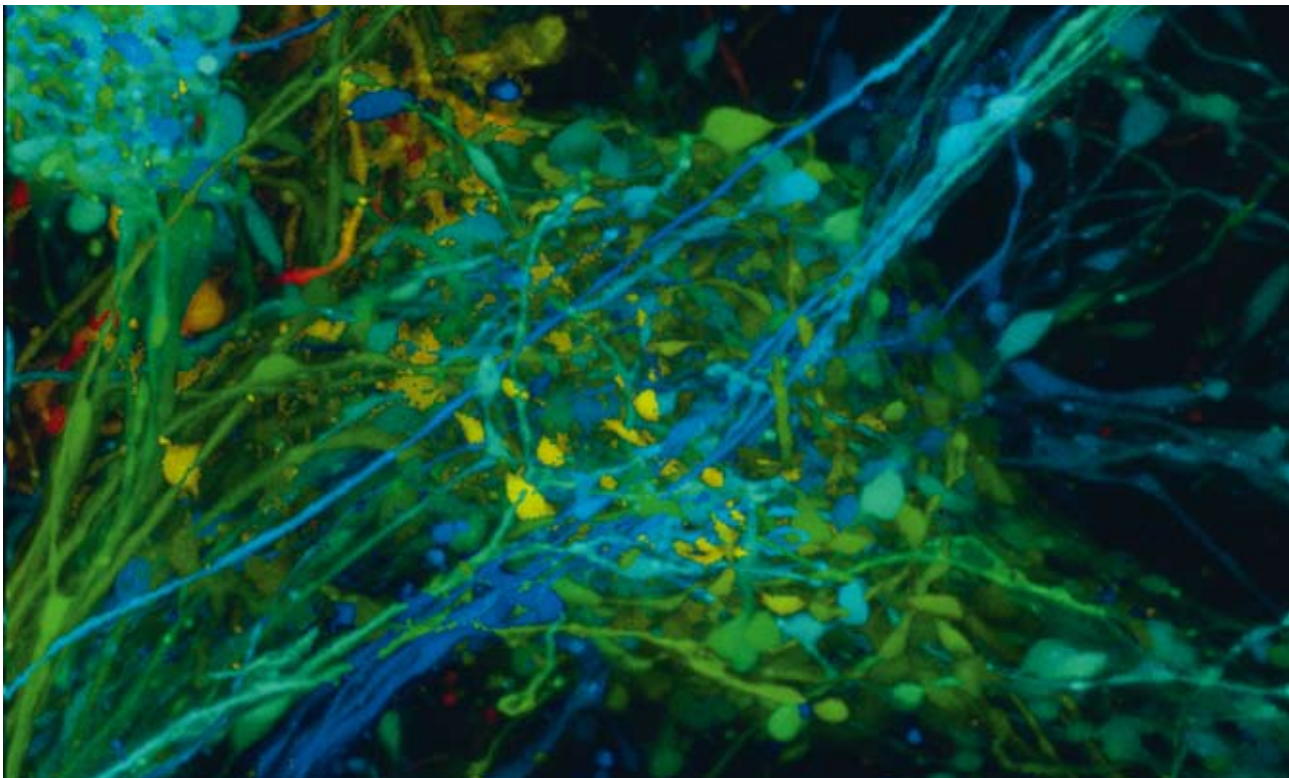


Zentrum Physiologie und Pathophysiologie
Abteilung Neurophysiologie und Zelluläre Biophysik
Centre for Physiology and Pathophysiology
Department of Neurophysiology and Cellular Biophysics



Forschungsschwerpunkte Research Foci

- ▷ Neuronale Repräsentation chemosensorischer Reize sowie funktionelle und molekulare Charakterisierung der Zellerneuerung im olfaktorischen System
 - ▷ Modulation und Plastizität synaptischer Transmission
 - ▷ Hochauflösende Mikroskopie und Spektroskopie
 - ▷ Neuronal Representation of Chemosensory Stimuli and Functional and Molecular Characterization of the Cell Turnover in the Olfactory System
 - ▷ Modulation and Plasticity of Synaptic Transmission
 - ▷ High Resolution Microscopy and Spectroscopy
-



Abteilungsleiter Head of Department

Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. Detlev Schild

Kontaktinformationen Contact

Abteilung Neurophysiologie und Zelluläre Biophysik
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN
 Humboldtallee 23, D-37073 Göttingen
 Telefon +49-551 / 39-5915, Fax + 49-551 / 39-8399
 cspinho@gwdg.de
 www.ukmn.gwdg.de

Hochschullehrer/innen Professors and Lecturers

+49-551 /

Schild, Detlev	Prof. Dr. rer. nat. Dr. med.	dschild@gwdg.de	39-5915
----------------	------------------------------	-----------------	---------

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen Other Group Leaders

Czesnik, Dirk	Dr. med.	dczesni@gwdg.de	39-5937
---------------	----------	-----------------	---------

Manzini, Ivan	PhD	imanzin@gwdg.de	39-7639
---------------	-----	-----------------	---------

EINLEITUNG

Unsere Forschung betrifft die sensorischen und synaptischen Mechanismen, die zur Entstehung chemosensorischer Repräsentationen im Gehirn führen. Es geht dabei sowohl um Transduktionsprozesse in olfaktorischen Sinneszellen als auch um die funktionelle Projektion von diesen zum Bulbus olfactorius und die Repräsentation von Molekülen in diesem Nervenzellnetzwerk. Des Weiteren untersuchen wir prinzipielle Mechanismen die der Zellerneuerung im olfaktorischen System unterliegen.

PREFACE

The research in the department focuses on the sensory and synaptic mechanisms which determine the chemosensory map in the brain, in particular in the olfactory bulb. To this end, we analyse transduction mechanisms in sensory cells, as well as the functional projections from these onto the olfactory bulb and the representation of molecules in this neuronal network. Furthermore, we investigate general mechanisms underlying the cell turnover in the olfactory system.

1. Neuronale Repräsentation chemosensorischer Reize und funktionelle und molekulare Charakterisierung der Zellerneuerung im olfaktorischen System

Alle Organismen interagieren mit ihrer Umwelt über chemische Reize. Das olfaktorische System von Vertebraten kann beispielsweise tausende von Reizen und Reizkombinationen detektieren. Es gibt dazu eine Vielzahl olfaktorische Rezeptorproteine (ORs), z. B. beim Menschen etwa 370, beim Frosch etwa 400, bei der Maus über 1000. Anders als in anderen sensorischen Systemen ist die Repräsentation olfaktorischer Reize - also der OR-Liganden - im zentralen Nervensystem noch völlig ungeklärt.

Wir untersuchen an einem relativ einfachen Vertebratenmodell, *Xenopus laevis*,

- ▷ welches die relevanten, wirksamen Stimuli sind,
- ▷ welche Familien von OR für deren Detektion verantwortlich sind,
- ▷ wie die Reize in den Sinneszellen transduziert werden,
- ▷ wie die verschiedenen Zelltypen des olfaktorischen Epithels interagieren,
- ▷ wie die Projektion zum olfaktorischen Bulbus erstellt wird, wobei wir stadienabhängig mit Hilfe der „patch clamp“-Methode und Bildgebung die funktionellen und anatomischen Verbindungen in olfaktorischen Glomerula aufsuchen,
- ▷ wie die Reize in Muster von aktivierten Mitral- und Körnerzellen übertragen werden und wie diese reizabhängigen Muster aussehen.

Im olfaktorischen System bedarf es lebenslang einer kontinuierlichen Neurogenese. Deswegen ist das olfaktorische System ein hervorragend geeignetes Modellsystem zur Erforschung prinzipieller, der Neurogenese unterliegenden Mechanismen, sowohl während der Entwicklung als auch im Erwachsenenalter. Im olfaktorischen Epithel gewährleistet eine sich basal befindende Zellpopulation, die sogenannten Basalzellen, diese fortwährende Genese neuer Zellen. Auch die Aufrechterhaltung der physiologischen Funktionen des Bulbus olfactorius kann nur durch kontinuierlichen Austausch von dort residierenden Zellen gewährleistet werden. Es konnte gezeigt werden, dass Nukleotide und deren Rezeptoren, neben anderen Faktoren, eine wichtige regulatorische Rolle in der embryonalen und adulten Neurogenese spielen. Wir haben das purinerge System im olfaktorischen Epithel von larvalen *Xenopus laevis* charakterisiert und konnten zeigen, dass purinerge Signalwirkungen die Zellproliferation modulieren. Zur Zeit charakterisieren wir das purinerge System im vorderen Telencephalon und untersuchen die Mechanismen die dem Interneuronaustausch in Bulbus olfactorius unterliegen.

Als Methoden werden „patch clamp“, Ca^{2+} -CCD-Imaging, Laser-scanning-Mikroskopie, schnelles Laserscanning-imaging, Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, Photolyse photolabiler Agonisten, Immunhistochemie sowie „single cell“ RT-PCR eingesetzt.

1. Neuronal Representation of Chemosensory Stimuli and Functional and Molecular Characterization of the Cell Turnover in the Olfactory System

All organisms interact with their environment through chemical stimuli. The vertebrate olfactory system in particular is capable of detecting thousands of odorants and molecule mixtures. There are a variety of olfactory receptor proteins (ORs), in humans approx. 370, in the frog approx. 400 and in the mouse more than 1000. Different from other sensory systems, the representation of olfactory stimuli, i.e., of the OR-ligands, in the central nervous system is as yet unknown.

In the lower vertebrate *Xenopus laevis*, we examine

- ▷ which odorants are competent stimuli,
- ▷ which kind of ORs families are sensitive to such stimuli,
- ▷ how the odorants are transduced in olfactory receptor cells,
- ▷ how the different cell types of the olfactory epithelium interact,
- ▷ how the projection from receptor neurons onto the olfactory bulb is established, i.e., we describe the connectivity in the olfactory glomerula, anatomically and functionally, using patch clamp and imaging methods,
- ▷ how stimuli are mapped to cellular activation patterns of mitral and granule cells.

In the olfactory system continuous neurogenesis is maintained throughout life, making this system an excellent model for studying stem cell dynamics and neurogenesis during development and regeneration. In the olfactory epithelium, a cell population resid-

ing in the most basal part of the epithelium, the so-called basal cells keep up a highly regulated genesis of new cells. Also in the olfactory bulb neurons need to be continuously replaced, in order to maintain its physiological functions. Among other factors, nucleotides and their receptors have been shown to play an important role in the regulation of neurogenesis during embryonic development as well as in the adult nervous system. We have characterized the purinergic system of the olfactory epithelium of larval *Xenopus laevis* and found that purinergic signaling regulates cell proliferation. Currently we study the purinergic system of the anterior telencephalon and investigate how the interneuron turnover in the olfactory bulb is regulated.

Methods used: patch clamp technique, cell culture and tissue slices, laser scanning microscopy, Ca^{2+} -CCD-Imaging, fast line scanning imaging, photolysis of caged compounds and fluorescence correlation spectroscopy, immunohistochemistry and single cell RT-PCR.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. Ivan Manzini

Kooperationen Cooperations

W. Rössler, Morphology and odorant images, Würzburg

S. Korsching, Untersuchung olfaktorische Rezeptorproteine, Köln

Drittmittelförderung Funding

CMPB, Project Area B, bis 10/2011

Forschungsförderungsprogramm, Project partly funded by the Medical School, Göttingen, 2008-2009

DFG, Schwerpunktprogramm „Integrative Analysis of Olfaction“, bis 2012

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Czesnik D, Kuduz J, Schild D, Manzini I. (2006) ATP activates both receptor and sustentacular supporting cells in the olfactory epithelium of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur J Neurosci* 23:119-128.

Czesnik D, Schild D, Kuduz J, Manzini I. (2007) Cannabinoid action in the olfactory epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:2967-2972.

Manzini I, Brase C, Chen TW, Schild D. (2007) Response profiles to amino acid odorants of olfactory glomeruli in larval *Xenopus laevis*. *J Physiol* 581:567-579.

Manzini I, Heermann S, Czesnik D, Brase C, Schild D, Rössler W. (2007) Presynaptic protein distribution and odor mapping in glomeruli of the olfactory bulb of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur J Neurosci* 26:925-934.

Manzini I, Schweer TS, and Schild D. (2008) Improved fluorescent (calcium indicator) dye uptake in brain slices by blocking multidrug resistance transporters. *J Neurosci Methods* 167:140-147. Hassenklöver T, Kurtanska S, Bartoszek I, Junek S, Schild D, Manzini I. (2008) Nucleotide-induced Ca^{2+} signaling in sustentacular supporting cells of the olfactory epithelium. *Glia* 56:1614-1624.

2. Modulation und Plastizität synaptischer Transmission

Der olfaktorische Bulbus ist die erste und letzte Station im olfaktorischen System, in dem die gesamte olfaktorische Information abgebildet ist und bearbeitet wird. Dieses neuronale Netzwerk ist, wenngleich noch weitgehend unbekannt, relativ einfach, da es im Wesentlichen nur zwei Typen von Synapsen besitzt. Hierbei handelt es sich um die primär afferenten Synapsen in Glomerula und reziproke Synapsen zwischen den Relayneuronen und den Interneuronen. Die Relayneurone erregen die Interneurone und diese

hemmen ihrerseits die Relayneurone (laterale Hemmung). Wir haben in letzter Zeit versucht, endocannabinerge Effekte in diesem System nachzuweisen, wobei die Lokalisation bisher gelungen ist, der Nachweis spezifischer elektrophysiologischer Mechanismen aber noch aussteht. Beim Input zum olfaktorischen Bulbus, d.h. an Rezeptorzellen der olfaktorischen Mukosa konnten wir nachweisen, dass eine konstante Ausschüttungen von Endocannabinergen für die Aktivität dieser Zellen notwendig ist.

2. Modulation and Plasticity of Synaptic Transmission

The olfactory bulb is the first and last stage in the olfactory system where all the olfactory information as a whole is mapped and processed. The system is simple (yet not understood) as there are only two primary types of synapses, i.e., in olfactory glomerula and the reciprocal dendrites between relay- and interneurons. Here, the relay neurons excite interneurons, which in turn inhibit relay neurons in their surroundings (lateral inhibition). Recently we have been studying endocannabinergic effects in this system and could localize CB1 receptors to the olfactory bulb. Electrophysiological mechanisms resulting from activation of these receptors are still to be defined, however. As the the input to the olfactory bulb, we were able to show that a tonic level of endocannabinoids are required for the proper function of the sensory neurons.

Method used: identical to topic 1.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. med. Dirk Czesnik

Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Ken Mackie, Department Anesthesiology, University of Washington, USA

Drittmittelförderung Funding

DFG, SFB 406, bis 12/2006

Forschungsförderungsprogramm, Project partly funded by the Medical School, Göttingen, 2005-2006

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Manzini I, Czesnik D (2008) Strukturelle und funktionelle Grundlagen des Schmeckens. in: Riech- und Schmeckstörungen, ed. by Hummel/Welge-Lüssen, Stuttgart: Thieme Verlag

Manzini I, Hermann S, Czesnik D, Brase C, Schild D, Rössler W. Presynaptic protein distribution and odor mapping in glomeruli of the olfactory bulb of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur. J. Neuroscience*, 26, 925-934.

Czesnik D, Schild D, Kuduz J, Manzini I (2007) Endocannabinoid actions in the olfactory epithelium *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 2967-2972

Czesnik D, Kuduz J, Schild D and Manzini I (2006) ATP activates both receptor and sustentacular supporting cells in the olfactory epithelium of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur. J. Neurosci* 23, 119-128

Djukic M, Mildner A, Schmidt H, Czesnik D, Brück W, Priller J, Nau R, Prinz M (2006), Bone marrow - derived microglia significantly contribute to the pathology following *Streptococcus pneumoniae* meningitis in mice. *Brain*, 129: 2394-2403

3. Hochauflösende Mikroskopie und Spektroskopie

Zur Darstellung physiologischer Prozesse in lebenden Zellen auf zellulärer und molekularer Ebene ist die Mikroskopie, insbesondere neue Formen der Rasterfluoreszenzmikroskopie die wichtigste Methode. Es werden in unserem Labor sowohl kommerzielle Standard-techniken wie die Laserrastermikroskopie und CCD-Imaging eingesetzt. Darüber hinaus arbeiten wir aber auch an der Verbesserung der Auflösung. So lassen sich mit der sogenannten Fluoreszenzkorrelationspektroskopie (FCS) einzelne Moleküle nachweisen und mit einer Raster-FCS-Apparatur intrazelluläre Organell-Bewegungen mit einer Auflösung bis zu 10 nm messen. Deutliche Verbesserungen wurden auch im Bereich der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie erreicht, z. B. durch automatische Bestimmung von sogenannten *regions of interest* und in-situ-Hintergrundkorrektur. In letzter Zeit ist es uns durch Korrelationsmethoden (ACI: activity correlation imaging) gelungen, alle Neurone eines Nervennetzwerks in einem Gewebsschnitt inklusive der neuronalen Aktivität darzustellen. Hierzu wurde ein neues und sehr schnelles Mikroskop (LIM: line illumination microscope) entwickelt.

3. High Resolution Microscopy and Spectroscopy

High resolution microscopy is the method of choice in analysing physiological processes in live cells at cellular and molecular levels. In our laboratory, we utilize standard confocal laser scanning and CCD techniques, and are also involved in the development of new methods with higher resolution. Properties of single molecules can be measured in solution and within cells using classical fluorescence correlation spectroscopy. By adding a scanning feature to the apparatus, we were able to measure intracellular organelle movement at a resolution of about 10 nm. Improvement was also achieved in standard fluorescence microscopy by means of introducing an automated ROI-selection algorithm as well as an in-situ background correction. Recently we have developed a method, activity correlation imaging (ACI), which allows to visualize simultaneously the morphology and the function of all neurons in a slice. To this end a new and rather fast confocal microscope was developed.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Detlev Schild

Kooperationen Cooperations

Prof. Hell, Abteilung Nanobiophotonik, Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen
Prof. Neher, Abteilung Membranbiophysik, Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen

Prof. Dr. T. Salditt, Institut für Röntgenphysik, Universität Göttingen

Prof. Schmidt, Drittes Physikalisches Institut, Göttingen

Dr. K. H. Frosch, Abteilung Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie, Universitätsmedizin Göttingen

Dr. Andre Zeug, Center Molecular Physiology of the Brain (CMPB), Universitätsmedizin Göttingen

Drittmittelförderung Funding

DFG, CMPB Projekt 12-B, 20-B (2001-2006, Fortsetzungsantrag 2006-2011) und DFG Excellence Cluster;

Bernstein Center for Computational Neuroscience, Bernstein Focus of Neurotechnology

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Hassenklöver T, Kurtanska S, Bartoszek I, Junek S, Schild D, Manzini I (2008) Nucleotide-induced Ca^{2+} signaling in sustentacular supporting cells of the olfactory epithelium. *Glia*, **56**, 1614-24.

Manzini I, Schweer TS, Schild D (2008) Improved fluorescent (calcium indicator) dye uptake in brain slices by blocking multidrug resistance transporters. *J. Neuroscience Methods*, **167**, 140-147

Manzini I, Heermann S, Czesnik D, Brase C, Schild D, Rössler W (2007) Presynaptic protein distribution and odor mapping in glomeruli of the olfactory bulb of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur. J. Neuroscience*, **26**, 925-934.

Czesnik D, Schild D, Kuduz J, Manzini I (2007) Endocannabinoid actions in the olfactory epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**, 2967-2972

Manzini I, Brase C, Chen TW and Schild D (2007) Response profiles to amino acid odorants of olfactory glomeruli in larval *Xenopus laevis*. *J. Physiol.* **581**, 567-579

Franze K, Grosche J, Skatchkov SN, Schinkinger S, Schild D, Uckermann O, Travis K, Reichenbach A, Guck J (2007) Spotlight on Glial Cells: Living Optical Fibers in the Vertebrate Retina. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 **104**, 8287-8292

Lin B-J, Chen T-W, Schild D (2007) Cell type-specific relationships between spiking and $[Ca^{2+}]$ in neurons of the *Xenopus* tadpole olfactory bulb. *J. Physiol.*, **582**, 163-175.

Chen T-W, Lin B-J, Brunner E, Schild D (2006) In-situ background estimation in quantitative fluorescence imaging. *Biophys. J.* **90**, 2534 - 2547

Czesnik D, Kuduz J, Schild D and Manzini I (2006) ATP activates both receptor and sustentacular supporting cells in the olfactory epithelium of *Xenopus laevis* tadpoles. *Eur. J. Neurosci* **23**, 119-128

Frosch K-H, Drengk A, Krause P, Viereck V, Miosge N, Werner C, Schild D, Stürmer EK, Stürmer KM (2006) Stem cell coated titanium implants for the partial joint resurfacing of the knee. *Biomaterials*. **27**, 2542-2549.

Dudanova I, Sedej S, Ahmad M, Masius H, Sargsyan V, Zhang W, Riedel D, Angenstein F, Schild D, Rupnik M, Missler M (2006) Important contribution of a β -neurexin to neurohormone release and the role of voltage-dependent Ca^{2+} channels. *J. Neurosci.* **26**: 10599-10561

Chen TW, Lin BJ, Brunner E, Schild D. (2006) In situ background estimation in quantitative fluorescence imaging. *Biophys. J.* **90**: 2534-47.

Gennerich A, Schild D. (2006) Finite-particle tracking reveals submicroscopic-size changes of mitochondria during transport in mitral cell dendrites. *Phys Biol*, **16**: 45-53.

Anhang Appendix

Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Ulmer FL, Dr. med. dent. Entwicklung einer Zweikammerperfusion für das olfaktorische System der Larve von *Xenopus laevis* zur Untersuchung der cannabinergen Modulation im Bulbus olfactorius. Dissertation Universität Göttingen 2008

Gutermann B, Dr. med., Charakterisierung spezifischer Duftstoffantworten olfaktorischer Rezeptorneurone von *Xenopus laevis*-Larven. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Scherfeld D, Dr. med., Untersuchungen zum Einfluss von Cholesterin auf die strukturelle Organisation und Dynamik von Membranen mittels Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Brase C, Dr. med., Antwortprofile individueller olfaktorischer Glomeruli im Bulbus olfactorius principalis von *Xenopus laevis*-Larven. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Schweer T, Dr. med., Multidrug Resistance-associated Transporter im Bulbus olfactorius principalis und accessorius des larvalen *Xenopus laevis*. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Turner J, Dr. med., Intrazelluläre Chloridionen in der Regulation der sekretorischen Aktivität von melanotropen Zellen der Hypophyse der Maus. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Meyer S, Dr. med. dent., Identifizierung neuer Geruchsstoffe für das Riechorgan der Larve vom afrikanischen Krallenfrosch *Xenopus laevis*. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere)

Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and others)

Chen TW, MD-PhD, Systems Level Analysis of Neuronal Network Function in the Olfactory Bulb: Coding, Connectivity, and Modular organization. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Junek S, MD-PhD, Investigation of spatio-temporal coding in the olfactory bulb of larval *Xenopus laevis* using fast confocal imaging. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Weigel A, MD-PhD, Quantitation Strategies in Optically Sectioning Fluorescence Microscopy. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Ahmad M, PhD, The role of-neurexins in Ca²⁺ dependent synaptic transmission and plasticity. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Lin BJ, PhD, Odor modulation of electrical and [Ca²⁺]_i activities in neurons of the olfactory bulb. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Diplom- und Masterarbeiten Diploma and Master Theses

Gliem S (2007) Optical characterization of amine olfactory receptors in larval *Xenopus laevis*. Universität Göttingen, MSc.

Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

Prof. D. Schild

AChems, European Chemoreception Organisation

Biophysical Society

Deutsche Physikalische Gesellschaft

Deutsche Physiologische Gesellschaft

Herausgebertätigkeit Editorial Work

Prof. Dr. Dr. D. Schild

J Exp Physiology

Stipendiaten/Stipendiantinnen Scholarship Holders

Esther Breunig, Lichtenberg 2006-2008

Sebastian Gliem, Lichtenberg 2007-2008

Firmenkooperationen Industrial Cooperations

Carl Zeiss, Göttingen

Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte

Specialised Research Equipment

Apotom, Laser scanning microscope, Scanning FCS