

Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie Göttingen

Pressemitteilung

21. Mai 2008



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

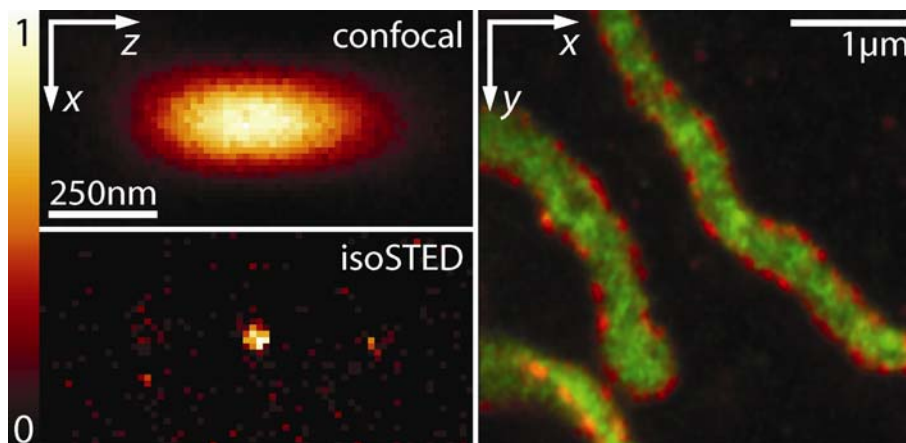
Scharfer Blick in die Tiefe der Zelle **Max-Planck-Forscher verbessern die 3D-Auflösung von** **Fluoreszenzmikroskopen**

Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für biophysikalische Chemie in Göttingen haben einen neuen Meilenstein in der Nanoskopie erreicht. Mit ihrem neu entwickelten Fluoreszenzmikroskop erreichten die Forscher erstmals eine Auflösung von unter 45 Nanometern in allen drei Raumrichtungen – 5-fach besser in der Bildebene und mehr als 10-mal schärfer in der Tiefe gegenüber herkömmlichen Lichtmikroskopen. Mit dem neuen „Nanoskop“ lassen sich selbst solche Proteine untersuchen, die tief im Inneren von Zell-Organellen wie Mitochondrien – den Kraftwerken der Zelle – verborgen sind. Für die vielen Proteine, die auf kompliziertem Wege in die Mitochondrien hineintransportiert werden müssen, fungieren so genannte TOM-Proteinkomplexe als eine Art „Eingangstor“. Was Biochemiker vermuteten, konnten die Göttinger Forscher zusammen mit Kollegen vom Deutschen Krebsforschungszentrum (Heidelberg) erstmals direkt im Mikroskop erkennen. TOM-Proteinkomplexe schließen sich in bestimmten Bereichen auf der äußeren Membran der Mitochondrien zusammen. Diese Bereiche könnten beim Import von Proteinen in die Mitochondrien eine entscheidende Rolle spielen. (*Nature Methods*, 18. Mai 2008).

Wie Viren eine Zelle angreifen, Nervenzellen Signale weiterleiten oder Proteine in der Zelle arbeiten – dies alles spielt sich in der Nanowelt der Zelle ab, die unserem Auge verborgen bleibt. Um diese für uns sehr wichtige Welt dennoch zu beobachten, müssen wir die Objekte erheblich vergrößern. Elektronen- oder Rastertunnelmikroskope erlauben zwar die dafür nötige hohe Auflösung, doch haben sie einen entscheidenden Nachteil: Lebende, oder zumindest morphologisch intakte Zellen lassen sich damit nicht beobachten. Dies erlauben nur „berührungsfreie“ Verfahren wie die Lichtmikroskopie. Doch für Einblicke in die Nanowelt ist die herkömmliche Lichtmikroskopie nicht scharf genug. Wegen der Wellennatur des Lichts und der damit verbundenen Beugungsgrenze schien die Auflösung der Lichtmikroskopie an einer scheinbar unüberwindbaren Grenze angelangt, die mit 200 bis 300 Nanometern etwa der halben Wellenlänge des Lichts entspricht.

Kombination zweier Mikroskopie-Techniken ermöglicht superscharfe Auflösung

Mit gleich zwei neu entwickelten Fluoreszenz-Mikroskopen, dem 4Pi-Mikroskop und dem STED-(Stimulated Emission Depletion)-Mikroskop, stellten Stefan Hell und seine Mitarbeiter allgemein akzeptierte Überzeugungen auf den Kopf und steigerten die Auflösung der Lichtmikroskopie dramatisch. Während das 4Pi-Mikroskop bereits eine Auflösung von 100 bis 200 Nanometern in 3D erlaubt, ist das STED-Mikroskop sogar noch wesentlich schärfer; Details von bis zu 20-30 Nanometern lassen sich damit beobachten. Allerdings erreichte man diese Auflösung bisher nur in zwei Raumrichtungen, nicht aber in der Tiefe. Dem Forscherteam um Stefan Hell und Alexander Egner war das noch bei weitem nicht scharf genug. Durch geschicktes Kombinieren der 4Pi- und der STED-Mikroskopie gelang es den Wissenschaftlern nun, die Vorteile beider Methoden zu vereinen. Sie verkleinerten den angeregten Bereich einer Probe (den fokalen Fleck) auf eine Kugel mit einem Durchmesser von unter 45 Nanometern und erreichten damit erstmals eine superscharfe Auflösung in 3D. Die Forscher konnten dabei auch auf Entwicklungen der ebenfalls von Hell geleiteten Partnergruppe „High Resolution Optical Microscopy“ am Deutschen Krebsforschungszentrum (Heidelberg) zurückgreifen. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft fördert dieses Projekt innerhalb des SFB 755 „Nanoscale Photonic Imaging“, der an der Göttinger Universität eingerichtet wurde.

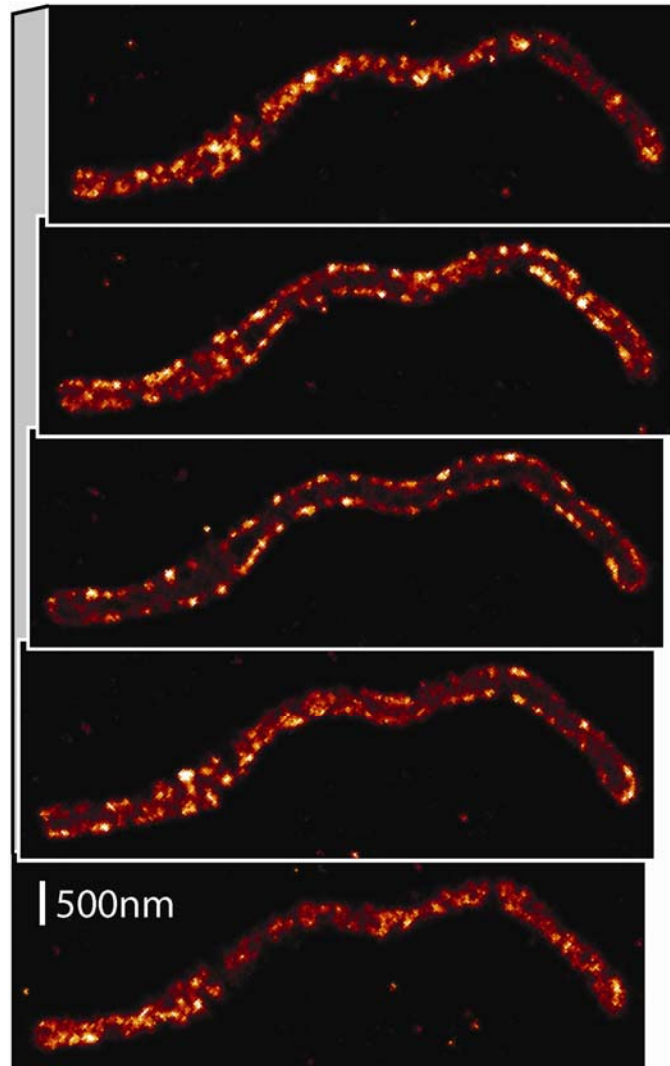


Der fokale Fleck des isoSTED-Mikroskops (unten links) ist nahezu kugelförmig, anders als bei herkömmlicher Mikroskopie (oben links). Mit einer Zwei-Farben-Aufnahme (rechts) lassen sich zwei mitochondriale Proteine, TOM20 (rot) und HSP70 (grün), gleichzeitig in der Zelle betrachten (Bild: Schmidt & Egner / MPIbpc).

3D-Blick auf Proteine in den Kraftwerken der Zelle

Was das neue „Nanoskop“ sichtbar macht, ist für den Laien auf den ersten Blick wenig spektakulär. Doch mit geübtem Blick lassen sich hier Mitochondrien innerhalb einer intakten Zelle erkennen, in deren äußerer Membran TOM20-Proteine eingebaut sind. Die Kraftwerke selbst sind im Durchmesser nur etwa 200 bis 400 Nanometer groß. In ihr Inneres zu blicken oder ihre beiden Membranen im Mikroskop zu erkennen, ohne die Zelle dabei zu zerstören, war bisher unmöglich. „Mit Hilfe des neuen isoSTED-Mikroskops können wir nun Aufbau und Funktion von Mitochondrien in einer Zelle in bisher ungekannter 3D-Auflösung untersuchen. Dank des runden Lichtflecks ist die Schärfe in allen Richtungen gleichermaßen hoch“, erklärt Roman Schmidt, der das neue Mikroskop im Rahmen seiner Doktorarbeit maßgeblich entwickelt hat. So sahen die Forscher erstmals direkt, was Ergebnisse von Biochemikern bereits vermuten ließen: Mehrere TOM20-Proteine finden sich in der

äußeren Membran der Mitochondrien zu so genannten Clustern zusammen. Diese Cluster könnten beim Transport von Proteinen ins Innere der Mitochondrien einen entscheidenden Part übernehmen. Aber das neue isoSTED-Mikroskop bietet noch einiges mehr: Die Methode lässt sich auf mehrere Farbkanäle ausweiten. So konnten die Wissenschaftler durch Verwendung eines zweiten Farbstoffs neben den TOM20-Proteinen gleichzeitig auch Proteine sichtbar machen, die sich im tief im Inneren der Mitochondrien verbergen.



Einzelne Ebenen einer 3D-Aufnahme von TOM20-Clustern in der äußeren Membran eines Mitochondriums (Bild: Schmidt & Egner / MPIbpc).

Zukünftig Lebensvorgänge im Inneren von Zellen in 3D filmen

„Mit der bis zu 10-fach verbesserten Auflösung gegenüber herkömmlichen Mikroskopen ist die Technik noch bei weitem nicht ausgereizt. Prinzipiell lässt sich der fokale Fleck noch beliebig verkleinern“, erklärt Alexander Egner. „Außerdem wird es zukünftig möglich sein, die Methode mit schnellen Aufnahmetechniken zu kombinieren, um die Vorgänge im Inneren lebender Zellen in 3D zu filmen“, so Egner. Die Göttinger Forscher versprechen sich davon wichtige neue Erkenntnisse in der Gesundheitsforschung für die Entwicklung alternativer Therapieformen und Medikamente.

[cr]

Originalveröffentlichung:

Schmidt, R., Wurm C.A., Jakobs, S., Engelhardt, J. Egner A., and Hell, S.W.
Spherical nanosized focal spot unravels the interior of cells. *Nature Methods*
(Online-Veröffentlichung, 18. Mai 2008)

Verwandte Links:

Die Abteilung für NanoBiophotonik
<http://www.mpibpc.mpg.de/groups/hell/>

Kontakt:

Prof. Dr. Stefan W. Hell,
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie,
Tel. +49 551 201-2500, -2503,
Fax +49 551 201-2505,
E-Mail: shell@gwdg.de

Dr. Alexander Egner
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie,
Tel. +49 551 201-2555,
Fax +49 551 201-2505,
E-Mail: aegner@gwdg.de

Dr. Carmen Rotte, Presse- und Öffentlichkeitsarbeit,
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie,
Tel. +49 551 201-1304,
Fax +49 551 201-1151,
E-Mail: pr@mpibpc.mpg.de

Hinweise für Redaktionen:

Sie finden Text und Bild in elektronischer Form unter www.mpibpc.mpg.de/groups/pr/PR/2008/08_11.
Beides darf im Rahmen der Berichterstattung mit dem angegebenen Quellennachweis verwendet werden.