

1 Gegenüberstellung des Bildes einer Zellkultur im Hellfeld (rechts) und Phasenkontrast.

Durchblicke im Rückblick

Prof. Jürgen Bereiter-Hahn
über 40 Jahre Erfahrungen
mit Lichtmikroskopie

Dr. Anne Hardy: Sind Sie ein Mensch, der gern in Bildern denkt und über Bilder kommuniziert?

Prof. Jürgen Bereiter-Hahn: Ja. Ich bin Biologe. Das ist eine Wissenschaft, die sich mit Strukturen beschäftigt und diese sind besonders gut in Bildern darstellbar. Ich achte auch auf den ästhetischen Wert von Bildern, er trägt oft wesentlich zur Verständlichkeit der Aussage bei, besonders in Publikationen. Aber ich bin auch Wort-affin. Es ist mir sehr wichtig, gut zu formulieren. Ich habe auch Philosophie studiert und jetzt arbeite ich mehr in dieser Richtung.

Derzeit beschäftige ich mich mit dem Verhältnis von Biologie und Normen.

Hardy: Wann haben Sie erste Erfahrungen mit dem Mikroskop gemacht?

Bereiter-Hahn: Da war ich sieben Jahre und musste ins Krankenhaus, um operiert zu werden. Eine technische Assistentin hat mich durch das Mikroskop einen Blutaussstrich anschauen lassen. Das hat mich sehr fasziniert.

Hardy: Welche bildgebenden Verfahren waren für Sie im Studium verfügbar und prägend?

Bereiter-Hahn: Das waren die Fotografie und die Lichtmikroskopie.

Hardy: Zu Beginn Ihrer Laufbahn als Hochschullehrer haben Sie im Rahmen einer HBMG-Maßnahme ein Elektronenmikroskop bekommen. Wie hat das Ihre Möglichkeiten in der Forschung erweitert?

Bereiter-Hahn: Ich war einer der Ersten, der an ein und demselben Objekt zuerst die Dynamik der Strukturen im Lichtmikroskop mithilfe von Zeitraffung untersuchte und dann mit dem Elektronenmikroskop die strukturellen Grundlagen dazu erforschte. Mich hat immer die Dynamik von Zellstrukturen interessiert, wie Zellen sich fortbewegen, welche stoffwechselabhängigen Veränderungen Zellorganelle, z. B. Mitochondrien, erfahren.

Fischhautzellen haben, wie auch menschliche Schleimhautzellen, intensiv strukturierte Oberflächen, die ihnen Flexibilität verleihen. Die Zellen ziehen sich zusammen und dehnen sich dann wieder aus. Das beruht auf Änderungen in den fädigen Zytoskelettstrukturen, die aufzuklären mich lange Zeit beschäftigt hat. Dazu habe ich mir erst die Dynamik der Zellen im Lichtmikroskop angeschaut und sie gefilmt. Dann habe ich einzelne Zellen markiert, die ich mit der höheren Auflösung im Elektronenmikroskop genauer untersuchen wollte. Da man für das Elektronenmikroskop dünne Schnitte braucht, mussten diese genau auf den vorher gefilmten Zellen platziert werden. Die Ausbeute für das Wiederauffinden genau der interessierenden Stellen war meist nur etwa 20 Prozent.

Diese Herangehensweise hat mich von der rein deskriptiven Histologie einen Schritt weiter zur Funktion gebracht. Ich habe Bilder stets auch quantitativ analysiert, mit dem Ziel, Kausalketten zu erfassen. Diese Art, Bilder aus der Mikroskopie zu nutzen, um Prozesse zu beschreiben, hat sich in den letzten 50 Jahren sehr weit fortentwickelt.

Hardy: Wie sehen Sie die Wechselwirkung von Theorie und Bild?

Bereiter-Hahn: Das Bild zeigt mir unter Umständen eine Fragestellung. Beispielsweise habe ich Fischschuppen untersucht. Sie bestehen aus übereinanderge-

schichteten Platten aus Kollagenfasern, die je nach Schicht unterschiedlich angeordnet sind. Ich wollte wissen: Wie entsteht die Struktur? Wie organisieren sich die Kollagenfasern? Wir haben dazu einzelne, sich regenerierende Schuppen untersucht und gezeigt, dass die Zellskelettstrukturen im Inneren der Zellen an der Schuppenoberfläche jeweils die Orientierung des Kollagens außerhalb der Zelle bestimmen.

Hardy: Welche Bedeutung haben Bilder für die Lehre in der Zellbiologie?

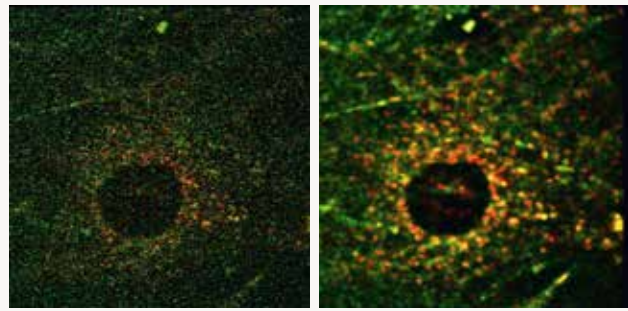
Bereiter-Hahn: In Seminaren habe ich immer wieder festgestellt, dass Studierende sich die Bilder in Lehrbüchern zwar ansehen, ihnen die Interpretation aber schwerfällt. Deswegen bin ich dazu übergegangen, die Bilder ohne Bildtext an die Wand zu projizieren und die Studierenden zu fragen, was sie dort sehen. So ließ sich gut der Wissensstoff zusammen mit einer Einführung in die Bildbeurteilung und Diskussion experimenteller Methoden verbinden.

Hardy: War das auch der Anlass für die Produktion der mit sechs Preisen ausgezeichneten CD-Serie »Die Zelle«?

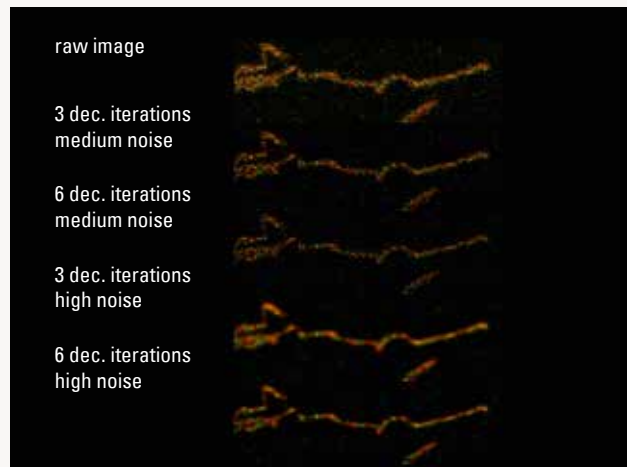
Bereiter-Hahn: Nein, diese Reihe habe ich erst später konzipiert, von 1995 bis 2003. Damals war das Institut für Wissenschaftlichen Film in Göttingen in seiner Existenz bedroht. Mit drei Mitarbeitern haben wir damals versucht, zeitgemäße Lehrmaterialien zu konzipieren und damit für das Institut neue Möglichkeiten zu eröffnen. Die Idee bestand darin, hervorragendes Bildmaterial, Filme und Animationen zur Zellbiologie bereitzustellen, die man auf verschiedenen Niveaus verwenden kann – von der gymnasialen Oberstufe bis zum Seminar im Hauptstudium.

Hardy: Sie waren auch an der Entwicklung des Ultraschallmikroskops der Firma Leitz in Wetzlar beteiligt.

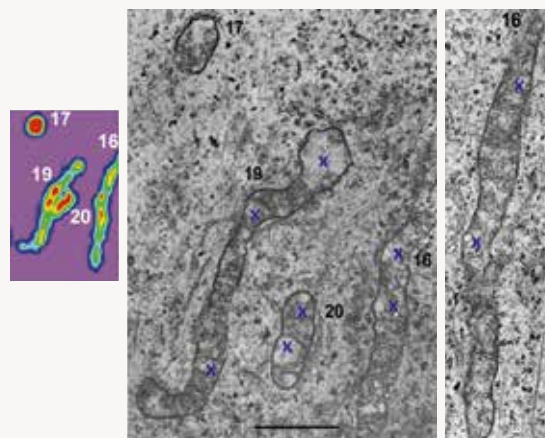
Bereiter-Hahn: Ja, das begann 1983. Da erhielt ich Besuch von Professor Calvin Quate von der Stanford University, dem Erfinder des Ultraschallmikroskops. Die Frage war: Was sehe ich eigentlich auf den Bildern, die das Mikroskop erzeugt? Die Abbildungen von Zellen sahen den-



2 Bildpaar vor und nach der Korrektur durch Dekonvolution. Diese bewirkt eine deutliche Rauschreduktion. Gezeigt ist ein Zellausschnitt: Der schwarze runde Bereich in der Mitte ist der Zellkern, die rot und grün leuchtenden Strukturen sind Transportvesikel.



3 Gruppe von Mitochondrien in einer lebenden Zelle nach Färbung mit einem Farbstoff, dessen Intensität das Membranpotential der Mitochondrien anzeigt. Da Fluoreszenzanregung lebende Zellen schädigt, wird mit möglichst geringer Lichtenergie gearbeitet. Zur Verbesserung des Bildes (raw image) wird das Bild über verschiedene Reinigungsstufen (Dekonvolutionen) von Rauschen und Abbildungsfehlern befreit (z. B. 6 dec. Iterations).

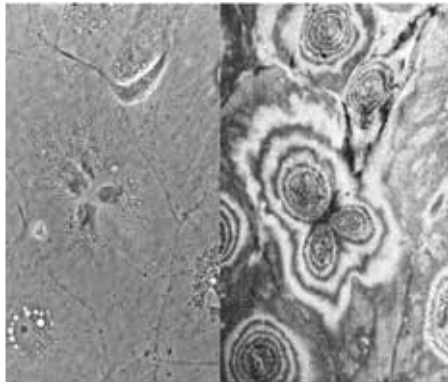


4 Fluoreszenz-gefärbte Mitochondrien im lebendigen Zustand (kleines Bild). Daneben dieselbe Stelle im Elektronenmikroskop. Die mit x markierten, inhaltsleeren Stellen stimmen mit den Zonen hoher Fluoreszenzintensität im kleinen Bild überein. Sie zeigen also auch strukturell den Unterschied zwischen Zonen hohen und geringeren Membranpotentials.

jenigen, die im reflektierten Licht aufgenommen sind, sehr ähnlich, zur Interpretation hatte ich eine Theorie und so war ich an der neuen Methode sehr interessiert, da sie erstmalig eine einfache Darstellung der Steifigkeit von Zellen ermöglichte.

Sowohl der Erfinder als auch die Firma Leitz waren damals überzeugt: Die Methode revolutioniert Medizin. Man dachte, man könne mit dieser Mikroskopie in Gefrierschnitten Tumore noch direkt im OP beurteilen. Das hat sich nicht bewahrheitet.

Wir haben das Ultraschallmikroskop genutzt, um den Ort der Kraft-erzeugung von Zellen während ihrer Fortbewegung sichtbar zu machen, Signaltransduktionen an der Zellmembran zu zeigen und die Mechanik von Zytogelen, das sind Lösungen von Zellproteinen, zu untersuchen – wiederum in Kombination mit anderen mikroskopischen Methoden, der Fluoreszenzmikroskopie und der Elektronenmikroskopie. Diese Messungen waren sehr nahe an den Bedingungen in lebenden Zellen. Eines der wichtigsten Ergebnisse war, dass zum Beispiel die Enzyme der Glykolyse, die in einer Zelle auch die Polymerisation von Aktin-Filamenten verändern, nicht frei im Zytosol herumschwimmen, sondern an das Gerüst gebunden sind. Das Bild von der »Suppe«, in der eine Vielfalt von Proteinen herumschwimmt, stimmt also nicht. Die Michaelis-Menten-Theorie, die die Enzym-Substratwechselwirkung beschreibt, gilt demnach nur im Reagenzglas. Sie hat mit der Realität in der Zelle wenig zu tun.



5 Diese Zelle ist gerade dabei, sich in drei Zellen aufzuteilen. Ursache ist eine gestörte Mitose. Sie war nicht zweipolig sondern vierpolig, wie am Phasenkontrastbild (links) zu sehen ist. Die Teilungsfurchen sind am Verlauf der Interferenzlinien im Ultraschallbild zu erkennen, die die Oberflächenkontur der Zelle wiedergeben.

Hardy: Sie sind auch als Ombudsmann der erste Ansprechpartner, wenn der Verdacht aufkommt, dass Bilder gefälscht wurden. Hat sich die Versuchung der Manipulation durch moderne bildgebende Verfahren erhöht?

Bereiter-Hahn: Dazu muss man sagen, dass bei jedem Mikroskop Abbildungsfehler auftreten. Will man wissen, wie das Objekt »wirklich« aussieht, müssen die Abbildungsfehler durch entsprechende Konstruktion von Objektiven minimiert und die noch verbleibenden Artefakte über Rechenprozesse korrigiert werden. Auf diese Weise sind auch in stark verrauschten Bildern, also solchen, bei denen nur wenig Licht für die Abbil-

dung zur Verfügung steht, Strukturen deutlich sichtbar zu machen. (Abb. 2)

Man muss sehr kritisch bei der Beurteilung von Bildern sein. Gerade digitale Bilder sind leicht zu manipulieren. Deswegen plädiere ich dafür, in Publikationen den Entstehungsprozess von Abbildungen offenzulegen.

Hardy: Wenn Sie auf Ihre wissenschaftliche Laufbahn zurückblicken, was waren die Meilensteine der bildgebenden Verfahren in der Zellbiologie?

Bereiter-Hahn: Das Feld der Lichtmikroskopie hat sich in den letzten 50 Jahren grundlegend gewandelt. Noch vor meiner Zeit liegt die Erfindung des Phasenkontrastmikroskops in den 1930er Jahren, mit dem man erstmals lebende Zellen kontrastreich abbilden konnte. In den 1960er Jahren führte der Niederländer Johan Sebastian Ploem die Auflichtfluoreszenz in die Mikroskopie ein. Damit konnten die Lichtausbeute und die Selektion der Anregungswellenlängen in der Fluoreszenzmikroskopie wesentlich verbessert werden. Diese Technik fand später in den konfokalen Lasermikroskopen Anwendung. Die Umsetzung des neuen Verfahrens erfolgte zunächst durch die Firma Leitz, die dann ein umgekehrtes Mikroskop auf den Markt brachte, das gerade für die Zellbiologie revolutionierend war. Damit konnte ich erstmals Fluoreszenzintensitäten innerhalb von so kleinen Zellorganellen wie Mitochondrien vermessen. Ich habe das Fluoreszenzlicht damals mit Schwarz-Weiß-Filmen aufgenommen. Da die



ZUR PERSON

Prof. Dr. Jürgen Bereiter-Hahn, Jahrgang 1941, studierte Biologie, Biochemie und Philosophie an der Goethe-Universität. Er promovierte 1967 am Institut für Kinematische Zellforschung in Frankfurt. 1972 schloss er seine Habilitation über Zytoskelettdynamik in Epidermiszellen der Fischhaut ab und erhielt eine Professur für Zellbiologie (Kinematische Zellforschung) an der Goethe-Universität. Forschungsaufenthalte führten ihn nach Philadelphia, Stockholm und Miami. Jürgen Bereiter-Hahn ist Autor mehrerer Fachbücher und er realisierte die CD-Serie »Die Zelle«. Er hat sich während seiner wissenschaftlichen Laufbahn über viele Jahre in der akademischen Selbstverwaltung engagiert und nimmt seit seiner Emeritierung 2006 noch zahlreiche Ämter wahr, u. a. als Ombudsmann und als Vorsitzender des Bewertergremiums für Erfindungen bei INNOVECTIS.

Photonenausbeute sehr gering war, musste ich nicht nur hochempfindliche Filme verwenden, sondern auch etwas von der Filmchemie verstehen. Später haben wir hochempfindliche Restlicht-Kameras verwendet.

Heute haben Wissenschaftler Möglichkeiten, von denen man früher nicht einmal geträumt hätte. Ernst Stelzer macht mit seiner Lichtscheibenmikroskopie über Tage tausende Bilder von einem sich entwickelnden Embryo, während wir in den 1970er Jahren oft nur zwei Bilder von derselben Stelle machen konnten, die dann ausgeblichen war.

Innerhalb der Fluoreszenzmikroskope war die Entwicklung von Konfokalmikroskopen ein wichtiger Schritt, nicht nur flache Objekte, sondern auch 3-D-Strukturen abzubilden. Die Fluoreszenzmikroskopie erlaubt Einblicke in die Biochemie von Zellen etwa über die Bestimmung der Abklingzeiten des angeregten Zustandes fluoreszierender Moleküle (im Nanosekundenbereich). Je nach Fluorochrom

zeigen diese Abklingzeiten Wechselwirkungen zwischen Molekülen (im Ångström- oder Nanometerbereich), elektrische Ladungen oder Lipophilie in ihrer Umgebung an. In meiner Gruppe konnte ich mit diesen Methoden zeigen, dass Enzyme, von denen angenommen wurde, dass sie in freier Lösung in der Zelle vorliegen, in Wirklichkeit an Strukturen gebunden sind und diese Bindungen ihre Funktion mitsteuern.

Parallel zu diesen indirekten Methoden wurden Abbildungsverfahren entwickelt, die zu einer Revolution in der räumlichen Strukturauflösung führten. Die Bedeutung dieser Methoden wurde durch die Verleihung des Nobelpreises 2014 an Stefan Hell, Eric Betzig und William E. Moerner international anerkannt. Inzwischen ging die Entwicklung noch wesentlich weiter, etwa in den Arbeiten von Ernst Stelzer in Frankfurt, aber auch von Stefan Hell in Göttingen.

Die Fragen stellte Dr. Anne Hardy.

– Anzeige –

Speis und Trank

RESTAURANT
STURM UND DRANG
CAFE-BISTRO

WOCHENKARTE | TAKE-AWAY | EVENTS | CATERING | SONNTAGSBRUNCH








Restaurant/Café-Bistro Sturm und Drang an der Goethe-Universität Frankfurt
Theodor-W.-Adorno-Platz 5 | 60323 Frankfurt | Tel. 069 798 34551 | E-Mail info@cafe-sturm-und-drang.de | www.cafe-sturm-und-drang.de