



Ulrike Endesfelder

2002–2008 Studium der Physik, Astronomie und Mikrobiologie in Bonn und Stony Brook, USA (DAAD-Stipendium 2005/06). 2008 Diplom Physik, Universität Bonn und Stiftung caesar; Forschungsaufenthalt an der Waseda University, Japan (JSPS-Stipendium). 2012 Promotion

Physik, Universität Bielefeld. 2012–2014 Postdoc, Universität Würzburg und Frankfurt a. M. Seit 2014 Projektgruppenleiterin am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie, Marburg.

DOI: 10.1007/s12268-016-0675-2
© Springer-Verlag 2016

■ Mithilfe hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie-Techniken lassen sich intrazelluläre Strukturen mit hohem Kontrast analysieren und Dynamiken einzelner Moleküle in lebenden Zellen verfolgen. Die grundlegende Idee dieser neuen Methoden liegt darin, die durch Beugung beschränkte Auflösungsgrenze der Lichtmikroskopie geschickt zu umgehen: Die Fluoreszenz einzelner Fluorophore wird mittels ihrer photochemischen oder -physikalischen Eigenschaften moduliert und so die Menge der „angeschalteten“ fluoreszierenden Moleküle in einer Probe kontrolliert. In der Lokalisationsmikroskopie werden dann die Positionen der Fluorophore aus ihren Beugungsmustern bestimmt und anschließend als Koordinaten eines rekonstruierten Bildes mit einer räumlichen Auflösung von wenigen Nanometern dargestellt. Durch das zeitlich aufgelöste Photoschalten aller Fluorophore entsteht ein kumulatives, hochaufgelöstes Bild der untersuchten Struk-

Nachwuchswissenschaftler stellen sich vor

Hochaufgelöste Zellbiologie

ULRIKE ENDESFELDER

MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR TERRESTRISCHE MIKROBIOLOGIE, MARBURG

tur (**Abb. 1**, [1]). 2014 wurde den Pionieren der hochauflösenden Methoden, Eric Betzig, Stefan W. Hell und William E. Moerner, der Nobelpreis für Chemie zuerkannt.

Durch eine gute Kenntnis der verwendeten Fluorophore und Markierungsstrategien können auch absolute Molekülanzahlen, z. B. die Anzahl der RNA-Polymerasen in einer *Escherichia coli*-Zelle (**Abb. 1C**), bestimmt werden [2]. Auch die Änderung der Anzahl und Verteilung eines Proteins in verschiedenen Phasen des Zellzyklus ist verfolgbar: Das centromerspezifische Histon CENP-A^{Cnp1} der Spalthefe *Schizosaccharomyces pombe* beispielsweise wird – nach Halbierung seiner Anzahl während der Mitose – nur in der G2-Phase wieder aufgefüllt [3].

Die räumliche Organisation der Moleküle in der Zelle und die effiziente Koordination der verschiedenen intrazellulären Prozesse, z. B. die parallele Transkription, Replikation und Segregation desselben DNA-Strangs in *E. coli*, hängt stark von den Umwelt- und zellulären Bedingungen ab [2, 4]. Mithilfe der Einzelmoleküldaten können dreidimensionale Kar-

ten der Verteilung von individuellen Proteinen sowie von Proteinkomplexen in ihrem zellulären Kontext erstellt werden. Die räumliche Organisation der Moleküle im Zellvolumen ist durch dichteabhängige Clustering-Algorithmen quantifizierbar: Die Verteilung der DNA-gebundenen RNA-Polymerasen in schnell wachsenden *E. coli* beispielsweise spiegelt auf großer Skala die Struktur der Nukleotide wider (**Abb. 1C**, blau), zeigt aber im Detail dichtere Bereiche, welche die starke Transkription bestimmter Gene, etwa der rRNA-Operons offenbart (**Abb. 1C**, grün, [2, 4]).

Danksagung

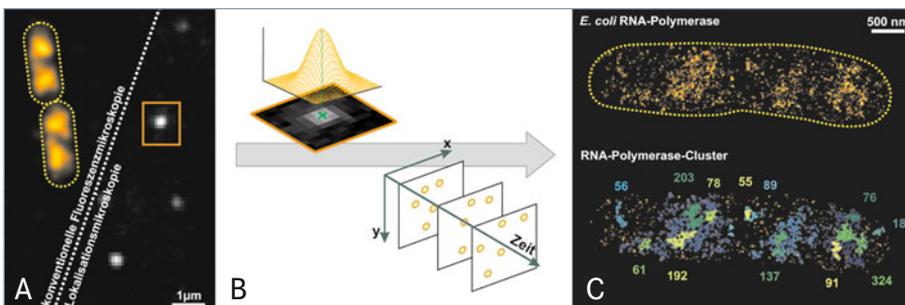
Mein Dank gilt den Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe und meinen Kooperationspartnern, Victor Sourjik, Mike Heilemann, meinen (ehemaligen) Kollegen sowie der Jungen Akademie für die vielfältige Zusammenarbeit. Weiterhin danke ich den Förderern meiner Arbeit für die Finanzierung. ■

Literatur

- [1] Endesfelder U, Heilemann M (2014) Art and artifacts in single-molecule localization microscopy: beyond attractive images. *Nat Methods* 11:235–238
- [2] Endesfelder U, Finan K, Holden S et al. (2013) Super-resolution mapping of the *E. coli* RNA polymerase reveals an organized spatial distribution. *Biophys J* 105:172–181
- [3] Lando D, Endesfelder U, Berger H et al. (2012) Quantitative single molecule microscopy reveals that CENP-A(Cnp1) deposition occurs during G2 in fission yeast. *Open-Biol* 2:1200278, doi: 10.1098/rsob.120078
- [4] Spahn C, Cella-Zannacchi F, Endesfelder U et al. (2015) Correlative super-resolution imaging of RNA polymerase distribution and dynamics, bacterial membrane and chromosomal structure in *E. coli*. *Meth Appl Fluoresc* 3:014005, doi: 10.1088/2050-6120/3/1/014005

Korrespondenzadresse:

Dr. Ulrike Endesfelder
Department für System- und Synthetische Mikrobiologie
Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie
Karl-von-Frisch-Straße 16
D-35043 Marburg
Tel.: 06421-28-21619
ulrike.endesfelder@synmikro.mpi-marburg.mpg.de
www.mpi-marburg.mpg.de/endesfelder



▲ **Abb. 1:** Fluoreszenzmikroskopie offenbart zelluläre Strukturen. **A**, fluoreszenzmarkierte RNA-Polymerasen in schnell wachsenden *E. coli* (die angedeutete Zellohülle ist gelb punktiert). Die hochaufgelöste Lokalisationsmikroskopie trennt die Fluoreszenzsignale durch photoschaltbare Fluorophore zeitlich auf (Fluoreszenzspots einzelner Fluorophore, unten). **B, C**, Mithilfe der separierten Einzelzellmolekülfluoreszenz kann deren räumliche Position (grüne Koordinate zeigt die ermittelte Position des Fluorophors) bestimmt werden. Die Aktivierung, Messung und Auswertung aller Fluorophore (5.000 bis 20.000 Einzelbilder, **B**, unten) deckt die detaillierte räumliche Organisation der RNA-Polymerasen auf (**C**, mit angedeuteter Zellohülle). Mit dichteabhängigen Algorithmen werden die Bereiche starker Polymerasepräsenz (**C**, grün, mit absoluten Proteinanzahlen) innerhalb der DNA-gebundenen RNA-Polymerase-Verteilungen auf den Nukleoiden (blaue Cluster) quantifiziert.