Licht aus, Film ab:

Proteindynamik unter dem Mikroskop

Zielgerichtete Krebstherapien haben in den letzten Jahrzehnten vielen Menschen geholfen und werden mit wachsendem Anteil in der Tumorbekämpfung eingesetzt. Leider entwickeln Patienten häufig Resistenzen gegenüber den Wirkstoffen. Um dieses Problem zu verstehen, müssen wir unter anderem wissen, wie Proteine ihre Struktur verändern und auf Wirkstoffe reagieren. Doch genau da haben wir experimentell einen blinden Fleck: Wir können das Verhalten von Proteinen in ihrer natürlichen Umgebung nicht ausreichend genau abbilden.

Im Rahmen meiner Promotion ist es mir erstmals gelungen, Strukturdynamik auf dieser kleinsten Ebene mit optischer Mikroskopie zugänglich zu machen. Durch Beleuchtung mit speziellen Mustern aus Licht und Schatten konnte ich Strukturänderungen auf der Größenskala einzelner Proteine sichtbar machen – und das mit hoher zeitlicher Auflösung. Das Resultat ist, vereinfacht gesagt, ein „Nanofilm“ der Struktur. Perspektivisch könnte diese neue Methode dabei helfen, die Dynamik von Proteinen und ihre Reaktion auf Wirkstoffe direkt zu untersuchen. Damit schafft sie eine Grundlage, um molekulare Krankheitsmechanismen und die Entstehung von Resistenzen besser zu verstehen.

Thomas Arne Hensel hat an der Universität Heidelberg im Fachgebiet Physik promoviert.

Thomas Arne Hensel

Deutscher Studienpreis
1. Preis Sektion Natur- und Technikwissenschaften

Körber Stiftung

Körber Stiftung

Der vorliegende Beitrag wurde beim Deutschen Studienpreis 2026 mit dem 1. Preis in der Sektion Natur- und Technikwissenschaften ausgezeichnet. Er beruht auf der 2025 an der Universität Heidelberg eingereichten Dissertation „Diffraction-unlimited resolution of identical point scatterers using freely-propagating waves“ von Dr. Thomas Arne Hensel.

Licht aus, Film ab: Proteindynamik unter dem Mikroskop

Vier Jahre lang schien die Krankheit beherrschbar. Eine zielgerichtete Therapie hatte das Tumorwachstum gestoppt, Nebenwirkungen blieben überschaubar, der Alltag kehrte zurück. Dann kam bei einer Routineuntersuchung der Schock: die Laborwerte deuteten darauf hin, dass das Medikament seine Wirkung verlor. Der Tumor war resistent geworden. Für die Patientin bedeutete das die Rückkehr eines Zustands, den viele Betroffene genau kennen: Unsicherheit, Zeitdruck und das Gefühl, wieder am Anfang zu stehen.

Fast jeder zweite Mensch erkrankt heutzutage in seinem Leben an Krebs.[1] Für bis zu 15 % davon kommen gezielte Krebstherapien in Frage, Tendenz steigend. Letztes Jahr hat die FDA das 100. Medikament für eine bestimmte Therapieklasse, den Small-Molecule-Kinase-Inhibitor, zugelassen. Dies zeigt das Potential des erst 30 bis 40 Jahre alten Feldes.

Die Wirksamkeit von gezielten Krebstherapien entscheidet sich auf der molekularen Ebene. Sie nutzen Medikamente, die definierte molekulare Ziele angreifen – häufig Proteine, die in Tumorzellen Wachstumssignale steuern. Während eine Chemotherapie eher unspezifisch teilende Zellen schädigt, adressiert man bei zielgerichteten Krebstherapien eine konkrete Fehlregulation eines bestimmten Proteins. Signalisiert ein Protein fälschlicherweise „Wachstum!“, so versucht man dieses Verhalten zu unterdrücken, indem man genau dieses Protein blockiert. Diese Passform und hohe Effektivität der gezielten Therapien reduziert die Belastung für Patienten erheblich.

Die Kehrseite gezielter Therapien ist, dass Tumoren evolvieren. Unter starkem Selektionsdruck setzen sich diejenigen Proteinvarianten durch, die gegenüber der Medikation bestehen. Bei Antibiotikaresistenzen tritt ein ähnlicher Effekt auf: Ein Bakterium versucht zu überleben, indem es sich den neuen Gegebenheiten anpasst. Krebs ist kein Bakterium, aber das Grundprinzip ist ähnlich: Die Intervention

[1] Epidemiologisches Bulletin des Robert Koch-Instituts, Nr. 5, Januar 2026

verschiebt die Überlebenschancen von Zellen je nachdem, wie gut das Medikament dort auf der molekularen Ebene agieren kann.

Welche Ursache hat eine Krebserkrankung auf molekularer Ebene?

Proteine erfüllen ihre Aufgaben in der Zelle oft durch Strukturänderungen. Das bedeutet, dass das Protein sich zwischen verschiedenen Strukturen hin- und herfalten kann – ähnlich wie bei einem Origami, aus dem man einen Schwan faltet, der seine Flügel offen oder geschlossen tragen kann. Geht bei der Faltung etwas schief, so können Proteine ihre Aufgabe in einer Zelle nicht mehr erfüllen, und es kann zu unkontrolliertem Zellwachstum führen. Die Medikamente setzen da an und stabilisieren „gesunde" Strukturen des Proteins bzw. verhindern Fehlfaltungen.

Proteinfunktion und ihre Hemmbarkeit hängen davon ab, wie sie zwischen verschiedenen räumlichen Zuständen wechseln. Resistenz gegenüber einem Wirkstoff kann entstehen, wenn das Protein seltener in der Form vorliegt, an die der Wirkstoff am besten bindet. Und genau diese dynamische Ebene ist experimentell schwer zugänglich. Wir wissen sehr wenig über den konkreten Faltungsvorgang der Proteine, weil es sehr kleine Strukturen sind und die Bedingungen während der Messung möglichst lebensnah sein müssen.

Meine Dissertation adressiert deshalb ein Messproblem, um diese Grenze unseres Wissens zu verschieben: Wie kann man die winzigen Strukturänderungen von Proteinen zeitaufgelöst messen? Das würde helfen, um die Dynamik von Proteinen besser zu verstehen, und könnte langfristig ermöglichen, die Wirksamkeit von gezielten Krebstherapien zu verbessern.

Proteindynamik und Resistenz zielgerichteter Therapien

Zielgerichtete Krebstherapien nutzen häufig sogenannte „kleine Moleküle". Das sind relativ kleine chemische Wirkstoffe, die an ein Protein binden und dessen Aktivität dämpfen. Ein besonders wichtiges Beispiel sind Protein-Kinasen: Enzyme, die Signale weitergeben, indem sie andere Proteine chemisch modifizieren. Viele Tumoren treiben ihr Wachstum, indem sie Kinasen dauerhaft aktivieren. Sogenannte Kinase-Inhibitoren sollen genau das unterbrechen und die Signalweiterleitung unterbinden.

Doch Proteine sind wahre Gestaltenwandler und existieren nicht in einer einzigen starren Struktur. Sie wechseln zwischen mehreren Strukturen, den sogenannten Konformationen, etwa zwischen aktiveren und weniger aktiven Formen, zwischen „offenen" und „geschlossenen" Varianten oder zwischen Zuständen, die unterschiedliche Partnerproteine binden. Ein Inhibitor wirkt oft deshalb gut, weil er eine bestimmte Konformation bevorzugt bindet und diese stabilisiert.

Resistenz kann dann auf mindestens zwei Wegen entstehen. Zum einen kann eine Mutation Kontaktstellen des Proteins so verändern, dass der Wirkstoff schwächer bindet und damit seine Wirkung nachlässt. Zum anderen kann eine Mutation (oder der zelluläre Kontext) das Gleichgewicht der strukturellen Zustände verschieben. Die Konformation, die der Wirkstoff bevorzugt bindet, wird seltener oder schlechter erreichbar. Klinisch sehen beide Varianten zunächst ähnlich aus. Mechanistisch sind die Konsequenzen aber unterschiedlich – und damit auch die Strategie, welche Folgeinhibitoren plausibel sind (z. B. andere Bindemodi, allosterische Angriffspunkte).

Damit wird klar, welche Größen eines Proteins man eigentlich kennen müsste, um Resistenzmechanismen früh sauber einzugrenzen:

- Welche Konformationen treten unter relevanten Bedingungen überhaupt auf?
- Wie häufig wird jeder Zustand eingenommen (Zustandsverteilung)?
- Wie schnell wird zwischen Zuständen gewechselt (Kinetik, inklusive kurzlebiger Zwischenzustände)?

Diese Fragen sind einfach zu formulieren. Doch sie experimentell zu beantworten, ist bisher kaum möglich. Dazu müsste man kleinste Strukturänderungen der Proteine in einer wässrigen, thermisch bewegten Umgebung messen. Dafür gibt es bisher keine allgemeine Methode.

Strukturbiologie: Bisher nur Stillleben statt Filme

Existierende Methoden liefern uns hochaufgelöste Stillleben von Proteinstrukturen. Die Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM) ist das Zugpferd der modernen Strukturbiologie. Sie ermöglicht es, hochaufgelöste Strukturen auch großer Proteinkomplexe aufzunehmen. Dazu wird eine Probe „vitrifiziert“, also sehr schnell eingefroren, und dann mit einem Elektronenstrahl abgetastet. Aufgrund der kleinen Größe der Elektronen kann man damit eine sehr hohe Auflösung erreichen. In sehr günstigen Fällen lassen sich sogar mehrere Konformationen eines Proteins innerhalb einer Probe getrennt rekonstruieren, weil nicht alle Proteine im selben Zustand vorlagen, als die Probe vitrifiziert wurde. Wenn auch gestochen scharf: Es bleibt bei einem Standbild der Struktur.

Für die Proteindynamik ergibt sich also eine große Lücke: Wir haben Zugang zu einzelnen Momentaufnahmen einer Struktur oder einem Ensemble von Strukturen. Damit sieht man, dass mehrere Zustände existieren können – aber man sieht nicht zuverlässig, wie sich eine Population über die Zeit auf diese Zustände verteilt und

wie Übergänge ablaufen. Jedoch liegen genau dort die Messgrößen, die über Wirkung, Bindungsdauer und alternative Konformationsdynamiken entscheiden können.

Experimentell wäre an dieser Stelle die optische Mikroskopie sehr attraktiv: Sie funktioniert in wässriger Lösung, bei Raumtemperatur und mit hoher zeitlicher Abtastrate. Man könnte also theoretisch dem Protein direkt bei der Arbeit in der Zelle zuschauen.

Proteine unter dem Mikroskop: Die Lösung?

Wenn man ein einzelnes Protein unter dem Lichtmikroskop beobachten will, hat man zwei grundsätzliche Probleme: Proteine sind klein (typischerweise wenige Nanometer) und in Zellen oder Lösungen optisch kaum von ihrer Umgebung zu unterscheiden: Sie sind quasi transparent. Man braucht daher eine Art Kontrastmittel.

Fluoreszenzmikroskopie erzeugt diesen Kontrast, indem sie das Zielmolekül mit einem fluoreszierenden Marker versieht. „Marker“ meint hier konkret ein fluoreszierendes Farbstoffmolekül, welches Licht einer bestimmten Farbe absorbiert und kurz danach Licht einer längeren Wellenlänge wieder emittiert. Man beleuchtet die Probe mit Licht, um die Fluoreszenz anzuregen, das Fluorophor sendet Photonen aus, und diese Photonen werden detektiert. Dadurch, dass emittiertes Licht und eingestrahltes Licht unterschiedliche Wellenlängen haben, kann man einen sehr hohen Kontrast erreichen.

Für die Messung ist entscheidend: Der Marker wird zur optischen Referenz eines Punktes am Protein. Wenn man mehrere Marker an unterschiedliche Stellen des Proteins setzt, kann man aus ihren relativen Positionen auf die Struktur des Proteins schließen – ohne dass man das Protein direkt beobachten musste.

Damit wird auch klar, was in der Fluoreszenzmikroskopie physikalisch gemessen wird: die Positionen von fluoreszenten Markern. Man sieht die Struktur nicht direkt, sondern schließt von den Positionen der Marker zurück auf die zugrunde liegende Struktur und im besten Fall Konformationen des Proteins.

Und genau hier schlägt die sogenannte Beugungsgrenze zu, was für unscharfe Bilder in der Mikroskopie sorgt.

Die Beugungsgrenze

In einem idealen Mikroskop wäre ein Punkt im Objekt auch ein Punkt im Bild. In der realen Wellenoptik funktioniert das leider nicht: Licht lässt sich nicht unendlich scharf fokussieren. Ein punktförmiger Emitter – wie die fluoreszenten Marker – erscheint deshalb im Bild nicht als Punkt, sondern als ausgeschmierter Fleck mit einer „Mindestbreite“. Dieses Problem hat schon der Physiker Ernst Abbe vor 150 Jahren formuliert.

Die Mindestbreite bestimmt die Auflösungsgrenze des Mikroskops. In vielen Fluoreszenzmikroskopen liegt sie grob im Bereich von einigen hundert Nanometern (typisch ~200 nm, abhängig von Wellenlänge und Eigenschaften des Mikroskops). Proteine sind aber Strukturen im Bereich der Nanometerskalen: Abstände innerhalb eines Proteins sind häufig 1–10 nm klein, manchmal einige zehn Nanometer in größeren Proteinkomplexen. Das ist um Größenordnungen kleiner als die klassische optische Auflösung.

Was passiert nun, wenn zwei Marker an einem Protein nur wenige Nanometer auseinanderliegen? In der Abbildung überlagern sich ihre beugungsbegrenzten Signale fast vollständig. Das Mikroskopbild zeigt dann nicht zwei getrennte Punkte, sondern einen einzigen Fleck. Aus solch einem Bild kann man die Struktur eines einzelnen Proteins natürlich nicht mehr rekonstruieren.

Dieses fundamentale optische Problem ist der Grund, warum die klassische Fluoreszenzmikroskopie an unserer Aufgabe scheitert: Bei Proteinen verschwimmt ihr Bild immer zu einem Fleck, selbst wenn wir mehrere Marker an das Protein anbringen. Damit sehen wir weder die Proteinstruktur noch deren Dynamik.

Scharfe (Stand-)Bilder durch „Super-Resolution“

Ende der 1990er Jahre gab es einen Entwicklungsschub in der Fluoreszenzmikroskopie, die einen Teil des Auflösungsproblems gelöst hat. Es wurden Grundprinzipien der superauflösenden Fluoreszenzmethoden entwickelt, deren gemeinsames Kernprinzip sich so zusammenfassen lässt:

Wenn mehrere Marker gleichzeitig emittieren, überlagern sich ihre Signale. Wenn man aber Marker zeitlich trennt, kann man sie einzeln nacheinander lokalisieren und nachträglich ein hochaufgelöstes Bild zusammensetzen. Dafür schaltet man die Marker AN und AUS, wie bei einem Lichtschalter. Sind alle Marker bis auf einen einzigen ausgeschaltet, so kann man dessen Position sehr genau als Mittelpunkt des Flecks auf dem Bild messen. Hat man diese erste Position, so kann man mit dem nächsten Marker weitermachen. Dessen Fleck ist ein ganz klein wenig zum

ersten verschoben und lässt sich aus dem Bild gut berechnen, weil nun nur dieser eine Marker leuchtet. Hat man alle Marker aufgenommen, so kann man aus den Mittelpunkten der einzelnen Flecken ein Bild der Struktur zusammensetzen.

Für statische Strukturen ist das sehr erfolgreich. Und so gab es 2014 für diese Ideen den Nobelpreis in Chemie für Stefan W. Hell, William E. Moerner und Eric Betzig!

Für schnelle Konformationsdynamik entsteht jedoch ein prinzipielles Problem: Diese Art der Rekonstruktion benötigt Zeit. Wenn sich die Struktur während der Sequenz vieler Einzelaufnahmen bereits umordnet, dann mittelt man über verschiedene Strukturen. Das Ergebnis ist eine Art „Bewegungsunschärfe“ – fast im Sinne eines unscharfen Fotos.

Genau diese Dynamik ist für unsere eingangs gestellte Resistenzfrage jedoch besonders relevant: Viele funktionelle Strukturänderungen sind schnell, Zwischenzustände sind kurzlebig. Wenn man die Zustände nicht zeitaufgelöst sieht, bleibt unklar, ob ein Wirkstoff wirklich einen Zustand stabilisiert, ob eine Mutation die Übergangsrate verändert oder ob ein neuer Zwischenzustand auftritt.

Meine Forschung löst dieses Problem. Wie kann man eine nanoskalige Struktur mit Fluoreszenzmikroskopie vermessen und ihre Dynamik entschlüsseln? Fragen wir Ernst Abbe oder die Nobelpreisträger von 2014, so wäre die Antwort klar: Das geht nicht! In diesem Fall ist das AN-AUS-Prinzip keine Lösung, denn wir müssen alle Marker einer Struktur gleichzeitig beobachten, wenn wir eine Chance haben wollen, ihre Dynamik zu verstehen.

Ein neues Prinzip der hochauflösenden Mikroskopie

Der methodische Ansatz meiner Dissertation löst sich von der Idee, mehrere Marker nacheinander als getrennte Bildpunkte sichtbar zu machen. Stattdessen wird die Struktur aus dem Gesamtsignal der fluoreszenten Marker erschlossen. Dadurch bekommen wir Zugang zur Dynamik der Struktur.

Konzeptionell erreiche ich dies, indem ich ein gezieltes Muster aus Licht und Schatten auf die Marker werfe, anstatt sie mit höherer Intensität zu beleuchten. Ich erzeuge ein Beleuchtungsfeld mit einem lokalen Intensitätsminimum (Dunkelpunkt oder Dunkellinie) und verschiebe dieses Minimum über die Struktur, während ich die Fluoreszenz detektiere. In diesem Fall leuchten beide Marker gleichzeitig. Aus der entstehenden Signalkurve wird die Geometrie der Struktur statistisch abgeschätzt.

Anschaulich kann man sich dieses Lichtfeld wie einen Donut vorstellen, der außen hell ist und in der Mitte einen dunklen Punkt besitzt. Diesen Donut bewege ich in der Probe und rastere damit über die Struktur mit den fluoreszenten Markern – ohne diese AN und AUS zu schalten (siehe Abbildung 1).

Warum hilft ein Minimum? Hier können wir uns eine Eigenschaft des Lichtes zu Nutze machen. Licht besteht aus Photonen, und die Intensität des Lichtes sagt, wie viele Photonen gerade auf einem Detektor eintreffen. Allerdings ist diese Zahl nur im Mittel festgelegt und schwankt immer etwas. Dieses Rauschen ist proportional zu der mittleren Intensität. Einfach gesagt: Bei viel Licht hat man viel Rauschen, bei wenig Licht gibt es wenig Rauschen – und bei Dunkelheit gibt es im Idealfall gar kein Rauschen (siehe Abbildung 1).

In der Nähe eines Intensitätsminimums ist das Rauschen des Signals also gering und der Intensitätsgradient steil. Kleine Positionsänderungen eines Markers führen so zu messbaren Änderungen in der Anregung und damit in der Emissionsrate. Wenn mehrere Marker gleichzeitig emittieren und ihre Signale sich überlagern, bleibt der Zusammenhang zwischen Scanposition und Gesamtsignal dennoch sensitiv auf ihre relative Anordnung. Anders gesagt: Die räumliche Information steckt nicht in zwei räumlich getrennten Flecken, sondern in der Modulation des Gesamtsignals durch das Beleuchtungsminimum (siehe Abbildung 1, rechts).

Mit dieser neuen Idee haben wir die Möglichkeit, mehrere Marker gleichzeitig abzubilden, ohne dass wir den AN-AUS-Trick anwenden müssen. Als nächsten Schritt habe ich experimentell nachgewiesen, dass wir mit dieser Methode Zugang zu genau den Größen, die für dynamische Zielproteine entscheidend sind, bekommen: Vermessung kleinster Strukturen, die Erfassung von Zustandsverteilungen und ihrer Kinetik.

Fazit: Proteindynamik in Reichweite

In unseren Experimenten haben wir diese Idee zunächst an winzigen Linealen aus DNA getestet. Diese sind nur ein Hundertstel einer Lichtwellenlänge groß (6 nm) – vergleichbar mit echten Proteinen und viel kleiner als die Beugungsgrenze. Daran haben wir demonstriert, dass wir solch kleine Abstände zuverlässig messen können.

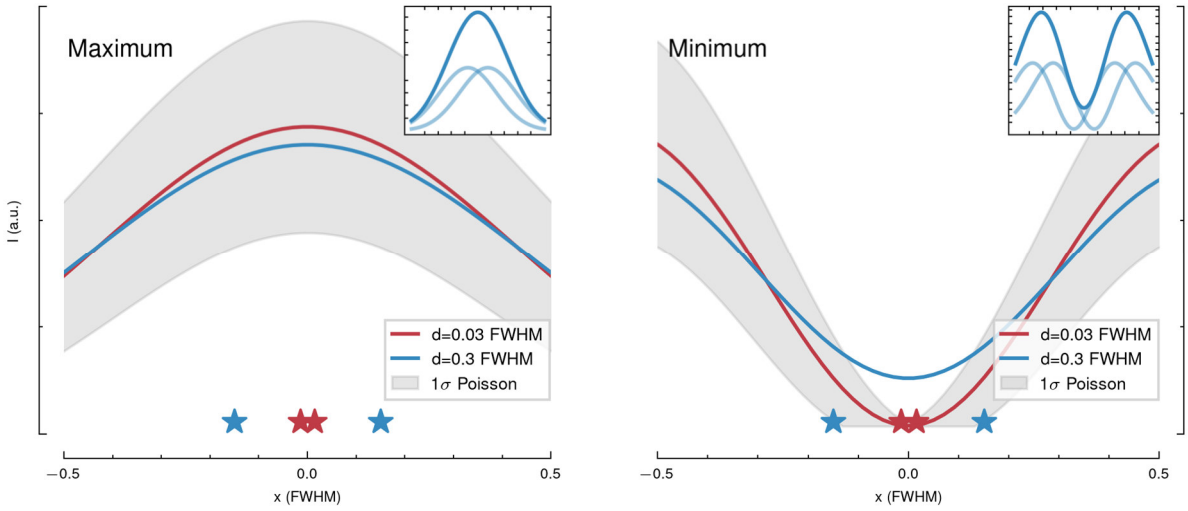

Abbildung 1: Vergleich von Fluoreszenzsignal für Beleuchtungsmaximum und -minimum. Links: Am Maximum entsteht viel Rauschen im Signal (grau hinterlegter Bereich). Ändert man den Abstand der zwei Marker (rote vs. blaue Sterne), so geht die Signaländerung im Rauschen unter. Rechts: Am Minimum ist das Rauschen sehr gering. Eine Abstandsänderung führt auch zu einer messbaren Signaländerung.

Die spannendsten Messungen haben wir an einer Probe aus DNA durchgeführt, die verschiedene Strukturen annehmen kann. Dafür haben wir zwei fluoreszierende Marker an eine Art „Wippe“ aus DNA geheftet. Diese Wippe ist wie ein Origami gefaltet. Sie kippt ständig hin und her und ahmt so das zufällige Falten eines Proteins nach. Mit unserem neuen Verfahren können wir die schaukelnden Farbstoffe auf ihrer Wippe direkt filmen. Wir sehen nicht nur, dass sich etwas bewegt, sondern messen auch, wie schnell oder langsam die Farbstoffe wippen und wie groß ihre Wippe ist. Das war bisher unmöglich, da man für schnelle Bewegungen mehrere Farbstoffe gleichzeitig im Blick behalten muss. Dass es uns dennoch gelungen ist, ist aus Sicht der aktuellen Forschung überraschend, denn wir kommen nun auch unterhalb der Beugungsgrenze ohne den AN-AUS-Trick aus. Zum ersten Mal sehen wir die Bewegung einer so kleinen Struktur unter dem Lichtmikroskop mit hinreichender räumlicher und zeitlicher Auflösung.

Meine Ergebnisse sind der Auftakt zu einem ersten Film der Proteine. Wir haben nun eine attraktive Methode, um dynamische Strukturbiologie experimentell zugänglich zu machen. Die positive Resonanz, die wir auf zwei Fachartikel in renommierten Journalen bekommen, das Interesse der Zuhörerschaft auf internationalen Symposien an unserem Thema und die Möglichkeit, ein Patent auf diese Methode anzumelden, zeigt, dass wir am Anfang einer vielversprechenden Entwicklung stehen.

Sicherlich, es gibt noch viel zu tun, doch die praktische Bedeutung der Messungen ist groß. In der Medikamentenentwicklung für gezielte Krebstherapien haben wir nun Zugang, um zu beobachten, wie ein Wirkstoff ein fehlgefaltetes Protein

wieder „zurechtbiegt“. Wenn wir die Verbindung von Form und Funktion der Proteine begreifen, ergeben sich neue Wege, um Krankheiten wie Krebs auf molekularer Ebene besser zu verstehen und vielleicht sogar zu behandeln. Ernst Abbe wäre begeistert – und wir sind gespannt, was uns der erste Film über die Proteine verraten wird!