Flor Niels Birbaumer

Rezension

Norman Doidge: Neustart im Kopf – Wie sich unser Gehirn selbst repariert. Aus dem Englischen von Jürgen Neubauer. Campus Verlag GmbH, Frankfurt am Main. 3. Auflage 2017. ISBN 978-3-593-50839-9

Besprochen von **Anja Hoffmann**, Bayer AG, Clinical Sciences, 13353 Berlin

https://doi.org/10.1515/nf-2017-0067



Der Klappentext verheißt Großes: "Neustart im Kopf" (im Original: "The brain that changes itself") wurde von der Dana Brain Foundation 2010 als "bestes Sachbuch aller Zeiten über das Gehirn" prämiert. Ich bin gespannt, ob das Buch diesem Anspruch gerecht werden kann. Es erscheint immerhin schon in der 3. Auflage, hat also offensichtlich bereits eine große Leserschaft gefunden.

Norman Doidge ist Psychiater und Psychoanalytiker und forscht in New York und Toronto. Er war laut seiner Homepage für mehrere Jahre einer der am meisten zitierten Autoren im Bereich der Psychoanalyse. Seit vielen Jahren ist er auch literarisch tätig. Aus seiner Überzeugung heraus, dass das Thema "Neuroplastizität" das wichtigste neue Konzept der Neurowissenschaften in den letzten 100 Jahren darstellt, ist das vorliegende Buch entstanden.

In elf Kapiteln und zwei Anhängen breitet Doidge auf 309 Seiten ein Panorama zur Entstehung und zum gegenwärtigen Stand der Neuroplastiziät aus. Ausgehend von Fallberichten (z. B. "Eine Frau fällt ins Bodenlose", "Die Frau, die sich ein besseres Gehirn baute") werden wesentliche Protagonisten dieses Feldes mit ihren jeweiligen Forschungsgebieten ausführlich vorgestellt: Paul Bach-y-Rita und seinem Konzept der sensorischen Substitution, Michael Merzenich, der ausgehend von Hirnkartierungen Therapien wie das Cochlea-Implantat entwickelt hat, Ed-

ward Taub und der von ihm ersonnenen "Constraint-Induced Therapy" sowie Vilayamur S. Ramachandran und seinen Therapieentwicklungen zu Phantomschmerzen sind eigene Kapitel gewidmet. Des Weiteren erfährt der Leser etwas zu Lernbehinderungen und neuroplastischen Ansätzen, damit umzugehen, von den gehirnverändernden Wirkungen der Psychotherapie ("Wie wir Gespenster in Vorfahren verwandeln") und von der "Kraft der Vorstellung", deren gehirnverändernde Wirkungen Alvaro Pascual-Leone mit Hilfe der transkraniellen Magnetstimulation untersucht. Die Rolle von neuronalen Stammzellen wird ebenso thematisiert wie der Einfluss von Kultur und Fortschritt. Am Ende hat der Leser ein umfängliches Bild darüber, wie sich das Gehirn durch seine Verwendung fortlaufend selbst verändert.

Die Texte sind hervorragend recherchiert. Hier hat es dem Autor sicherlich geholfen, dass er selber vom Fach ist und so nicht nur einfachen Kontakt zu den Kollegen herstellen konnte, sondern durch die eigenen Kenntnisse die Möglichkeit zu intensiveren Gesprächen hatte. Das Buch lebt gerade auch durch diesen Dialog. Ein ca. 50-seitiges Kapitel mit Anmerkungen erlaubt es, ohne Komplikationen die Quellen ausfindig zu machen und das Gelesene zu vertiefen. Überdies ist das Buch kurzweilig, spannend und bei aller fachlichen Korrektheit verständlich geschrieben, sodass es Spaß macht, es zu lesen. Jürgen Neubauer gebührt in diesem Zusammenhang Dank für die gelungene sprachliche Übertragung.

Was das Buch meiner Meinung nach aber insbesondere auszeichnet, ist der Fokus auf den Patienten, der durch die eindrücklichen und anschaulich geschilderten Fallgeschichten entsteht. So sehr es Doidge auch darum geht, die Neuroplastizität als die größte neurowissenschaftliche Revolution seit Descartes verständlich zu machen: Er verliert darüber nie den Patienten aus dem Blick. Die Umsetzung der Erkenntnisse in für den Patienten anwendbare Therapien und ihre jeweiligen Erfolge stehen immer im Vordergrund. Mit der einfühlsamen Art und Weise der Patientenbeschreibung steht Doidge in der Tradition von Alexander Lurija und Oliver Sacks. Ich finde es ermutigend zu sehen, dass solche "biografischen Studien" - wie Lurija sie genannt hat – auch heute noch, im Zeitalter von Genen und Bildgebung, zu neuen Forschungserkenntnissen beitragen können. Oder wie der Autor selber schreibt: "...große Wissenschaft (kann) immer noch von schlichter Eleganz sein (...)."

Für mich war das Buch ein faszinierender Augenöffner. Groß geworden mit dem Dogma, dass sich Nervenzellen nicht erneuern, und ausgebildet im Zeichen der Lokali-

sationstheorie habe ich zwar die Ergebnisse bezüglich der Neuroplastizität mit Interesse zur Kenntnis genommen, aber die tiefgreifende, wahrhaft umwälzende Natur dieser Erkenntnisse hat sich mir erst auf Grund dieser fundierten Gesamtschau erschlossen. Die bahnbrechenden Konsequenzen für Patienten, die in ausgewählten Therapiezentren bereits Wirklichkeit geworden sind, werden in diesem Buch nachhaltig klar.

Ich kann dieses Buch vorbehaltlos jedem Leser empfehlen, der sich für das Thema Neuroplastizität interes-

siert, aber auch jenen Lesern, die wissen möchten, wo die Neurowissenschaften heute stehen. Das Buch reiht sich auch für mich in die Reihe der großen neurowissenschaftlichen Werke ein. Ich wünsche Norman Doidge noch viele Leser und weitere Auflagen – verbunden mit der Hoffnung, dass die erfolgversprechenden Therapien über die Zeit einen wesentlich breiteren Einsatz finden und es Patienten ermöglichen, die Plastizität ihres Gehirnes immer besser zu nutzen.

Nachrichten

https://doi.org/10.1515/nf-2018-0005



Einladung zur Mitgliederversammlung während des FENS Forum 2018 in Berlin (7.–11. Juli 2018)

Termin: Sonntag, 8. Juli 2018, 18:45–21:30 Uhr

Ort: CityCube Berlin

Vorläufige Tagesordnung:

1. Begrüßung durch den Präsidenten

 Bestätigung des Protokolls der letzten Mitgliederversammlung

3. Bericht des Schatzmeisters

4. Mitteilungen

5. Aktivitäten der Gesellschaft

Verschiedenes

Vorschläge für weitere Tagesordnungspunkte müssen **bis spätestens 15. Juni 2018** bei der Geschäftsstelle eingegangen sein.

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e. V.

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC)

Robert-Rössle-Str. 10

13092 Berlin

E-Mail: gibson@mdc-berlin.de

NWG-Reisestipendien für das FENS Forum 2018 in Berlin vergeben

Aus den zahlreichen Bewerbungen aus In- und Ausland wurden nun die Gewinner eines Reisestipendiums für die Teilnahme am FENS Forum 2016 in Berlin ausgewählt.

- Thordis Arnold (Kassel)
- Antonia Beiersdorfer (Hamburg)
- David Bergin (Hannover)
- Dominik Dannehl (Mannheim)
- Nina Hahn (Göttingen)
- Fatemeh Hassani Nia (Hamburg)
- Stefanie Hauck (Bonn)
- Sarah Joost (Rostock)
- Merryn Jordan (Mannheim)
- Shokoufeh Khakipoor (Freiburg)
- Antje Kilias (Freiburg)
- Stanislava Knyazeva (Magdeburg)
- Ina Leiter (Hannover)
- Constanze Lenschow (Lisabon)
- Thomas Lissek (Heidelberg)

- Anne Stephanie Mallien (Mannheim)
- Sabina Marciano (Tübingen)
- Daniel Nicolae Mitroi (Madrid)
- Moritz Oberstadt (Leipzig)
- Michael Rabenstein (Rostock)
- Phillip Rieder (Homburg)
- Nicole Rosskothen-Kuhl (Freiburg)
- Annabelle Schlüter (Heidelberg)
- Akash Srivastava (Jena)
- Bharath Chandra Talluri (Hamburg)
- Winnie Wefelmeyer (London)
- Lisa Welzel (Hannover)

Herzlichen Glückwunsch!

Das Stipendium in Höhe von 500 Euro wird in bar am NWG-Stand auf dem FENS Forum in Berlin gegen Vorlage eines Ausweises ausgezahlt.

Vorstandswahl für die Amtsperiode 2019-2021

Laut Satzung ist im Januar 2019 die Wahl des NWG-Vorstandes für die Amtsperiode 2019-2021, die mit dem Ende der Göttinger Tagung am 23. März 2019 beginnen wird, fällig.

Alle Mitglieder sind aufgefordert, Vorschläge für die Positionen der Sektionssprecher, des Schatzmeisters, des Generalsekretärs und des Vizepräsidenten bei der Geschäftsstelle einzureichen.

Das Amt des Präsidenten steht nicht zur Wahl, laut Satzung wird der Vizepräsident der vorangegangenen Amtsperiode automatisch Präsident der nächsten Amtsperiode.

Es können nur Vorschläge berücksichtigt werden, die die komplette postalische Adresse, die Telefonnummer und die E-Mail-Adresse des Kandidaten enthalten.

Der Stichtag für die Einsendung von Vorschlägen ist der 3. September 2018.

Vorschläge per E-Mail an: Meino Alexandra Gibson E-Mail: gibson@mdc-berlin.de

Die Vorschläge werden von der Wahlkommission der NWG für die endgültige Wahlliste gesichtet und bei Bedarf ergänzt werden.

Fortbildungsprogramme der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2018/2019 - Von Mitgliedern für Mitglieder

Es ist wieder Zeit, Vorschläge für die Methodenkurse und auch die Lehrerfortbildungen der NWG zu sammeln. Diese sind seit Langem eine feste Einrichtung und erfreuen sich großer Beliebtheit. Die Mitglieder der NWG sind aufgefordert, derartige Kurse, für die die NWG eine finanzielle Unterstützung bereitstellt, im kommenden Jahr anzubieten.

Für die Methodenkurse stellt die NWG 125 € pro teilnehmendem NWG-Mitglied und 62,50 € pro teilnehmendem Nicht-Mitglied bis zu einer maximalen Höhe von 2.500 € pro Kurs zur Verfügung. Die Lehrerfortbildungsveranstaltungen werden mit einem Betrag in Höhe von maximal 250 € pro Veranstaltung unterstützt.

Beide Programme werden mit einem gedruckten Plakat bzw. gedruckten Flyern im Spätsommer des Vorjahres angekündigt. Das Lehrerfortbildungsprogramm erstreckt sich über ein Schuljahr, also von September 2018 bis Juli 2019, das Methodenkursprogramm über das Kalenderjahr 2019.

Einsendeschluss für Angebote ist Montag, der 2. Juli 2018.

Details können bei der Geschäftsstelle der NWG erfragt werden (gibson@mdc-berlin.de).

Weitere Informationen:

Methodenkurse 2019: http://nwg-info.de/aktivitaeten/ kurse workshops/2018

Lehrerfortbildungen 2017/2018: http://nwg-info.de/de/ aktivitaeten/lehrerfortbildung/2018

DE GRUYTER Nachrichten — 151

Neueintritte

Folgende Kolleginnen und Kollegen dürfen wir als Mitglie-Felix, Lisa (Düsseldorf) der der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft begrüßen: Flüh, Dr. Charlotte (Kiel) Fraize, Dr. Nicolas (Bochum)

Abd El Hay, Muad (Heidelberg) Franco Emch, Monica (München) Ackermann, Dr. Frauke (Berlin) Garza Gomez, Alejandra Patricia (Magdeburg)

Adolf, Andrej (Berlin) Grömmke, Michelle (Bochum) Agarwal, Dr. Amit (Heidelberg) Haak, Annika (Bochum) Ahmed, Amina (Stuttgart-Leinfelden) Hacker, Daniela (Hamburg) Aksov-Aksel, Dr. Ayla (Tübingen) Hahn, Nina (Göttingen) Alatriste González, Diana Karina (Berlin) Hauck, Stefanie (Bonn) Araragi, Dr. Naozumi (Berlin) Haumann, Dr. Iris (Hamburg)

Araujo Sousa, Carolina (Heidelberg) Haupt, Marleen (München) Bach, Annika (Aachen) Hauser, Maximilian (Bochum) Barker, Dr. Alison (Berlin) Heinrich, Laurin (Mainz)

Barnstedt, Dr. Oliver (Bonn) Hogekamp, Zarina (Magdeburg)

Bégay-Müller, Dr. Valérie (Berlin) Hurtado Zavala, Dr. Joaquin Isaac (Hamburg)

Bell, Christopher (Mainz) Ikhsan, Maulana (Lübeck) Bengoetxea Bausela, PhD Xabier (Münster) Jack, Alexander (Bochum) Bergeler, Dr. Jürgen (Berlin) Iohanns, Ole (Hamburg) Jordan, Merryn (Mannheim)

Berghoff, Stefan (Göttingen) Bergin, Dr. David (Hannover) Kilo, Lukas (Mainz)

Biel, Anna Lena (München) Klausch, Monique (Magdeburg) Braun, Anke (Hamburg) Kleidonas, Dimitrios (Freiburg) Brembs, Prof. Dr. Björn (Regensburg) Klein, Alexandra (Martinsried)

Brickwedde, Marion (Bochum) Knyazeva, Stanislava (Magdeburg)

Brosch, Marcel (Magdeburg) Koduah, Priscilla (Berlin) Bucher, Michael (Hamburg) Kollert, Dr. Sina (Würzburg) Camblor Perujo, Santiago Manuel (Essen) Konietzny, Anja (Hamburg) Chang, Hae In (Tübingen) Kowalczyk, Izabela (Berlin)

Chen, Changwan (Köln) Kronenberg-Versteeg, Dr. Deborah (Cambridge, UK)

Cortes Campo, Orlando Jose (Würzburg) Krueger-Burg, Dr. Dilja (Göttingen)

Dannehl, Dominik (Mannheim) Krüger, Marie (Bochum) De la Flor Aguirre, Magin (Berlin) Kubinski, Sabrina (Hannover) Delettre, Céline (Hamburg) Kücükerden, Melike (Hannover) Kühnemund, Johannes (Berlin) Demiray, Yunus Emre (Magdeburg)

D'Errico, Dr. Anna (Frankfurt) Kul, Ufuk Emre (Magdeburg) Detering, Nora Tula (Hannover) Laier, Alena (Berlin)

Di Benedetto, Dr. Barbara (Regensburg) Lang, Daniel (Magdeburg) Dietzmeyer, Nina (Hannover) Langenhagen, Alina Katharina (Hannover)

Dolón Vera, Laura (Bochum) Laprell, Dr. Laura (Hamburg) Dunay, Prof. Dr. Ildiko Rita (Magdeburg) Larkum, Prof. Dr. Matthew (Berlin)

Eckl, Nina (Mainz) Leiter, Dr. Ina (Hannover)

Egger, Prof. Dr. Veronica (Regensburg) Lischka, Katharina (Freising) El Sayed, Prof. Nesrine (Cairo, Egypt) Lissek, Thomas (Heidelberg) Engelhardt, Dr. Maren (Mannheim) Litke, Christian (Heidelberg)

Ernst, Laura (Bochum) Lozano Navarro, Dr. Yavé Roberto (Würzburg)

Evangelia, Pollali (Magdeburg) Lupp, Julia (Frankfurt/Main) Fatima, Nida-Ul (Berlin) Malci, Ayse (Magdeburg) Fecko, Dr. Miroslav (Bochum) Marciano, Sabina (Tübingen) Martin, Christian-David (Kensington, UK)

Martinez, Erick (Bonn)

Masch, Jennifer-Magdalena (Göttingen)

Mazaraki, Dimitra (Berlin) Mecklenburg, Dr. Nora (Berlin) Méndez-Couz, Dr. Marta (Bochum) Meschkat, Martin (Göttingen) Morton Moreno, Lorena (Magdeburg)

Müller, Dr. Anke (Magdeburg)

Müller, Dr. Miriam (Frankfurt / Main)

Mylius, Dr. Judith (Göttingen) Nieter, Felix (Göttingen) Oberländer, Victoria (Hamburg) Oberstadt, Dr. Moritz (Leipzig)

Oberwinkler, Prof. Dr. Johannes (Marburg)

Özcan, Ismarl (Berlin) Paetz, Christina (Leipzig)

Patrizi, PhD Annarita (Heidelberg)

Petese, Alessandro (Bonn)
Peylo, Charline (München)
Pfeffer, PhD Thomas (Hamburg)
Quiceno, Gloria (Magdeburg)
Radecke, Jan-Ole (Hamburg)
Raza, Syed Ahsan (Magdeburg)

Reid, Dr. Anna (Berlin) Renz, Pia Malika (Berlin)

Rifat, Ali (Berlin)

Ripp, Isabelle (München)

Rodriguez-Rozada, Silvia (Hamburg)

Roll, Dr. Lars (Bochum)
Rumpf, Florian (Würzburg)
Samehni, Mohamad (Köln)
Sammons, Dr. Rosanna (Berlin)
Sánchez Carranza, Oscar (Berlin)
Scharrenberg, Robin (Hamburg)
Schlueter, Dr. Annabelle (Heidelberg)

Schmartz, Mylène (Berlin) Schnepel, Dr. Philipp (Berlin)

Schölvinck, Dr. Marieke (Frankfurt / Main)

Schwaller, Dr. Fred (Berlin) Schweizer, Dr. Renate (Göttingen) Schwitzer, Susanne (Berlin) Sethumadhavan, Nithya (Bochum) Signoret-Genest, Dr. Jérémy (Würzburg)

Silveira Broggini, PhD Ana Clara (Frankfurt / Main)

Sirmpilatze, Nikoloz (Göttingen) Soba, Dr. Peter (Hamburg)

Sommer, Daniela (Diepenbeek, Belgium)

Song, Lingzhen (Hamburg) Srivastava, Akash (Jena)

Stahlberg, Dr. Markus (Göttingen) Stauch, Benjamin (Frankfurt / Main)

Steinhardt, Julia (Lübeck)
Stewart, Ian Erik (Berlin)
Subramanian, Swati (Göttingen)
Sushma, Dagar (Düsseldorf)
Süß, Sandra (Bochum)

Tayaranian Marvian, Amir (München)

Thiem, Jessica (Mainz) Tong, Yixin (Freiburg i. Br.) Tursun, Dr. Baris (Berlin)

Udhayachandran, Dr. Annapoorani (Berlin)

Uran, Cem (Frankfurt am Main) van den Brink, PhD Ruud (Hamburg) van Kronenberg, Philipp (Göttingen) Vasilevska, Veronika (Magdeburg)

Voigt, Stefan (Berlin)

von Hövel, Friederike (Hannover)
Walter, Lisa Marie (Hannover)
Wefelmeyer, Dr. Winnie (London, UK)
Whitmire, Dr. Claricea (Perlin)

Whitmire, Dr. Clarissa (Berlin)
Wilhelm, Nicole (Mainz)
Xia, Zifeng (Magdeburg)
Xu, Dr. Xiaxia (Hamburg)
Yakoubi, Rachida (Jülich)
Yang, Wei (Hamburg)

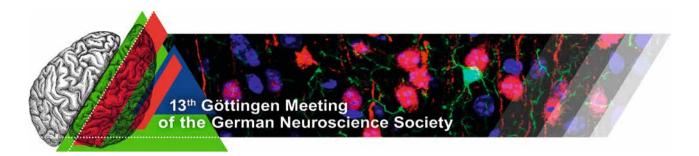
Yildirim, Jun. Prof. Ferah (Berlin) Zheng, Dr. Fang (Erlangen)

Zhong, Wei (Berlin)

Zuza, Kristina (Heidelberg)

Der Mitgliedsstand zum 19. März 2018 beträgt 2.268 Mit-

glieder.



20.-23. März 2019

Das Programmkomitee für die Göttinger Tagung 2019 hat sich am 2. März 2018 in Berlin getroffen und aus den 46 eingereichten Vorschlägen 34 ausgewählt. Die Göttinger Tagung bietet insgesamt für 36 Symposien Raum. Zwei Plätze werden freigehalten für die "Breaking News" Sessions, für die die Vorträge aus den im Herbst eingereichten Poster-Abstracts ausgewählt werden.

Adaptivity and inhomogeneity in neuronal networks – two sides of the same coin?

Egert, Ulrich (Freiburg); Rotter, Stefan (Freiburg)

Behavioral decisions based on multimodal information

el Jundi, Basil (Würzburg); Strube-Bloss, Martin (Würzburg)

Beyond expression of fear: mechanisms and circuits of the extended amygdala

Lange, Maren (Münster); Seidenbecher, Thomas (Münster)

Brain-machine-interface in paralysis

Birbaumer, Niels (Tübingen)

Common principles of spatial and temporal sensory processing

Clemens, Jan (Göttingen); Martelli, Carlotta (Konstanz); Silies, Marion (Göttingen)

Dissection of a central brain circuit: structure, plasticity and functions of the drosophila mushroom body

Fiala, André (Göttingen); Gerber, Bertram (Magdeburg)

Early information selection for robust vision

Bethge, Matthias (Tübingen)

Form follows function? Rules and consequences of structural synaptic plasticity

Rose, Tobias (Martinsried); Wiegert, J. Simon (Hamburg)

From astrocytes to behaviors: searching the cellular and molecular roots of emotion dysfunctions

Di Benedetto, Barbara (Regensburg); Neumann, Inga (Regensburg)

From clinical symptoms to motoneuron pathobiology: most recent insights into amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

Weishaupt, Jochen (Ulm); Ludolph, Albert C. (Ulm)

From normal brain development to pathology: what role does the environment play?

Cruceanu, Cristiana (München); Mayer, Simone (San Francisco, USA)

Go with the flow? Processing of sensory flows across modalities

Arrenberg, Aristides (Tübingen); Benda, Jan (Tübingen); Denzinger, Annette (Tübingen); Mallot, Hanspeter (Tübingen)

Hearing system adaptation for diverse lifestyles across the animal kingdom

Nowotny, Manuela (Frankfurt/Main); Schöneich, Stefan (Leipzig)

Keeping neurons alive – erythropoietin, its variants and its receptors

Hahn, Nina (Göttingen); Heinrich, Ralf (Göttingen)

Mitochondrial dysfunction in neurodegeneration

Milosevic, Ira (Göttingen); Raimundo, Nuno (Göttingen)

Modulatory circuits of central pain processing

Grinevich, Valery (Heidelberg); Groh, Alexander (Heidelberg)

Neural mechanisms of social decision-making

Kagan, Igor (Göttingen); Pooresmaeili, Arezoo (Göttingen)

Neurodegenerative diseases: shaping neuronal circuits by membrane trafficking

Kononenko, Natalia (Köln); Wirth, Brunhilde (Köln)

Neurological autoimmunity: the role of pathogenic autoantibodies against neuron and glia proteins

Moritz, Christian (Saint-Priest-en-Jarez, France); Sommer, Claudia (Würzburg)

Novel insights into the regulation of hypothalamic neurocircuits and functions

Fenselau, Henning (Köln)

Optogenetics – tool development and application in neuroscience

Gottschalk, Alexander (Frankfurt/Main)

Orexin beyond sleep

Fendt, Markus (Magdeburg); Koch, Michael (Bremen)

Inhibitory synapse diversity in health and disease

Krueger-Burg, Dilja (Göttingen); Papadopoulos, Theofilos (Göttingen)

Pro-survival versus toxic NMDA receptor signaling and the fight against neurodegenerative disorders

Bading, Hilmar (Heidelberg)

Resolving the cognitive function of prefrontal circuits: from neurons to behavior

Diester, Ilka (Freiburg); Hanganu-Opatz, Ileana (Hamburg)

Serotonin and its developmental role in shaping brain plasticity and neuropsychological phenotypes

Alenina, Natalia (Berlin); Calabrese, Francesca (Milan, Italy); Popik, Piotr (Krakow, Poland)

Short-term adaptation in early auditory processing: from synaptic depression to focal perception

Lingner, Andrea (Martinsried); Steculorum, Sophie (Köln)

Subcortico-cortical loops and their role in sensory processing and perception

de Hoz, Livia (Göttingen); Hechavarria, Julio (Frankfurt/Main)

The 4Rs in animal-based neuroscience research: Refinement, Reduction, Replacement, Responsibility

Stilling, Roman (Münster); Treue, Stefan (Göttingen)

The brain oxytocin system – its complex impact on autism, social behavior, and stress

Jurek, Ben (Regensburg)

The dentate gyrus – from microcircuit function to control of behavior

Bartos, Marlene (Freiburg)

The neuronal basis of tinnitus

Mazurek, Birgit (Berlin); Schulze, Holger (Erlangen)

The presynaptic active zone: converging and diverging mechanisms across species

Kittel, Robert (Würzburg); Liphtein, Noa (Göttingen)

The tripartite synapse in health and disease

Petzold, Gabor (Bonn); Rose, Christine (Düsseldorf)

Einreichungsschluss für Poster Abstracts ist der 1. Oktober 2018.



of the German Neuroscience Society

www.nwg-goettingen.de/2019

March 20-23, 2019

Stipends:

The German Neuroscience Society will provide stipends for young qualified researchers. Details will be announced at www.nwg-goettingen.de/2019/

The programmes of the last meetings are available at www.nwg-info.de/meetings/jahrestagung/archive

Program Committee:

Prof. Dr. Eckhard Friauf (Chair) Prof. Dr. Ansgar Büschges Prof. Dr. Ricarda Diem Prof. Dr. Martin Göpfert Prof. Dr. Benedikt Grothe Prof. Dr. Matthias Kneussel Prof. Dr. Hanspeter Mallot Prof. Dr. Albert Christian Ludolph Prof. Dr. Angelika Richter Prof. Dr. Christine Rose Prof. Dr. Stefan Rotter Prof. Dr. Christian Steinhäuser

Prof. Dr. Petra Wahle

Prof. Dr. Christian Wegener

mgoepfe@gwdg.de

Homepage: www.nwg-info.de

37077 Göttingen

Organization: Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. Max Delbrueck Center for Molecular Medicine (MDC) Berlin-Buch Robert Roessle Str. 10 13092 Berlin Germany Phone: +49 30 9406 3127 Fax: +49 30 9406 2813 E-Mail: korthals@mdc-berlin.de

Local Organizer:

Zelluläre Neurobiologie

Julia-Lermontowa-Weg 3

Prof. Dr. Martin Göpfert

Schwann-Schleiden-Forschungszentrum



FENS Forum 2018 in Berlin (7.-11. Juli 2018)



Der Einreichungsschluss für Poster-Abstracts für das FENS Forum in Berlin ist vorüber und wir wollen dies zum Anlass für einen kurzen Zwischenbericht nehmen. Die Anmeldezahlen sind überaus erfreulich: 5.700 Registrierungen und 4.700 Poster. Das sind jeweils etwa 1.000 mehr als für das FENS Forum 2016 in Kopenhagen, und damit erwarten wir eine Rekordbeteiligung. 20 Jahre nachdem das erste FENS Forum 1998 in Berlin stattfand, knüpfen wir an den Erfolg dieser Veranstaltung an.

Das FENS Forum wartet nicht nur mit einem hervorragenden wissenschaftlichen Programm auf mit 24 Hauptvorträgen und 56 Symposien, sondern bietet auch zahlreiche Workshops, Special Interest, Satelliten- und Outreach Events an. Zu diesen leistet die NWG als gastgebende nationale Gesellschaft einen aktiven Beitrag. Stellvertretend organisiert das Host Society Committee (HSC) lokale Programme und Angebote für die Tagungsteilnehmer, um damit das FENS Forum noch attraktiver zu machen.

Introductory Courses

Als ein Novum werden auf einem FENS Forum acht sogenannte "Introductory Courses" angeboten, durchgeführt von Berliner PIs. Über 600 Teilnehmer (Stand: März 2018) haben sich angemeldet. Diese Workshops nach dem Motto "Everything you always wanted to know about …" sollen junge Studenten oder auch Wissenschaftler, die sich in ein bisher unbekanntes Arbeitsgebiet einarbeiten möchten, eine breite und gut verständliche Einführung in eine Thematik geben. Sie finden am Freitag, den 6. Juli 2018, also vor Beginn des Forums, an verschiedenen Berliner Instituten statt. Die Themen sind "Alzheimer", "Compu-

Hertie-Stiftung

tational Neuroscience", "Glial Cells", "Invertebrates", "Pain", "Psychiatric Diseases", "Retina" und "Synaptic Transmission". Derzeit gibt es noch einige freie Plätze bei "Glial Cells" (Platzangebot wurde erweitert), "Pain", "Invertebrates" und "Retina", so dass eine Anmeldung noch möglich ist, bis das Teilnehmerlimit erreicht ist. Die Gemeinnützige Hertie-Stiftung unterstützt dieses Programm.

https://forum2018.fens.org/forum-programme/introductory-courses#.Wt721TMuCUk



Young Investigator Training Program (YITP) Lab Visits

Dieses Programm bietet 2–3-wöchige Laborpraktika für junge ausländische Wissenschaftler in Laboren im Gastgeberland an. Die jungen ausländischen Gastwissenschaftler sollen dort neue Erfahrungen sammeln, mit den dortigen Wissenschaftler Kontakt aufnehmen, neue Techniken kennenlernen, und im besten Fall sollen sich daraus Kooperation oder Netzwerke ergeben, oder das deutsche Gastlabor auch einen interessierten und begabten Dok-

toranden finden. 27 deutsche Labore nehmen an diesem Programm teil und stellen ca. 45 Plätze bereit, für die sich knapp 200 Studenten beworben haben. IBRO gibt dafür Stipendien.

http://forum2018.fens.org/young-investigators/yitp-programme#.Wqj0LbMiHX4

Blick hinter die Kulissen des Naturkundemuseum

Das Naturkundemuseum bietet einer begrenzten Teilnehmerzahl Führungen in die Sammlungen des Museums an.

Die Anmeldung erfolgt über http://fensforum2018.nwg-info.de/registration.php

DE GRUYTER Nachrichten — 157

Special Interest Event "Alternative Careers for Neuroscientists"



Zusammen mit dem FENS Committee on Higher Education and Training und dem FENS Kavli Network of Excellence (FKNE) stellt die NWG in diesem Workshop berufliche Entwicklungsmöglichkeiten außerhalb der Wissenschaft vor. Neurowissenschaftler, die nach der akademischen Laufbahn einen anderen Weg eingeschlagen haben, berichten von ihrem Werdegang in der Industrie, im Verlag, im Wissenschaftsmanagement oder in der Privatwirtschaft.

http://forum2018.fens.org/forum-programme/special-interest-events#.Wqj5rbMiHX4

"History of Neuroscience" - Abendverstaltung in der Virchow-Ruine

In der Hörsaalruine des ehemaligen Rudolf-Virchow-Hörsaales im Berliner Medizinhistorische Museum findet am Sonntag, den 8. Juli von 19:00–22:30 Uhr ein Seminar zu "Germany's contribution to neuroscience in the 19th and 20th centuries" statt. Nach den Vorträgen werden Führungen durch die Virchow'sche Sammlung und die Aus-

stellung des Medizinhistorischen Museums angeboten, abgerundet von einem Get-Together. Die Anmeldungen erfolgt auf http://forum2018.fens.org/forum-programme/networking-events#.Wqj4r7MiHX5. Die Teilnehmerzahl ist limitiert.

Jump the FENS

Die traditionelle (Studenten-)Party des FENS Forums findet am Montag, den 9. Juli 2018 im legendären Soda-Club in der Kulturbrauerei am Prenzlauer Berg statt. Diese Party-Location bietet auf sechs Dance Floors unterschiedliche Musikrichtungen an und hat einen gro0en Außenbereich. Der Ticketpreis enthält nicht nur den Eintritt, sondern

auch Getränke- und Essensbons. 1.000 Personen haben sich bereits angemeldet, das Soda bietet aber Raum für mehr als doppelt so viele Gäste.

https://forum2018.fens.org/young-investigators/jump-the-fens#.Wt73VjMuCUk

Opening Ceremony

Langeweile soll bei der Eröffnungsveranstaltung nicht aufkommen. Lassen Sie sich überraschen!

Die Online Registrierung ist noch bis 20. Juni 2018 möglich, danach kann man sich auch noch direkt auf der Tagung registrieren.

Kontakt:

Prof. Dr. Helmut Kettenmann Chair Host Society Committee Zelluläre Neurowissenschaften Max Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC) Berlin-Buch Robert-Rössle-Str. 10

13125 Berlin

E-Mail: gibson@mdc-berlin.de

FENS Fourm 2018 Host Society Committee:

Helmut Kettenmann (Chair), Matthias Endres, Ulrich Dirnagl, Volker Haucke, Christine Heim, Andreas Heinz, Frank Heppner, Hans-Joachim Pflüger, Christian Rosenmund, Constance Scharff, Dietmar Schmitz, Stephan Sigrist, Verena Haage (Student), Constanze Holman (Student)

Ausstellung "SinnReich"

Einen Beitrag zu Public Understanding of Science leistet die Ausstellung "SinnReich", die vom 15. Juni bis 11. Juli 2018 im OttoBock Science Center am Potsdamer Platz stattfinden wird. Dieser Programmpunkt steht jedermann offen. Ziel der Ausstellung ist es, den Besuchern auf spannende, unterhaltsame und lehrreiche Weise die Funktionsweise der fünf Sinne des Menschen nahe bringen. Die interaktiven Exponate rund um das Thema Wahrnehmung



werden vom Science Center "Turm der Sinne" ausgeliehen. Die Ausstellung richtet sich an interessierte Laien, vor allem aber an Lehrer und ihre Schulklassen. Eine Lehrerfortbildung zum Thema rundet das Programm ab. Die Ausstellung kann mit der Unterstützung der Schering-Stiftung verwirklicht werden.

http://hsc.nwg-info.de/sinnreich

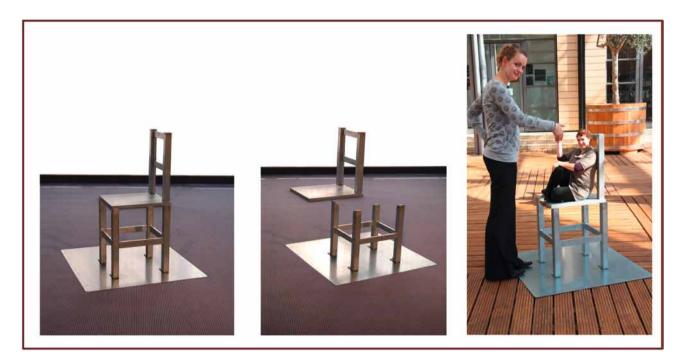


Abb. 1: Beuchet-Stuhl. Exponat der Ausstellung "SinnReich". Ausgeschaltete Größenkonstanz erzeugt Zwerg und Riese: durch ein Guckloch betrachtet, verschmelzen die beiden Teile zu einem gewöhnlichen Stuhl. Auf dem Stuhl scheint ein Zwerg zu sitzen und vor ihm steht ein Riese. Beim einäugigen Betrachten sind keine entscheidenden Tiefenmerkmale erkennbar. Deshalb deutet unser Gehirn die beiden Teile des Stuhls der Gewohnheit entsprechend als zusammengehörig, also als einen Stuhl. Die beiden Personen erscheinen folglich nebeneinander, aber unterschiedlich groß. Die biologisch sinnvolle Größenkonstanzleistung wird hier getäuscht: Normalerweise scheinen Gegenstände durch größere Entfernung nicht zu schrumpfen, obwohl ihr Bild auf der Netzhaut kleiner ist. Hier jedoch entsteht durch Mangel an räumlicher Tiefeninformation ein Riese und daneben ein Zwerg auf einem ganz normalen Stuhl. Bildquelle: turmdersinne

DE GRUYTER Nachrichten — 159

Ausblick

Für die nächsten Ausgaben von Neuro*forum* werden folgende Beiträge vorbereitet:

Special Issue: Hippokampale Langzeitpotenzierung (LTP) – Geschichte, Gegenwart und Zukunft

Klaus G. Reymann, Tim V. P. Bliss, Graham L. Collingridge und Richard G. M. Morris

Langzeitpotenzierung im Hippokampus: Entdeckung, Mechanismen und Funktion

Denise Manahan-Vaughan

Die Regulation der hippocampalen Informationsenkodierung durch metabotrope Glutamatrezeptoren Marina Mikhaylova und Michael R. Kreutz

Geclusterte Plastizität bei LTP: Wie starke Synapsen bestehen bleiben, um Langzeitgedächtnis aufrecht zu erhalten

Detlef Balschun und Michael J. Rowan

Hippokampale Synaptische Plastizität bei Erkrankungen: Aß, tau und darüber hinaus

Volkmar Lessmann und Elke Edelmann

Die Analyse synaptischer Plastizität auf Einzelzellebene mit Hilfe der STDP

Preview

The following contributions are in preparation for the next issues of Neuroforum:

Klaus G. Reymann, Tim V. P. Bliss, Graham L. Collingridge and Richard G. M. Morris

Long-term potentiation in the hippocampus: discovery, mechanisms and function

Denise Manahan-Vaughan

Regulation of hippocampal information encoding by metabotopic glutamate receptors

Marina Mikhaylova and Michael R. Kreutz

Clustered plasticity in LTP: How strong synapses persist to maintain long-term memory

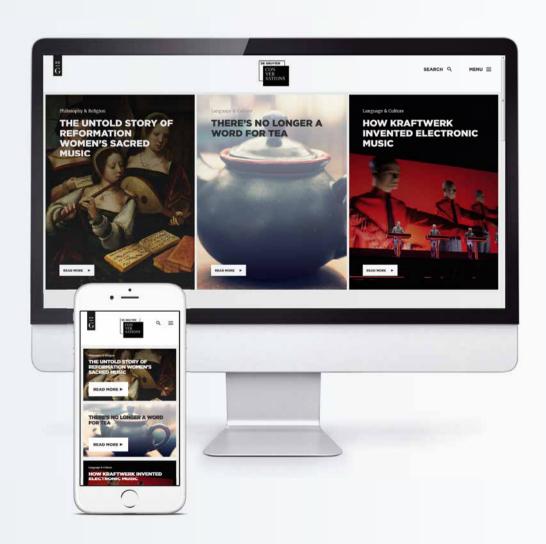
Detlef Balschun and Michael J. Rowan

Hippocampal synaptic plasticity in disease: rogue Aß, tau and beyond

Volkmar Lessmann and Elke Edelmann

Analyzing synaptic plasticity at the single cell level with STDP

DE GRUYTER CONVERSATIONS KLUGE PERSPEKTIVEN AUF AKTUELLE THEMEN & DEBATTEN





BEWÄHRTE UND ERFOLGREICHE LEHR- UND STUDIENBÜCHER

Entdecken Sie eine Vielfalt an geistes- und naturwissenschaftlichen Themen



Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.

Beitrittserklärung: Ich optiere für folgende 2 Sektionen: Hiermit erkläre ich meinen Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V. (bitte ankreuzen) □ Verhaltensneurowissenschaften Eintrag in das Mitgliederverzeichnis ☐ Zelluläre Neurobiologie ☐ Entwicklungsneurobiologie und Neurogenetik Name ☐ Neuropharmakologie und -toxikologie ☐ Systemneurobiologie Vorname ☐ Molekulare Neurobiologie ☐ Klinische Neurowisschenschaften □ Computational Neuroscience Titel ☐ Kognitive Neurowissenschaften Dienstadresse Ich bin Student □ ja □ nein (Bescheinigung anbei) Universität/Institut/Firma □ weiblich □ männlich Straße Jahresbeitrag: (bitte ankreuzen) PLZ, Ort □ 70,- €/Jahr ordentliches Mitglied ☐ 30,- €/Jahr Studenten, Mitglieder im Tel./E-Mail Ruhestand, Arbeitslose Überweisung: Bankverbindung: Berliner Bank AG, Privatadresse IBAN: DE39 1007 0848 0463 8664 05 BIC: DEUTDEBD110 Straße Einzug über VISA-Kreditkarte: Einzug über EUROcard: PLZ, Ort Kartennummer _____ Exp. Date _____ Tel. Betrag Datum/Unterschrift des neuen Mitglieds Unterschrift Ich unterstütze den Antrag auf Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.: Bankeinzugsermächtigung: Ich ermächtige die Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. von meinem Konto Datum/Unterschrift bei der Bank _____ IBAN Ich unterstütze den Antrag auf Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.: Datum/Unterschrift einmal jährlich den Mitgliedsbeitrag in Höhe von € einzuziehen Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. Ort, Datum Stefanie Korthals Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Unterschrift _____ Zelluläre Neurowissenschaften Kontoinhaber Robert-Rössle-Straße 10 13092 Berlin

Thermo Fisher SCIENTIFIC

Dieser von Thermo Fisher Scientific finanzierte Preis wird verliehen durch die Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. für herausragende Arbeit auf dem Gebiet der Entwicklung neuer Technologien in der Hirnforschung.

Der Förderpreis von EUR 2.500,— soll junge Wissenschaftler/innen bis zu einem Alter von 35 Jahren unterstützen. Voraussetzung ist eine durch Publikationen dokumentierte hervorragende Forschungsarbeit. Der/die Bewerber/in sollte in einem deutschen Labor arbeiten oder als Deutsche/r im Ausland tätig sein. Die Bewerbung kann entweder direkt oder durch Vorschlag erfolgen. Bewerbungen aus allen Gebieten der Neurowissenschaften sind willkommen. Eine Mitgliedschaft in der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft ist nicht Voraussetzung.

Die Preisverleihung erfolgt auf der Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft vom 20.–23. März 2019.

Thermo Fisher Scientific Technologiepreis 2019

der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft

Die Bewerbung muss bis spätestens

15. September 2018

bei der Geschäftsstelle der

Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V. (gibson@mdc-berlin.de) per E-Mail (als Anhang, kombiniert zu einem PDF) eingegangen sein.

Die Bewerbung muss folgende Unterlagen enthalten:

- 1. Lebenslauf (max. 1 Seite)
- 2. Publikationsliste
- 3. Bedeutung der Forschungsarbeit (1 Seite)
- 4. Optional können Stellungnahme(n) renommierter Wissenschaftler beigefügt werden.

Gestaltung: Eta Fi