

NOVA ACTA LEOPOLDINA

NEUE FOLGE, SUPPLEMENTUM 21

Ergebnisse des Leopoldina-Förderprogramms VI

Gunter S. Fischer / Andreas Clausing /
Volker ter Meulen (Hrsg.)



Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina, Halle (Saale) 2008
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

NOVA ACTA LEOPOLDINA

Abhandlungen der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina

Im Auftrage des Präsidiums herausgegeben von

HARALD ZUR HAUSEN

Vizepräsident der Akademie

NEUE FOLGE

SUPPLEMENTUM

NUMMER 21

Ergebnisse des Leopoldina- Förderprogramms VI

Tagung und Berichte der Stipendiaten

am 14. November 2008

Halle (Saale)

Herausgegeben von:

Gunter S. FISCHER (Halle/Saale)
Vizepräsident der Akademie

Andreas CLAUSING (Halle/Saale)
Förderprogramm-Koordinator

Volker TER MEULEN (Halle/Saale – Würzburg)
Präsident der Akademie

Mit 107 Abbildungen und 1 Tabelle



Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina, Halle (Saale) 2008
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

Redaktion: Dr. Michael KAASCH und Dr. Joachim KAASCH

**Die Schriftenreihe Nova Acta Leopoldina erscheint bei der Wissenschaftlichen Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Birkenwaldstraße 44, 70191 Stuttgart, Bundesrepublik Deutschland.
Jedes Heft ist einzeln käuflich!**

Die Schriftenreihe wird gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung sowie das Kultusministerium des Landes Sachsen-Anhalt.

Einbandbild:

Grand Prismatic Spring im Überflug.

Die *Grand Prismatic Spring* genannte heiße Quelle ist die größte ihre Art in den Vereinigten Staaten und die drittgrößte auf der Erde. Sie befindet sich im *Midway Geyser Basin* im Yellowstone-Nationalpark, Wyoming, USA. Sie besitzt einen Durchmesser von etwa 90 und eine Tiefe von annähernd 50 m. Die leuchtende Färbung rührt von pigmentierten Cyanobakterien in den Mikrobenmatten her, die am Rande des mineralreichen Wassers wachsen. Die Bakterien erzeugen die Farben von grün bis rot, die Intensität variiert mit dem Verhältnis von Chlorophyll zu Karotinoiden. Im Sommer sind die Matten überwiegend orange bis rot gefärbt, während sie im Winter meist dunkelgrün erscheinen. Aufgrund der hohen Temperatur von über 70 °C ist der zentrale Bereich des Beckens steril. Die dunkelblaue Farbe des Wassers im Beckeninnern beruht auf der Absorption vorwiegend roter und grüner Lichtanteile. Sie ist aufgrund der hohen Reinheit und Tiefe des Wasser im Zentrum des Beckens besonders intensiv ausgeprägt. (Quelle: Prof. Dr. Britta PLANER-FRIEDRICH, Universität Bayreuth 2008, vgl. S. 138 ff.)

Bibliografische Information Der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Die Abkürzung ML hinter dem Namen steht für Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina.

Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der fotomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen und dgl. in diesem Heft berechtigt nicht zu der Annahme, dass solche Namen ohne weiteres von jedermann benutzt werden dürfen. Vielmehr handelt es sich häufig um gesetzlich geschützte eingetragene Warenzeichen, auch wenn sie nicht eigens als solche gekennzeichnet sind.

© 2008 Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina e. V.
06019 Halle (Saale), Postfach 11 05 43, Tel. (03 45) 4 72 39 34
Hausadresse: 06108 Halle (Saale), Emil-Abderhalden-Straße 37
Herausgeber: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Harald ZUR HAUSEN, Vizepräsident der Akademie
Printed in Germany 2008
Gesamtherstellung: druckhaus köthen GmbH
ISBN: 978-3-8047-2518-8
ISSN: 0369-4771
Gedruckt auf chlorfrei gebleichtem Papier.

Inhalt

FISCHER, Gunter S.: Begrüßung und Einführung	7
CLAUSING, Andreas: Das Förderprogramm zwischen 2006 und 2008	9
Ergebnisse des Leopoldina-Förderprogramms VI Meeting ehemaliger Stipendiatinnen und Stipendiaten am 14. 11. 2008 Programm	15
Stipendiaten und Projekte im Zeitraum 2006 bis 2008.....	17
LANDFESTER, Katharina: Zur Zukunft der Lehre an Universitäten in Deutschland.....	199

Begrüßung und Einführung

Von Gunter S. FISCHER ML (Halle/Saale)

Vizepräsident der Akademie

Das Jahr 2008 war bisher für die Leopoldina eines der ereignisreichsten in ihrer Geschichte, und am Jahresausgang werden wir in unserer Akademie und auch für unser Förderprogramm beträchtliche Veränderungen konstatieren. Am 14. Juli wurde die Leopoldina in einer festlichen Veranstaltung in Halle in Anwesenheit des Bundespräsidenten Horst KÖHLER offiziell zur deutschen Nationalakademie ernannt. Neue Aufgaben stehen deshalb künftig bei Repräsentanz der deutschen Wissenschaft im Ausland, bei der Öffentlichkeitsarbeit und bei der Politikberatung an. Angesichts der globalen Herausforderungen ist es nur vernünftig, dass die Stimme der Wissenschaft aus Deutschland nun gebündelt präsentiert werden kann, um ihrer Bedeutung gerecht zu werden und im internationalen Kontext Gehör zu finden.

Ich bin davon überzeugt, dass die Anstrengungen der vergangenen Jahre bei der Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses durch die Leopoldina, also vor allem auch unser Förderprogramm, bei der Entscheidung für eine Nationalakademie in Halle in die Waagschale gelegt wurden.

Für unsere Stipendiaten ist diese Entwicklung erfreulich. Es ist sicherlich hilfreich, die Arbeit in einem Gastlabor als Stipendiat der Nationalakademie starten zu können. Wir müssen aber auch davon ausgehen, dass künftig die Qualität unsere Stipendiaten und die Ergebnisse des Förderprogramms besonders kritisch betrachtet werden. Uns ist vor einem deutlichen Hinsehen auf diese Kriterien nicht bange. Trotzdem müssen wir unsere Förderbedingungen den neuen Gegebenheiten in der Wissenschaftslandschaft anpassen. Die vielen Hinweise, die wir zur Verbesserung unserer Arbeit in den vergangenen Stipendiatentreffen erhalten haben, sind in die Grundsätze des Leopoldina-Förderprogramms 2009+ eingeflossen, das gegenwärtig im Präsidium diskutiert wird. Wir möchten vor allem vom Geldgeber, dem Bundesministerium für Bildung und Forschung, eine Verstetigung unseres Programms erreichen, um auch nach 2009 dem wissenschaftlichen Nachwuchs Fördermittel für den Start einer eigenen Karriere zur Verfügung stellen zu können. Dazu sind die notwendigen Schritte eingeleitet, und wir erwarten noch im Jahre 2008 eine Grundsatzentscheidung. Im Programm 2009+ sind viele neue Elemente enthalten. Wir werden mit einem Mentoring-Angebot versuchen, den Stipendiaten den Neustart in Deutschland zu erleichtern. Mit einem Rückkehrförderprogramm versuchen wir, die schwierige Übergangsphase zwischen der Beendigung der Arbeiten im Gastland und dem Anlaufen unabhängiger Arbeiten in einer deutschen Wissenschaftseinrichtung durch eine Zwischenförderung zu unterstützen. Die größere wissenschaftliche Breite, die sich die Leopoldina in den letzten Jahren durch den Aufbau neuer Sektionen im geisteswissenschaftlichen Bereich zugelegt hat, wird sich auch in einer Öffnung des Förderprogramms für diese Disziplinen manifestieren. Der Wegfall von starren Altersgrenzen bei den Bewerbungen ist nicht nur vom Gesetzgeber vorgegeben, sondern wird auch manchen Förderantrag ermöglichen, bei dem die Karrierestufen nicht stromlinienförmig dokumentiert sind. Nicht zuletzt sollen die finanziellen Rahmenbedingungen der Stipendien durch angepasste Förderrichtlinien flexibler gestaltet werden. Während dieses VI. Meetings zu den wissenschaftlichen Ergebnissen des Förderprogramms werden wir Gelegenheit haben, diese neuen Entwicklungen gemeinsam auf ihre Zukunftsfähigkeit zu prüfen.

Nach diesen Bemerkungen können wir eine Tagung erwarten, in der sich die gesamte Bandbreite der Herausforderungen an die Stipendiaten nach Zuerkennung des Stipendiums widerspiegelt: die Arbeit an einem neuen, international kompetitiven Projekt in einer neuen Wissenschaftsumgebung, die Etablierung arbeitsfördernder Lebensumstände in einem anderen Land, die Aufrechterhaltung der Wissenschaftsbeziehungen nach Deutschland und die Planung weiterer Karrierestufen nach dem Auslaufen des Stipendiums.

Wir erwarten deswegen eine interessante Tagung, in der die Bandbreite der präsentierten Forschungsfelder wieder sehr groß ist. Von der Geochemie und der Landnutzung in tropischen Arealen über chemische Wirkstoffstoffe und Laserphysik bis hin zur Funktion der Pathogenabwehr und Immunantwort im Menschen wird die Förderpolitik der Leopoldina deutlich: ausgewogene Multidisziplinarität mit der unbedingten Forderung nach hochrangiger Forschung und erstklassigen Forscherpersönlichkeiten.

Damit wir überhaupt solche Ergebnisse zur Tagung vorstellen können, stehen ganz am Anfang neben einem natürlich exzellenten Antrag die Stellungnahmen der externen Gutachter, ohne die kein Stipendienprogramm überleben kann. Großen Dank an diese Kolleginnen und Kollegen, deren selbstloser Einsatz an Zeit und Gedankenarbeit eine verantwortliche Stipendienvergabe überhaupt erst ermöglicht.

Besonderer Dank geht auch an das Bundesministerium für Bildung und Forschung und an seine Vertreter im Vergabeausschuss, die uns über die Jahre durch Rat und Tat unterstützt haben und natürlich durch großzügige Finanzierung nicht nur das Förderprogramm insgesamt, sondern auch diese Tagung ermöglichten.

Im Namen des gesamten Präsidiums der Leopoldina bedanke ich mich bei allen Stipendiaten und Gästen dieses Meetings für ihr Kommen und insbesondere bei Herrn Dr. Andreas CLAUSING und seinem Team für das Engagement im Förderprogramm und für die Organisation dieses Stipendiatentreffens.

Prof. Dr. Gunter S. FISCHER
Vizepräsident der Akademie
Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina
PF 11 05 43
06019 Halle (Saale)
Bundesrepublik Deutschland

Das Förderprogramm zwischen 2006 und 2008

Von Andreas CLAUSING (Halle/Saale)

Bereits zum 6. Mal veranstaltet die Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina ein Treffen ehemaliger Stipendiatinnen und Stipendiaten. Mit dem gleichzeitig vorgelegten Band *Ergebnisse des Leopoldina-Förderprogramms VI* sollen die Aktivitäten im Postdoktoranden-Förderprogramm seit dem 5. Treffen im November 2006 dokumentiert werden. Die vorgestellten Projekte der in diesem Zeitraum geförderten Nachwuchswissenschaftlerinnen und Nachwuchswissenschaftler bieten die Gelegenheit, die Vielfalt der Disziplinen, die erzielten Forschungsergebnisse und die Personen kennenzulernen.

Dank der Zuwendungen durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung ist es seit dem Jahr 1992 möglich, Stipendien an herausragende junge Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zu vergeben und damit deren berufliche Weiterentwicklung zu fördern. In einem Zeitraum von zwei bis drei Jahren setzen die Stipendiaten selbstständig ein Forschungsprojekt um, das in der Regel an ausländischen Wissenschaftseinrichtungen durchgeführt wird. Im Rahmen des Förderprogramms konnten so bereits über 320 Forscherinnen und Forscher unterstützt werden.

Seit dem Jahr 2003 liegen Projektleitung und Vorsitz der Vergabekommission in den Händen des Präsidenten Prof. Dr. Volker TER MEULEN ML und des Beauftragten des Präsidiums für das Förderprogramm, Vizepräsident Gunter S. FISCHER ML. Mit Beginn des Jahres 2003 übernahm Dr. Andreas CLAUSING die Position des Förderprogramm-Koordinators, und Frau Corinna SCHOLZ unterstützt die Arbeit im Förderprogramm seit 2004 als Sachbearbeiterin.

Das Postdoktoranden-Förderprogramm der Leopoldina hat sich in den Berichtsjahren 2007 und 2008 erfolgreich konsolidiert. Es hat seine Position als Bindeglied zwischen der Akademie und dem Wissenschaftsnachwuchs in Deutschland, und damit zur kommenden Generation der wissenschaftlichen Gesellschaft, weiter gefestigt. Die Haushaltsmittel erlauben derzeit eine ganzjährige Förderung von durchschnittlich 40 Personen. Mit den für die Zukunft vorgesehenen Zuwendungen wird es möglich sein, diese Zahl beizubehalten, sofern die Vergabekommission und die externen Gutachter von der Qualität der eingereichten Anträge und der Qualifikation der Antragsteller überzeugt sind.

In den Jahren 2006, 2007 und 2008 fanden jeweils vier Vergabesitzungen zum Förderprogramm in vierteljährlichem Abstand statt. Die Bearbeitungsgeschwindigkeit konnte damit hoch gehalten werden, und Bewilligungen können im Vergleich mit konkurrierenden Programmen in der Regel schneller ausgesprochen werden. Entscheidungen zu Bewerbungen werden durchschnittlich vier Monate nach Antragsingang gefällt.

Von den vorgelegten Anträgen wurden die Projekte der nachstehend aufgeführten Bewerberinnen und Bewerber seit Ende 2006 ausgewählt. Das Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendium wurde meist für eine Dauer von zwei Jahren zuerkannt und an folgende Personen neu vergeben:

- Dr. Kirsten BACIA, Institut für Biophysik, Technische Universität Dresden;
- Dr. Jacqueline BURRÉ, Biochemie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt (Main);

- Dr. Laura BUSSE, Deutsches Primatenzentrum (DPZ), Göttingen;
- Dr. Michael DECKER, Institut für Pharmazie, Friedrich-Schiller-Universität Jena;
- Dr. Jeroen S. DICKSCHAT, Department for Pharmaceutical Biotechnology, Universität des Saarlandes, Saarbrücken;
- Dr. Daniel M. D'SOUZA, Institut für Organische Chemie, Universität Heidelberg;
- Dr. Frank EDLICH, Max-Planck-Institut für Proteinfaltung, Halle (Saale);
- Dr. Ilka ENGELMANN, Institut für Virologie, Medizinische Hochschule Hannover (MHH);
- Dr. Nicole Christine FEHRENBACHER, Institute for Cancer Biology, Copenhagen, Danmark;
- Dr. Marcel G. FRIEDRICH, Max-Planck-Institut für Polymerforschung, Mainz;
- Dr. Sabine GORYNIA, Proteinchemie Bayer-Schering AG + Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin;
- Dr. Frank HANSES, Medizinische Klinik I der Uniklinik Regensburg;
- Dr. Julia HAUER, Dr.-von-Haunersches Kinderspital München;
- Dr. Saskia HUTTEN, Institut für Biochemie und Molekulare Zellbiologie, Universität Göttingen;
- Dr. Markus HERRMANN, Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum des Saarlandes, Saarbrücken;
- Dr. Maren VON KÖCKRITZ-BLICKWEDE, Helmholtz Centre for Infection Research, Department of Microbial Pathogenicity, Research Group Infection Immunology, Braunschweig;
- Dr. Holger KRESS, European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg;
- Dr. Robert KUMSTA, Theoretische und Klinische Psychobiologie, Universität Trier;
- Dr. Harald LANGER, Medizinische Klinik Abteilung III, Universitätsklinikum Tübingen;
- Dr. Albrecht MANEGOLD, Sektion Ornithologie, Forschungsinstitut Senckenberg, Frankfurt (Main)
- Dr. Marco METZGER, Anatomisches Institut/Division Tissue Engineering, Universität Tübingen;
- Dr. Barbara Katrin MÜLLER, Department für Chemie und Biochemie, Ludwig-Maximilians-Universität München;
- Dr. Christian MÜLLER, Institut für Physikalische Chemie, Universität Göttingen;
- Dr. Kevin PAGEL, Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin;
- Dr. Ralph PAULINI, Institut für Organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich;
- Dr. Steffen PAULS, Abteilung Limnologie, Forschungsinstitut Senckenberg, Gelnhausen;
- Dr. Bettina POSSELT, Astrophysikalisches Institut und Universitätssternwarte (AIU), Universität Jena;
- Dr. Julia RASTELLI, Institut für Klinische Molekularbiologie und Tumorgenetik, GSF – Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, München;
- Dr. Stefan RAUNSER, Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt (Main);
- Dr. Christian SCHMITZ, Max-Planck-Institut für Metallforschung, Stuttgart;
- Dr. Oliver SCHOLZ, Mikrobiologie, Institut für Biologie, Universität Erlangen-Nürnberg;
- Dr. Birgit SCHULZE, Max-Planck-Institut für chemische Ökologie, Jena;
- Dr. Dirk SCHURICHT, Institut für Theorie der Kondensierten Materie, Universität Karlsruhe;
- Dr. Oliver SCHUSTER, Anorganische und Analytische Chemie, Technische Universität München;

- Dr. Sebastian SEIFFERT, Institut für Physikalische Chemie, Technische Universität Clausthal;
- Dr. Christine SELHUBER-UNKEL, Biophysikalische Chemie, Universität Heidelberg und Max-Planck-Institut für Metallforschung Heidelberg;
- Dr. Lars SONNENBERG, Lehrstuhl für Angewandte Physik, Ludwig-Maximilians-Universität München;
- Dr. Thorsten STAFFORST, Organische Chemie, Universität Göttingen;
- Dr. Peter STAIB, Institut für Molekulare Infektionsbiologie, Universität Würzburg;
- Dr. Stefan VOLKENSTEIN, Otorhinologie, St.-Elisabeth-Hospital, Ruhr-Universität Bochum;
- Dr. Silke WISSING, Interfakultäres Institut für Biochemie, Universität Tübingen;
- Dr. Katharina ZWEIG, Arbeitsbereich für Paralleles Rechnen, Wilhelm-Schickard-Institut für Informatik, Universität Tübingen.

Wie schon in den zurückliegenden Jahren konnte wieder einigen Stipendiaten eine Verlängerung ihrer Förderung für einen Zeitraum zwischen einem Monat und einem Jahr gewährt werden. Voraussetzung war, dass die in der abgelaufenen Förderzeit erbrachten Leistungen positiv beurteilt wurden:

- Dr. Bogdan BEIROWSKI, Babraham Institute in Cambridge, Großbritannien, Fachrichtung Neurobiologie;
- Dr. Damian BROCKSCHNIEDER, Weizmann-Institut in Rehovot, Israel, Fachrichtung Neurobiologie;
- Dr. Holger BRÜGGEMANN, Pasteur-Institut Paris, Frankreich, Fachrichtung Molekularbiologie;
- Dr. Björn GÜCKER, Botanisches Institut der Bundesuniversität von Minas Gerais, Brasilien, Fachrichtung Limnologie;
- Dr. Kim HATTERMANN, University Laval, Centre de Recherche en Rhumatologie et Immunologie (CRR), Kanada, Fachrichtung Immunologie;
- Dr. Tobias MECKEL, Leiden Institute of Physics in Leiden, Niederlande, Fachrichtung Biophysik;
- Dr. Friedrich MÜHLTHAU, Department of Chemistry der University of Cambridge, Großbritannien, Fachrichtung Organische Chemie;
- Dr. Jürgen SCHAUBER, University of California in San Diego, USA, Fachrichtung Dermatologie;
- Dr. Roald Alberto TAGLE BERDAN, Freie Universität Brüssel in Belgien, Fachrichtung Geochemie;
- Dr. Simone TILMES, National Center for Atmospheric Research in Boulder (Colorado), USA, Fachrichtung Meteorologie.

Der größte Teil der geförderten Stipendiaten begab sich an Forschungseinrichtungen nach Übersee (rund 60%), die übrigen Personen hielten sich in europäischen Staaten auf. Die USA und Kanada führen weiterhin die Liste der gefragtesten Länder für Postdoktoranden-Projekte an (über 50%). Großbritannien hat an Attraktivität weiter gewonnen. Die Schweiz, Frankreich, Dänemark, Schweden, die Niederlande, Belgien und Spanien sind andere gesuchte Gastländer innerhalb der EU. Einzelne Stipendiaten wählten Gastgeber in Brasilien, Australien, Neuseeland, Israel und Südafrika aus.

Die in den vergangenen zwei Jahren bearbeiteten Projekte lassen sich den folgenden Teildisziplinen zuordnen: Astronomie/Astrophysik, Biochemie, Biophysik, Organische Chemie, Physikalische Chemie, Geowissenschaften, Immunologie/Infektionsbiologie, Molekular-/Zellbiologie, Ökologie/Limnologie, Physik, Theoretische Biologie, Evolutionsbiologie, Pharmakologie, Humanmedizin (mit: Endokrinologie, Oto-Rhino-Laryngologie, Humangenetik, Innere Medizin, Neurowissenschaften).

Nachwuchswissenschaftler aus den Leopoldina-Stammländern Schweiz und Österreich bewerben sich nur selten, da für sie durch die Beschränkung auf einen Gastort in Deutschland der Anreiz fehlt. Ausnahmen bilden Personen beider Nationalitäten, deren Lebensmittelpunkt sich seit langem, zumindest aber seit Beginn ihrer wissenschaftlichen Laufbahn, in Deutschland befindet.

Die Durchführung der Projekte an den Gasteinrichtungen verläuft für die Mehrzahl der Stipendiaten ohne gravierende Probleme. Der Stipendienverlauf bleibt jedoch wissenschaftlich bedingt immer auch individuell geprägt. So ergeben sich öfter Abweichungen im Projektverlauf bzw. Änderungen des Projektziels, und dadurch ergibt sich häufiger die Notwendigkeit für Verlängerungen oder Unterbrechungen der Forschungsarbeit.

Unter den Stipendiaten sind die Ansichten über aktuelle Möglichkeiten für eine erfolgreiche Arbeitsaufnahme nach der Rückkehr nach Deutschland geteilt. Die nur wenig verbesserte Arbeitsmarktlage bei den „harten“ Naturwissenschaften drängt viele Jungwissenschaftler weiter ins Ausland. Die Rückkehr fällt nach eigenem Bekunden vor allem den Stipendiaten aus den USA und aus Großbritannien schwer. Die in diesen Ländern noch als gut eingeschätzten Arbeitsbedingungen führen zunehmend dazu, den Aufenthalt weiter auszudehnen, da dort in gleicher Weise qualifizierte Personen schlechter zu finden sind. Entsprechend werden Stipendiaten, die sich bereits in einer Arbeitsgruppe bewährt haben, aktiv umworben. Eine Finanzierung am bisherigen Gastinstitut ist immer wieder für längere Zeiträume möglich. Das ist auch als ein Beleg für die Qualität der von der Akademie ausgewählten Kandidaten zu werten. Die längere Abwesenheit erschwert es den rückkehrwilligen Forschern nach eigener Angabe dann aber, in Deutschland wieder den Anschluss und Arbeit zu finden. Der Erfüllung des Wunsches zur Rückkehr nach Deutschland stehen oftmals bürokratische Hemmnisse entgegen. Insbesondere die oft recht langen Entscheidungszeiträume, selbst für niedrig dotierte Stellen, an den deutschen Hochschulen werden immer wieder kritisiert (7 Monaten in Deutschland stehen hier oft 2 Wochen in Großbritannien für vergleichbare Entscheidungen gegenüber).

Das Ziel des Leopoldina-Förderprogramms, ausgezeichnete Wissenschaftler im Ausland zu qualifizieren und dann für Stellen in Deutschland attraktiver zu machen, wird deshalb nicht immer sofort erreicht. Die Mehrzahl der Stipendiaten kehrte allerdings auch 2007 nach Abschluss der Förderung nach Deutschland zurück. Die Tendenz, dies erst nach einer zeitlich begrenzten Verlängerung von weiteren ein bis drei Jahren zu tun, welche in der Regel durch das Gastinstitut ermöglicht wurde, ist aber weiterhin vorhanden. Auch ein Ortswechsel im Ausland nach Abschluss der Förderung wird inzwischen häufiger vorgenommen.

Die Anzahl der Stipendiaten, die nach Auslaufen der Förderung mittelfristig nicht nach Deutschland zurückkehren, ist weiter hoch. Von den Leopoldina-Stipendiaten, deren Förderung 2007 auslief, befanden sich zum Jahreswechsel noch 40% im Ausland, ausschließlich in den USA und in Großbritannien. Der sogenannte „Brain Drain“ spielt also auch unter den Leopoldina-Stipendiaten eine anhaltende Rolle. Auch von den Absolventen des Jahres 2006 verblieben viele noch im Ausland.

Um diesem Trend entgegenzuwirken, hat das Förderprogramm in den vergangenen Jahren den Stipendiaten in den USA neue Rückkehrchancen eröffnet. Leopoldina-Stipendiaten

können nun, wie Stipendiaten anderer deutscher Förderorganisationen in den USA, an den „Treffen deutscher Nachwuchswissenschaftler in Nordamerika“ teilnehmen. Diese werden von GAIN (*German Academic International Network*) und GSO (*German Scholar Organization*) in jährlichem Wechsel an der West- oder Ostküste durchgeführt. Beide Organisationen haben es sich u. a. zur Aufgabe gemacht, deutsche Stipendiaten in den USA über die Möglichkeiten zur Rückkehr nach Deutschland zu informieren. Bei den Veranstaltungen treffen sich Wissenschaftler und deutsche Wissenschaftsförderer. Sie stellen somit ein Forum dar, dessen Schwerpunkt auf dem Thema „Karrierespektiven in Deutschland“ liegt.

Die Gelegenheit, das geförderte Projekt vorzeitig zu beenden und eine Arbeit in Deutschland aufzunehmen, wird jährlich von zwei bis drei Stipendiaten wahrgenommen. Sie beanspruchten ihre Förderung daher nicht über den gesamten Zeitraum.

Bei den angebotenen Stellen in Deutschland, die von ehemaligen Stipendiaten besetzt werden, handelt es sich meist um befristete Projektstellen, Juniorprofessuren und Gruppenleiterpositionen, die u. a. seit einigen Jahren öfter im Rahmen des Emmy-Noether-Programms der DFG gefördert werden. Auch dies spricht für die Qualität der Arbeit der Leopoldina-Stipendiaten und die erfolgreiche Auswahl geeigneter Persönlichkeiten. Nur im Bereich der Medizin stehen nach einer Rückkehr den Geförderten auch häufiger permanente Arbeitsplätze zur Verfügung, da einige Stipendiaten für die Durchführung des Projektes beurlaubt waren. Einzelne Stipendiaten kommen in der Industrie unter, auch hier oftmals in Großbritannien, und erhalten dort auch häufiger *Lecturer*-Positionen an Universitäten.

Insgesamt haben viele Ehemalige mittlerweile eine erfolgreiche weitere wissenschaftliche Karriere absolviert. Nach unseren Informationen (einige Ehemalige sind trotz intensiver Suche nicht mehr aufzufinden) werden folgende Positionen von ehemaligen Stipendiatinnen und Stipendiaten bekleidet: 9 Professuren, 5 Juniorprofessuren, 3 *Associate Professors*, 14 *Assistant Professors* oder Hochschulassistenten, 4 Hochschuldozenten bzw. Gastprofessoren, 14 Nachwuchsgruppen- oder Laborleiter, 13 wissenschaftliche Mitarbeiter in Forschungseinrichtungen und Projekten, 9 Oberärzte, 3 Assistenzärzte, 14 haben die Habilitation abgeschlossen und sind als Privatdozenten tätig, dazu kommen noch Arbeits- und Fachgruppenleiter. Einige Ehemalige haben eigene Firmen gegründet oder bekleiden Positionen wie etwa als Produkt- oder Projektmanager, als *Chief Scientific Officer* und als *Associate Director* in der Industrie.

Einige Ehemalige sind in angesehenen Förderprogrammen tätig: Emmy-Noether-Programm (7×), Heisenberg-Stipendium (1×), Marie-Curie-Excellence-Team (1×), *Helmholtz Young Investigator Group Leader* (1×), Arbeitsgruppe Volkswagen-Stiftung (1×) und Liebig-Stipendium des Fonds der Chemischen Industrie (1×).

Diese Angaben sind nicht statisch, sondern sind Veränderungen des Arbeitsplatzes oder der Position an der Arbeitsstätte unterworfen.

Die Profilbildung und die Aktivitäten ehemaliger Stipendiaten, die sich noch in einer Orientierungs- oder Weiterqualifikationsphase befinden, werden auch in Zukunft nach dem eigentlichen Förderzeitraum im Rahmen der Nachförderung unterstützt. Wissenschaftliche Ergebnisse, die direkt oder in Folge der Förderung entstanden sind, können auf Kongressen präsentiert oder auch durch Publikationsbeihilfen in die wissenschaftliche Öffentlichkeit eingebracht werden. Es werden darüber hinaus auch Arbeitsaufenthalte ermöglicht, um Kooperationen aufrechtzuerhalten oder während der Postdoktoranden-Phase begonnene Projekte weiterzuführen.

Zu den Veranstaltungen gehört auch die Leopoldina-Jahresversammlung, im Jahr 2007 „Natur und Migration“, an der ebenfalls ehemalige Stipendiaten teilnahmen. Die Beteili-

gungsmöglichkeit soll in Zukunft ausgebaut werden. Tagungen und andere Veranstaltungen, die von der Akademie ausgerichtet werden, dienen gleichfalls dazu, den Kontakt zur Akademie zu pflegen, wenn der Wunsch dazu besteht.

PD Dr. Andreas CLAUSING
Förderprogramm-Koordinator
Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina
PF 11 05 43
06019 Halle (Saale)
Bundesrepublik Deutschland
Tel.: +49 3 45 4 72 39 50/51
Fax: +49 3 45 4 72 39 59
E-Mail: stipendium@leopoldina-halle.de
Homepage: <http://www.leopoldina-halle.de/>

Programm des Leopoldina-Meetings

Ergebnisse des Leopoldina-Förderprogramms VI

Freitag, 14. November 2008

- ab 8.00 Anmeldung im Tagungsbüro
- 8.30 Eröffnung
Gunter S. FISCHER ML
Vizepräsident der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina
- 9.00 Arne TRAUlsen (Plön)
Mathematische Modelle des Blutsystems
- 9.20 Björn GÜCKER (Berlin)
Auswirkungen von Landnutzungsänderungen auf strukturelle und funktionelle Eigenschaften tropischer Cerradobäche
- 9.40 Britta PLANER-FRIEDRICH (Bayreuth)
Ein giftiger Cocktail aus Yellowstones heißen Quellen – die Bedeutung von Thioarsenaten in der Umwelt
- 10.00 Pause/Posterpräsentation
- 10.30 Daniela DIETERICH (Magdeburg)
Found in Translation –
In-situ-Identifizierung und Visualisierung neusynthetisierter Proteome
- 10.50 Roland ZAHN (Manchester/UK)
Die funktionelle Neuroanatomie sozialer Begriffe und Werte
- 11.10 Pause/Posterpräsentation
- 11.30 Stefanie GRÄFE (Wien)
Attosekunden-Elektronenlokalisierungsdynamik in laserinduzierter Elektronen-Rekollision
- 11.50 Matthias DANCKWERTS (Jena)
Nichtlineare Optische Antennen in der Nanoskopie
- 12.10 Mittagspause/Posterpräsentation
- 13.30 Holger BRÜGGEMANN (Berlin)
Virulenzstrategien zur Vermehrung und Verbreitung des Erregers der Legionärskrankheit, *Legionella pneumophila*
- 13.50 Jeroen DICKSCHAT (Braunschweig)
Neue Aspekte in der Biosynthese der Lankacidin-Antibiotika
- 14.10 Christian DUCHO (Göttingen)
Einblicke in die Wirkstofffabrik der Natur –
Zur Biosynthese von Carbapenem-Antibiotika

- 14.30 Pause/Posterpräsentation
- 14.50 Michael MOOS (Dortmund)
Expressionsmuster und Funktionen des Cysteinylleukotrien-Rezeptors 2 (CysLT2R)
- 15.10 Tobias FISCHER (Lübeck)
Melatonin-Metabolismus und differentielle protektive Effekte von Melatonin gegen UV-induzierte molekulare und zelluläre Schäden in Keratinozyten
- 15.30 Jürgen SCHAUBER (München)
Die Rolle von Vitamin D3 in der Regulation der angeborenen Immunabwehr der Haut
- 15.50 Pause/Posterpräsentation
- 16.20 Katharina LANDFESTER (Mainz)
Zur Zukunft der Lehre an deutschen Universitäten
anschließend Diskussion

ab ca. 18.30 gemeinsames Abendessen und Ausklang

Stipendiaten und Projekte im Zeitraum 2006 bis 2008

Nachfolgend sind die Namen der Stipendiatinnen und Stipendiaten mit ihren Projekttiteln aufgeführt, die von der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina zwischen Herbst 2006 und Herbst 2008 gefördert wurden. Sie finden nähere Informationen zu den Personen und ihrer Arbeit, wobei die Geförderten nach ihren Nachnamen in alphabetischer Reihenfolge aufgelistet sind. Darunter sind auch diejenigen ehemalig Geförderten zu finden, die ihre Projekte in Vorträgen während des Meetings vorstellten.

ARNOLD, Cord L.	19	KRESS, Holger	107
BACIA, Kirsten	21	KUMSTA, Robert	110
BEIROWSKI, Bogdan	23	LANGER, Harald F.	112
BRÜGGEMANN, Holger	25	MANEGOLD, Albrecht	114
BURRÉ, Jacqueline	30	MECKEL, Tobias	116
BUSSE, Laura	33	METZGER, Marco	118
BUSSEN, Markus	35	MOOS, Michael P. W.	121
DANCKWERTS, Matthias	37	MÜHLTHAU, Friedrich A.	125
DANIEL, Carolin	39	MÜLLER, Barbara Katrin	127
DECKER, Michael	42	MÜLLER, Christian Werner	129
DICKSCHAT, Jeroen S.	45	PAGEL, Kevin	132
DIETERICH, Daniela C.	51	PAULS, Steffen U.	135
DONNER, Tobias H.	57	PLANER-FRIEDRICH, Britta	138
D’SOUZA, Daniel M.	60	POSSELT, Bettina	141
DUCHO, Christian	64	RASTELLI, Julia	143
EDLICH, Frank	68	RAUNSER, Stefan	145
FEHRENBACHER, Nicole Christine	70	RIEDE, Tobias	147
FISCHER, Tobias W.	72	SCHAUBER, Jürgen	149
FRIEDRICH, Marcel G.	76	SCHMITZ, Christian	155
GLÄSCHER, Jan	78	SCHOLZ, Oliver	158
GORYNIA, Sabine	81	SCHÖNWIESNER, Marc	161
GRÄFE, Stefanie	83	SCHULZE, Birgit	163
GÜCKER, Björn	85	SCHURICHT, Dirk	166
HANSES, Frank	87	SCHUSTER, Oliver	169
HATTERMANN, Kim	89	SELHUBER-UNKEL, Christine	172
HAUER, Julia	92	SONNENBERG, Lars	174
HERRMANN, Markus	94	STAFFORST, Thorsten	176
HUTTEN, Saskia	99	STAIB, Peter	178
KELLER, Matthias	102	TAGLE BERDAN, Roald Alberto	180
KÖCKRITZ-BLICKWEDE, Maren VON	104	THOMAS, Daniel	182

TRAULSEN, Arne	185	ZAHN, Roland	193
VOLKENSTEIN, Stefan	188	ZWEIG, Katharina	197
WISSING, Silke.....	191		

Informationen zu der Arbeit von Ralph PAULINI sind der Nova Acta Leopoldina Supplementum Nr. 20 (2006) zu entnehmen.

Dr. rer. nat. Cord L. Arnold

(BMBF LPD 9901/8-181)

Geboren am 12. 12. 1977 in Hannover. 10/1998–12/2003 Physikstudium, Studienrichtung Technische Physik, Gottfried-Wilhelm-Leibniz-Universität Hannover. 9/2001–2/2002 Universität Kopenhagen (Dänemark). 11/2002–11/2003 Diplomarbeit am Laser-Zentrum Hannover e.V. 1/2004–10/2007 Promotionsstudium Physik, Gottfried-Wilhelm-Leibniz-Universität Hannover. 12/2007 Promotion an der Gottfried-Wilhelm-Leibniz-Universität Hannover. 2007 Preis für die beste Dissertation am Laser-Zentrum Hannover. Ab 9/2007 Stipendiat der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina im Laboratoire d'Optique Appliquée (LOA) in Palaiseau (Frankreich) bei Prof. Dr. André MYSYROWICZ.



Projekt:

Joint Experimental and Numerical Approach to the Controlled Generation of Near Single-cycle Laser Pulses via Filamentation in Gases

Filamentierung ultrakurzer Laserpulse in Gasen erwies sich kürzlich als neuartige Methode zur effektiven Kompression nahinfraroter Laserpulse auf eine zeitliche Dauer nahe dem fundamentalen Limit nur einer optischen Schwingung bei gleichzeitig erstaunlich hoher Pulsenergie, hervorragendem Strahlprofil und überraschend geringen Fluktuationen. Laserpulse von deutlich unter 10 Femtosekunden (fs) Pulsdauer mit Pulsenergien im Bereich einiger Milli-Joule haben größte Bedeutung in der zeitaufgelösten Attosekunden-Spektroskopie, der relativistischen Laser-Material-Wechselwirkung und der Hochfeldphysik. Obwohl sich die Filamentierung als höchst geeignete Methode etabliert hat, bleibt doch die gezielte und reproduzierbare Erzeugung von Pulsen dieser Charakteristik eine große Herausforderung. Ein umfassendes Verständnis der komplexen nichtlinearen Effekte, die zur Kompression im Filament ausgenutzt werden können, ist von höchstem wissenschaftlichen und technologischen Interesse und daher das Hauptziel des geförderten Projektes. In besonderem Maße soll numerisches Modellieren der raum-zeitlichen Dynamik im Filament mit gleichzeitigen experimentellen Bestrebungen zur Erzeugung möglichst kurzer sowie energiereicher Pulse ineinander greifen.

Unter Filamentierung wird ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Selbstfokussierung als Folge des optischen Kerr-Effektes und Plasma-Defokussierung auf Grund der nichtlinearen Erzeugung freier Elektronen durch Multiphotonen- und Tunnelionisation verstanden. Die Wechselwirkung dieser beiden nichtlinearen Effekte führt unter Überwindung der Diffraktion zum räumlichen Einschnüren eines hoch-energetischen ultrakurzen Laserpulses auf einen kleinen Strahldurchmesser, das Filament. Die Länge des erzeugten Filamentes ist abhängig von der Pulsenergie und kann ein Vielfaches der Rayleigh-Länge betragen. In Luft sind bereits Filamente über Distanzen von mehreren Kilometern erzeugt worden. Im Inneren des Filamentes werden Intensitäten von 10^{13} – 10^{14} Wcm⁻² erreicht; dies stellt ideale Bedingungen für das effiziente Abläufen nichtlinearer Effekte, wie Superkontinuum-Generation,

Erzeugung Harmonischer und Vier-Wellen-Mischprozesse, dar. Zusätzlich erfährt der filamentierende Laserpuls komplizierte raum-zeitliche Verformungen, die zeitliches Auftrennen, konische Emission und Selbstkompression zur Folge haben können. Abgesehen von der faszinierenden Physik hat die Filamentierung ultrakurzer Laserpulse mittlerweile eine Reihe potentieller Anwendungen, wie die Erzeugung kohärenter THz-Strahlung, das Messen atmosphärischer Verschmutzungen sowie die Kompression von Pulsen, hervorgebracht.

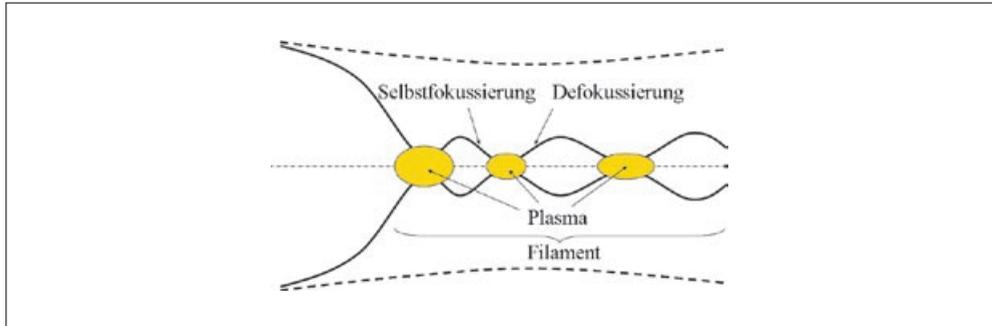


Abb. 1 Dynamisches Gleichgewicht zwischen Selbstfokussierung und Plasma-Defokussierung (COUAIROUN und MYSYROWICZ 2007).

Das geförderte Projekt widmet sich dem Verständnis und der Optimierung der nichtlinearen Effekte im Filament, die zur Kompression von Pulsen auf eine Dauer nur weniger optischer Schwingungszyklen ausgenutzt werden können. Das Projekt umfasst sowohl experimentelle als auch numerische Methoden. Einen Hauptteil nimmt dabei der experimentelle Aufbau zum optimierten und reproduzierbaren Erzeugen von Pulsen der gewünschten Charakteristik in Anspruch. Die experimentellen Bestrebungen werden zu jedem Zeitpunkt im Laufe des Projektes durch die gleichzeitigen numerischen Modellierungen gestützt und gelenkt. So sollen trotz der Vielzahl experimentell zugänglicher Parameter schnell optimierte Bedingungen zur Erzeugung möglichst kurzer sowie energiereicher Pulse identifiziert werden.

Das Projekt wird in der Arbeitsgruppe von Professor André MYSYROWICZ am *Laboratoire d'Optique Appliquée* (LOA) in Paris/Palaiseau durchgeführt. Die theoretischen sowie numerischen Bestrebungen werden in Zusammenarbeit mit Arnaud COUAIROUN vom benachbarten *Centre de Physique Théorique* der *École Polytechnique* durchgeführt.

Literatur

COUAIROUN, A., and MYSYROWICZ, A.: Femtosecond filamentation in transparent media. *Physics Reports* 441, 47–189 (2007)

Publikationen

ARNOLD, C. L., HEISTERKAMP, A., ERTMER, W., and LUBATSCHOWSKI, H.: Numerical modeling of nonlinear plasma formation in high-NA micromachining of transparent materials and biological cells using ultrashort laser pulses. *Proc. SPIE Commercial and Biomedical Applications of Ultrafast Lasers VIII*, 6881 (2008)

ARNOLD, C. L., ERTMER, W., and LUBATSCHOWSKI, H.: Modeling of ultrashort pulse propagation and nonlinear plasma formation in transparent Kerr media using realistic initial conditions. *Proc. SPIE Commercial and Biomedical Applications of Ultrafast Lasers VII*, 6460 (2007)

ARNOLD, C. L., HEISTERKAMP, A., ERTMER, W., and LUBATSCHOWSKI, H.: Computational model for nonlinear plasma formation in high NA micromachining of transparent materials and biological cells. *Opt. Express* 15/16, 10303–10317 (2007)

Dr. rer. nat. Kirsten Bacia

(BMBF-LPD 9901/8-160)

Geboren 1976. 1995–2001 Biochemiestudium, Diplom (Universität Hannover). 1998–1999 Fulbright-Stipendium, Master of Arts in Biophysik, The Johns Hopkins University, Baltimore, MD (USA). 2001–2005 Promotion bei Prof. Dr. Petra SCHWILLE (Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen, Max-Planck-Institut für Zellbiologie und molekulare Genetik und BIOTEC, Dresden), Dr. rer. nat. (Technische Universität Dresden). Seit 5/2007 Postdoktorand bei Prof. Dr. Randy SCHEKMAN, HHMI & University of California at Berkeley, CA (USA), Postdoktoranden-Stipendium der Leopoldina.



Projekt:

Rekonstitution und Beobachtung der Bildung von intrazellulären Transportvesikeln

Innerhalb eukaryotischer Zellen findet ein reger Transport von Syntheseprodukten statt. Beispielsweise werden Proteine, die für die äußere Zellmembran (Plasmamembran) bestimmt sind, zunächst am endoplasmatischen Retikulum (ER) synthetisiert und dort in Transportvesikel verpackt, die von einer Membran umhüllt sind. Anschließend werden diese Transportvesikel zum Golgi-Apparat gebracht, ihre „Ladung“ übernommen und modifiziert, und schließlich zur Plasmamembran befördert.

Bei der Bildung von Transportvesikeln aus Membranen spielen in vielen Fällen Proteinhüllen eine Rolle, welche die zum Transport bestimmten Proteine sammeln, aus der Ausgangsmembran ein Vesikel formen und möglicherweise helfen, dieses abzuschneiden. Bekannte Proteinhüllen sind die Clathrin-Hülle sowie COPI und COPII. COPII vermittelt die Vesikelbildung am ER und ist Gegenstand dieses Projektes. Ebenfalls von Interesse ist der Proteinkomplex Exomer, der für den Transport bestimmter Proteine in Hefe vom Golgi-Apparat zur Plasmamembran benötigt wird. Bei diesem Proteinkomplex, der kürzlich im Labor von Randy SCHEKMAN identifiziert wurde, ist noch nicht klar, ob und wie er als Proteinhülle wirkt. Eine Gemeinsamkeit der Proteinkomplexe Exomer, COPI und COPII besteht darin, dass sie alle eine kleine GTPase besitzen (Arf1 bei Exomer und COPI; Sar1 bei COPII). Deren N-terminale amphipatische Helix wird bei der Bindung des energiereichen Nukleotids GTP freigelegt und bettet sich direkt in die Membran ein. Dies initiiert zum einen die Rekrutierung weiterer Bestandteile der Proteinhüllen. Zum anderen nimmt die Membrankrümmung zu, wobei der Mechanismus noch genauer untersucht werden muss.

Durch den Einsatz von genetischen, zell- und molekularbiologischen, biochemischen und strukturanalytischen Methoden sind viele Aspekte der Funktion von COPII ergründet worden. Um einzelne Prozesse untersuchen zu können und um die aufgestellten Modelle zur Vesikelbildung zu testen, versucht man, die Vorgänge bei der COPII-vermittelten Vesikelbildung in einem zellfreien, kontrollierbaren System nachzustellen (*In-vitro*-Rekonstitution). Hierfür sind künstliche Membransysteme erforderlich, da nicht nur Proteine und GTP eine Rolle spielen, sondern die Proteine auch direkt mit der Lipidmembran interagieren.

Derartige künstliche Membranen lassen sich mit verschiedenen Geometrien herstellen. Für biochemische Versuche werden meist größere Vesikel verwendet (*Large Unilamellar Vesicles*, LUVs) und die Membranbindung von COPII-Proteinen per Zentrifugation untersucht (*flotation assay*). Dabei werden die membrangebundenen Proteine als Teilchen geringerer Dichte von den ungebundenen Proteinen getrennt. Beim biochemischen *budding assay* wird darüber hinaus eine Population kleiner Vesikel von größeren Vesikeln getrennt. Dabei wurde bisher davon ausgegangen, dass die kleinen Vesikel sich von den größeren durch die Wirkung der COPII-Hülle abgeschnürt haben. In einem weiteren etablierten Experiment wird die Proteinbindung mit Hilfe von Lichtstreuung verfolgt.

Da keines dieser Experimente eine direkte Beobachtung der Membranomorphologie ermöglicht und beim Einsatz von Elektronenmikroskopie bestimmte Einschränkungen und Artefakte zu berücksichtigen sind, wird im derzeitigen Projekt der Ansatz verfolgt, noch größere Vesikel (*Giant Unilamellar Vesicles*, GUVs, > 1 Mikrometer) einzusetzen, welche mit Hilfe eines elektrischen Wechselfeldes hergestellt werden. Diese GUVs erlauben, die Bindung von COPII und deren Auswirkung auf die Membranomorphologie fluoreszenzmikroskopisch zu beobachten. Als COPII-Proteine werden die entsprechenden Proteine aus der Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) verwendet, die rekombinant exprimiert und aufgereinigt werden.

Auf diese Weise wurde beobachtet, dass sowohl die GTPase des COPII-Komplexes Sar1 als auch die GTPase der COPI- und Exomer-Komplexe, Arf1, im GTP-gebundenen Zustand eine ausgeprägte Bildung von dünnen, schlauchförmigen Membranstrukturen verursachen.

In Gegenwart des kompletten COPII-Kernkomplexes und einem nicht-hydrolysierbaren GTP-Analogon bilden sich des Weiteren dünne, starre, schlauchförmige Strukturen aus, die nicht spontan in Vesikel zerfallen. Dies deutet darauf hin, dass die üblichen COPII-Proteine nicht hinreichend für eine Abschnürung des Vesikels sind, oder zumindest noch eine kontrollierte GTP-Hydrolyse stattfinden muss. Es ist zu vermuten, dass im bisher verwendeten *budding assay* mit LUVs die COPII-bedeckten dünnen Membranschläuche durch den Einfluss des Zentrifugationsschrittes zerfallen. Dies führte zu der Annahme, dass sich die COPII-Vesikel abgeschnürt hätten.

Da eine Vielzahl von Proteinen den COPII-Transportweg durchlaufen, hat diese Proteinhülle Bedeutung für verschiedene Krankheiten. So hängt die *Chylomicron-Retention-Krankheit* (CMRD) mit einer Mutation im SAR1B-Gen und die *Craniolenticulosutural Sysplasia* (CLSD) mit einer Mutation im SEC23A-Gen zusammen. *In-vitro*-Rekonstitutionsexperimente, die auf verschiedenen künstlichen Membranen basieren, können in der Zukunft dazu beitragen, die Auswirkungen solcher Mutationen auf den COPII-Komplex und seine Funktionsweise im Detail zu verstehen.

Publikationen

SCHÖN, P., GARCIA-SAEZ, A. J., MALOVRH, P., BACIA, K., ANDERLUH, G., and SCHWILLE, P.: Equinatoxin II permeabilizing activity depends on the presence of sphingomyelin and lipid phase coexistence. *Biophys. J.* 95/2, 691–698 (2008)

BACIA, K., and SCHWILLE, P.: Practical guidelines for dual-color fluorescence cross-correlation spectroscopy. *Nature Protocols* 2/11, 2842–2856 (2007)

Dr. med. Bogdan Beirowski

(BMBF-LPD 9901/8-28)

Geboren am 2. 4. 1977. 1998–2005 Studium der Medizin an der Universität Köln. 2005 Promotion und Approbation. Leopoldina-Stipendiat für zweieinhalb Jahre seit November 2005. Projektarbeit im Babraham Institute am „Laboratory of neuronal development and survival“ in Cambridge (Großbritannien).



Project:

Rescue of Axons in Neurodegenerative Disorders and the Underlying Mechanisms

Wallerian degeneration, the characteristic degeneration sequence of nerve fibers separated from their cell bodies, was described by WALLER in 1850 and further investigated by RAMÓN Y CAJAL. In recent years it became apparent that Wallerian degeneration is initiated by an active process sharing features with apoptosis, and depends on properties intrinsic to the axon.

Further research showed that Wallerian degeneration is mechanistically related to axon loss in many neurodegenerative disorders such as multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, Charcot-Marie-Tooth disease, toxic neuropathy, and possibly Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. The work of the host laboratory and collaborators confirmed this, showing that the neuroprotective mutation *Wld^S* alleviates diverse PNS and CNS axon disorders, including dysmyelination and dying back neuropathy in *P0*^{-/-} mutants, motor neuropathy in *pnm* mutants, axon degeneration in Vincristine and Taxol toxicity, Parkinson's disease and in gracile axonal dystrophy (*gad*) mice.

So far, axons have been preserved by *Wld^S* in neurodegenerative disorders for just a few additional weeks. Thus, one primary aim of this project is to determine whether there are types, levels and durations of acute insult from which *Wld^S* axons can survive permanently and recover.

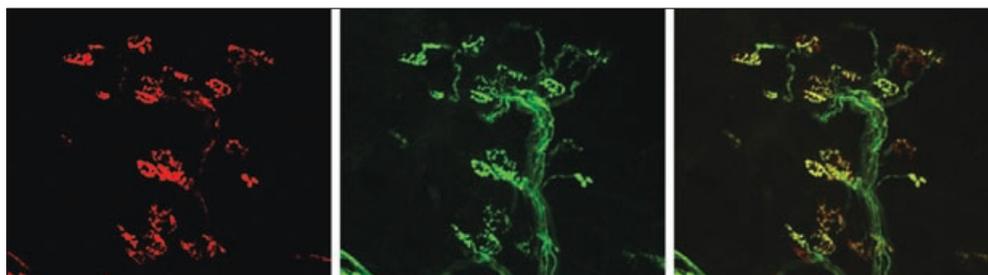


Fig. 1 Confocal projection of denervated but still functionally neuromuscular junction in FDB leg muscle (flexor digitorum brevis) from transgenic mouse expressing a variant of the neuroprotective *Wld^S* protein six days following sciatic nerve transection. Acetylcholine receptors are labeled with TRITC-alpha-bungarotoxin (red) and synaptic vesicles with the activity dependent styryl dye AM1-43 (green). Colocalization indicates intact motor endplates. In contrast, wild-type mice do not show any AM1-43 signals at this time after sciatic nerve transection (not shown).

Intriguingly, despite its ability to protect distal axons isolated by transection, the Wld^S protein is detectable only in the nucleus of neurons. The pathway linking nuclear Wld^S protein to axonal protection remains unclear. There is good reason to believe that Wld^S alters the expression of an axonal effector protein. Thus, we additionally intend to use gene profiling to identify axonal effectors that are altered by Wld^S, revealing new opportunities for intervention in the pathway that regulates axon degeneration in humans.

The progressive nature of Wallerian degeneration has long been a controversial topic. Understanding the pattern of spread and identifying the origin of degeneration should provide insights into the mechanisms of axon death and lead to investigation into possible means of altering Wallerian degeneration. Thus, the third aim of the project is to carry out a full morphological characterization of the process of Wallerian degeneration in nerve explant cultures exploiting the novel method of real-time observation of YFP positive axons in conjunction with fluorescently labeled Schwann cells.

Publications

- BEIROWSKI, B., BABETTO, E., GILLEY, J., MAZZOLA, F., JANECKOVA, L., MAGNI, G., RIBCHESTER, R. R., and COLEMAN, M. P.: Non-nuclear WldS determines its neuroprotective efficacy for axons and synapses. *J. Neurosci.* (under review)
- BEIROWSKI, B., BABETTO, E., COLEMAN, M. P., and MARTIN, K. M.: The WldS gene delays axonal but not somatic degeneration in a rat glaucoma model. *Eur. J. Neurosci.* (in press)
- CONFORTI, L., FANG, G., BEIROWSKI, B., WANG, M. S., SORCI, L., ASRESS, S., ADALBERT, R., SILVA, A., BRIDGE, K., HUANG, X. P., MAGNI, G., GLASS, J. D., and COLEMAN, M. P.: NAD(+) and axon degeneration revisited: Nmnat1 cannot substitute for Wld(S) to delay Wallerian degeneration. *Cell Death Differ.* *14/1*, 116–127 (2007)
- BEIROWSKI, B., WEBER, M., and GROSS, O.: Chronic renal failure and shortened lifespan in COL4A3+/- mice: An animal model for thin basement membrane nephropathy. *J. Amer. Soc. Nephrol.* *17/7*, 1986–1994 (2006)
- COLEMAN, M. P., ADALBERT, R., and BEIROWSKI, B.: Neuroprotective strategies in MS: lessons from C57BL/Wld(S) mice. *J. Neurol. Sci.* *233/1–2*, 133–138 (2005) (Review)
- BEIROWSKI, B., ADALBERT, R., WAGNER, D., GRUMME, D. S., ADDICKS, K., RIBCHESTER, R. R., and COLEMAN, M. P.: The progressive nature of Wallerian degeneration in wild-type and slow Wallerian degeneration (WldS) nerves. *BMC Neuroscience* *6/1*, 6 (2005)
- MI, W. *, BEIROWSKI, B. *, GILLINGWATER, T. H., ADALBERT, R., WAGNER, D., GRUMME, D., OSAKA, H., CONFORTI, L., ARNHOLD, S., ADDICKS, K., WADA, K., RIBCHESTER, R. R., and COLEMAN, M. P.: The slow Wallerian degeneration gene, WldS, inhibits axonal spheroid pathology in gracile axonal dystrophy mice. *Brain* *128*, 405–416 (2005) (*joint first authorship)

Dr. rer. nat. Holger Brüggemann

(BMBF LPD 9901/8-101)

Geboren 1972 in Neuenhaus. 1999 Diplom in Biologie (Universitäten Göttingen und Birmingham, Großbritannien). 2000–2003 Dissertation über das Genom des Tetanus-Erregers *Clostridium tetani* (Institut für Mikrobiologie und Genetik, Universität Göttingen). 2003–2004 Postdoktorand am Institut für Molekulare Infektionsbiologie, Universität Würzburg. 2004–2007 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendium: Forschungsaufenthalt am Institut Pasteur, Paris (Frankreich): Erforschung der Wirt-Bakterium-Interaktionen des Erregers der Legionärskrankheit, *Legionella pneumophila*. Seit 2007: Gruppenleiter am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Abteilung Molekulare Biologie, Berlin.



Project:

Functional Genomics on *Legionella pneumophila* to Study Host-Microbe Interactions

Lecture:

Host-Pathogen Interaction of *Legionella pneumophila*: Regulatory Networks Governing Intracellular Proliferation and Dissemination

Legionella pneumophila is the causative agent of the pneumonia-like Legionnaires' disease. The bacterium's survival and spread depends on the ability to replicate inside eukaryotic phagocytic cells. A particular feature of *Legionella* is its dual host system allowing the intracellular growth in protozoa like *Acanthamoeba castellanii*, *Hartmanella* sp. or *Naegleria* sp., and during infection in human alveolar macrophages. It was speculated that the interaction of *L. pneumophila* with aquatic protozoa has generated a pool of virulence traits during evolution, which allow *Legionella* to infect also human phagocytic cells. Human infection usually occurs through the inhalation of contaminated aerosols. Bacteria that reach the alveolar space of the lungs are engulfed by macrophages. Upon internalization, *L. pneumophila* guarantees its survival by manipulating host cell functions such as disturbing vesicle trafficking, therewith reprogramming the endosomal-lysosomal degradation pathway of the phagocytic cell. *L. pneumophila*-containing vacuoles (LCV) are completely isolated from the endosomal pathway, become surrounded by endoplasmic reticulum (ER), and within these protected vacuoles, *L. pneumophila* converts to a replicative form. Once the vacuole is no longer favorable for replication, a regulatory cascade coordinates entry into the stationary phase with expression of traits that promote transmission to a new host cell. The major virulence factor known in *L. pneumophila* is the *dot/icm* type IV secretion system (T4SS). Via this T4SS a large number of proteins (probably up to 100) are translocated into the host cell, where they subvert host functions and guarantee the intracellular survival of *L. pneumophila*.

The Leopoldina-funded project aimed at the identification of bacterial strategies to allow intracellular proliferation and dissemination. The main objectives of the research project were: (1.) To obtain and analyze genome sequences of *L. pneumophila*. (2.) To investigate the intracellular survival strategies of *L. pneumophila* by monitoring the genome-wide transcriptional program during life cycle progression. (3.) To unravel the regulatory cascade underlying the life cycle of *L. pneumophila*.

The first part included the genome analysis of two strains: *L. pneumophila* strain Paris (3,503,610 bp, 3,077 genes), an endemic strain that is predominant in France, and Lens (3,345,687 bp, 2,932 genes), an epidemic strain responsible for a major outbreak of disease in France (CAZALET et al. 2004). The *L. pneumophila* genomes showed marked plasticity, with three different plasmids and with about 13% of the sequence differing between the two strains (Fig. 1). Detailed genome analyses and comparisons revealed striking features of *L. pneumophila*. A large number of genes encoded proteins that show high similarity to eukaryotic proteins or motifs known to be involved in protein–protein interactions, which are present either solely or primarily in eukaryotes (BRÜGGEMANN et al. 2006a). Many of these proteins, which are potential virulence factors in *Legionella*, have previously been identified in eukaryotes, but never before in a prokaryotic genome, suggesting that *L. pneumophila* may have acquired specific mechanisms of cross-talk with its eukaryotic hosts. At least 31 proteins contain eukaryotic protein–protein interaction domains, such as ankyrin repeats, F-Box, U-Box and Sel-1 (tetratricopeptide repeat) domains. 12 ankyrin proteins are shared by all se-

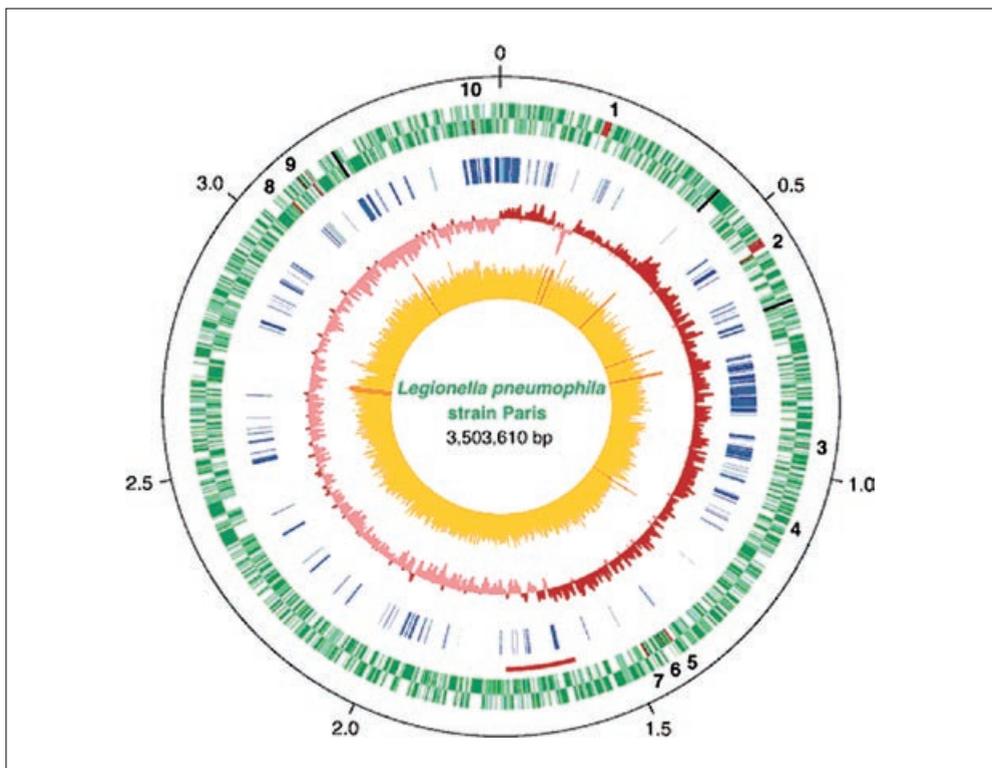


Fig. 1 Circular genome map of *L. pneumophila* strain Paris and specific genes of *L. pneumophila* strain Lens (CAZALET et al. 2004). From the outside, the first circle indicates strain Paris genes on the + and – strands, respectively. Red bar indicates an inversion in strain Lens. Green indicates strain Paris genes, black indicates rRNA operons, and red indicates known virulence genes as follows: 1, *lvh-lvr* type IV secretion system (*lvrABC*, *lvhB2B3B4B5*, *lvrD*, *lvhB6B8B9B10B11D4*, *lvrE*); 2, *dot-icm* type IV secretion system (*icmTSRQOMLKEGCDJBF*); 3, *mip*; 4, *lspA*; 5, *lspDE*; 6, *htrA*; 7, *lspFGHLJK*; 8, *enhABC*; 9, *dot-icm* type IV secretion system (*icmVWX* and *dotA-BCD*); 10, *momp*. The second circle shows genes specific for strain Lens with respect to strain Paris. The third circle shows the G/C bias (G+C/G–C) of strain Paris. The fourth circle shows the G+C content of strain Paris: light yellow, <32.5% G+C; yellow, between 32.5 and 44.1% G+C; dark yellow, >44.1% G+C. The scale (in Mb) is indicated on the outside, with the origin of replication at position 0.

quenced *L. pneumophila* isolates. Ankyrin proteins are multifunctional and involved in many cellular pathways, thus the prediction of the function of the *Legionella* ankyrin proteins is difficult; they could be involved in interactions with the host cytoskeleton or in targeting proteins to the plasma membrane or the ER.

In the next, main part of the Leopoldina-funded research project transcriptome studies were performed to monitor genome-wide gene expression changes during infection of *Legionella* in phagocytic cells such as the natural host, the protozoa *A. castellanii*. Time-course experiments revealed distinct patterns of gene expression along the intracellular progression, and genes could be assigned to different stages of the *Legionella* life cycle (BRÜGGEMANN et al. 2006b). Essentially, a biphasic life cycle of *L. pneumophila* was reflected by a major shift in gene expression from the replicative to the transmissive phase, concerning nearly half of the genes predicted in the genome (Fig. 2). Three different *L. pneumophila* strains showed similar *in vivo* gene expression patterns, indicating that common regulatory mechanisms govern the *Legionella* life cycle, despite the plasticity of its genome. During the replicative phase, in addition to components of aerobic metabolism and amino acid catabolism, the

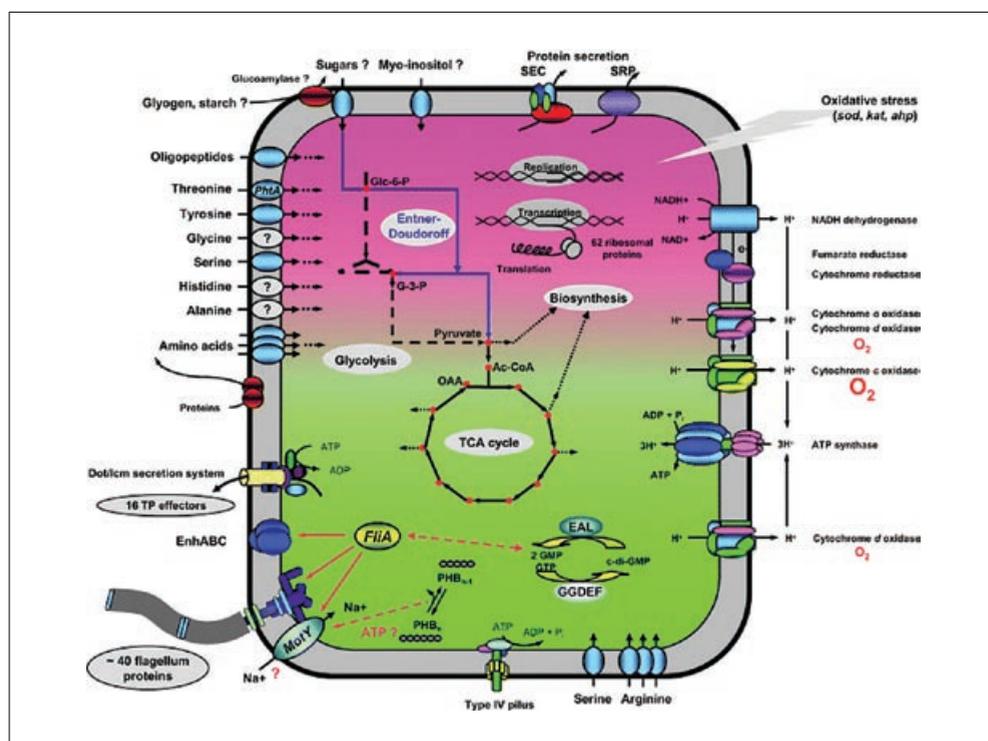


Fig. 2 Overview of major characteristics of the biphasic life cycle of *L. pneumophila* as deduced from transcriptional analyses (BRÜGGEMANN et al. 2006b). The colour gradation of the background represents transcriptional changes from the replicative phase (RP, pink) to the transmissive phase (TP, cyan). Main replicative traits are: amino acid and oligopeptide transporters, proteases, sugar transporters, the glycolysis and the Entner-Doudoroff pathways, Sec- and SRP (signal recognition protein)-dependent protein secretion systems, oxidative stress response proteins, and the replication, transcription and translation machinery. Endoxidases of the energy-producing respiratory chain are cytochrome *o*, *d* and *c* oxidases, upregulated during the RP, while in TP an alternative cytochrome *d* oxidase is overexpressed. Important transmissive traits are: GGDEF/EAL proteins, serine and arginine transporters, type IV pilus biosynthesis, synthesis and degradation of polyhydroxybutyrate (PHB), flagellum formation, invasion-associated traits (e.g. EnhABC) and host cell-modulators secreted by the Dot/Icm secretion system.

Entner-Doudoroff pathway, a NADPH producing mechanism used for sugar and/or gluconate assimilation, was expressed, suggesting that intracellular *L. pneumophila* may also scavenge host carbohydrates as nutrients and not only proteins. Late in the life cycle, *L. pneumophila* upregulates genes predicted to promote transmission and manipulation of a new host cell, therewith priming itself for the next attack. These including substrates of the Dot/Icm secretion system, other factors associated previously with invasion and virulence, the motility and the type IV pilus machineries, and more than 90 proteins not characterized so far, including many eukaryotic-like proteins.

In the third phase of the research project, regulatory factors were characterized which are known or supposed to be involved in life cycle regulation of *L. pneumophila*. Therefore, mutants deficient of certain regulatory genes such as RNA polymerase sigma factors and transcriptional regulators were created. A focus lied on the regulation of motility, since the transmissive phase was characterized by the formation of long flagellum, allowing high motility. A closer look on the *Legionella* transcriptome revealed a cascade expression of flagellar genes. One important factor in this cascade is the protein FliA, the RNA polymerase sigma factor 28, which is indispensable for the production of the structural flagellar protein, flagellin (FlaA). Moreover, a *fliA* mutant showed reduced cytotoxicity and cell invasion. To understand its effects, a genome-wide transcriptional comparison between the *fliA* mutant and the wild-type strain was performed. A distinct set of genes under the control of FliA was identified, such as invasion-associated virulence factors, and GGDEF/EAL regulators, all of which possessed a close match to the consensus sequence of FliA-binding sites in their promoters.

Another regulator involved in the switch from replicative to transmissive (stationary) phase was identified by a bioinformatic analysis of the *L. pneumophila* genome: a gene cluster homologous to the *Vibrio cholerae cqsAS* genes, encoding a putative quorum sensing autoinducer synthase (LqsA) and a sensor kinase (LqsS), which flank a novel response regulator (LqsR). A *lqsR* deletion mutant grew in broth with the same rate as wild-type bacteria, but entered the replicative growth phase earlier (TIADEN et al. 2007). Overexpression of *lqsR* led to an elongated morphology of the bacteria. The *lqsR* mutant was impaired for formation of the ER-derived LCV, and for intracellular growth in *A. castellanii* and macrophages. Moreover, *L. pneumophila* lacking LqsR, as well as strains lacking the stationary sigma factor RpoS or the two-component response regulator LetA (see below), were phagocytosed less efficiently by *A. castellanii* or macrophages. The expression of *lqsR* was dependent on RpoS and, to a lesser extent, also on LetA. DNA microarray experiments revealed that *lqsR* regulates the expression of genes involved in virulence, motility and cell division, consistent with a role for LqsR in the transition from the replicative to the transmissive, virulent phase. These findings indicate that LqsR is a novel pleiotropic regulator involved in RpoS- and LetA-controlled interactions of *L. pneumophila* with phagocytes.

In the last part of the research project, the two-component regulatory system LetS-LetA was investigated. This system was previously shown to be involved in the life cycle switch of *L. pneumophila*. First, the transcriptional profiles of *letS* and *letA* mutants were determined. A global change in gene expression was observed after entering the post-exponential growth phase. With the exception of arginine metabolism genes, both mutants exhibited identical transcriptional profiles. When comparing the differentially expressed genes with previously determined growth phase-dependent gene expression patterns, it could be concluded that the *letS/letA* mutants were halted in the replicative phase; the switch to the transmissive phase was partially blocked. Among the down-regulated factors were those responsible for some transmissive traits, such as motility, and Dot/Icm-secreted substrates. However, the analyses revealed that only a few known virulence genes were affected, indicating that the LetS-LetA

influence on the life cycle switch is limited. The question arose which genes are directly regulated by LetS-LetA. Since this system is homologous to BarA-UvrY of *Escherichia coli*, it was suggested that LetS-LetA is part of a Csr (carbon storage regulation)-like system, involving the post-transcriptional regulator CsrA and regulatory RNAs similar to *csrB* and *csrC*. Such small non-coding RNAs were recently predicted from the genome sequences of several bacteria including *Legionella*. We could show that *L. pneumophila* indeed employs such RNAs, designated *rsmY* and *rsmZ*, in the LetS-LetA regulatory network. Expression of *rsmY* and *rsmZ* in the onset of the post-exponential growth phase was strictly LetA-dependent. LetA bound to a conserved motif present exclusively upstream of *rsmY* and *rsmZ*. Thus, it could be concluded that LetA directly activates the transcription of *rsmY* and *rsmZ*. Taken together, the following scenario can be postulated: upon entering the post-exponential growth phase LetS receives a yet unknown signal (presumably a starvation signal), phosphorylates itself, and in turn phosphorylates LetA. Subsequently, activated LetA binds in close proximity of the promoter region of the regulatory RNAs and induces their expression. The RNAs form a distinctive secondary structure, which bind to and thus sequester the repressor CsrA. The fate of CsrA is as follows: it is expressed early in the exponential growth phase of *L. pneumophila*, where the protein binds to specific binding sites within some mRNAs (presumably mRNAs of genes encoding transmissible traits), in particular to GGA rich motifs resembling and overlapping the Shine-Dalgarno sequence. This binding blocks the ribosome access and, thus, the translation of the respective mRNA. When bacteria enter the post-exponential growth phase, LetS-LetA-mediated expression of *rsmY* and *rsmZ* allows the sequestration of CsrA. Thus, CsrA is released from the mRNA transcripts, resulting in the proper translation of genes, which presumably encode transmissible traits. This allows the bacteria to prepare themselves for the last stage of the infectious cycle, the evasion and the infection of a new host cell. A task for the future is to identify transmissible phase genes whose translation is directly blocked by CsrA in the replicative phase.

References/Publications

- BRÜGGEMANN, H., CAZALET, C., and BUCHRIESER, C.: Adaptation of *Legionella pneumophila* to the host environment: role of protein secretion, effectors and eukaryotic-like proteins. *Curr. Opin. Microbiol.* 9, 86–94 (2006a)
- BRÜGGEMANN, H., and GOTTSCHALK, G.: Comparative genomics of clostridia: link between the ecological niche and cell surface properties. *Ann. New York Acad. Sci.* 1125, 73–81 (2008)
- BRÜGGEMANN, H., and GOTTSCHALK, G. (Eds.): Clostridia: Molecular Biology in the Post-genomic Era. Horizon Scientific Press, UK (<http://www.horizonpress.com/clos>) (in press)
- BRÜGGEMANN, H., HAGMAN, A., JULES, M., SISMEIRO, O., DILLIES, M. A., GOUYETTE, C., KUNST, F., STEINERT, M., HEUNER, K., COPPEE, J. Y., and BUCHRIESER, C.: Virulence strategies for infecting phagocytes deduced from the *in vivo* transcriptional program of *Legionella pneumophila*. *Cell. Microbiol.* 8, 1228–1240 (2006b)
- BRZUSZKIEWICZ, E., BRÜGGEMANN, H., LIESEGANG, H., EMMERTH, M., ÖLSCHLÄGER, T., NAGY, G., ALBERMANN, K., WAGNER, C., BUCHRIESER, C., EMODY, L., HACKER, J., GOTTSCHALK, G., and DOBRINDT, U.: How to become an uropathogen? Comparative genomic analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 12879–12884 (2006)
- CAZALET, C., RUSNIOK, C., BRÜGGEMANN, H., ZIDANE, N., MAGNIER, A., MA, L., TICHIT, M., JARRAUD, S., BOUCHIER, C., VANDENESCH, F., KUNST, F., ETIENNE, J., GLASER, P., and BUCHRIESER, C.: Evidence in the *Legionella pneumophila* genome for exploitation of host cell functions and high genome plasticity. *Nature Genet.* 36, 1165–1173 (2004)
- HINDRÉ, T., BRÜGGEMANN, H., BUCHRIESER, C., and HÉCHARD, Y.: Transcriptional profiling of *Legionella pneumophila* biofilm cells and the influence of iron on biofilm formation. *Microbiology* 154, 30–41 (2008)
- NEWTON, H. J., SANSOM, F. M., DAO, J., CAZALET, C., BRÜGGEMANN, H., ALBERT-WEISSENBERGER, C., BUCHRIESER, C., CIANCIOOTTO, N. P., and HARTLAND, E. L.: A significant role for *ladC* in the initiation of *Legionella pneumophila* infection. *Infect. Immun.* 76, 3075–85 (2008)
- TIADEN, A., SPIRG, T., WEBER, S. S., BRÜGGEMANN, H., BOSSHARD, R., BUCHRIESER, C., and HILBI, H.: The *Legionella pneumophila* response regulator LqsR promotes host cell interactions as an element of the virulence regulatory network controlled by RpoS and LetA. *Cell. Microbiol.* 9, 2903–2920 (2007)

Dr. phil. nat. Jacqueline Burré

(BMBF LPD 9901/8-161)

Geboren 1978. 1998–2003 Studium der Biochemie, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt (Main). 3/2003 Diplom, Universität Frankfurt. 2003 Procter & Gamble-Preis (beste Diplomarbeit). 5/2003–10/2006 Doktorarbeit, Universität Frankfurt. 2005–2006 Kollegiatin im Graduiertenkolleg Neuronale Plastizität. 10–12/2006 Postdoktorandin, Universität Frankfurt. 2007 Klaus-Tschira-Preis für verständliche Wissenschaft und Auszeichnung für beste Doktorarbeit (Universität Frankfurt). 2007–2009 Postdoktoranden-Stipendiatin der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina: 03/2007–06/2008 Postdoktorandin, UTSW Medical Center, TX (USA). Seit 06/2008 Postdoktorandin, Stanford University, CA (USA).



Projekt:

1. RNA-Interferenz an synaptischen Proteinen zur Funktionsaufklärung innerhalb der Neurotransmission

Bei RNA-Interferenz (RNAi) handelt es sich um eine Form der posttranslationalen Gensuppression, bei der kleine interferierende RNA (siRNA) durch Bindung an spezifische RNA-Sequenzen deren Abbau vermittelt. Für die stabile Expression von siRNA und den *Knockdown* endogener Gene wurden lentivirale Vektoren eingesetzt, da diese einen effizienten und stabilen Gentransfer erlauben und Lentiviren zudem postmitotische Zellen wie Neuronen transfizieren können. Das Reportergen GFP hat sich hierbei als guter Indikator erwiesen und legt hohe Transfektionseffizienzen dar.

Stabile RNAi lässt sich über verschiedene Ansätze erreichen. Unter Ausnutzung endogener RNAi-Prozessierung wurden kurze *Hairpins* eingeführt, die durch den humanen H1- oder U6 Pol III-Promotor reguliert und nach Transkription durch das Enzym Dicer 1 zu doppelsträngiger RNA prozessiert werden. Alternativ wurden kurze *Hairpins* im mikroRNA-Kontext unter Ausnutzung der Pol II- und Pol III-Promotoren verwendet. Die Transkripte werden durch Drosha prozessiert und anschließend ins Zytosol exportiert, wo sie der weiteren Prozessierung durch Dicer unterliegen. Beide Ansätze wurden getestet, wobei sich die kurzen *Hairpins* mit H1- oder U6-Promotor als sehr effektiv erwiesen haben.

Um ganze Proteinfamilien auszuschalten, wurde ein lentiviraler Shuttlevektor konstruiert, der die Insertion zweier kurzer *Hairpins* erlaubt, jeweils getrieben durch den humanen H1- oder U6 Pol III-Promoter. Diese Vektoren wurden in neuronaler Kultur erfolgreich zum *Knockdown* verschiedener Proteine (z. B. SV2, Calmodulinen, Complexinen) eingesetzt. Durch Einführen eines dritten Ubiquitin-Promotors lassen sich zudem gleichzeitig *Rescue*-Experimente mit Wildtyp oder Mutanten durchführen. Zur Zeit wird diese Strategie bezüglich *Off-Target*-Effekten mit Hilfe quantitativen Western-Blottens analysiert.

2. Struktur/Funktionsanalyse von α -Synuclein in Hinblick auf Neurodegeneration und Chaperonaktivität

Synucleine sind abundante präsynaptische Proteine und mit synaptischen Membranen assoziiert (MAROTEAUX und SCHELLER 1991). Gentiplikation oder Mutationen im humanen α -Synuclein (A30P, A53T, E46K) verursachen Morbus Parkinson (NORRIS et al. 2004). Zudem spielt α -Synuclein in Morbus Alzheimer und anderen neurodegenerativen Krankheiten eine zentrale Rolle (HARDY 2005). Die physiologische Funktion von α -Synuclein ist jedoch unbekannt.

Neueste Evidenzen verweisen auf eine neuroprotektive Rolle. So beschleunigt die Deletion endogenen α -Synucleins die letale Neurodegeneration CSP α -defizienter Mäuse, während die transgene Expression zum Stopp der Neurodegeneration führt (CHANDRA et al. 2005). CSP α (*cysteine string protein*) ist ein neuronenspezifisches Protein, das mit den Proteinen SGT und Hsc70 einen enzymatisch aktiven Chaperonkomplex bildet (TOBABEN et al. 2001). Während CSP α SNAP-25-Monomere stabilisiert und diese in einem SNARE-Komplex kompetenten Status hält (SHARMA et al. in Vorbereitung), interagiert α -Synuclein unabhängig von CSP α mit assemblierten SNARE-Komplexen, bindet jedoch nicht SNAP-25-Monomere. Immunpräzipitationen transfizierter HEK-Zellen lassen hierbei eine direkte Interaktion vermuten. Zudem stabilisiert α -Synuclein konzentrationsabhängig SNARE-Komplexe, ein erstes Indiz auf eine physiologische Funktion des Proteins.

α -Synuclein bindet konformationsabhängig Phospholipide. Da nur lipidbindende α -Synucleinvarianten den CSP α -*Knockout*-Phänotyp umkehren (CHANDRA et al. 2005), wurden diverse α -Synucleinmutanten kloniert und exprimiert, um lipidbindungsdefiziente Mutanten zu identifizieren und damit die spezifische Rolle der Membranassoziation in der Neuroprotektion zu untersuchen. Ein neu entwickelter Lipidbindeassay zeigt für annähernd alle

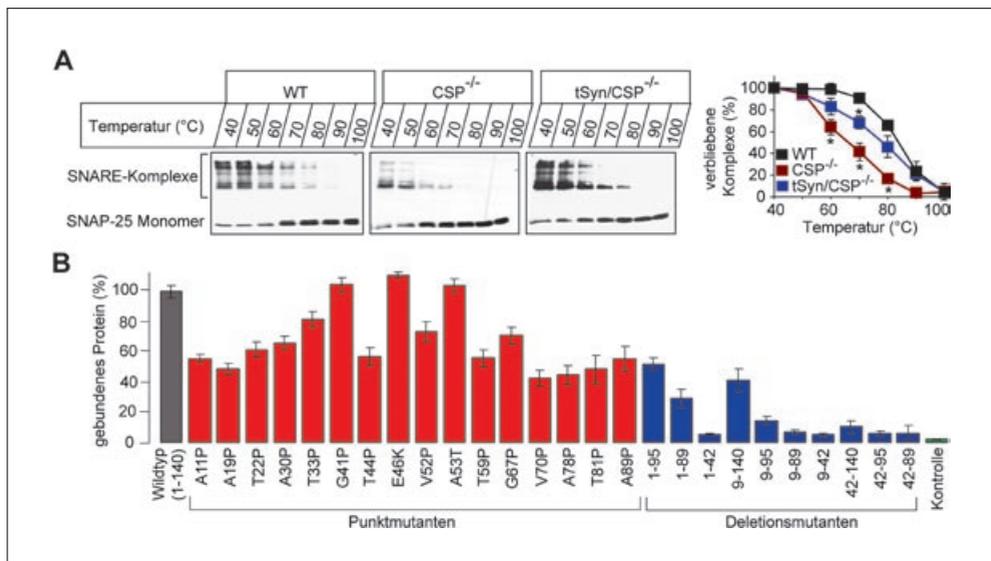


Abb. 1 (A) Strukturelle Integrität SDS-resistenter SNARE-Komplexe, analysiert mittels Schmelzexperimenten und Western Blot. SNARE-Komplexe sind in CSP α -KO-Gehirnen destabilisiert, und diese Instabilität wird zumindest teilweise durch transgenes α -Synuclein aufgehoben. (B) Lipidbindung von α -Synuclein Wildtyp, Punkt- und Deletionsmutanten.

Punktmutanten eine reduzierte Lipidbindung, vermutlich Resultat einer fehlerhaften Proteinfaltung. Die Deletionsmutanten legen zudem nahe, dass insbesondere die ersten 9 Aminosäuren essentiell sind.

Um zu evaluieren, welche der Interaktionen entscheidenden Einfluss auf die synaptische Lokalisation hat, wurden die Mutanten lentiviral in hippocampaler Kultur exprimiert. Wie der Wildtyp zeigen auch lipidbindungsdefiziente Mutanten überraschenderweise eine synaptische Lokalisierung, vermutlich zurückzuführen auf die Bindung der SNARE-Komplexe. Welche Anteile jeweils Lipid- und SNARE-Komplexbindung haben, wird momentan analysiert.

Die Generierung transgener Mäuse mit Mutationen des α -Synucleingens und Analyse der Neurodegeneration in CSP α -KO/ α -Synuclein-Chimären wird zeigen, ob die Bindung von Lipiden, SNARE-Komplexen oder die Kombination beider verantwortlich für die neuroprotektive Wirkung von α -Synuclein ist.

Literatur

- CHANDRA, S., GALLARDO, G., FERNANDEZ-CHACON, R., SCHLÜTER, O. M., and SÜDHOF, T. C.: Alpha-synuclein cooperates with CSP α in preventing neurodegeneration. *Cell* 123, 383–396 (2005)
- HARDY, J.: Expression of normal sequence pathogenic proteins for neurodegenerative disease contributes to disease risk: ‘permissive templating’ as a general mechanism underlying neurodegeneration. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 578–581 (2005)
- MAROTEAUX, L., and SCHELLER, R. H.: The rat brain synucleins; family of proteins transiently associated with neuronal membrane. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 11, 335–343 (1991)
- NORRIS, E. H., GIASSON, B. I., and LEE, V. M.: Alpha-synuclein: normal function and role in neurodegenerative diseases. *Curr. Top Dev. Biol.* 60, 17–54 (2004)
- TOBABEL, S., THAKUR, P., FERNANDEZ-CHACON, R., SÜDHOF, T. C., RETTIG, J., and STAHL, B.: A trimeric protein complex functions as a synaptic chaperone machine. *Neuron* 31, 987–999 (2001)

Publikationen

- SHARMA, M., BRONK, P., BURRÉ, J., GALLARDO, G., KVOTCHEV, M., and SÜDHOF, T. C.: CSP α and α -synuclein independently chaperone SNARE complexes: Quality-control at the nerve terminals. (in preparation for *Nature*)
- BURRÉ, J., ZIMMERMANN, H., and VOLKNANDT, W.: Identification and characterization of SV31, a novel synaptic vesicle membrane protein and potential transporter. *J. Neurochem.* 103, 276–287 (2007)
- BURRÉ, J., and VOLKNANDT, W.: The synaptic vesicle proteome. *J. Neurochem.* 101, 1448–1462 (2007)
- BURRÉ, J., ZIMMERMANN, H., and VOLKNANDT, W.: Immunoisolation and subfractionation of synaptic vesicle proteins. *Anal. Biochem.* 362, 172–181 (2007)
- BURRÉ, J.: Die Nadel im nervösen Heuhaufen. *Bild der Wissenschaft Plus* (2007)

Dr. rer. nat. Laura Busse

(BMBF LPD 9901/8-165)

Geboren 1977. 1997–1999 Grundstudium Psychologie, Universität Leipzig. 1999–2001 Graduate School of Neural and Behavioral Sciences, Max-Planck Research School, Universität Tübingen. 2001–2002 Research Assistant, AG Prof. Dr. M. WOLDORFF, Duke University, Durham, NC (USA). 2002–2006 Dissertation, AG Prof. Dr. S. TREUE, German Primate Center, Universität Göttingen. 7/2007–9/2008 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiatin, AG Prof. Dr. M. CARANDINI, The Smith-Kettlewell Eye Research Institute, San Francisco, CA (USA). Ab 10/2008 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiatin, AG Prof. Dr. M. CARANDINI, Institute of Ophthalmology, University College London (Großbritannien).



Projekt:

Strukturelle Organisation und funktionale Rolle der visuellen Areale in der Maus

Die Verarbeitung visueller Information geschieht zum großen Teil im visuellen Kortex, der aus mehreren verschiedenen Arealen besteht. Studien im Katzen- und Primatenmodell haben über die Funktion und die Konnektivität einiger dieser Areale Aufschluss gegeben. Es ist jedoch noch unbekannt, wie die Eigenschaften visueller Stimuli durch die koordinierten Antworten der einzelnen Areale kodiert werden und wie sich die Repräsentation der visuellen Information verändert, wenn sie zwischen den Arealen weitergereicht wird. Wir untersuchen diese Fragen mit Hilfe von *Voltage-Sensitive Dye (VSD) Imaging* im visuellen Kortex der Maus. Die Methode des *VSD Imaging* erlaubt es, neuronale Aktivität von mehreren Millimetern Kortex mit einer hohen räumlichen ($\sim 100 \mu\text{m}$) und zeitlichen (2–5 ms) Auflösung zu messen. Die Arbeit im Mausmodell hat die praktischen Vorteile, dass aufgrund des kleinen Gehirns die Aktivität mehrerer visueller Areale gleichzeitig gemessen werden kann und dass diese durch ihre Lage an der Oberfläche des Kortex für *VSD Imaging* zugänglich sind. Darüber hinaus ist die Maus in den letzten Jahren aufgrund der rasanten Entwicklung genetischer Methoden ein weit verbreitetes Modellsystem in der biomedizinischen Forschung geworden. Die Arbeit im Mausmodell wird es langfristig ermöglichen, von diesen Methoden zu profitieren, wie z. B. bei der Visualisierung neuronaler Populationsaktivität genetisch markierter Nervenzellen (MAJEWSKA und SUR 2003) oder bei der präzisen Kontrolle neuronaler Aktivität durch Licht (ZANGH et al. 2007). Die Erforschung der grundlegenden Eigenschaften des visuellen Kortex in der Maus wird daher eine wichtige Grundlage für genetische Studien von Entwicklung, Plastizität und Pathologie des visuellen Systems sein.

Der visuelle Kortex der Maus besteht aus mehreren Arealen (WANG und BURKHALTER 2007) und scheint, ähnlich wie bei Primaten, in zwei anatomisch getrennte Verarbeitungspfade unterteilt werden zu können. Obwohl die visuelle Auflösungsfähigkeit der Maus geringer und die rezeptiven Felder im primären visuellen Kortex größer als die des Primaten sind, findet man z. B. ähnlich scharfes Orientierungstuning (NIELL und STRYKER 2008).

Wir haben begonnen, die visuellen Areale der Maus mit *Optical-Imaging*-Methoden zu kartieren. Dazu verwenden wir visuelle Stimuli, mit denen wir die retinotopische Struktur der Areale darstellen können, z. B. horizontal und vertikal orientierte Balken, die sich mit einer definierten Periode über den Bildschirm bewegen oder mit einer bestimmten Frequenz flackern. Die Auswertung der neuronalen Antworten, die mit der Frequenz des Stimulus oszillieren, ermöglicht uns die Kartierung der Areale. Bislang ist uns eine erfolgreiche Kartierung des primären visuellen Areals V1 und des Areals LM, einem Homolog zum menschlichen Areal V2, gelungen.

Unser nächstes Ziel ist es, die *Imaging*-Methoden soweit zu verbessern, dass wir weitere Areale messen und darstellen können, die kleiner als die bisher gemessenen sein werden. Weiterhin werden wir die hervorragende zeitliche Auflösung des VSD-Signals ausnutzen, um die Reihenfolge zu studieren, in der die verschiedenen Areale von einem Stimulus aktiviert werden. Dies wird uns wichtige Aufschlüsse über die Hierarchie der visuellen Verarbeitung in der Maus geben. Außerdem ist es unser Ziel, die Präferenzen und Eigenschaften der extrastriären visuellen Areale zu untersuchen und herauszufinden, wie sich die Repräsentation visueller Information verändert, wenn diese von Areal zu Areal weitergereicht wird.

Literatur

- MAJEWSKA, A., and SUR, M.: Motility of dendritic spines in visual cortex in vivo: Changes during the critical period and effects of visual deprivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100/26, 16024–16029 (2003)
- NIELL, C. M., and STRYKER, M. P.: Highly selective receptive fields in mouse visual cortex. *J. Neurosci.* 28/30, 7520–7536 (2008)
- WANG, Q., and BURKHALTER, A.: Area map of mouse visual cortex. *J. Comp. Neurology* 502/3, 339–357 (2007)
- ZHANG, F., ARAVANIS, A. M., ADAMANTIDIS, A., DE LECEA, L., and DEISSEROTH, K.: Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nature Rev. Neurosci.* 8/8, 577–581 (2007)

Publikationen

- BUSSE, L., KATZNER, S., and TREUE, S.: Temporal dynamics of neuronal modulation during exogenous and endogenous shifts of visual attention in macaque area MT. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (accepted)
- NAUHAUS, I. M., BUSSE, L., CARANDINI, M., and RINGACH, D. L.: Lateral connectivity is modulated by stimulus strength. (in review)
- BUSSE, L., KATZNER, S., TILLMANN, C., and TREUE, S.: Effects of attention on perceptual direction tuning curves in the human visual system. *J. Vision* 8/9, 1–13 (2008)

Dr. rer. nat. Markus Bussen

(BMBF-LPD 9901/8-141)

Born in 1974. 1995–1999 Studies of Biology at the University of Cologne, Germany. 1999–2000 Research at the Institute for Metabolic Diseases of Rockefeller University in New York, NY (USA). 2001 Diploma in Biology. 2000–2001 Scientific Associate at the Max-Planck-Institute of Immunobiology in Freiburg. 2001–2005 Institute of Molecular Biology at MH Hannover. 2005 PhD. 2/2006–1/2008 Leopoldina-Postdoc at the Department of Anatomy at the University of California in San Francisco, CA (USA).



Project:

The Role of *Spry1* in Epicardium and Coronary Vessel Development

The precise development of the vertebrate body plan requires cell signaling. Various cell signaling pathways have been described to be involved in early development. Signaling through receptor tyrosine kinases (RTK) is a common mechanism that allows cells to sense an extracellular signal. Fibroblast growth factors (FGF), together with their specific receptors (FGFR), are not just curtail for several aspects of vertebrate development but also involved in disease and tumor formation. The tight regulation of FGF signaling has gained significant attention over the last years. Members of the *Sprouty* gene family have been shown to be involved in these processes. Here, I propose a genetic approach that allows to study *Sprouty* gene function in early vertebrate development. Also, it allows me to get insight into the functional redundancy of *Sprouty* genes. The specific aim of the study is to study the developmental defects caused by the inactivation of the mouse *Sprouty* genes.

So far, *Spry* genes were not reported to be expressed in the epicardium. By performing RNA *in situ* hybridization on sections of early mouse heart, I could identify *Spry1* to be specifically expressed in the early epithelial epicardium. First, I performed *in situ* for WT1 to identify the epithelial epicardium at day 12.5 in wild type embryos. Then I performed a detailed expression analysis for *Spry1* at various stages of development.

In a 12.5dpc mouse heart, *Spry1* expression is clearly restricted to the epicardium and cannot be detected in cardiomyocytes. Occasionally, single cells that are positive for *Spry1* were found just underneath the epicardium (not shown). Within 2 days, a broader expression of *Spry1* can be observed. At day 14.5 of development, *Spry1* is still expressed in the epicardium but also a huge number of mesenchymal cells within the myocardium express *Spry1*. Due to the lack of good *Spry1* antibodies, it cannot be ruled out that cardiomyocytes express *Spry1*. However, the morphological shape of these mesenchymal cells resembles cardiac fibroblasts and not cardiomyocytes. At later stages, (>15.dpc) *Spry1* expression is also detectable in SMCs of the CVs and in cardiac fibroblasts.

To our knowledge, *Spry1* is the only marker that labels epicardial and epicardial-derived cells. All other described markers specify either epithelial epicardial cells like WT1, Tbx18 and RALDH2 (see introduction) or definitive smooth muscle cells like SMA α , SM22 α and

SM-MHC2. The study of *Spry1* in the context of epicardium and coronary vessel formation allows getting molecular “access” to the early coronary vessel progenitor calls.

Publications

- ANDREOU, A. M., PAUWS, E., JONES, M. C., SINGH, M. K., BUSSEN, M., DOUDNEY, K., MOORE, G. E., KISPERT, A., BROSENS, J. J., and STANIER, P.: TBX22 missense mutations found in patients with X-linked cleft palate affect DNA binding, sumoylation, and transcriptional repression. *Amer. J. Hum. Genet.* 81/4, 700–712 (2007)
- FARIN, H., BUSSEN, M., SCHMIDT, M., SINGH, M. K., SCHUSTER-GOSSLER, K., and KISPERT, A.: Transcriptional repression by the T-box proteins Tbx18 and Tbx15 depends on Groucho corepressors. *J. Biol. Chem.* 282/35, 25748–25759 (2007)
- CHRISTOFFELS, V. M., MOMMERSTEEG, M. T. M., TROWE, M., PRALL, O. W. J., DE GIER-DE VRIES, C., SOUFAN, A. T., BUSSEN, M., SCHUSTER-GOSSLER, K., HARVEY, R. P., MOORMAN, A. F. M., and KISPERT, A.: Formation of the venous pole of the heart from an Nkx2–5-negative precursor population requires Tbx18. *Circulation Res.* 98, 1555–1563 (2006)
- AIRIK, R., BUSSEN, M., SINGH, M. K., PETRY, M., and KISPERT, A.: Tbx18 regulates the development of the uretal mesenchyme. *J. Clin. Investigation* 116/3, 663–674 (2006)

Dr. rer. nat. Matthias Danckwerts

(BMBF LPD 9901/8-103)

Geboren 1971 in Regensburg. 1991–1999 Studium der Physik an den Universitäten Kiel, Heriot-Watt University, Edinburgh (Großbritannien) und Technische Universität Berlin. 1999–2002 Promotion am Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft in Berlin bei Prof. G. ERTL. 2003–2004 wissenschaftlicher Angestellter am Fritz-Haber-Institut und an der Freien Universität Berlin (Prof. G. ERTL, Prof. M. WOLF). 2004–2006 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiat mit Aufenthalt am Institute of Optics, University of Rochester, Rochester, NY (USA). Seit 2006 Projektleiter in der Entwicklung von LSM (Laser Scanning Microscopy)-Systemen bei Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Jena.



Projekt:

Spitzenverstärkte Nahfeldspektroskopie an Quantenstrukturen

Vortrag:

Nichtlineare Optische Antennen in der Nanoskopie

In den *Life Sciences* spielt die Mikroskopie, das Visualisieren von Strukturen, die das bloße Auge nicht sieht, nach wie vor eine wesentliche Rolle. Allerdings steigen die methodischen Anforderungen, da die zu untersuchenden Strukturen kleiner werden und viele biologische Prozesse erst auf einer Sub-Mikrometer-Skala verstanden werden können. Für die Untersuchung neurodegenerativer Erkrankungen, wie Parkinson oder Alzheimer zum Beispiel, ist ein Verständnis der Mechanismen wichtig, die den Transfer von Neurotransmittern über den synaptischen Spalt und damit die Kommunikation zweier Nervenzellen regulieren. Um diese Region vollständig zu visualisieren, wäre eine Mikroskopie vonnöten, die eine Auflösung von 10 nm gewährleistet.

Um sich der Aufgabe dieser Auflösungssteigerung zu nähern, können innerhalb der klassischen Optik Konzepte angewendet werden wie PAL, strukturierte Beleuchtung oder STED, wobei geschickt mit Einzelmolekülanregung, Mehrfarbbeleuchtung, selektivem Bleichen oder Vielwellenüberlagerung gearbeitet wird.

Ein anderer Ansatz liegt in der Nanoskopie, also dem Ausnutzen lokaler Wechselwirkungen zwischen nanometrischen Strukturen zur optischen Bildgebung oder Spektroskopie. Bei der optischen Anregung metallischer Nanostrukturen entstehen lokale Feldmoden, die das elektrodynamische Verhalten dieser Strukturen bestimmen; sie sind für ein grundsätzlich von Makroobjekten desselben Materials verschiedenes Verhalten verantwortlich. Findet sich im Nahfeld einer Nanostruktur eine weitere, können die lokalen Plasmonenmoden aneinander koppeln, was zwischen den beiden Strukturen zu einer erheblichen Feldverstärkung führt. Auch an einen externen Dipol, z. B. ein einzelnes, angeregtes Farbstoffmolekül, kann das lokale Feld einer metallischen Struktur koppeln. Die dabei auftretende Feldverstärkung führt

zu einer lokalisierten Emission, die im Scan-Verfahren mit einer lateralen Auflösung von rund 30 nm abgebildet werden kann.

In meinem Vortrag werde ich berichten, wie mit Hilfe metallischer Nanopartikel, die an das Ende einer Glasspitze geklebt sind, lineare und nichtlineare optische Wechselwirkungen lokal verstärkt werden und zur hochauflösenden Bildgebung verwendet werden können. Dabei wird zum einen die Nutzung einer nichtlinear-optisch angeregten Partikelsonde als Nano-Lichtquelle untersucht; das von einer solchen Quelle emittierte Licht kann auf Nanometer-Skala zur Absorptionmikroskopie dienen. Zum zweiten wird gezeigt, wie die nichtlinear-optischen Eigenschaften einer solchen Sonde durch Kopplung zweier Nanopartikel um mehrere Größenordnungen moduliert werden. Dabei zeigt sich das Potential, das solche „Nichtlinearen Nano-Sonden“ für Untersuchungen auf Nanometer-Skala besitzen.

Publikationen

- DANCKWERTS, M., and NOVOTNY, L.: Optical frequency mixing at coupled gold nanoparticles. *Phys. Rev. Lett.* *98*, 26104-1–26104-4 (2007)
- TEGEDER, P., DANCKWERTS, M., HAGEN, S., HOTZEL, A., and WOLF, M.: Structural transition in Cyclooctatetraene adsorbed on Ru(001) probed by thermal desorption and 2-photon photoemission spectroscopy. *Surf. Sci.* *585*, 177–190 (2005)
- HORSWELL, S. L., PINHEIRO, A. L. N., SAVINOVA, E. R., DANCKWERTS, M., PETTINGER, B., ZEL, M.-S., and ERTL, G.: A comparative study of hydroxide adsorption on the (111), (110) and (100) faces of silver with cyclic voltammetry, ex-situ electron diffraction and in-situ second-harmonic generation. *Langmuir* *20*, 10970–10981 (2004)
- DANCKWERTS, M., LI, Y.-J., OSLONOVITCH, J., PETTINGER, B., and KRISCHER, K.: The role of the Au(111) surface structure in the inhibition of the periodate electroreduction by camphor. *J. Phys. Chem. B* *108*, 14398–14406 (2004)

Dr. phil. nat. Carolin Daniel

(BMBF LPD 9901/8-184)

Geboren 1977. 10/1997–10/2002 Studium der Ernährungswissenschaften in Gießen. 2/2001–4/2002 Diplomarbeit am Max-Planck-Institut für physiologische und klinische Forschung in Bad Nauheim. 2/2003–7/2007 Promotion an der Medizinischen Klinik I der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt (Main). 7/2007–6/2008 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Abteilung Immunpharmakologie Universität Frankfurt (Main). 2/2008 Fritz-Külz-Wissenschaftspreis der Deutschen Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie. Seit 8/2008 Research Fellow am Dana Farber Cancer Institute – CIA, Boston, MA (USA), unter der Leitung von Prof. Dr. Harald VON BOEHMER mit einem Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendium.



Projekt:

Regulatorische T-Zellen – Antigen-abhängige Konversion und Suppressionsmechanismen

CD4⁺CD25⁺-regulatorische T-Zellen fungieren als Regulatoren zur Erhaltung eines balancierten Immunsystems (VON BOEHMER 2005). Der Transkriptionsfaktor Foxp3 ist entscheidend für ihre Generierung und Funktion (KHATTRI et al. 2003). Sein Fehlen resultiert im Maus- sowie im Humansystem in schweren Formen von Autoimmunität. Regulatorische T-Zellen zeigen ein Migrationsverhalten wie naive T-Zellen, und beide Zelltypen werden daher durch Antigen in unmittelbare Nähe zueinander gebracht, so dass eine effektive Suppression der Immunantwort zustande kommen kann (JAECKEL et al. 2005). Innerhalb des Thymus resultiert die Expression von T-Zell-Rezeptor-spezifischen agonistischen Liganden durch Epithelzellen in einer weitgehend *Transforming Growth Factor beta* (TGFβ)-unabhängigen *De-novo*-Generierung von regulatorischen T-Zellen aus unreifen Thymozyten-Vorläufern und bedarf einer Kostimulation über den CD28-Rezeptor (VON BOEHMER 2005). Ein schwacher subimmunogener Antigenstimulus bei fehlender Kostimulation im Rahmen der Präsentation durch dendritische Zellen ist zudem entscheidend, um in der Peripherie in Gegenwart eines intakten TGFβ-Signalweges eine *De-novo*-Generierung von CD4⁺CD25⁺-regulatorischen T-Zellen aus naiven CD4⁺CD25⁻-T-Zellen zu induzieren (KRETSCHMER et al. 2005). Die Mechanismen der peripheren Antigen-abhängigen Konversion sowie das Verständnis ihrer molekularen Eigenschaften sind jedoch bisher bei weitem nicht hinreichend geklärt.

Das Ziel des vorliegenden Projektes liegt nun in der Charakterisierung relevanter Konversions- bzw. Suppressionsmechanismen von Antigen-spezifischen regulatorischen T-Zellen. Aktuelle Studien zeigen hierbei, dass die T-Zell-Rezeptor-vermittelte Aktivierung in Anwesenheit von TGFβ auch *in vitro* in einer Konversion von aus *ex vivo* isolierten CD4⁺CD25⁻- in CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺-T-Zellen mit suppressorischem Potential resultiert. Es zeigte sich jedoch bei Restimulation dieser *in vitro* konvertierten regulatorischen T-Zellen in Abwesenheit von TGFβ ein Verlust der Foxp3-Expression sowie ihrer suppressorischen Charakteristika

(LI et al. 2006). Im Gegensatz dazu führt die Antigen-spezifische *In-vivo*-Konversion zu einer stabilen Foxp3-Expression und damit auch zu stabilen suppressorischen Eigenschaften. Die stabile Foxp3-Expression ist durch spezifische Demethylierung einer konservierten CpG-reichen Sequenz im Foxp3-Locus gekennzeichnet. Die Analyse des Methylierungsstatus dieser Region ergab, dass natürliche und *in vivo*, aber nicht *in vitro* Antigen-spezifisch konvertierte, regulatorische T-Zellen eine komplette Demethylierung der CpG-Motive aufweisen, während sie in konventionellen CD4⁺Foxp3⁻-T-Zellen eine 100%ige Methylierung besitzen. Aufgrund dieser differentiellen Methylierung wurde dieses Element als Treg-spezifische demethylierte Region (TSDR) bezeichnet (BARON et al. 2007, POLANSKY et al. 2008). Somit dienen die *In-vitro*- bzw. *In-vivo*-Analysen der Konversionsmechanismen und ihrer molekularen Analyse entscheidend auch dem Ziel einer Protokoll-Etablierung zur stabilen *In-vivo*-Konversion. Neben der bisher erzielten Prävention von Autoimmunprozessen durch Konversion naiver T-Zellen sollen weitere Untersuchungen dieses Projektes auch auf eine Verbesserung des Verständnisses zur möglichen Konversion bereits präaktivierter CD4⁺CD25⁻-T-Zellen in Foxp3⁺CD4⁺CD25⁺-T-Zellen fokussieren, was ihr therapeutisches Potential entscheidend verbessern könnte. Als *In-vivo*-Modellsysteme zur Untersuchung und weiteren Charakterisierung molekularer Mechanismen der Antigen-abhängigen Konversion finden u. a. T-Zell-Rezeptor-transgene Mäuse für Hämagglutinin A bzw. HY Anwendung. Die Applikation der Antigene erfolgt mittels DEC205-Fusionsantikörpern (KRETSCHMER 2005) bzw. anhand der Implantation mini-osmotischer Pumpen zur kontinuierlichen Gabe. Die Resultate aus den transgenen Maussystemen sollen zudem als Grundlage zur weiteren Übertragung der Generierung Antigen-spezifischer regulatorischer T-Zellen auf WT-Maussysteme fungieren (VERGINIS et al. 2008). Dies soll zukünftig auch eine Untersuchung von Mechanismen der Cross-präsentation im Rahmen der Antigen-abhängigen Konversion ermöglichen.

Literatur

- BARON, U., FLOESS, S., WIECZOREK, G., BAUMANN, K., GRÜTZKAU, A., DONG, J., THIEL, A., BOELD, T. J., HOFFMANN, P., EDINGER, M., TÜRBACHOVA, I., HAMANN, A., OLEK, S., and HUEHN, J.: DNA demethylation in the human FOXP3 locus discriminates regulatory T cells from activated FOXP3(+) conventional T cells. *Eur. J. Immunol.* 37, 2378–2389 (2007)
- BOEHMER, H. VON: Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nature Immunol.* 4, 338–343 (2005)
- JAECKEL, E., BOEHMER, H. VON, and MANN, M. P.: Antigen-specific FoxP3-transduced T-cells can control established type 1 diabetes. *Diabetes* 5, 306–310 (2005)
- KHATTRI, R., COX, T., YASAYKO, S. A., and RAMSDELL, F.: An essential role for Scurfin in CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells. *Nature Immunol.* 4, 337–342 (2003)
- KRETSCHMER, K., APOSTOLOU, I., HAWIGER, D., KHAZAIE, K., NUSSENZWEIG, M. C., and BOEHMER, H. VON: Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nature Immunol.* 6, 1219–1227 (2005)
- LI, M. O., WAN, Y. Y., SANJABI, S., ROBERTSON, A. K., and FLAVELL, R. A.: Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 24, 99–146 (2006)
- POLANSKY, J. K., KRETSCHMER, K., FREYER, J., FLOESS, S., GARBE, A., BARON, U., OLEK, S., HAMANN, A., BOEHMER, H. VON, and HUEHN, J.: DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *Eur. J. Immunol.*, 38/6, 1654–1663 (2008)
- VERGINIS, P., McLAUGHLIN, K. A., WUCHERPFENNIG, K. W., BOEHMER, H. VON, and APOSTOLOU, I.: Induction of antigen-specific regulatory T cells in wild-type mice: visualization and targets of suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105/9, 3479–3484 (2008)

Publikationen

- DANIEL, C., SARTORY, N. A., ZAHN, N., RADEKE, H. H., and STEIN, J.: Immunomodulatory treatment of TNBS colitis with calcitriol is associated with a change of Th1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 324, 23–33 (2008)

- DANIEL, C., SARTORY, N. A., ZAHN, N., SCHMIDT, R., GEISSLINGER, G., RADEKE, H. H., and STEIN, J.: FTY720 ameliorates oxazolone colitis in mice by affecting T helper type 2 functions via the IL-1 receptor related protein T1/ST2. *Mol. Immunol.* *4/4*, 3305–3316 (2007)
- DANIEL, C., SARTORY, N. A., ZAHN, N., GEISSLINGER, G., RADEKE, H. H., and STEIN J.: FTY720 ameliorates Th1-mediated colitis in mice by directly affecting the functional activity of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J. Immunol.* *178/4*, 2458–2468 (2007)

Dr. rer. nat. Michael Decker

(BMBF LPD 9901/8-147)

Geboren 1973. 1993–1996 Studium der Chemie an der Universität Bonn. 1996–1997 Postgraduiertenstudium am Department of Chemistry der Universität Cambridge (St. John's College) (Großbritannien). 1997 Master's Degree. 1998–2001 Promotion am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Bonn. 2002 Export Sales Department Macherey & Nagel Co. KG, Düren. 2003–2007 Wissenschaftlicher Assistent am Lehrstuhl für Pharmazeutische/Medizinische Chemie der Universität Jena. 2007–2008 Leopoldina-Stipendiat/Visiting Scientist im Medicinal Chemistry Program am McLean Hospital, Harvard Medical School, Belmont, MA (USA). Seit August 2008 Lecturer in Medicinal Chemistry an der School of Pharmacy der Queen's University Belfast (Großbritannien).



Projekt:

Entwicklung neuartiger Liganden an Opioidrezeptoren: Bivalente Liganden und Amino-Derivate von Morphinanen als mögliche SPECT-Radiotracer

Im Rahmen des zu bearbeitenden Projektes sollten chemische Strukturänderungen an starken Analgetika (Opioiden mit Morphinanstruktur) durchgeführt werden und das hinsichtlich zweier Ziele: Zum einen sollte eine Modifikation der Struktur angestrebt werden, die es ermöglicht, hochaffine und -selektive Liganden zu erhalten (besonders hinsichtlich des κ -Subtyps des Opioidrezeptors), wobei ein Jodatome in die Struktur einzuführen war, welches dazu dient, gegen radioaktives ^{123}I ausgetauscht zu werden, um so neuartige Liganden für tomographische Imaging-Verfahren (hier SPECT) zu erhalten. Solche Radiotracer können helfen, die Rolle der Opioidrezeptoren (insbesondere der des κ -Subtyps) im Suchtgeschehen und bei neurodegenerativen Erkrankungen (etwa Morbus Parkinson) zu erhellen. Es gelang in diesen Arbeiten, in der hochaffinen Leitstruktur Butorphan (chemisch gesehen ein Morphinan) die Hydroxygruppe in Position 3 u. a. durch Aminophenyl- und Aminobenzyl-Gruppen zu ersetzen, wobei in diese Strukturen auch Jodatome eingeführt werden konnten. Von grundlegendem Interesse für die Opioidforschung ist dabei, dass die erwähnte Hydroxy-Funktion in den Struktur-Wirkungsbeziehungen klassischer Opioidliganden als notwendiges Strukturelement angesehen wurde, was in unseren Arbeiten aber nicht bestätigt werden konnte.

Hinweise, dass die Hydroxy-Gruppe keineswegs unabdingbar für hochaffine Liganden ist, kamen neben anderen Befunden auch aus Resultaten, die mit Hilfe sogenannter „bivalenter Liganden“ gewonnen wurden. Bei bivalenten Liganden werden zwei (meist identische) Moleküle/Liganden in geeigneter chemischer Weise kovalent miteinander verknüpft, und zwar durch einen molekularen „Spacer“. Mit diesem innovativen Prinzip war es vor allem bei G-Protein gekoppelten Rezeptoren in einer ganzen Reihe von Fällen möglich, die Affinitäten der univalenten („einzelnen“) Liganden um ein Vielfaches zu verbessern und neuartige (verbesserte) Subtypselektivitäten zu erhalten. Auf Rezeptorebene ist das Bindungsverhalten dieser molekularen *Tools* nicht einheitlich, eine Erklärung ihres neuen Bindungsprofils beruht

darauf, dass ein bivalenter Ligand an zwei Rezeptoren bindet, was dann entsprechend auf Rezeptorebene zu „Rezeptordimeren“ führt. Dabei ist von besonderem Interesse für die durchgeführten Arbeiten, dass es Hinweise darauf gibt, dass solch ein Rezeptordimer andere intrinsische Aktivität besitzen kann als das Rezeptormonomere, d. h., dass ein bivalenter Ligand also eine andere intrazelluläre Antwort als zwei univalente Liganden hervorrufen könnte.

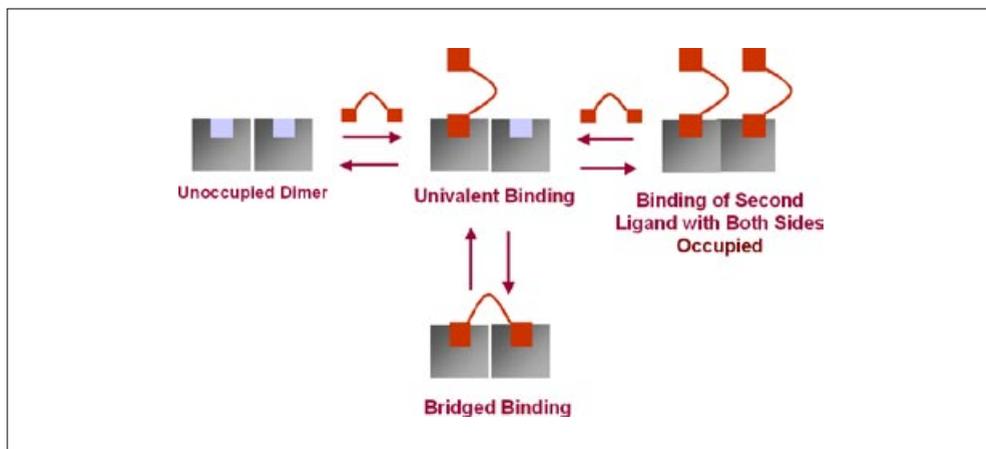


Abb. 1 Bindungsprinzip bivalenter Liganden.

In vorausgegangenen Arbeiten der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass bei bivalenten Liganden mit Morphinanstruktur ein Spacer aus zehn C-Atomen die höchsten Affinitäten zeigt. Dabei wurde dieser Spacer als Diester über die Hydroxy-Funktion gebunden. Auch hier scheint das Vorhandensein der Hydroxy-Funktion also nicht zwingend notwendig zu sein.

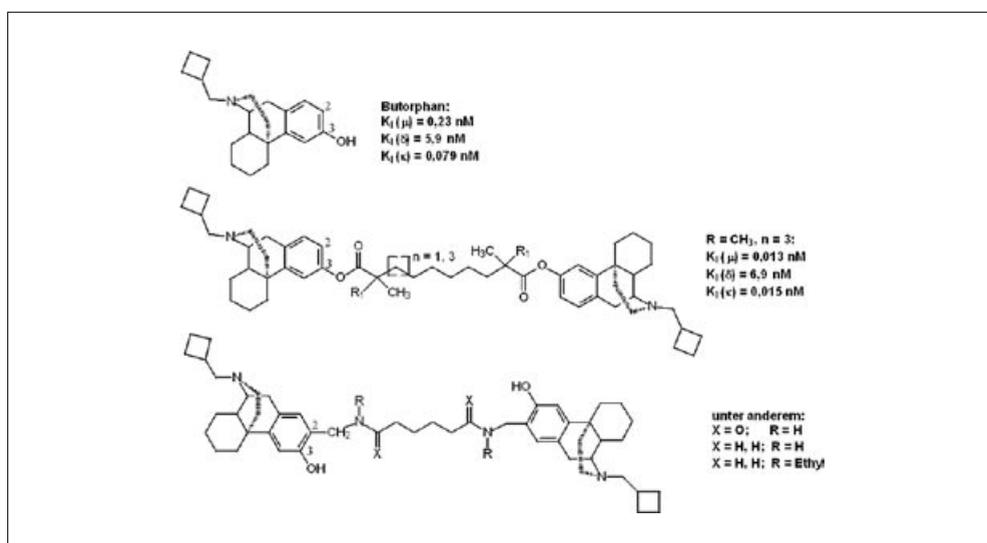


Abb. 2 Bivalente Liganden, abgeleitet von Butorphan: Hydrolysestabile Diester und in 2-Position verknüpfte Verbindungen.

Allerdings sind Ester therapeutisch schlecht geeignet, da sie *in vivo* und auch unter den angewandten pharmakologischen Testbedingungen schnell hydrolysiert werden können, in diesem Fall zurück zur Ausgangssubstanz Butorphan. Es ist also auch nicht eindeutig erwiesen, welchen Anteil das Hydrolyseprodukt Butorphan am Bindungsprofil hat.

Um hier neue Strukturen für hochaffine bivalente Liganden zu entdecken, wurden im zweiten Teil des geförderten Projektes zwei Methoden verfolgt:

- (1.) Es wurden zum einen wiederum Diester synthetisiert, allerdings mit andersartigen Spacern: Diese Spacer sollten in α -Position methyliert und dimethyliert sein, um so den Angriff von hydrolysierenden Enzymen zu verhindern. Tatsächlich konnten in diesen Arbeiten Liganden gefunden werden, die im pikomolaren Bereich am κ - und μ -Subtyp binden und damit zu den stärksten bisher beschriebenen Liganden am κ -Subtyp gehören.
- (2.) In einem zweiten Schritt gelang es, eine andere Stelle des Butorphan-Moleküls chemisch zu funktionalisieren (die Position 2 am Benzolring). So war es möglich, eine ganze Reihe von bivalenten Liganden zu synthetisieren, die weiterhin die Hydroxy-Funktion in Position 3 aufweisen, da die Morphinane ja an anderer Stelle verknüpft wurden. Es wurden verschiedene Spacerlängen realisiert und in den Spacern sekundäre und tertiäre Aminofunktionen, Hydroxy-Gruppen und Amid-Funktionen eingeführt. Damit steht nun eine neue Klasse von bivalenten Liganden als pharmakologische *Tools* zur Verfügung. In laufenden pharmakologischen Untersuchungen soll jetzt untersucht werden, ob und inwiefern wasserstoffbrückenbildende Donor- und Akzeptorfunktionen der neuen Morphinstrukturen das Bindungsverhalten beeinflussen.

Publikationen

- APPENROTH, D., DECKER, M., LEHMANN, J., TRAENKLE, C., MOHR, K., and FLECK, C.: *In vivo*-investigations on the cholinesterase-inhibiting effects of tricyclic quinazolinimines: Scopolamine-induced cognitive impairments in rats are attenuated at low dosage and reinforced at higher dosage. *Pfluegers Arch. Eur. J. Phy.* 455/5, 895–901 (2008)
- ABOUZID, K., FROHBERG, P., LEHMANN, J., and DECKER, M.: 6-Aryl-4-oxohexanoic acids: Synthesis, effects on eicosanoid biosynthesis, and anti-inflammatory *in vivo*-activities. *Med. Chem.* 3, 433–438 (2007)

Dr. rer. nat. Jeroen S. Dickschat

(BMBF LPD 9901/8-143)

Geboren 1977. 10/1997–5/2002 Studium der Chemie (Diplom) an der TU Braunschweig, mit Auszeichnung. 6/2002–7/2005 Promotion am Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig unter Anleitung von Prof. Dr. Stefan SCHULZ, Titel der Dissertation: „Identification, Synthesis, and Biosynthesis of Volatiles from Diverse Bacteria“, mit Auszeichnung. 8/2005–4/2006 Forschungsaufenthalt bei Prof. Dr. Rolf MÜLLER an der Universität des Saarlandes, Arbeiten zur Biosynthese von Aurachin, Geosmin und 2-Methylisoborneol.

5/2006–4/2008 Forschungsaufenthalt bei Prof. Dr. Peter LEADLAY an der Universität Cambridge (Großbritannien), Arbeiten zur Biosynthese des Lankacidins. Seit 5/2008 Arbeitsgruppenleiter einer Nachwuchsgruppe am Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig. Preise und Auszeichnungen: 6/1996 Auszeichnung durch den Fonds der Chemischen Industrie für die beste Abiturprüfung im Fach Chemie am Gymnasium Nordhorn. 1/2000 Auszeichnung für hervorragende Leistungen in der Diplomvorprüfung (Chemie) durch die Freunde des Institutes für Organische Chemie e. V. 10/2000 TU-Preis durch den Braunschweigischen Hochschulbund für hervorragende Leistungen während des Chemiestudiums. 9/2002–8/2004 Stipendiat des Fonds der Chemischen Industrie. 1/2003 Auszeichnung für hervorragende Leistungen in der Diplomhauptprüfung (Chemie) durch die Freunde des Institutes für Organische Chemie e. V. 5/2006–4/2008 Postdoktoranden-Stipendiat der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina. 7/2008 Zuerkennung eines Emmy-Noether-Stipendiums (DFG).



Projekt:

Die Biosynthese der Lankacidine

Vortrag:

Neue Aspekte in der Biosynthese der Lankacidin-Antibiotika

Die Lankacidine sind eine Gruppe von Makrolid-Antibiotika, die von dem Actinomyceeten *Streptomyces rochei* var. *volubilis* produziert wird (HIGASHIDE et al. 1971, HARADA et al. 1971, URAMOTO et al. 1969, HARADA und KISHI 1974). In dieser Gruppe besitzen die Lankacidine A (**1**) und C (**2**) eine *N*-Pyruvoylgruppe und die Lankacidinole A (**3**) und C (**4**) eine *N*-Lactoylgruppe (HARADA und KISHI 1974). Diese Antibiotika sind insbesondere wirksam gegen Gram-positive Bakterien und besitzen darüber hinaus eine Aktivität gegen lymphatische Sarkome in Mäusen (TSUCHIYA et al. 1971, OOTSU et al. 1975). Es handelt sich um Hybride aus einem nichtribosomalen Peptidteil (NRP) und einem Polyketidteil (PK), deren Biosynthese von nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS) bzw. Polyketidsynthase (PKS) katalysiert wird. In Fütterungsexperimenten mit isopenmarkierten Vorläufern wurde gezeigt, dass das NRPS-PKS-Rückgrat aus einer Glycin- und acht Acetat-Einheiten aufgebaut wird, während die vier Methylgruppen durch das biologische Methylierungsreagenz *S*-Adenosylmethionin (SAM) eingeführt werden. Der biosynthetische Ursprung der *N*-Pyruvoyl- bzw. *N*-Lactoylgruppen ist hingegen ungeklärt.

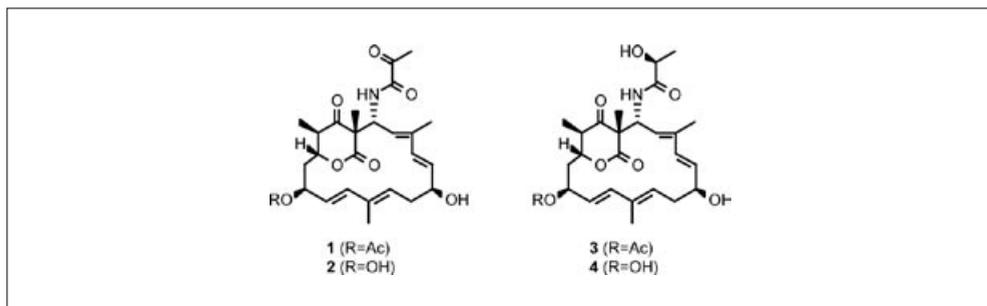


Abb. 1 Lankacidine

Das lineare Plasmid pSLA2-L von *S. rochei* 7434AN4 wurde in der Arbeitsgruppe von KINASHI komplett sequenziert (MOCHIZUKI et al. 2003). Das Plasmid enthält ein Gencluster für die Biosynthese der Lankacidine, dessen Grenzen durch umfassende *Knockout*-Experimente identifiziert wurden (ARAKAWA et al. 2005). Der Stamm ATCC21250 besitzt ein ähnliches Plasmid pSRV, das von uns komplett sequenziert wurde und ebenfalls ein Gencluster für die Lankacidin-Biosynthese mit derselben Organisation der Gene besitzt. Das Lankacidin-Biosynthese-gencluster umfasst 15 Gene (*lkcA–lkcO*), inklusive dem NRPS/PKS-Hybrid *lkcA* und den PKS-Genen *lkcB*, *lkcC*, *lkcD*, *lkcF* und *lkcG*.

Polyketide des Typs I werden von großen Multidomänen-Enzymen generiert, die mechanistisch den Fettsäuresynthasen ähneln (STAUNTON und WEISSMAN 2001). Diese Enzyme weisen Module für den Einbau der Verlängerungseinheiten wie Malonyl-CoA, Methylmalonyl-CoA oder in seltenen Fällen Ethylmalonyl-CoA bzw. Methoxymalonyl-CoA in die wachsende Polyketidkette auf. Das erste bzw. Lademodul besteht aus einer Acyltransferase-Domäne (AT), die die Startereinheit, zumeist Acetyl-CoA oder Propionyl-CoA, auswählt und auf das Acyl-Carrier-Protein (ACP) lädt. Sämtliche Verlängerungsmodule besitzen zumindest ein ebenso agierendes Paar einer AT-Domäne und eines ACPs, und darüber hinaus eine Ketosynthase-Domäne (KS), die eine unter Decarboxylierung ablaufende Claisen-Kondensation zweier ACP-gebundener Einheiten katalysiert, so dass ein β -Ketoacyl-Intermediat gebildet wird. Auf diese Weise bleibt die Polyketidkette stets ACP-gebunden und wird von Modul zu Modul weitergereicht, wobei in jedem Schritt eine Verlängerungseinheit eingefügt wird. Optional enthalten die Verlängerungsmodule noch eine Ketoreduktase- (KR), Dehydratase- (DH) und eine Enoylreduktase-Domäne (ER) für reduktive Modifizierungen der β -Ketogruppe, wie in der Fettsäurebiosynthese, sowie Methyltransferase-Domänen (MT) für C- und O-Methylierungen. Das letzte Modul weist gewöhnlich eine Thioesterase-Domäne (TE) auf, die das fertige ACP-gebundene Polyketid-Intermediat durch Hydrolyse oder Lactonisierung freisetzt.

Auf ähnliche Weise katalysieren NRPS-Systeme die Bildung von Peptiden aus Aminosäure-Bausteinen. Die Multidomänen-Enzyme sind ebenfalls in Modulen organisiert, die zumindest eine Adenylierungsdomäne (A) für die Selektion und Aktivierung der korrekten Aminosäure und ein Peptidyl-Carrier-Protein (PCP) besitzen, das die wachsende Peptidkette trägt (minimaler Satz des Lademoduls). Alle Verlängerungsmodule besitzen zudem eine Kondensationsdomäne (C), die zwei PCP-gebundene Intermediate verknüpft. Optional sind Heterocyclisierungsdomänen (Cy) und Oxidationsdomänen (Ox) vorhanden. Letztendlich wird das NRPS-Produkt durch eine TE-Domäne freigesetzt, wobei freie Säuren, Lactone oder Lactame gebildet werden können.

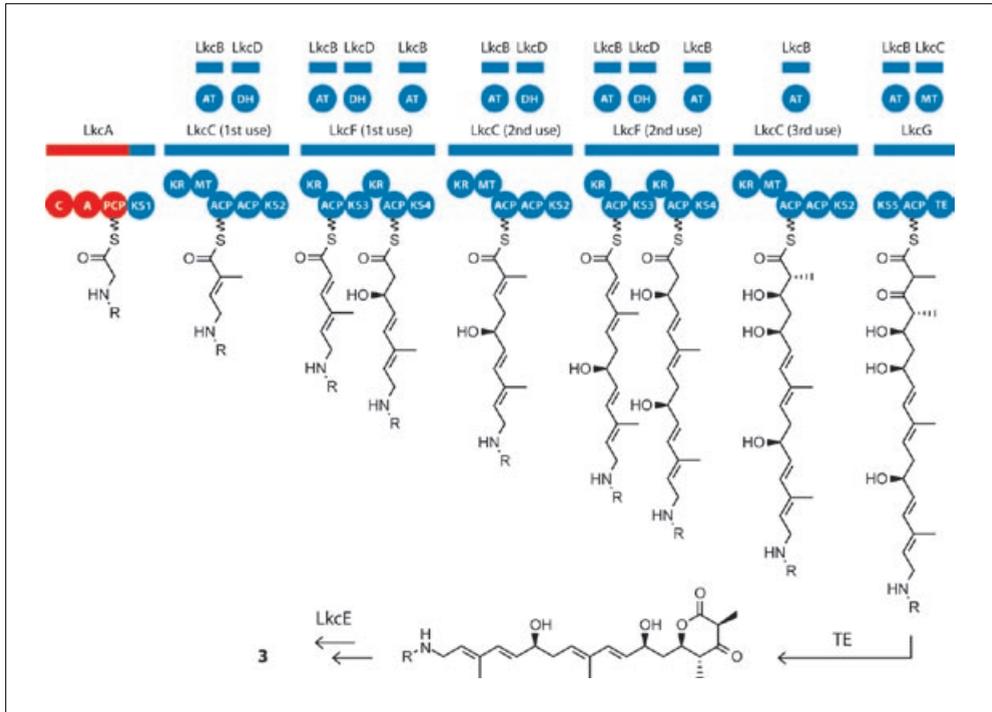


Abb. 2 Modell der Lankacidin-Biosynthese. Die Domänen sind Adenylierungsdomäne (A), Acyl-Carrier-Protein (ACP), Acyltransferase (AT), Kondensationsdomäne (C), Dehydratase (DH), Ketoreduktase (KR), Ketosynthase (KS), Methyltransferase (MT) und Peptidyl-Carrier-Protein (PCP). PKS-Domänen sind in blau, NRPS-Domänen in rot dargestellt. In *trans* agierende diskrete Enzyme (AT, DH) und Domänen (MT) sind oberhalb des entsprechenden Biosyntheseschrittes abgebildet.

Das Biosynthesegencluster des Lankacidins besitzt eine Vielfalt von Besonderheiten (Abb. 2). Zunächst ist die Domänenorganisation des hybridischen NRPS/PKS-Enzyms LkcA (C-A-PCP-KS) und der PKS-Enzyme LkcC (KR-MT-ACP-ACP-KS) und LkcF (KR-ACP-KS-KR-ACP-KS) ungewöhnlich, da die zu jedem (ersten) PKS-Verlängerungsmodul gehörige KS-Domäne nicht mit den anderen Domänen dieses Moduls auf demselben Enzym gruppiert ist, sondern die C-terminale Domäne des vorangehenden Enzyms bildet; es liegen sogenannte gespaltene Module vor. Lediglich LkcG besitzt die normale Domänenorganisation KS-ACP-TE. Weiterhin besitzen die PKS-Module keine AT-Domäne, sondern stattdessen ist eine diskrete AT (LkcB) vorhanden, die in *trans* mit sämtlichen PKS-Modulen kooperiert. Ebenso enthalten die PKS-Module keine DH-Domänen, und die diskrete DH (LkcD) katalysiert vermutlich ebenso in *trans* sämtliche Dehydrierungsschritte während der Lankacidin-Biosynthese. Das PKS-Rückgrat der Lankacidine wird aus acht Acetat-abgeleiteten Malonyl-CoA-Einheiten aufgebaut, jedoch sind in den vorhandenen PKSs nur fünf Module codiert. Die heterologe Expression des Lankacidin-Biosynthesegenclusters in *Streptomyces lividans* resultiert aber in der Produktion von Lankacidinen (TATSUNO et al. 2007), wodurch gezeigt wurde, dass die vorhandenen Gene für die Lankacidin-Biosynthese ausreichen, so dass die iterative Verwendung eines oder mehrerer Module während der Biosynthese angenommen werden muss. Außerdem treten in LkcC zwei ACP-Domänen mit annähernd derselben Aminosäuresequenz auf. Derartige verdoppelte bzw. sogar verdreifachte ACP-Domänen, wenn auch nicht immer mit so hoher Sequenzhomologie, wurden z. B. auch in den

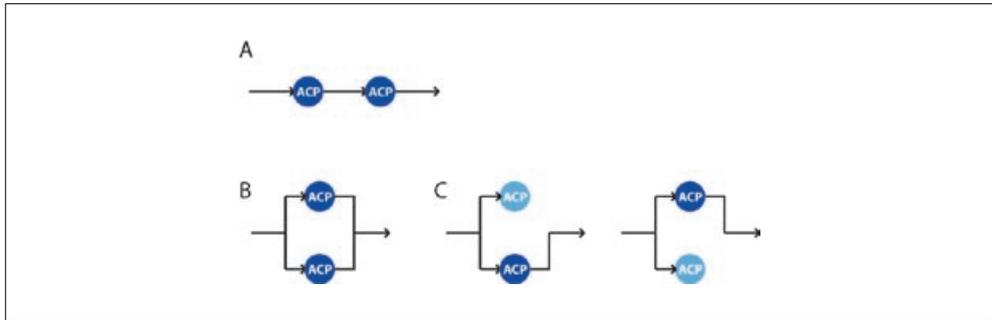


Abb. 3 Mögliche Mechanismen für die Funktion verdoppelter ACP-Domänen. (A) Die ACP-Domänen agieren in Serie, (B) ACP-Domänen stehen parallel zueinander, (C) eine ACP-Domäne ist unfunktional.

Biosynthesegenclustern für Mupirocin und Leinamycin gefunden (KASSEM EL-SAYED et al. 2003, CHENG et al. 2003, TANG et al. 2004).

Die Rolle dieser verdoppelten ACP-Domänen der Biosynthesegencluster des Mupirocins und des Leinamycins wurde in Geninaktivierungsexperimenten untersucht (RAHMAN et al. 2005, TANG et al. 2006). Prinzipiell sind für ein Paar von ACP-Domänen drei verschiedene Fälle denkbar (Abb. 3): Beide ACP-Domänen sind voll funktionsfähig und können sich in jedem Schritt der Biosynthese des Polyketides, an dem sie beteiligt sind, wechselseitig substituieren; sie agieren in einer parallelen Anordnung. Inaktivierung einer beliebigen dieser doppelten ACP-Domänen führt nicht zu dem Verlust der Polyketid-Produktion, sondern nur eine Doppelmutante bildet kein Polyketid. Im Falle einer iterativen Verwendung des Moduls, das die doppelten ACP-Domänen enthält, kann eine der beiden ACP-Domänen streng an einem frühen, die andere an einem späteren Biosyntheseschritt beteiligt sein, ohne dass sie sich gegenseitig komplementieren können. In dieser seriellen Anordnung der ACP-Domänen führt die Inaktivierung einer beliebigen ACP-Domäne zum Verlust der Polyketid-Produktion. Weiterhin kann eine der beiden ACP-Domänen inaktiv sein, aber parallel zu der zweiten ACP-Domäne arrangiert sein. In diesem Fall bewirkt eine Mutation der inaktiven ACP-Domäne keine Veränderung im Produktionslevel, während eine Mutation der aktiven ACP-Domäne kritisch ist und die Polyketid-Biosynthese zum Erliegen bringt. Die Untersuchungen an den Biosynthesegenclustern des Mupirocins und des Leinamycins haben ergeben, dass die verdoppelten ACP-Domänen jeweils beide aktiv sind und in paralleler Anordnung zueinander stehen. Darüber hinaus besitzt das Mupirocin-Biosynthesegencluster verdreifachte ACP-Domänen, von denen eine in Serie zu zwei parallel angeordneten ACP-Domänen steht.

Tab. 1 Lankacidin-Produktion der konstruierten ACP-Mutanten

Eintrag	Stamm	Mutation ^[1]	Relative Lankacidin-Produktion ^[2]
1	ATCC21250	ACP1, ACP2	1,00 ± 0,79
2	36a-1	ΔACP1, ACP2 ⁻	keine Produktion
3	17b-28	ΔACP1, ACP2	0,34 ± 0,30
4	35a-2	ACP1 ⁻ , ACP2	0,47 ± 0,29
5	14a-1	ACP1, ACP2 ⁻	0,97 ± 0,67
6	38b-4	ACP1 ⁻ , ACP2 ⁻	keine Produktion

[1] ΔACP bezeichnet die Deletion einer ACP-Domäne, und ACP⁻ bezeichnet eine durch Serin-Alanin-Austausch inaktivierte ACP-Domäne. [2] Die Lankacidin-Produktion des Wildtyp wird als 1,00 definiert. Es ist der Mittelwert aus mindestens fünf Kulturextrakten mit Standardabweichung angegeben.

Im Vortrag wird die Funktion der verdoppelten ACP-Domäne in LkcC präsentiert. Aufgrund der hohen Sequenzhomologie der beiden ACP-Domänen stellte sich die gezielte Mutation nur einer der beiden Domänen als besondere Herausforderung dar. Die Inaktivierung der ACP-Domänen sollte durch ortsgerichtete Mutagenese des konservierten Serins im aktiven Zentrum durchgeführt werden. Durch Anfügen eines Phosphopantetheinylrestes an das hochkonservierte Serin wird die *Holo*-Form der Enzymdomäne generiert, indem dieser Phosphopantetheinylrest im Verlauf der PKS-Biosynthese den wachsenden Polyketid-Acylrest trägt. Der gezielte Austausch des Serins gegen Alanin führt somit zur Inaktivierung der ACP-Domäne. Ein PCR-Ansatz zur ortsgerichteten Mutagenese des hochkonservierten Serins führte aufgrund der Sequenzgleichheit der benachbarten ACP-Domänen stets zum Verlust einer ACP-Sequenz. Auf diese Weise konnten aber zwei Mutanten erhalten werden, bei denen je eine ACP-Domäne deletiert ist. In der ersten Mutante besitzt die verbleibende ACP-Domäne nach Verwendung von mutierten Primern ein Alanin anstelle des Serins im aktiven Zentrum. In dieser Mutante ist keine aktive ACP-Domäne in LkcC vorhanden, und es werden keine Lankacidine produziert (Tab. 1, Eintrag 2). Eine PCR mit nicht mutierten Primern führt ebenso zu einer Deletion einer ACP-Domäne, aber die verbleibende ACP-Domäne besitzt die Wildtyp-Sequenz und ist aktiv; die entsprechende Mutante produziert reduzierte Mengen an Lankacidinen (Tab. 1, Eintrag 3). Die nachträgliche Wiedereinführung eines zweiten entweder mutierten oder originalen DNA-Abschnittes für eine ACP-Domäne in die Deletionsmutanten hat einen Satz von Mutanten ergeben, die zwei ACP-Domänen in LkcC besitzen, bei denen entweder die erste (Tab. 1, Eintrag 4), oder die zweite (Tab. 1, Eintrag 5), oder beide ACP-Domänen (Tab. 1, Eintrag 6) durch Austausch des hochkonservierten Serins gegen Alanin mutiert sind. Die beiden Einfachmutanten produzieren Lankacidine, wenn auch in einem Fall in leicht reduzierter Ausbeute. Die Doppelmutante ist, wie erwartet, nicht in der Lage, Lankacidine zu produzieren.

Diese Ergebnisse demonstrieren eindeutig, dass die verdoppelte ACP-Domäne in LkcC des Lankacidin-Biosynthesegenclusters als Vertreter eines bakteriellen iterativen PKS-Genclusters des Typs I parallel zueinander agieren. Ähnliche Ergebnisse wurden zuvor schon für die bakteriellen modularen PKS-Gencluster des Mupirocins und des Leinamycins erhalten (RAHMAN et al. 2005, TANG et al. 2006). Alle diese Gencluster sind Repräsentanten des *trans* AT-Typs. Eine parallele Anordnung verdoppelter ACP-Domänen wurde darüber hinaus in einem pilzlichen iterativen PKS-Gencluster des Typs I, der Naphthopyron-Synthase, gefunden (FUJI et al. 2001). Eine der dreifachen ACP-Domänen des Mupirocin-Biosynthesegenclusters ist die bisher einzige identifizierte ACP-Domäne, die in Serie zu den beiden anderen ACP-Domänen steht. Ob eine derartige serielle Anordnung eine Ausnahme zu ansonsten parallel agierenden ACP-Domänen bildet, erfordert die Untersuchung weiterer Systeme mit vielfachen ACP-Domänen. Weiterhin steht eine Untersuchung von vielfachen ACP-Domänen in PKS-Biosynthesegenclustern des *cis* AT-Typs wie des Jamaicamid-Biosynthesegenclusters aus (EDWARDS et al. 2004).

Literatur

- ARAKAWA, K., SUGINO, F., KODAMA, K., ISHII, T., and KINASHI, H.: Cyclization mechanism for the synthesis of macrocyclic antibiotic lankacidin in *Streptomyces rochei*. Chem. Biol. 12, 249–256 (2005)
- CHENG, Y., TANG, G., and SHEN, B.: Type I polyketide synthase requiring a discrete acyltransferase for polyketide biosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 3149–3154 (2003)
- EDWARDS, D. J., MARQUEZ, B. L., NOGLE, L. M., MCPHAIL, K., GOEGER, D. E., ROBERTS, M. A., and GERWICK, W. H.: Structure and biosynthesis of the jamaicamides, new mixed polyketide-peptide neurotoxins from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. Chem. Biol. 11, 817–833 (2004)

- FUJII, I., WATANABE, A., SANKAWA, U., and EBIZUKA, Y.: Identification of Claisen cyclase domain in fungal polyketide synthase WA, a naphthopyrone synthase of *Aspergillus nidulans*. *Chem. Biol.* **8**, 189–197 (2001)
- HARADA, S., KISHI, T., and MIZUNO, K.: Studies on T-2636 antibiotics. II. Isolation and chemical properties of T-2636 antibiotics. *J. Antibiot.* **24**, 13–22 (1971)
- HARADA, S., and KISHI, T.: Studies on lankacidin-group (T-2636) antibiotics. V. Chemical structures of lankacidin-group antibiotics. I. *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 99–108 (1974)
- HIGASHIDE, E., FUGONO, T., HATANO, K., and SHIBATA, M.: Studies on T-2636 antibiotics. I. Taxonomy of *Streptomyces rochei* var. *volubilis* var. nov. and production of the antibiotics and an esterase. *J. Antibiot.* **24**, 1–12 (1971)
- KASSEM EL-SAYED, A., HOTHERSALL, J., COOPER, S. M., STEPHENS, E., SIMPSON, T. J., and THOMAS, C. M.: Characterization of the mupirocin biosynthesis gene cluster from *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586. *Chem. Biol.* **10**, 419–430 (2003)
- MOCHIZUKI, S., HIRATSU, K., SUWA, M., ISHII, T., SUGINO, F., YAMADA, K., and KINASHI, H.: The large linear plasmid pSLA2-L of *Streptomyces rochei* has an unusually condensed gene organization for secondary metabolism. *Mol. Microbiol.* **48**, 1501–1510 (2003)
- OOTSU, K., MATSUMOTO, T., HARADA, S., and KISHI, T.: Antitumor and immunosuppressive activities of lankacidin-group antibiotics: structure-activity relationships. *Cancer Chemother. Rep.* **59**, 919–928 (1975)
- RAHMAN, A. S., HOTHERSALL, J., CROSBY, J., SIMPSON, T. J., and THOMAS, C. M.: Tandemly duplicated acyl carrier proteins, which increase polyketide antibiotic production, can apparently function either in parallel or in series. *J. Biol. Chem.* **280**, 6399–6408 (2005)
- STAUNTON, J., and WEISSMAN, K. J.: Polyketide biosynthesis: a millennium review. *Nature Prod. Rep.* **18**, 380–416 (2001)
- TANG, G., CHENG, Y., and SHEN, B.: Leinamycin biosynthesis revealing unprecedented architectural complexity for a hybrid polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase. *Chem. Biol.* **11**, 33–45 (2004)
- TANG, G., CHENG, Y., and SHEN, B.: Polyketide chain skipping mechanism in the biosynthesis of the hybrid nonribosomal peptide-polyketide antitumor antibiotic leinamycin in *Streptomyces atroolivaceus* S-140. *J. Nat. Prod.* **69**, 387–393 (2006)
- TATSUNO, S., ARAKAWA, K., and KINASHI, H.: Analysis of modular-iterative mixed biosynthesis of lankacidin by heterologous expression and gene fusion. *J. Antibiot.* **60**, 700–708 (2007)
- TSUCHIYA, K., YAMAZAKI, T., TAKEUCHI, Y., and OISHI, T.: Studies on T-2636 antibiotics. IV. In vitro and in vivo antibacterial activity of T-2636 antibiotics. *J. Antibiot.* **24**, 29–41 (1971)
- URAMOTO, M., OTAKE, N., OGAWA, Y., and YONEHARA, H.: The structures of Bundlin A (lankacidin) and Bundlin B. *Tetrahedron Lett.* **1969**, 2249–2254 (1969)

Publikationen

- MEISER, P., WEISSMAN, K. J., BODE, H. B., KRUG, D., DICKSCHAT, J. S., SANDMANN, A., and MÜLLER, R.: DKxanthene biosynthesis—Understanding the basis for diversity-oriented synthesis in myxobacterial secondary metabolism. *Chem. Biol.* **15**, 771–781 (2008)
- NAWRATH, T., DICKSCHAT, J. S., MÜLLER, R., JIANG, J., CANE, D. E., and SCHULZ, S.: Identification of (8S,9S,10S)-8,10-dimethyl-1-octalin, a key intermediate in the biosynthesis of geosmin in bacteria. *J. Amer. Chem. Soc.* **130**, 430–431 (2008)
- DICKSCHAT, J. S., NAWRATH, T., THIEL, V., KUNZE, B., MÜLLER, R., und SCHULZ, S.: Biosynthese des Duftstoffes 2-Methylisoborneol durch das Myxobakterium *Nannocystis exedens*. *Angew. Chem.* **119**, 8436–8439 (2007)
- SANDMANN, A., DICKSCHAT, J. S., JENKE-KODAMA, H., KUNZE, B., DITTMANN, E., und MÜLLER, R.: Aurachin-Biosynthese im Gram-negativen Bakterium *Stigmatella aurantiaca*: Beteiligung einer Typ-II-Polyketidsynthese. *Angew. Chem.* **119**, 2768–2772 (2007)
- SCHULZ, S., and DICKSCHAT, J. S.: Bacterial volatiles: The smell of small organisms. *Nature Prod. Rep.* **24**, 814–842 (2007)
- RING, M. W., SCHWÄR, G., THIEL, V., DICKSCHAT, J. S., KROPFENSTEDT, R. M., SCHULZ, S., and BODE, H. B.: Novel Iso-branched ether lipids as specific markers of developmental sporulation in the myxobacterium *Myxococcus xanthus*. *J. Biol. Chem.* **281**, 36691–36700 (2006)

Dr. rer. nat. Daniela C. Dieterich

(BMBF LPD 9901/8-95)

Born in Aalen in 1974. 1994–1999 Faculty of Chemistry, University of Hannover, Germany. Academic education in biochemistry at the Faculty of Chemistry of the University of Hannover, Medical School Hannover and Veterinary School Hannover. German University Diploma (equivalent to M.S.). 1999–2003 Graduate Student, Leibniz Institute for Neurobiology, Magdeburg, Germany. 2003 Dr. rer. nat. in Neurobiology. 2003–2008 Postdoctoral Scholar in the Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena, CA (USA). 2003–2005 Postdoctoral Fellow of the Leopoldina Academy. Since 2008 Independent Junior Research Group Leader, Emmy Noether Program Fellow, Leibniz Institute for Neurobiology, Magdeburg, Germany.



Project:

BONCAT and FUNCAT: Techniques for the Identification and Visualization of Newly Synthesized Proteins in Hippocampal Neurons after Synaptic Activation

At the end of brain development neurons and glial cells integrate into a highly efficient communication network forming trillions of local communication sites, the synapses. These dynamic structures are composed of three parts – (i) a presynaptic terminal specializing in neurotransmitter release, (ii) its postsynaptic target harboring a receptive processing array, and (iii) astroglial endfeet enwrapping the two neuronal elements. On the molecular level proteins drive all major cellular functions. Cells are dynamic entities responding to perturbations in their environment by changing the set of proteins. They express either through posttranslational modifications of existing proteins or via adjustments in protein synthesis and degradation. For example, the composition of protein complexes and networks, such as the NMDA receptor complex or signaling cascades, can be regulated by the addition of newly synthesized proteins or removal of existing proteins through changes in the activity pattern.

In the brain and in neuronal cultures, many studies of behavioral and synaptic plasticity have demonstrated that long-lasting changes in synaptic transmission and behavior require both gene transcription and mRNA translation. There is abundant evidence that local dendritic protein synthesis is used to allow neuronal synapses to respond dynamically to the stimulation patterns that drive the establishment, maintenance and plasticity of synaptic connections. Accordingly, synaptic signals generated in spines are coupled by signaling elements to protein synthesis machinery in dendrites resulting in the site-specific production of proteins required for synaptic plasticity. The genesis of this idea arose from the detection of both polyribosomes and various mRNAs in dendritic processes in many different types of neurons, including the pyramidal cells of the hippocampus (see STEWARD and SCHUMAN 2001, 2003 for reviews).

Central questions regarding synaptic plasticity include not only the identity and provenance of the proteins, but also the process by which newly synthesized proteins reach their

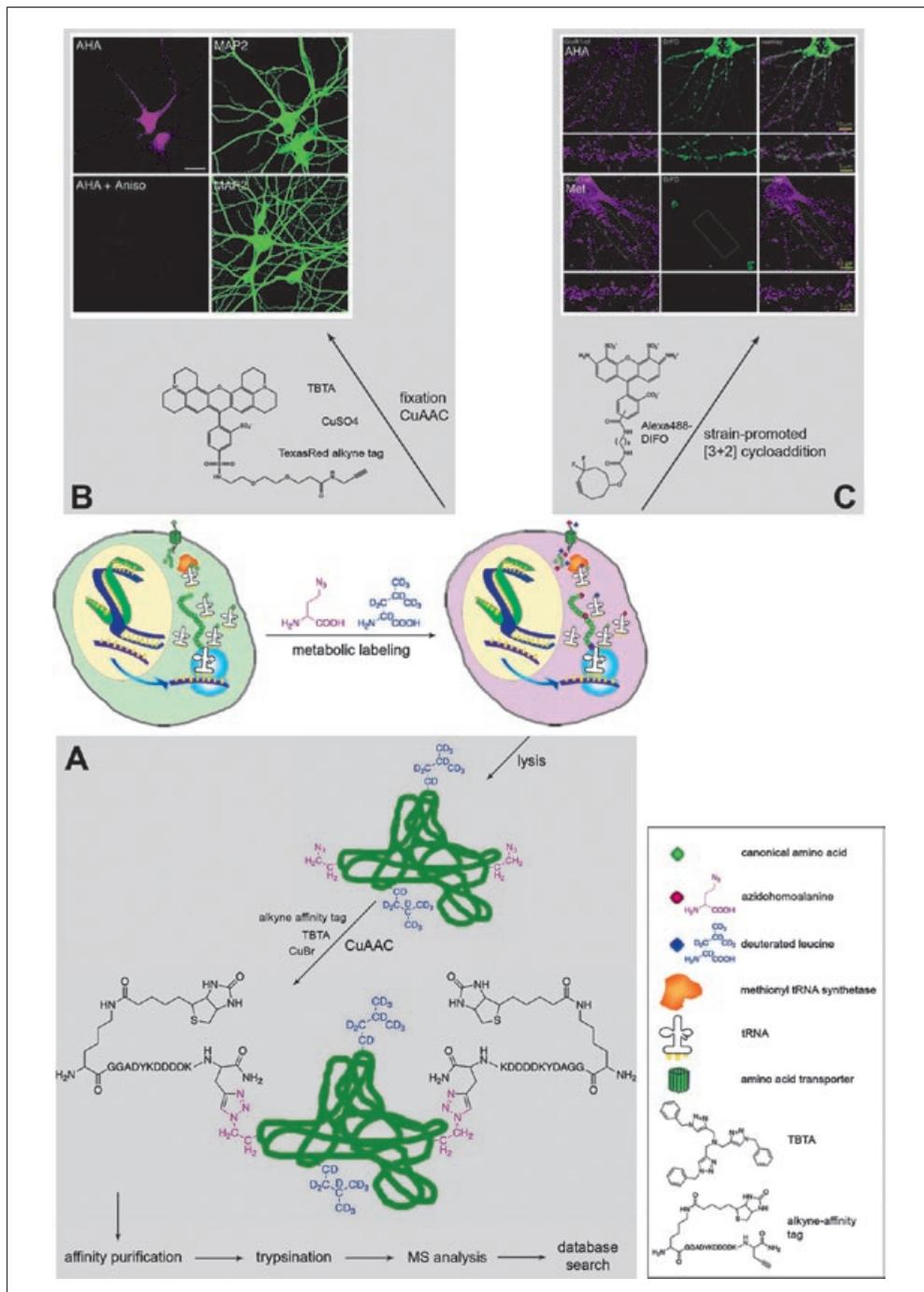


Fig. 1 Schematic depictions of the BONCAT and FUNCAT approaches. Metabolic cotranslational labeling with azidohomoalanine and an isotopically heavy amino acid (shown here is deuterated leucine) confers bioorthogonal functionalization to newly synthesized proteins. (A) BONCAT: After incubation, cells are directly lysed or, alternatively, a subcellular fractionation for biochemical enrichment of specific cellular compartments is performed prior lysis. Lysates are coupled to an alkyne-bearing affinity tag, followed by affinity purification. Purified proteins are

intended destination. Our understanding of the logic of translation, synaptogenesis and synaptic plasticity is greatly limited by the current piecemeal accrual of knowledge about the somatic and dendritically synthesized proteome and their temporal and spatial localization. Moreover, current “real-time” imaging techniques for the visualization of newly synthesized proteins being delivered to synapses (JU et al. 2004) still depend on overexpression of the reporter protein, which may perturb the neuron’s basal and stimulated state. Therefore, a means by which endogenous proteins can be monitored would provide a truer picture of synapse formation and maintenance. Thus, focusing on translated proteins is essential for an accurate picture of synapse assembly and the mechanisms by which the synapse and dendrite mount a response to local changes in the synaptic environment. Further, a complete understanding of cellular function requires a dynamic view of the proteome in which one can selectively identify and monitor changes in protein synthesis that occur on the time scale of minutes.

Until now, however, real-time resolution of proteome modulation has been impossible. Despite immense technological advances in the last decade, no mammalian cell or lower eukaryotic microorganism has been completely characterized at the proteomic level. Facing an estimated number of approximately 10,000 different proteins in a single mammalian cell (PANDEY and MANN 2000), in-depth identification of a cell’s entire proteome, let alone the comparison to another proteome, is a major challenge for modern proteomics. While today’s state-of-the-art MS instruments routinely sequence single purified proteins with subfemtomolar sensitivity, the effective identification of low-abundance proteins is orders of magnitude lower in complex mixtures due to limited dynamic range and sequencing speed (DE GODOY et al. 2006). The characterization of a proteome is an even more difficult challenge if temporal and spatial aspects of a proteome or a subpopulation of the proteome have to be taken into consideration. The separation and enrichment of the subproteome in question is the key for its successful characterization. While posttranslational modifications such as phosphorylation or ubiquitination readily provide a suitable handle for enrichment of the “phosphoproteome” or for proteins destined for degradation, reducing sample complexity by selectively enriching for newly synthesized proteins is troublesome, since all proteins – old and new – share the same pool of 20 amino acids.

How can one identify and monitor the locale of an entity of proteins that is synthesized during development or as a consequence of a changed environment?

To address these questions, I developed the BONCAT (bioorthogonal non-canonical amino acid tagging) and FUNCAT (fluorescent non-canonical amino acid tagging) techniques in the lab of Erin SCHUMAN in collaboration with David TIRRELL at the California Institute of Technology. These complementary techniques enable one to identify and visualize in a highly specific fashion the subpopulation of newly synthesized proteins (DIETERICH et al. 2006, 2007). The core of the two techniques capitalizes on the manifold potential of small bioorthogonal chemo-selective groups (recently reviewed by PRESCHER and BERTOZZI

digested with a protease, most commonly trypsin, and the resulting peptides are analyzed by mass spectrometry to obtain experimental spectra. Different search algorithms are used to match the acquired spectra to protein sequences. (B) FUNCAT: After incubation with azidohomoalanine cells are fixed with formalin prior CuAAC with a fluorescent TexasRed alkyne tag. Shown are dissociated hippocampal neurons (DIV 17) that were incubated in 4 mM AHA in the presence or absence of 40 μ M anisomycin (Aniso) for 1 h, tagged with 1 μ M TRA and immunostained for the dendritic marker protein MAP2. Scalebar = 20 μ m. (C) Strain-promoted [3+2] cycloaddition: After incubation with AHA cells are immediately live-labeled with Alexa488-conjugated difluorocyclooctyne. Here, DIV 25 hippocampal neurons were incubated for 1.5 hrs in either 4 mM AHA (top panel) or 4 mM methionine (bottom panel), followed by incubation with 2 μ M Alexa488-DIFO for 15 min on ice. Subsequently cells were fixed and a surface immunostaining for GluR1 was performed.

2005). These groups deliver unique chemical functionality to their target molecules, which can subsequently be tagged with exogenously delivered probes for detection or isolation in a highly selective manner. Among these chemical reporters, azides and alkynes have been used to label proteins (GRIFFIN 1994, KHO et al. 2002, 2004, LINK and TIRRELL 2003, LINK et al. 2004, LUCHANSKY et al. 2003, 2004, MAHAL et al. 1997, SAXON et al. 2002), glycans (LUCHANSKY et al. 2003, 2004, MAHAL et al. 1997, SAXON et al. 2002) and lipids (KHO et al. 2004) utilizing the cell's own translation and protein modification apparatus. In the first step of BONCAT (Fig. 1A) and FUNCAT (Fig. 1B), newly synthesized proteins are labeled using the azide-bearing artificial amino acid Azidohomoalanine (AHA) as a surrogate for methionine, thus endowing the proteins with a novel azide functionality that serves to distinguish them from the pool of pre-existing proteins. Employing the copper-catalyzed azide-alkyne [3+2] cycloaddition (CuAAC) (ROSTOVTSSEV et al. 2002), the reactive azide group of AHA is covalently coupled to an alkyne-bearing affinity tag in the second step of BONCAT. The affinity tag enables the subsequent detection, affinity purification and MS identification of AHA-labeled proteins. The enrichment for newly synthesized proteins subsequent to affinity purification decreases the complexity of the sample, enabling the identification of proteins expressed at low levels. In combination with leucine-based (tenfold deuterated leucine, $d_{10}L$) mass tagging, candidates are immediately validated as newly synthesized proteins. The presence and incorporation of AHA is non-toxic and does not affect global rates of protein synthesis or degradation. A broad range of functional and biochemically diverse proteins have been identified by this technique (DIETERICH et al. 2006). For FUNCAT, AHA-labeled proteins are tagged with a fluorescent alkyne-tag in the second step of the procedure, combined with optional immunostaining and followed by visualization of newly synthesized proteins using fluorescent microscopy. While an abundant signal is detected in neurons treated with the modified amino acids, no FUNCAT signal is detected in protein synthesis inhibitor-treated cultures, confirming that this procedure labels newly synthesized proteins with high specificity. Strikingly, newly synthesized proteins in the somata cultured hippocampal neurons can be detected as early as 10 min after AHA-incubation; a steady increase in protein synthesis is observed over time. Signal in proximal dendrites can be detected after a 20 min incubation with AHA. To examine the effects of synaptic activation on protein synthesis, we conducted experiments using the neurotrophin BDNF. After bath application of BDNF (50 ng/ml) for 60 min, we are able to detect a 1.6-fold increase in the signal of newly synthesized proteins in proximal segments of BDNF-treated dendrites when compared to vehicle-treated controls. Moreover, we demonstrate that local application of AHA can be used to evaluate the extent and fate of locally synthesized proteins using micromanipulator-assisted local perfusion and microfluidic chambers.

Classical azide-alkyne [3+2] cycloaddition is copper-dependent and thus, the first FUNCAT experiments had to be performed on fixed samples, thereby limiting the chances to capture dynamic processes. Recent work pioneered by the laboratory of Carolyn BERTOZZI at UC Berkeley, however, has demonstrated the potential of copper-independent strain-promoted [3+2] cycloaddition using cyclooctynes for the detection of azido-sugars (LAUGHLIN et al. 2006). In pilot experiments we were able to demonstrate that a second generation of fluorescently labeled cyclooctynes can be successfully employed to label surface proteins of living hippocampal neurons that are in close proximity to endogenous glutamate receptors (Fig. 1C).

In summary, FUNCAT and BONCAT are able to deepen our understanding of temporal and spatial protein translation.

References

- DIETERICH, D. C., LEE, J. J., LINK, A. J., GRAUMANN, J., TIRRELL, D. A., and SCHUMAN, E. M.: Labeling, detection and identification of newly synthesized proteomes with bioorthogonal non-canonical amino-acid tagging. *Nature Protoc.* 2, 532–540 (2007)
- DIETERICH, D. C., LINK, A. J., GRAUMANN, J., TIRRELL, D. A., and SCHUMAN, E. M.: Selective identification of newly synthesized proteins in mammalian cells using bioorthogonal noncanonical amino acid tagging (BONCAT). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 9482–9487 (2006)
- GODOY, L. DE, OLSEN, J. V., SOUZA, G. A. DE, LI, G., MORTENSEN, P., and MANN, M.: Status of complete proteome analysis by mass spectrometry: SILAC labeled yeast as a model system. *Genome Biology* 7, R50 (2006)
- GRIFFIN, R. J.: The medicinal chemistry of the azido group. *Prog. Med. Chem.* 31, 121–232 (1994)
- JU, W., MORISHITA, W., TSUI, J., GAIETTA, G., DEERINCK, T. J., ADAMS, S. R., GARNER, C. C., TSIEN, R. Y., ELLISMAN, M. H., and MALENKA, R. C.: Activity-dependent regulation of dendritic synthesis and trafficking of AMPA receptors. *Nature Neurosci.* 7, 244–253 (2004)
- KHO, Y., KIM, S. C., JIANG, C., BARMA, D., KWON, S. W., CHENG, J., JAUNBERGS, J., WEINBAUM, C., TAMANOI, F., FALCK, J., and ZHAO, Y.: A tagging-via-substrate technology for detection and proteomics of farnesylated proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 12479–12484 (2004)
- KIICK, K. L., SAXON, E., TIRRELL, D. A., and BERTOZZI, C. R.: Incorporation of azides into recombinant proteins for chemoselective modification by the Staudinger ligation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 19–24 (2002)
- LAUGHLIN, S. T., AGARD, N. J., BASKIN, J. M., CARRICO, I. S., CHANG, P. V., GANGULI, A. S., HANGAUER, M. J., LO, A., PRESCHER, J. A., and BERTOZZI, C. R.: Metabolic labeling of glycans with azido sugars for visualization and glyco-proteomics. *Methods Enzymol.* 415, 230–250 (2006)
- LINK, A. J., and TIRRELL, D. A.: Cell surface labeling of *Escherichia coli* via copper(I)-catalyzed [3+2] cycloaddition. *J. Amer. Chem. Soc.* 125, 11164–11165 (2003)
- LINK, A. J., VINK, M. K., and TIRRELL, D. A.: Presentation and detection of azide functionality in bacterial cell surface proteins. *J. Amer. Chem. Soc.* 126, 10598–11602 (2004)
- LUCHANSKY, S. J., GOON, S., and BERTOZZI, C. R.: Expanding the diversity of unnatural cell-surface sialic acids. *Chem-biochem.* 5, 371–374 (2004)
- LUCHANSKY, S. J., HANG, H. C., SAXON, E., GRUNWELL, J. R., YU, C., DUBE, D. H., and BERTOZZI, C. R.: Constructing azide-labeled cell surfaces using polysaccharide biosynthetic pathways. *Methods Enzymol.* 362, 249–272 (2003)
- MAHAL, L. K., YAREMA, K. J., and BERTOZZI, C. R.: Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharide biosynthesis. *Science* 276, 1125–1128 (1997)
- PANDEY, A., and MANN, M.: Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 405, 837–846 (2000)
- PRESCHER, J. A., and BERTOZZI, C. R.: Chemistry in living systems. *Nature Chem. Biol.* 1, 13–21 (2005)
- ROSTOVTSSEV, V. V., GREEN, L. G., FOKIN, V. V., and SHARPLESS, K. B.: A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 41, 2596–2599 (2002)
- SAXON, E., LUCHANSKY, S. J., HANG, H. C., YU, C., LEE, S. C., and BERTOZZI, C. R.: Investigating cellular metabolism of synthetic azidosugars with the Staudinger ligation. *J. Amer. Chem. Soc.* 124, 14893–14902 (2002)
- STEWART, O., and SCHUMAN, E. M.: Protein synthesis at synaptic sites on dendrites. *Annu. Rev. Neurosci.* 24, 299–325 (2001)
- STEWART, O., and SCHUMAN, E. M.: Compartmentalized synthesis and degradation of proteins in neurons. *Neuron* 40, 347–359 (2003)

Lecture:

Found in Translation – *In situ* Identifikation and Visualization of Newly Synthesized Proteoms

Both global and local protein synthesis have been implicated in different forms of synaptic plasticity. However, the selective identification and visualization of a newly synthesized proteome has been hindered by the basic fact that all proteins, new and old, share the same pool of amino acids and thus are chemically indistinguishable. Recently, we developed bioorthogonal non-canonical amino acid tagging (BONCAT) for the specific identification of newly synthesized proteins. This approach is based upon the co-translational introduction of small bioorthogonal chemical groups via the incorporation of the non-canonical amino acids Azido-

homoalanine (AHA) or Homopropargylglycine (HPG) into proteins and the chemoselective tagging of labeled proteins with an affinity tag via [3+2] click chemistry. Now we demonstrate the extension of this approach to visualize newly synthesized proteins using fluorescent tags (FUNCAT) in cultured hippocampal neurons.

Incorporation of modified amino acids is unbiased, non-toxic and does not increase protein degradation. While abundant signal is detected in neurons treated with the modified amino acids, no FUNCAT signal is detected in protein synthesis inhibitor-treated cultures, confirming that this procedure labels newly synthesized proteins with high specificity. Strikingly, newly synthesized proteins in the somata cultured hippocampal neurons can be detected as early as 10 min after AHA- or HPG incubation; a steady increase in protein synthesis is observed over time. Signal in proximal dendrites can be detected after a 20 min incubation with AHA or HPG. To examine the effects of synaptic activation on protein synthesis, we conducted experiments using the neurotrophin BDNF. After bath application of BDNF (50 ng/ml) for 60 min, we are able to detect a 1.6-fold increase in the signal of newly synthesized proteins in proximal segments of BDNF-treated dendrites when compared to vehicle-treated controls. Moreover, we demonstrate that local application of AHA and HPG can be used to evaluate the extent and fate of locally synthesized proteins using micromanipulator-assisted local perfusion and microfluidic chambers. Finally, a pulse-chase-like application of AHA and HPG allows monitoring of proteins synthesized in two sequential time periods. In conclusion, FUNCAT makes it possible to address the temporal and spatial characteristics of newly synthesized proteomes under basal, as well as elevated, levels of synaptic activity.

Publications

- DIETERICH, D. C., KARPOVA, A., MIKHAYLOVA, M., ZDOBNOVA, I., KÖNIG, I., LANDWEHR, M., KREUTZ, M., SMALLA, K.-H., RICHTER, K., LANDGRAF, P., REISSNER, C., BÖCKERS, T. M., ZUSCHRATTER, W., SPILKER, C., SEIDENBECHER, C. I., GARNER, C. C., GUNDELFINGER, E. D., and KREUTZ, M. R.: Caldendrin-Jacob: A protein liaison that controls NMDA receptor signalling to the nucleus. *PLoS Biology* 6/2, e34 (2008)
- DIETERICH, D. C., LEE, J. J., LINK, A. J., GRAUMANN, J., TIRRELL, D. A., and SCHUMAN, E. M.: Labeling, detection and identification of newly synthesized proteomes with bioorthogonal noncanonical amino acid tagging. *Nature Protoc.* 2/3, 532–540 (2007)
- DIETERICH, D. C., LINK, A. J., GRAUMANN, J., TIRRELL, D. A., and SCHUMAN, E. M.: Selective identification of newly synthesized proteins in mammalian cells using bioorthogonal noncanonical amino acid tagging (BONCAT). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 9482–9487 (2006)
- BEATTY, K. E., LIU, J. C., XIE, F., DIETERICH, D. C., SCHUMAN, E. M., WANG, Q., and TIRRELL, D. A.: Fluorescence visualization of newly synthesized proteins in mammalian cells. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 45, 7364–7367 (2006)

Dr. med. Tobias H. Donner

(BMBF-LPD 9901/8-136)

Born November 7, 1974 in Leverkusen. 1994–2003 Studies of Medicine at Köln, Berlin (Charité) and London (UCL und King's College, UK). 1997–2002 Ph.D. student at Berlin Neuroimaging Centre. 2003 Ph.D. examination. 2003–2006 Postdoc at Institut für Neurophysiologie und Pathophysiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf and at the F. C. Donders Center for Cognitive Neuroimaging, Radboud University Nijmegen (Netherlands). Since 2006 Postdoc at the Center for Neural Science und Department of Psychology, New York University, NY (USA). 2006–2008 Postdoc Fellow of the Leopoldina.



Project:

The Neural Basis of Visual Awareness in Humans: Cortical Interactions Underlying Motion-Induced Blindness

When surrounded by a moving visual pattern, a salient visual target disappears completely from visual awareness, as if briefly erased, only to reappear several seconds later (Fig. 1A). This phenomenon is called ‘motion-induced blindness’ (MIB). It has been hypothesized that MIB is caused by a competition between the neural representations of the static target and the moving mask, at some level of cortical visual processing. To test this hypothesis, we measured neural activity with functional magnetic resonance imaging (fMRI) in humans, while subjects reported target disappearance during MIB. We exploited the fact that the static target and the moving mask are processed by distinct, retinotopically-organized, neural populations in early visual cortex (Fig. 1B), and by separate (the ‘ventral’ and ‘dorsal’, respectively) visual pathways at higher levels of the human visual system (Fig. 1D). Taken together, retinotopic and functional specificity enabled us to isolate the cortical target and mask representations, in multiple stages of cortical visual processing.

fMRI responses in ventral visual area V4 *decreased* with the subjective disappearance of the target (Fig. 1C). These response decreases were specific for the cortical sub-region corresponding retinotopically to the target, occurred early in time with respect to the perceptual report, and could not be explained by shifts of attention in reaction to target disappearance. By contrast, target-specific responses in early visual areas, specifically primary visual cortex (area V1), were not robust. This suggests that the subjective disappearance of the target from awareness emerges in extrastriate visual cortex, beyond area V1. At the same time, responses *increased* in mask sub-regions of dorsal, motion-sensitive areas in the intraparietal sulcus (IPS). These opposite target- and mask-specific responses in ventral and dorsal cortex occurred only during subjective target disappearance, not when the target was physically removed. Our results suggest that an antagonism between the dorsal pathway mask representation and the ventral pathway target representation underlies the spontaneous target disappearance during MIB (Fig. 1D).

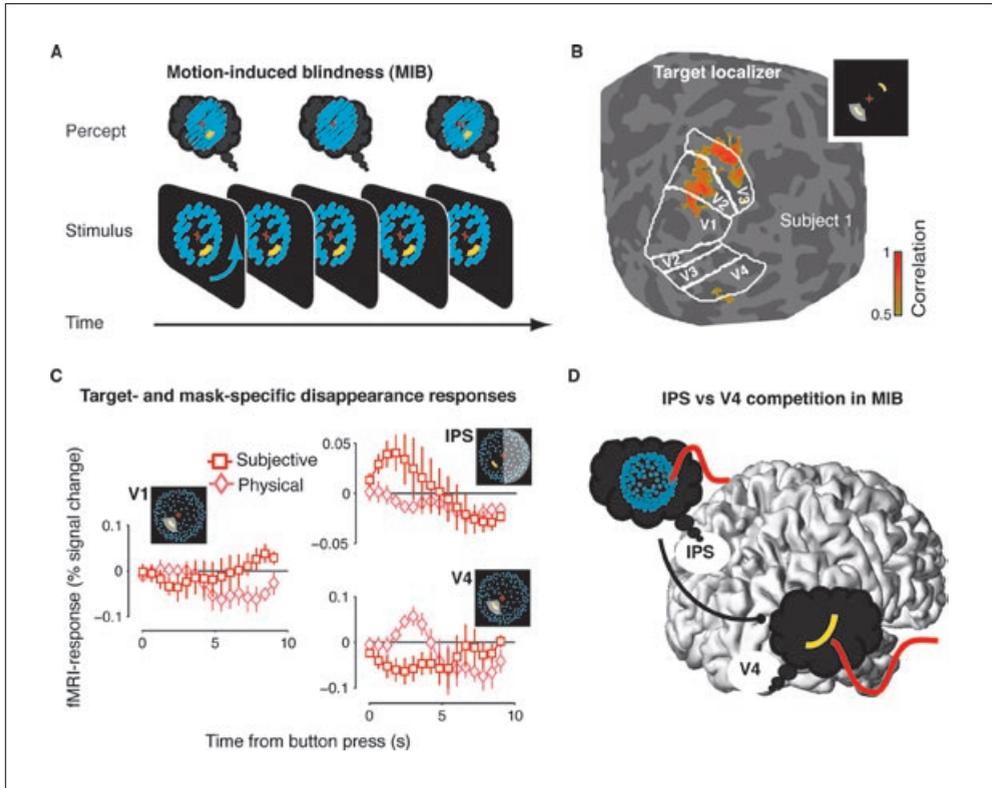


Fig. 1 Neural basis of MIB. (A) Schematic illustration of an epoch from a typical MIB experiment. The top row shows the physical stimulus. A constant salient target (yellow) is surrounded by a moving dot pattern (blue), which appeared as a rotating sphere. The second row illustrates the subject's fluctuating perception of the target. (B) Map of cortical responses from one example subject to a probe stimulus at the target location. Colors represent correlation between measured activity and stimulus alternations (threshold: $r > 0.5$). The map is superimposed on a flattened representation of the subject's occipital lobe. The borders of visual areas V1, V2, V3, and V4 are indicated as white lines. The probe was presented in the lower left visual field quadrant (see icon, gray-shaded region). Thus, it evoked responses in the corresponding dorsal sub-regions of right hemisphere visual areas V1–V3, and in ventral V4. (C) Group average fMRI responses during subjective disappearance (MIB) and during physical removal of the target. Target-specific responses are shown for V1 and V4; mask specific responses are shown for a mask-responsive region in the posterior IPS (see gray-shaded regions on icons). (D) Schematic illustration of the suppressive interaction between the IPS mask representation and the V4 target representation underlying MIB. (Adapted with permission from DONNER et al., *J. Neurosci.*, in press.)

This idea is further supported by the patterns of correlations between the fMRI time series in target and mask sub-regions. Dorsal mask sub-regions were strongly anti-correlated with ventral target sub-regions. These anti-correlations reflected the strength of MIB, as measured psychophysically, and were stronger during the subjective disappearance of the target than during its physical removal. Interestingly, the dorsal mask sub-regions were similarly anti-correlated with the target sub-region of area V1 as with the one of area V4. Thus, although the V1 activity during disappearance did not directly reflect the subjective disappearance of the target (see above and Fig. 1C), V1 nevertheless participates in the competitive interaction between target and mask representations that cause the fluctuations of target perception.

Publications

- DONNER, T. H., SAGI, D., BONNEH, Y., and HEEGER, D.: Opposite neural signatures of motion-induced blindness in human dorsal and ventral visual cortex. *J. Neurosci.* (in press)
- DONNER, T. H., OOSTENVELD, R., FRIES, P., BAUER, M., and ENGEL, A. K.: Population activity in the human dorsal pathway predicts the accuracy of visual motion detection. *J. Neurophysiol.* 98, 345–359 (2007)
- SIEGEL, M., DONNER, T. H., OOSTENVELD, R., FRIES, P., and ENGEL, A. K.: High-frequency activity in human visual cortex is modulated by visual motion strength. *Cereb. Cortex* 17, 732–741 (2007)
- PARTON, A., DONNER, T. H. *, DONNELLY, N., and USHER, M.: Perceptual grouping based on temporal structure: impact of subliminal flicker and visual transients. *Visual Cognition* 13, 481–502 (2006) (*shared first co-authorship)

Dr. rer. nat. Daniel M. D'Souza

(BMBF LPD 9901/8-166)

Daniel M. D'SOUZA was born in Krefeld, Germany, in 1976 and studied Chemistry at the Gerhard-Mercator Universität Duisburg, University of Sheffield (UK) and the Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg from 1997 to 2003. He obtained his Diploma in 2003 and completed his Ph. D. in 2007 with Prof. T. J. J. MÜLLER on synthetic and mechanistic investigations and the development of new domino and multi-component reactions. In 2007 he took a post-doctoral position with Prof. D. A. LEIGH at the University of Edinburgh (UK) working on molecular motors and mechanical machines funded by Leopoldina Academy. His research interests encompass synthetic organic chemistry, transition-metal catalysis and supramolecular chemistry.



Project:

Synthetic *Kinesin* Analogues: Molecular Machines that Can Walk

Summary. We proposed to design, synthesize, characterize and operate a synthetic molecular machine that will mimic the mechanical action of the kinesin motor protein, namely unidirectional, hand-over-hand, mechanically processive motion to propel a molecule along a pre-defined track. To date the work has only involved the synthesis, this is now nearing completion and we will soon be able to investigate the 'walking' process.

Background. Many biological processes depend on the operation of molecular motors that convert chemical energy into work. Depending on their function, biological motors display linear (myosin, kinesin, and dynein) or rotary (FoF1-ATPase and *bacterial flagella*) motion that is achieved by harnessing random thermal fluctuations. FoF1-ATPase and *bacterial flagella* rotary motors are membrane bound proteins powered by transmembrane proton (ion) gradients, whereas myosin, *kinesin*, and *dynein* are linear motor proteins whose movement along tracks, composed of microtubules or actin, are powered by ATP hydrolysis. Nature's use of these machines to carry out the processes of life at the molecular level has inspired chemists to synthesize molecular analogues of some of the fundamental components of machinery from the macroscopic world, including brakes, elevators, pistons, shuttles, ratchets, rotors, and even muscles. These efforts are motivated by the goal of creating simpler synthetic devices or materials that, like their far more complex biological counterparts, could carry out tasks by controlled molecular-level mechanical motion.

The proposed synthetic *kinesin* mimic (Fig. 1) is composed of a 'walker' unit (two covalently-linked chelates – a tridentate pyridine 2,6-dicarboxamide ligand [blue] and a bipyridine unit [green]) plus a 'track' (featuring four different binding sites or 'stations' – DMAP [red], bipyridine [purple], pyridine [orange] and terpyridine [black]). The 'walker' starts off bound to the track through the first set (shown on the left of the structure in Fig. 1) of DMAP and bipyridine stations, **A**. Treatment of complex **A** with an acid should result in protonation of both DMAP stations of the thread, causing the palladium 'head' of the walker to swing

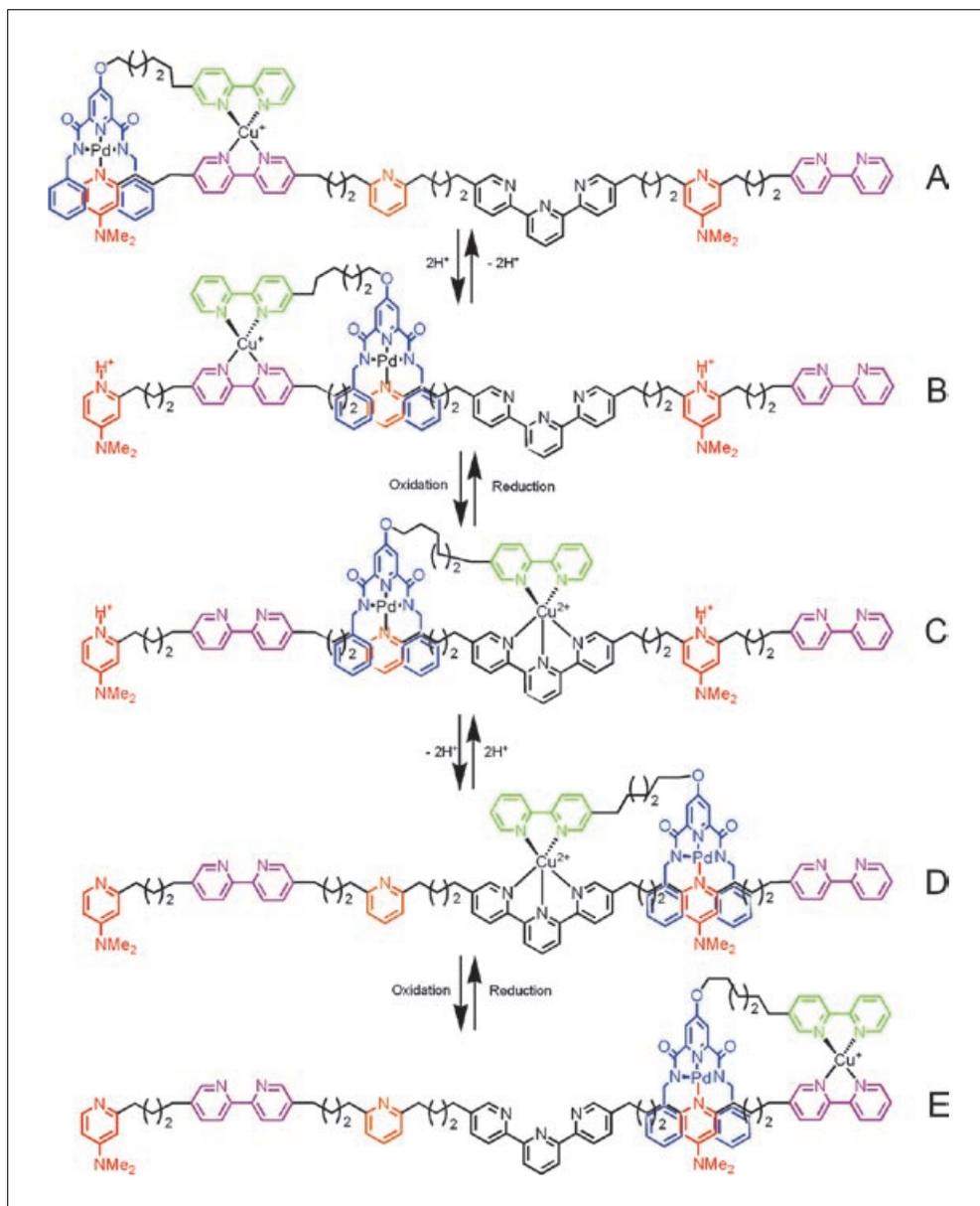


Fig. 1 Synthetic Kinesin Walker Mimic

round to the ‘free’ pyridine station, **B**. During this process, the walker unit is still attached to the track via the copper-bound head. Oxidation of copper(I) to copper(II) should now cause the copper ‘head’ to swing round to the more thermodynamically favored terpyridine station, while the palladium head ensures structural integrity between the walker and the track, giving **C**. Neutralization of the protonated DMAP stations generates a third movement, but unlike the first two steps, the palladium ‘head’ now has a choice of two DMAP sites with which to bind – the now-remote starting position or the closer internal DMAP station. If the track and

walker have complementary distances between the thread stations and the walker heads then the lower energy pathway should give rise to the structure in which the palladium head binds to the internal DMAP station, **D**, giving self-ratcheted directional motion. Finally, reduction of copper(II) back to copper(I) should result in the flipping of the copper head to the neighboring terminal bipyridine site giving **E**. Overall the motion of the walker in response to these stimuli should be unidirectional from left-to-right along the track in Figure 1.

Synthesis progress to date. After retrosynthetic analysis and several re-designs of proposed synthetic kinesin walker **1**, the current target molecules, Pd-containing 'walker' unit **4**, three station fragment **6** and another station of track **8** (Fig. 2), were successfully synthesized, while remaining phenanthroline station **7** is near completion.

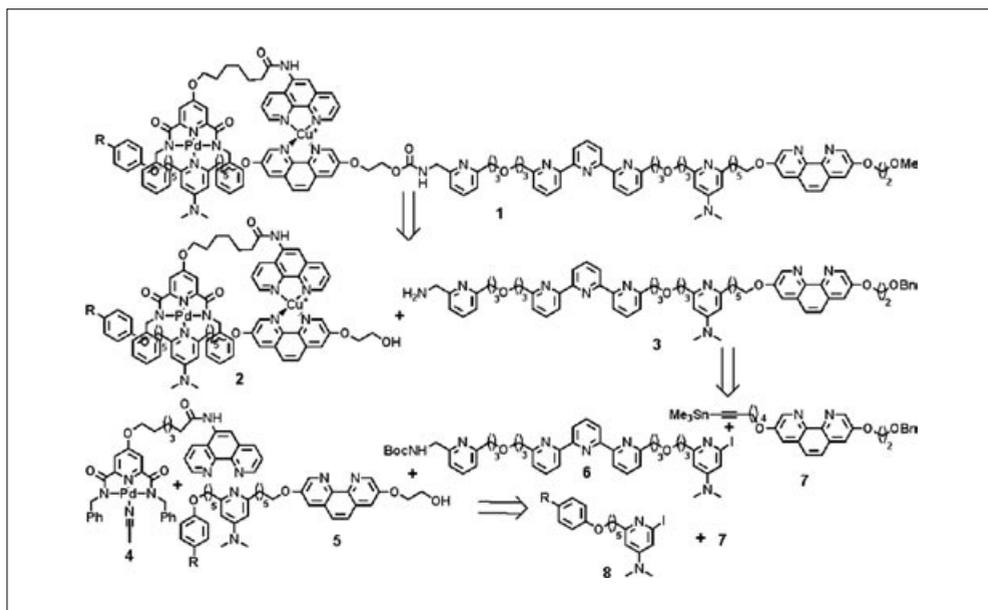


Fig. 2 Retrosynthesis of the Kinesin Walker

3,8-dibromophenanthroline **9** was reacted with alkoxide **10** to afford the unsymmetrical phenanthroline derivative **11** which should then undergo a second nucleophilic aromatic substitution with hexyn-1-ol and a subsequent stannylation to afford desired building block **7** (Fig. 3).

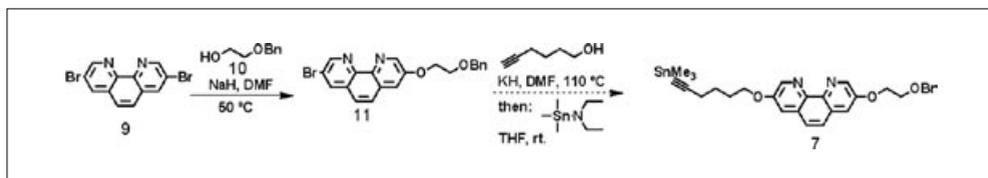


Fig. 3 Proposed Synthesis of the Remaining Phenanthroline Station

As soon as we have **7** in hand, Stille coupling between **6** and **8**, will give rise to two station fragment **5** and four station fragment **3** of the walker track. Reaction between two station fragment **5** and walker unit **4** will then afford bimetallic complex **2** which will finally be connected to **3** via a carbamate bond to yield the synthetic *kinesin* walker **1**.

We predict synthesis of the track will be completed by November 2008. Our next goal will then be the first investigations towards the synthetic *kinesin*. We strongly anticipate being the first to disclose a fully synthetic molecular machine that can walk.

Publications

- D'SOUZA, D. M., and MÜLLER, T. J. J.: Catalytic alkynone generation by Sonogashira reaction and its application in three-component pyrimidine synthesis. *Nature Protoc.* doi:10.1038/nprot.2008.152, (in print)
- D'SOUZA, D. M., KIEL, A., HERTEN, D.-P., ROMINGER, F., and MÜLLER, T. J. J.: Synthesis, structure and emission properties of spirocyclic benzofuranones and dihydroindolones: a domino insertion-coupling-isomerization-Diels-Alder approach to rigid fluorophores. *Chem. Eur. J.* *14/2*, 529–547 (2008)
- MÜLLER, T. J. J., and D'SOUZA, D. M.: Diversity-oriented syntheses of functional π -systems by multicomponent and domino reactions. *Pure Appl. Chem.* *80/3*, 609–620 (2008)
- D'SOUZA, D. M., LIAO, W.-W., ROMINGER, F., and MÜLLER, T. J. J.: Dichotomies in microwave-assisted propargyl-isomerization-Claisen domino sequences dependent on base strengths. *Org. Biomol. Chem.* *6/3*, 532–539 (2008)
- D'SOUZA, D. M., and MÜLLER, T. J. J.: Multi-component syntheses of heterocycles by transition-metal catalysis. *Chem. Soc. Rev.* *36/7*, 1095–1108 (2007)

Dr. rer. nat. Christian Ducho

(BMBF LPD 9901/8-137)

Geboren am 17. 9. 1976 in Hamburg. 1996–2001 Studium der Chemie an der Universität Hamburg. 2001–2005 Promotion in Organischer Chemie bei Prof. Dr. Chris MEIER, Universität Hamburg. 2005–2007 Postdoktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christopher J. SCHOFIELD, University of Oxford (Großbritannien). Seit August 2007 Juniorprofessor für Organische Chemie an der Georg-August-Universität Göttingen. Stipendien der Studienstiftung des deutschen Volkes, des Fonds der Chemischen Industrie (Promotion) und der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina.



Projekt:

**Mechanistische Studien an Carbapenem-Synthase (CarC) –
Ein Enzym aus der Carbapenem-Biosynthese, das eine synthetisch bemerkenswerte
Epimerisierung katalysiert**

Vortrag:

**Einblicke in die Wirkstofffabrik der Natur – Zur Biosynthese von Carbapenem-
Antibiotika**

Die β -Lactam-Antibiotika gehören auch etwa 60 Jahre nach der Entwicklung des Penicillins noch immer zu den medizinisch bedeutendsten antibiotischen Agenzien. Das Auftreten resistenter Bakterienstämme macht jedoch die Entwicklung neuer β -Lactam-Antibiotika notwendig. Da die Totalsynthese von β -Lactam-Verbindungen nicht trivial ist, besteht ein erhebliches Interesse an fermentationsbasierten semisynthetischen Methoden zur Darstellung von β -Lactam-Derivaten. Grundvoraussetzung für die Entwicklung solcher Techniken ist ein detailliertes Verständnis der Biosynthese von β -Lactam-Antibiotika.

Im Rahmen des vorgestellten Postdoktoranden-Projektes sollte die Biosynthese eines einfachen Carbapenem-Antibiotikums in *Pectobacterium carotovorum* untersucht werden. In dieser Spezies sind im Wesentlichen drei Enzyme für die Bildung der Carbapenem-Struktur verantwortlich. L-Glutamat-semialdehyd (GSA) **1** wird durch die Crotonase CarB stereoselektiv in *trans*-Carboxymethylprolin (*t*-CMP) **2** überführt, wobei Malonyl-Coenzym A (Malonyl-CoA) als Cosubstrat dient. Das Biosynthese-Intermediat *t*-CMP **2** geht dann eine durch die Synthetase CarA vermittelte Ringschlussreaktion ein, was zur Bildung des antibiotisch inaktiven β -Lactams (3*S*,5*S*)-Carbapenam-3-carboxylat **3** führt. Die 2-Oxoglutarat-(2-OG)-abhängige Nicht-Häm-Fe(II)-Oxygenase CarC katalysiert schließlich sowohl eine bemerkenswerte Epimerisierung in der 5-Position als auch die Bildung der C2–C3-Doppelbindung, woraus das (5*R*)-konfigurierte biologisch aktive Carbapenam-3-carboxylat **4** resultiert (Abb. 1).

Der Vortrag soll einen Einblick in einen Teil der durchgeführten Arbeiten vermitteln. Das vorrangige Ziel war, Studien zum Mechanismus der Carbapenem-Synthase CarC durchzuführen. Hierzu sollten regio- und stereoselektiv Deuterium-markierte Substratanaloga zum

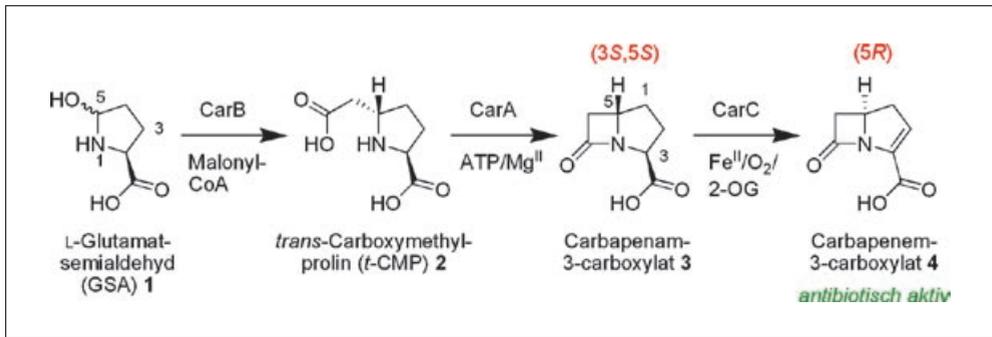


Abb. 1 Carbapenem-Biosynthese in *Pectobacterium carotovorum*

Einsatz kommen. Um die umständliche Totalsynthese entsprechend markierter Derivate von **3** zu vermeiden, wurde die folgende Strategie angewendet: Zunächst wurden Deuterium-markierte Derivate von **1** synthetisch hergestellt und anschließend durch Inkubation mit CarB und Malonyl-CoA in die entsprechenden Derivate von **2** überführt. Auf diese Weise konnte eine Reihe von Isotopen-markierten Derivaten **5–10** von **2** dargestellt werden (Abb. 2).

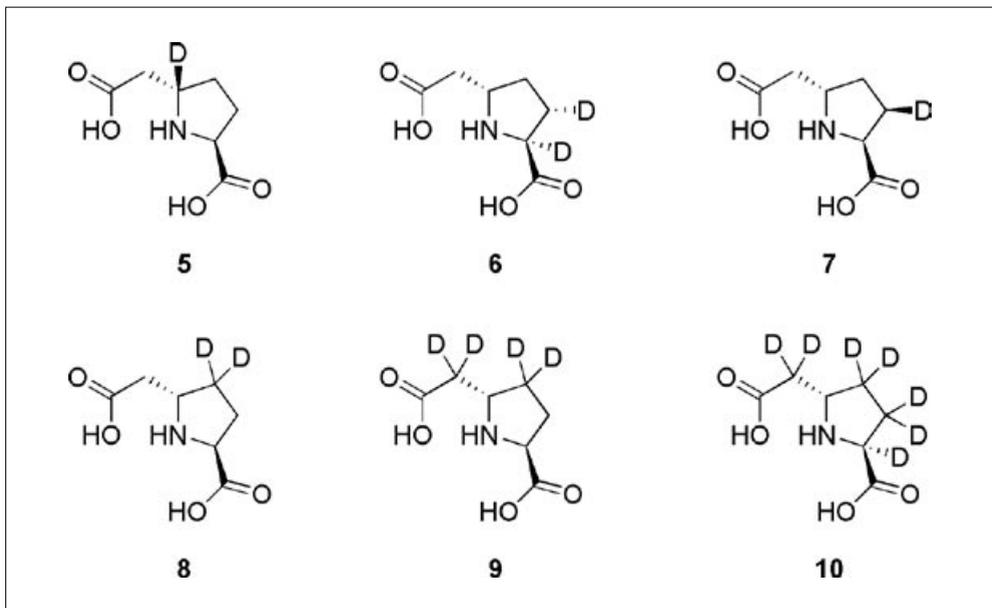


Abb. 2 Chemoenzymatisch erhaltene Deuterium-markierte Derivate **5–10** von *t*-CMP **2**

Da sich das Carbapenam **3** als außerordentlich hydrolyselabil erwies, was seine Isolierung extrem erschwerte, fanden die chemoenzymatisch erhaltenen deuterierten Derivate von **2** Verwendung in einem gekoppelten CarA-CarC-Enzym-Assay. In diesem Assay sollte **3** durch CarA gebildet und *in situ* durch CarC direkt in das Carbapenam **4** überführt werden. Die wesentliche Herausforderung hierbei bestand in der geringen *In-vitro*-Aktivität von CarC. Ausführliche Arbeiten zu diesem Assay und zu einer möglichen Optimierung der Bedingungen ergaben, dass die Bildung von **4** zwar in einem empfindlichen Bioassay-System mit

β -Lactam-hypersensitiven *E. coli* nachgewiesen werden konnte, der Umsatz für eine Detektion von **4** mittels HPLC-MS jedoch zu gering war. Allerdings wurde in den Inkubationsmischungen eine neue Verbindung **11** mit HPLC-MS nachgewiesen, die sich mit einem Umsatz von teilweise bis zu ca. 20% gebildet hatte. Zur Identifizierung dieser Spezies fanden die Deuterium-markierten Verbindungen **5–10** Verwendung als Substrate im gekoppelten CarA-CarC-Assay. Auf Basis der erhaltenen Ergebnisse konnte eine Struktur für **11** postuliert werden, deren NMR-spektroskopischer Nachweis allerdings noch aussteht, da die Isolierung der Substanz aus den Assay-Mischungen nicht trivial ist. Es wurde die Hypothese formuliert, dass **11** durch CarC-vermittelte Hydroxylierung von **3** in der 5-Position und anschließenden Zerfall des sicherlich instabilen Halbaminals entstanden sein könnte (Abb. 3).

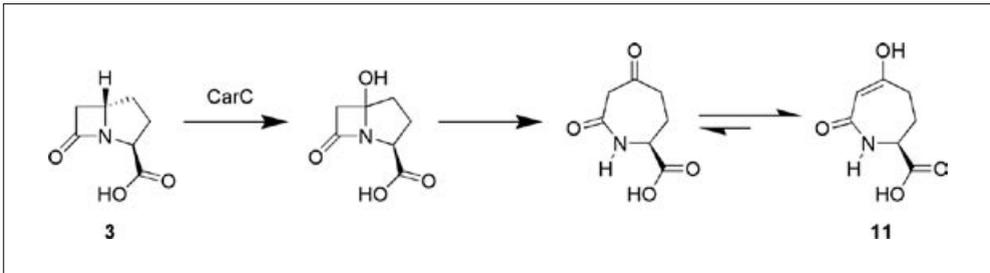


Abb. 3 Postuliertes Produkt **11** aus dem gekoppelten CarA-CarC-Assay und Hypothese zu seiner Bildung

Neben einem gesicherten Nachweis der Struktur von **11** stehen Untersuchungen zur biosynthetischen Bedeutung dieser Spezies noch aus. Die Verbindung **11** könnte entweder ein durch die artifiziellen *In-vitro*-Bedingungen des Enzym-Assays begünstigtes Nebenprodukt der

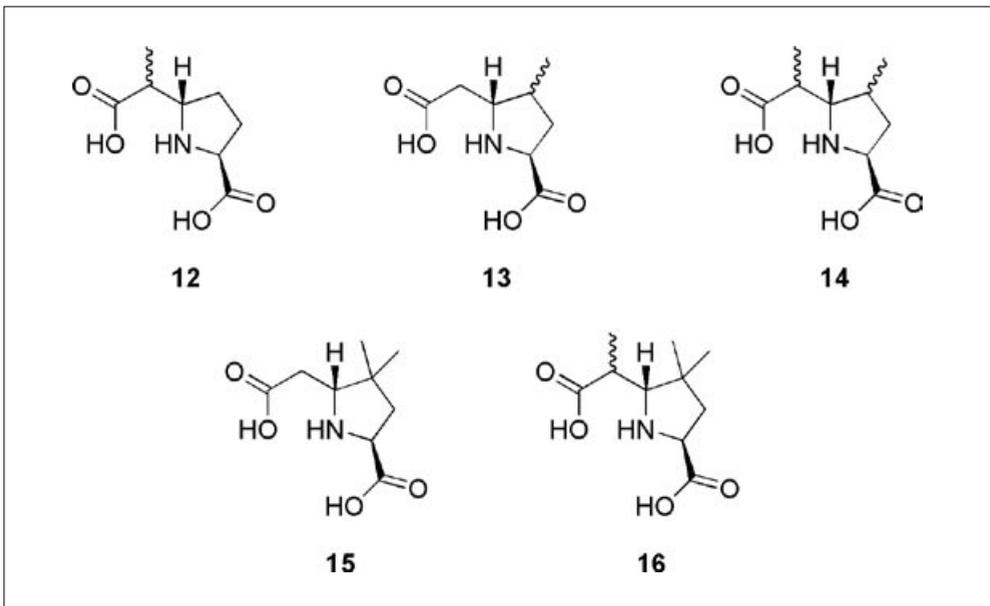


Abb. 4 Durch Inkubation mit CarB und (Methyl-)Malonyl-CoA erhaltene neue Derivate **12–16** von **2**

CarC-Reaktion sein, oder es handelt sich um ein neu entdecktes Intermediat in der Biogenese von **4**. Im letzteren Fall wäre es allerdings schwierig, einen sinnvollen Mechanismus für die Entstehung der β -Lactam-Struktur ausgehend von **11** zu formulieren. Die endgültige Klärung dieser Frage sowie der gesicherte Strukturbeweis erfordern eine chemische Totalsynthese von **11**. Mit Arbeiten hierzu wurde begonnen, diese konnten in der zur Verfügung stehenden Zeit allerdings nicht mehr abgeschlossen werden.

Neben den Studien zu CarC wurden auch Untersuchungen zur Carboxymethylprolin-Synthase CarB durchgeführt. Hierbei konnten einerseits Einblicke in den Mechanismus dieses Enzyms gewonnen werden. Außerdem konnte eine Reihe von synthetisch erhaltenen Substratanaloga durch Inkubation mit CarB und Malonyl-CoA oder Methylmalonyl-CoA mit hohen Umsätzen in neue methylierte Derivate **12–16** von *t*-CMP **2** überführt werden (Abb. 4).

Die erhaltenen Ergebnisse weisen in Kombination mit Mutagenesestudien darauf hin, dass CarB ein wertvolles Enzym z.B. für die fermentationsbasierte Herstellung relevanter Prolin-Derivate mit entsprechend modifizierten Mikroorganismen sein könnte.

Publikation

BATCHELAR, E. T., HAMED, R. B., DUCHO, C., CLARIDGE, T. D. W., EDELMANN, M. J., KESSLER, B., and SCHOFIELD, C. J.: Thioester hydrolysis and C–C bond formation by the crotonase superfamily enzyme carboxymethylproline synthase. (2008) (submitted)

Dr. rer. nat. Frank Edlich

(BMBF LPD 9901/8-172)

Born August 15, 1977 in Mühlhausen, Thüringen. 9/1997–8/2000 Biochemistry studies, Martin-Luther University in Halle. 9/2000–7/2001 Biochemistry studies, University of Leeds (UK). 8/2001–8/2002 Biochemistry studies, Martin-Luther University in Halle. 9/2002–2/2006 Ph. D., Max-Planck Research Unit “Enzymology of Protein Folding” in Halle. 3/2006–3/2007 Postdoctoral Fellow, Max-Planck Research Unit “Enzymology of Protein Folding” in Halle. Since 1/2008 Leopoldina-Postdoctoral Fellow, National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), National Institutes of Health (NIH) in Bethesda, MD (USA).



Project:

Native Bcl-2 Protein Conformations in the Commitment to Apoptosis

Programmed cell death or apoptosis is an essential process in multi-cellular organisms which participates in ontogenesis, the homeostasis of tissues and the response to pathogens. Different organisms use apoptosis to remove damaged or redundant cells thereby minimizing inflammatory danger to surrounding cells and tissues.

Mitochondrial dysfunction, one of the key events in programmed cell death, is controlled by the interactions of anti-apoptotic and pro-apoptotic members of the Bcl-2 protein family, such as Bcl-2 and Bax, respectively. Even though interactions between Bcl-2 proteins are widely reported, the molecular basis and the regulation of these interactions and their role in the commitment of apoptosis still remain to be elucidated. Growing evidence suggests the involvement of different native conformations of Bcl-2 proteins in the regulation of apoptosis. For instance, the pro-apoptotic Bax protein resides in the cytoplasm of healthy cells. Upon induction of apoptosis Bax changes its globular fold to a conformation that exposes a C-terminal membrane anchor in order to relocate the protein to the outer mitochondrial membrane. In the process of commitment to apoptosis Bax is likely to undergo further conformational changes that lead eventually to large Bax complexes in the outer mitochondrial membrane. These complexes form foci and are directly involved in the permeabilization of the outer mitochondrial membrane. Bak, a pro-apoptotic Bcl-2 protein with high sequence similarity to Bax, has a similar role in the commitment to apoptosis, but is located at the outer mitochondrial membrane of healthy cells. A plethora of proteins has been identified to interact with Bax and Bak in order to control the pro-apoptotic activities of these proteins. Some of these interaction partners may influence the conformation of Bcl-2 proteins and thus its anti-apoptotic activity.

Furthermore, it is still an unresolved problem to what extent the sub-cellular localization of the different Bcl-2 family proteins contributes to their interactions and role in the commitment to apoptosis.

To investigate the importance of different conformations of Bcl-2 proteins and link them with subcellular localization patterns one approach of this project is to introduce mutations in

the sequence of Bax to identify regions that are crucial for conformational changes and characterize the GFP-fused Bax variants by different confocal imaging techniques, fluorescence correlation spectroscopy (FCS) and using monoclonal conformation-specific antibodies.

Furthermore, the influence of the different Bax variants on STS-induced apoptosis in human Bax^{-/-} cells will be analyzed. To this end the influence of the Bax variants on Bax WT in terms of sub-cellular localization and conformation will be examined as well to gain insight into the cross-talk between different Bax molecules.

Another approach utilized in this project will be to examine the conformation and sub-cellular localization of Bax and Bcl-xL in the presence and absence of different interaction partners that might influence the native conformation of these proteins. Interestingly, our previous work showed that Bcl-2, for instance, interacts with FKBP38, a Ca²⁺-CaM-regulated enzyme, which accelerates the isomerization of peptide bonds preceding prolines and may be thus involved in assisting protein folding. This would also be supported by the fact that Bcl-2 is bound like a protein substrate to the active site of FKBP38 and the presence of active site-directed ligands prevent binding between FKBP38 and Bcl-2. FKBP38 interactions with Bcl-2 can disrupt interactions between Bcl-2 and other proteins and may thus account for FKBP38-mediated conformational changes of the Bcl-2 structure.

Since Bcl-2 and Bcl-xL share significant sequence similarity, the influence of FKBP38 and other binding partners, such as the viral Bax antagonist vMIA, on the conformation and sub-cellular localization of Bcl-xL and Bax will be examined in parallel to the influence of the mutations in the Bax sequence.

Combining these two approaches should provide significant insight into the occurrence of different conformations of proteins of the Bcl-2 family and their importance for the localization of the proteins inside the cell and their activity in terms of apoptosis regulation.

The successful identification of the involvement of different conformations leading to the determination of the molecular basis of the underlying processes would certainly improve our understanding of the regulatory processes that lead to the commitment to apoptosis.

Publications

- JARCZOWSKI, F., FISCHER, G., and EDLICH, F.: FKBP36 forms complexes with clathrin and Hsp72 in spermatocytes. *Biochemistry* 47/26, 6946–6952 (2008)
- ERDMANN, F., JARCZOWSKI, F., WEIWAD, M., FISCHER G., and EDLICH, F.: Hsp90-mediated inhibition of FKBP38 regulates apoptosis in neuroblastoma cells. *FEBS Lett.* 581/29, 5709–5714 (2007)
- EDLICH, F., MAESTRE-MARTINEZ, M., JARCZOWSKI, F., WEIWAD, M., MOUTTY, M.-C., MALESEVIC, M., JAHREIS, G., FISCHER G., and LÜCKE, C.: A novel calmodulin-Ca²⁺ target recognition activates the Bcl-2 regulator FKBP38. *J. Biol. Chem.* 282/50, 36496–36504 (2007)
- EDLICH, F., ERDMANN, F., JARCZOWSKI, F., MOUTTY, M.-C., WEIWAD, M., and FISCHER G.: The Bcl-2 regulator FKBP38/calmodulin/Ca²⁺ is inhibited by Hsp90. *J. Biol. Chem.* 282/21, 15341–15348 (2007)
- BARTH, S., NESPER, J., HASGALL, P. A., WIRTHNER, R., NYTKO, K. J., EDLICH, F., KATSCHINSKI, D. M., STIEHL, D. P., WENGER, R. H., and CAMENISCH, G.: The peptidyl-prolyl cis/trans isomerase FKBP38 determines HIF prolyl-4-hydroxylase PHD2 protein stability. *Mol. Cell. Biol.* 27/10, 3758–3768 (2007)

Dr. Nicole Christine Fehrenbacher

(BMBF LPD 9901/8-180)

Born January 3, 1977. 1996–2002 Studies in Biology, University of Konstanz, Germany. 1998 B.S. Biology. 2002 M.Sc. Biology, “Experimental studies of the control of apoptosis by non-caspase proteases and heat shock protein 70 (Hsp70)”, Danish Cancer Society, Apoptosis Department, Prof. Marja JÄÄTTELÄ. 2007 Ph.D. University of Copenhagen (Denmark), “Activation of lysosome-dependent cell death programs upon immortalization and transformation”, Danish Cancer Society, Apoptosis Department, Prof. Marja JÄÄTTELÄ. Since 4/2008 Leopoldina Postdoctoral Fellow at the Philips Laboratory of the NYU Cancer Institute in New York, NY (USA).



Project:

Characterization of Compartment-specific Ras-induced Signaling Pathways

Activated alleles of Ras constitute the oncogene most frequently associated with human carcinomas, highlighting the great impact of Ras on human health. One of the least well-understood aspects of signal transduction is how a single regulatory molecule like Ras can independently control multiple signaling pathways in the same cell. The discovery by the Philips laboratory that Ras traffics to the plasma membrane via the endomembrane and at steady state is expressed on intracellular compartments raised the possibility that differential Ras signaling is regulated by subcellular location. In the work proposed here I will test the hypothesis that Ras signals differently from various subcellular compartments by stringently, but inducibly and acutely, targeting activated Ras to various membrane compartments and then performing various assays of Ras signaling. Because the Ras trafficking pathway holds promise as a target for anti-cancer drug discovery, a more complete understanding of compartmentalized Ras signaling will not only be of biological interest but may also translate into cancer therapeutics. My project resides within the broad field of molecular cell biology and thereby capitalizes on my expertise, however, it will represent a change of course into signal transduction and will require a level of sophistication in live cell imaging that I can acquire in the Philips lab and apply to my future independent research career.

Research Plan: Mammalian cells express three Ras isoforms, N-, H-, and K-Ras, that control a wide variety of cellular functions including growth, differentiation and survival.

Ras proteins are the founding members of a large superfamily of regulatory GTPases that cycle between active and inactive states. In the inactive state, GDP is bound. The activation cycle is initiated when an upstream signaling element, known as a guanine nucleotide exchange factor (GEF), catalyzes the release of GDP, allowing the more abundant guanine nucleotide, GTP, to bind. GTP binding promotes a conformational change in the GTPase that allows it to interact with downstream signaling elements (effectors). The best-characterized Ras effectors include Raf-1, phosphatidylinositol 3-kinase and RalGDS. Activation of the GTPase is self-limited because of the intrinsic GTPase activity that catalyzes hydrolysis of

the high-energy phosphate bond, regenerates GDP in the binding pocket and thereby returns the GTPase to its inactive conformation. Because the intrinsic catalytic rate of many GTPases is exceedingly slow, an accessory protein known as a GTPase activating protein (GAP) is required to speed up the rate of catalysis, a feature that allows for an additional level of regulation. Ras mutations associated with cancer render the molecule constitutively active by blocking GAP activity and thereby locking Ras into the GTP-bound state.

Ras proteins are localized on the cytosolic leaflet of cellular membranes, and this localization is believed to be absolutely required for biological activity. Until recently, mature Ras proteins were thought to be stationary but it is now clear that they traffic between cellular compartments.

One of the least well-understood aspects of signal transduction is how a single regulatory molecule like Ras can independently control multiple signaling pathways in the same cell. At least part of the solution appears to lie in the spatial segregation of signaling events both at the level of organelles and membrane microdomains. The Philips laboratory discovered that Ras transits the endomembrane system en route to the plasma membrane (PM) and that at steady-state N-Ras and H-Ras are highly expressed on the Golgi apparatus. This led to the hypothesis that Ras can signal on intracellular membranes. The subsequent development and use of a fluorescent probe reporting when and where Ras is activated in living cells has revealed that Ras is activated transiently on the PM and in a delayed and sustained fashion on the Golgi upon stimulation of fibroblasts with mitogens.

Specific Aim: Preliminary data of the Philips laboratory suggest that the signal output of Ras differs from subcellular compartment to compartment. These data have relied on transient expression of stringently targeted, activated Ras fusion proteins and therefore may not reflect physiologic signaling in which Ras becomes rapidly activated on membranes. I will further test the model by directing (i) activated Ras proteins, (ii) GEFs or (iii) GAPs, in an inducible fashion, to various subcellular compartments and measure signal output both by monitoring known Ras-regulated pathways and by unbiased microarray. Induction will be both at the level of gene expression of targeted proteins (Tet-on system, hours) and acute protein targeting with inducible heterodimerization domains (FKBP/FRB, seconds). To complement these studies with a system in which artificially targeted Ras, GEFs or GAPs need not be introduced, I will study signal output in Jurkat T cells in which the spatial aspect of Ras signaling can be controlled by co-stimulation through LFA-1.

Publications

- FEHRENBACHER, N., BASTHOLM, L., SOERENSEN, T. K., RAFN, B., BØTTZAUW, T., NIELSEN, C., WEBER, E., SHIRASAWA, S., KALLUNKI, T., and JÄÄTTELÄ, M.: Sensitization to lysosomal cell death by oncogene-induced cathepsin expression and cathepsin-dependent down-regulation of LAMP-1 and LAMP-2. *Cancer Res.* 68/16, 6623–6633 (2008)
- OSTENFELDT, M. S., HØYER-HANSEN, M., BASTHOLM, L., FEHRENBACHER, N., OLSEN, O. D., GROTH-PEDERSEN, L., PUUSTINEN, P., SOERENSEN, T. K., NYLANDSTED, J., FARKAS, T., and JÄÄTTELÄ, M.: Lysosomes are direct targets of a novel anti-cancer agent Siramesine. *Autophagy* 4/4, 487–499 (2008)
- HØYER-HANSEN, M., BASTHOLM, L., SZYNIAROWSKI, P., CAMPANELLA, M., SZABADKAI, G., FARKAS, T., BIANCHI, K., FEHRENBACHER, N., ELLING, F., RIZZUTO, R., MATHIASSEN, I. S., and JÄÄTTELÄ, M.: Control of macroautophagy by calcium, calmodulin-dependent kinase kinase-beta, and Bcl-2. *Mol. Cell.* 25/2, 193–205 (2007)

Dr. med. Tobias W. Fischer

(BMBF LPD 9901/8-113)

Geboren 1969 in München. 1990–1997 Studium der Humanmedizin an der Universität München. 1997–1999 Arzt im Praktikum an der Klinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie der Universität Jena. 1998 Promotion an der Technischen Universität München. 1999–2002 Assistenzarzt. 7/2002 Facharzt für Dermatologie. 9/2002 Funktionsoberarzt an der Klinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie der Universität Jena. 2004 Zuerkennung eines Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiums, verbunden mit einem 18-monatigen Aufenthalt am Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Tennessee Health Science Center, Memphis, TN (USA). Seit Juli 2006 Oberarzt der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie, Universitätsklinik Schleswig-Holstein, Universität zu Lübeck. 3/2008 Ernennung zum Sprecher der Arbeitsgruppe „Dermato-Endokrinologie“ der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung. 7/2008 Etablierung einer unabhängigen Arbeitsgruppe „Haarbiologie, Melatonin, Photobiologie“. 8/2008 Habilitationsverfahren eingeleitet.



Projekt:

Untersuchungen zu Melatonin als Antioxidanz unter UV-induziertem oxidativem Stress in der Haut

Vortrag:

Die Rolle von Vitamin D3 in der Regulation der angeborenen Immunabwehr der Haut

Melatonin ist ein im Laufe der Evolution präserviertes und vermutlich das älteste Hormon, welches in vielen biologischen Systemen – vom Einzeller bis zum Menschen – nachgewiesen werden und erstaunlich pluripotente Funktionen ausüben kann.

Neben der Glandula pinealis wurden in den vergangenen 10 bis 20 Jahren auch extrapineale Synthesorte für Melatonin wie Gastro-Intestinaltrakt (BUBENIK 2001), Auge (CAHILL und BESHARSE 1992), Knochenmark (TAN et al. 1999b), Gallenflüssigkeit (TAN et al. 1999a), Liquorraum (SKINNER und MALPAUX 1999), Lymphozyten (CARRILLO-VICO et al. 2004) und Ovar (ITOH et al. 1999) entdeckt. Neben den chronobiologischen Funktionen wurden 1993 starke antioxidative Eigenschaften von Melatonin beschrieben (TAN et al. 1993), die Melatonin zu einem potenten rezeptorunabhängigen autokrinen und parakrinen direkten Antioxidanz machen.

Ziel des Projektes war es zu prüfen, ob die antioxidativen Eigenschaften von Melatonin auch auf UV-induzierten oxidativen Stress übertragbar sind. In Vorstudien konnte dies in Leukozyten, die zu starker Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies in der Lage sind, gezeigt werden, wobei zwei Wirkoptima (10^{-8} M und 10^{-3} M) identifiziert werden konnten

(FISCHER et al. 2001). In humanen Keratinozyten, die die eigentliche Zielzellpopulation der UV-Strahlung in der Haut darstellen, wurde erstmals gezeigt, dass Melatonin eine potente protektive Substanz darstellt. Humane Keratinozyten wurden mit ansteigenden Dosen (25, 50 mJ/cm²) von UV-Strahlung in einer Wellenbereichszusammensetzung, wie sie in der Natur auf die humane Haut einwirkt (kombinierte UVB/UVA-Strahlungsquelle), exponiert und deren Proliferations- und Koloniebildungsfähigkeit sowie Apoptoseentwicklung mittels radiomarkierter DNA-Inkorporation, Kolonieformationsassay und TUNEL-Assay untersucht. Melatonin zeigte eine signifikante Prävention der UV-induzierten Apoptose, was zu erhöhter Zellüberlebensrate und Koloniebildungsfähigkeit führte (FISCHER et al. 2006b). Weiterführende Untersuchungen analysierten die Mechanismen der Apoptose im Detail parallel zu zellmorphologischen Beobachtungen. Sowohl der UV-induzierte mitochondriale (intrinsische) (Casp-9) als auch der extrinsische Todes-Rezeptor-vermittelte (Casp-8) Apoptoseweg und die *down-stream*-regulierten Effektor-Caspasen (Casp-3/Casp7) wurden signifikant durch Melatonin gehemmt (Immunoblot). Auch das Schlüsselereignis des mitochondrialen Apoptoseweges – der Abfall des mitochondrialen Membranpotentials – wurde durch Melatonin aufrechterhalten (JC-1-Probe, konfokale Lasermikroskopie). Im letzten Schritt der Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Poly(ADP-Ribose)-Polymerase (PARP), der direkt-proportionale Parameter für DNA-Schäden, in den ersten 24 Stunden nach Initiierung der UV-induzierten Apoptose signifikant durch Melatonin herunterreguliert ist. In den parallel durchgeführten Untersuchungen zur Zellmorphologie konnte gezeigt werden, dass die UV-induzierte Ablösung von apoptotischen Keratinozyten, die Zellmembranschwellung und Chromatinkondensierung durch Behandlung mit Melatonin vermindert werden konnten (FISCHER et al. 2008). Somit wurde auf allen relevanten molekularen und zellbiologischen Ebenen die potente protektive Wirkung von Melatonin hinsichtlich UV-induzierter Zytotoxizität und Apoptose belegt.

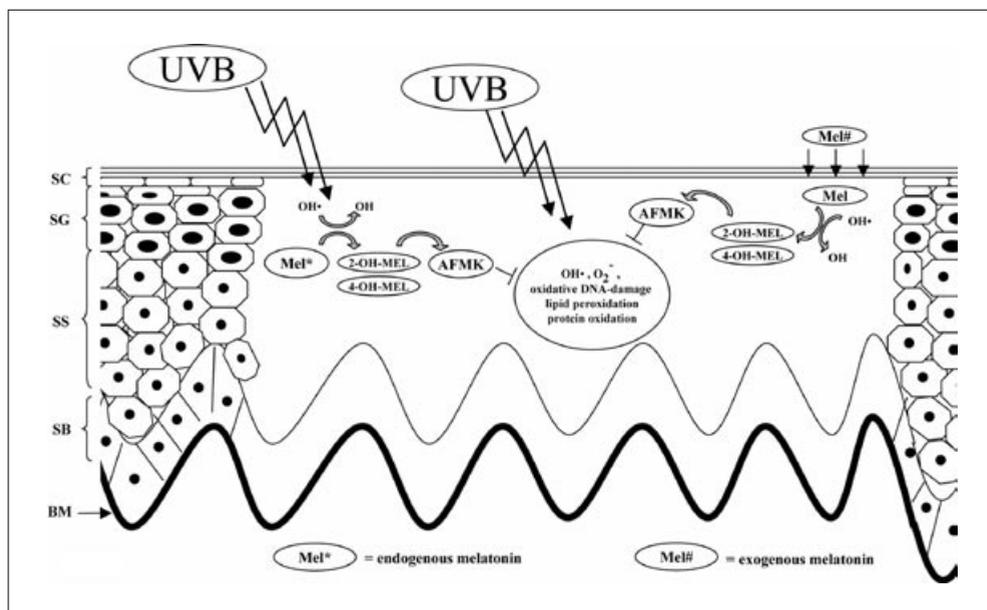


Abb. 1 Das melatoninerge antioxidative System (MAS) der Haut

Im zweiten Teil des Projektes wurden erstmals potente antioxidative Melatonin-Metabolite (2-OH-Melatonin, AFMK) unter für die Haut biologisch relevanten UV-Spektren im zellfreien System und intrazellulär in Keratinozyten identifiziert (HPLC/LC-MS). Diese nahmen UV-Dosis- und substratkonzentrationsabhängig linear zu, womit ein melatoninerges antioxidatives System (MAS) der Haut definiert werden konnte. Darüber hinaus wurden erstmals definierte Spiegel von Melatonin, 2-OH-Melatonin und AFMK in nativen Keratinozyten gemessen und aufgrund der 24-Stunden-Dynamik ein autonomer Melatonin-Metabolismus beobachtet (FISCHER et al. 2006a). Damit sind humane Keratinozyten nicht nur eine Zielzellpopulation, sondern auch ein Syntheseort für Melatonin mit lokalspezifischem autonomem und UV-induzierbarem Stoffwechsel.

Neben den Untersuchungen zu zellprotektiven Effekten in benignen Zellen wurden onkostatische Eigenschaften von Melatonin in malignen Melanomzelllinien untersucht. Die höchste Sensitivität gegenüber der tumorstatistischen Wirkung von Melatonin (bis 10^{-12} M) wurde in amelanotischen SKMEL-188-Melanomzellen und die stärksten biologischen Effekte (90% Suppression) in SBCE2-Melanomzellen (radiale Wachstumsphase) beobachtet. Diese Effekte können mit der erstmals in diesen Zelllinien identifizierten Expression von nukleären (ROR α) und zytosolischen Melatonin-Rezeptoren (MT3/NQO2) in Zusammenhang gebracht werden (RT-PCR) (FISCHER et al. 2006c).

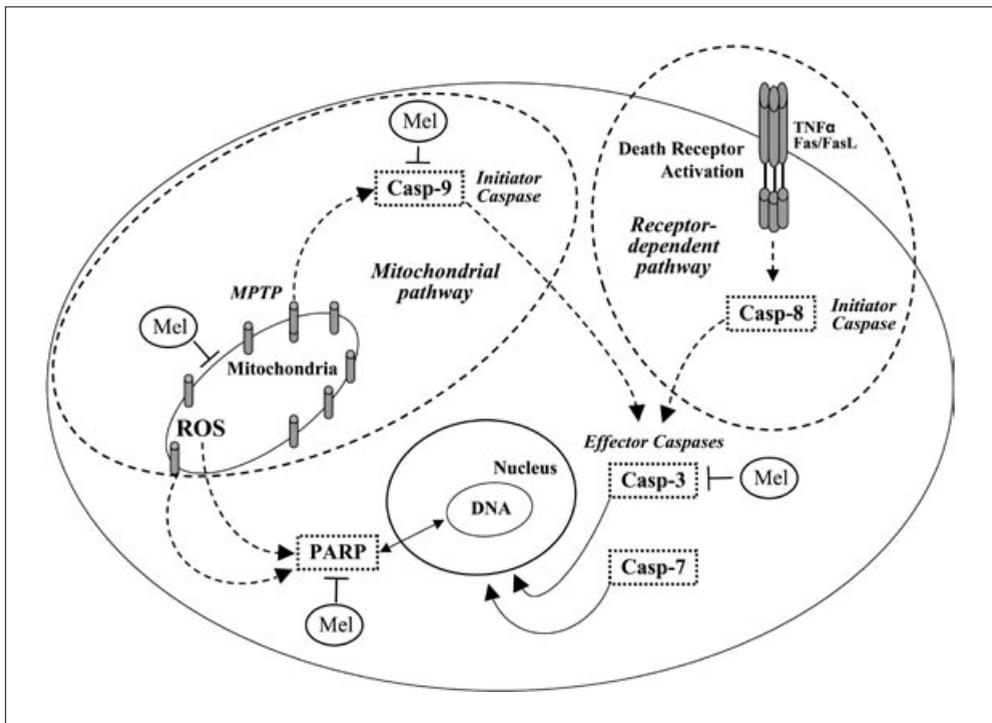


Abb. 2 Hemmung des mitochondrialen Apoptose-Pfadways durch Melatonin

Durch die Untersuchungen ist es gelungen, Melatonin als ein hochpotentes und vielversprechendes Molekül in der Dermatologie zu etablieren, womit neue Forschungsansätze erschlossen werden, die die Verifizierung dieser protektiven Effekte in anderen Hautzelltypen (z. B. Fibroblasten) und auf Gewebe-Ebene (z. B. in Vollhautmodellen), bis hin zur Translation auf

klinische Ebene (z. B. *Ex-vivo*-Biopsien von Körperregionen mit verschiedener UV-Exposition), beinhalten. Die Untersuchung der funktionellen Rolle der Melatonin-Rezeptoren und deren Liganden/Antagonisten sowie der differenzierten Mechanismen der Melanomwachstumssuppression mit der Perspektive, dies in klinischen Studien zu evaluieren, sind weitere Forschungsansätze, für die durch die vorliegenden grundlagenwissenschaftlichen Ergebnisse der Grundstein gelegt ist.

Literatur

- BUBENIK, G. A.: Localization, physiological significance and possible clinical implication of gastrointestinal melatonin. *Biol. Signals Recept.* *10*, 350–366 (2001)
- CAHILL, G. M., and BESHARSE, J. C.: Light-sensitive melatonin synthesis by *Xenopus* photoreceptors after destruction of the inner retina. *Vis. Neurosci.* *8*, 487–490 (1992)
- CARRILLO-VICO, A., CALVO, J. R., ABREU, P., LARDONE, P. J., GARCIA-MAURINO, S., REITER, R. J., and GUERRERO, J. M.: Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *FASEB J.* *18*, 537–539 (2004)
- FISCHER, T. W., SCHOLZ, G., KNOLL, B., HIPLER, U. C., and ELSNER, P.: Melatonin reduces UV-induced reactive oxygen species in a dose-dependent manner in IL-3-stimulated leukocytes. *J. Pineal. Res.* *31*, 39–45 (2001)
- FISCHER, T. W., SWEATMAN, T. W., SEMAK, I., SAYRE, R. M., WORTSMAN, J., and SLOMINSKI, A.: Constitutive and UV-induced metabolism of melatonin in keratinocytes and cell-free systems. *FASEB J.* *20*, 1564–1566 (2006a)
- FISCHER, T. W., ZBYTEK, B., SAYRE, R. M., APOSTOLOV, E. O., BASNAKIAN, A. G., SWEATMAN, T. W., WORTSMAN, J., ELSNER, P., and SLOMINSKI, A.: Melatonin increases survival of HaCaT keratinocytes by suppressing UV-induced apoptosis. *J. Pineal. Res.* *40*, 18–26 (2006b)
- FISCHER, T. W., ZMIJEWSKI, M. A., WORTSMAN, J., and SLOMINSKI, A.: Melatonin maintains mitochondrial membrane potential and attenuates activation of initiator (casp-9) and effector caspases (casp-3/casp-7) and PARP in UVR-exposed HaCaT keratinocytes. *J. Pineal. Res.* *44*, 397–407 (2008)
- FISCHER, T. W., ZMIJEWSKI, M. A., ZBYTEK, B., SWEATMAN, T. W., SLOMINSKI, R. M., WORTSMAN, J., and SLOMINSKI, A.: Oncostatic effects of the indole melatonin and expression of its cytosolic and nuclear receptors in cultured human melanoma cell lines. *Int. J. Oncol.* *29*, 665–672 (2006c)
- ITOH, M. T., ISHIZUKA, B., KURIBAYASHI, Y., AMEMIYA, A., and SUMI, Y.: Melatonin, its precursors, and synthesizing enzyme activities in the human ovary. *Mol. Hum. Reprod.* *5*, 402–408 (1999)
- SKINNER, D. C., and MALPAUX, B.: High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen vein blood recirculating through the choroid plexus. *Endocrinology* *140*, 4399–4405 (1999)
- TAN, D. X., CHEN, L. D., PÖGGELER, B., MANCHESTER, L. C., and REITER, R. J.: Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr. J.* *1*, 57–60 (1993)
- TAN, D. X., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J., QI, W., HANES, M. A., and FARLEY, N. J.: High physiological levels of melatonin in the bile of mammals. *Life Sci.* *65*, 2523–2529 (1999a)
- TAN, D. X., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J., QI, W. B., ZHANG, M., WEINTRAUB, S. T., CABRERA, J., SAINZ, R. M., and MAYO, J. C.: Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance. *Biochim. Biophys. Acta* *1472*, 206–214 (1999b)

Publikationen

- FISCHER, T. W., SLOMINSKI, A., TOBIN, D. J., and PAUS, R.: Melatonin and the hair follicle. *J. Pineal. Res.* *44*, 1–15 (2008)
- FISCHER, T. W., SLOMINSKI, A., ZMIJEWSKI, M. A., REITER, R. J., and PAUS, R.: Melatonin as a major skin protectant: From free radical scavenging to DNA damage repair. *Exp. Dermatol.* *17*, 713–730 (2008)
- FISCHER, T. W., ZMIJEWSKI, M. A., WORTSMAN, J., and SLOMINSKI, A.: Melatonin maintains mitochondrial membrane potential and attenuates activation of initiator (casp-9) and effector caspases (casp-3/casp-7) and PARP in UVR-exposed HaCaT keratinocytes. *J. Pineal. Res.* *44*, 397–407 (2008)
- FISCHER, T. W., SWEATMAN, T. W., SEMAK, I., SAYRE, R. M., WORTSMAN, J., and SLOMINSKI, A.: Constitutive and UV-induced metabolism of melatonin in keratinocytes and cell-free systems. *FASEB J.* *20*, 1564–1566 (2006)
- FISCHER, T. W., ZBYTEK, B., SAYRE, R. M., APOSTOLOV, E. O., BASNAKIAN, A. G., SWEATMAN, T. W., WORTSMAN, J., ELSNER, P., and SLOMINSKI, A.: Melatonin increases survival of HaCaT keratinocytes by suppressing UV induced apoptosis. *J. Pineal. Res.* *14*, 18–21 (2006)
- FISCHER, T. W., ZMIJEWSKI, M. A., ZBYTEK, B., SWEATMAN, T. W., SLOMINSKI, R. M., WORTSMAN, J., and SLOMINSKI, A.: Oncostatic effects of the indole melatonin and expression of its cytosolic and nuclear receptors in cultured human melanoma cell lines. *Int. J. Oncol.* *29*, 665–672 (2006)

Dr. rer. nat. Marcel G. Friedrich

(BMBF LPD 9901/8–173)



Born 1973. 1998–2003 Studies of Chemistry and Physics at the Johannes-Gutenberg University in Mainz and at the Centre of Excellence in Nagoya (Japan), in the lab of Nobel prize laureate Prof. R. NOYORI. 5/2000 diploma in Chemistry as well as in Physics for single molecule Raman spectroscopy on carbon nanotubes. 2003–2007 Ph.D. studies in the group of Prof. W. KNOLL at the Max Planck Institute for Polymer Research, Germany. During his doctoral studies he carried out experimental and theoretical research on bioelectrochemical processes of active ion channels and enzymes. 2006 Student Research Achievement Award. 2007 Young Investigator Award. 5/2007 Ph.D. Since 5/2008 at the lab of Prof. Sunney XIE at Harvard University Cambridge, MA (USA), as a Leopoldina postdoctoral research fellow to conduct research in the field of nonlinear optics and CARS spectroscopy applied to biological systems.

Project:

In-vivo Drug Interaction of Cytochrome P450 Probed by Resonant Enhanced Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) Microscopy

Cytochromes P450 (CYPs) are NAD(P)H dependent, *b*-type heme containing monooxygenases that catalyze a variety of reactions in the human organism, such as in hormone biosynthesis and breakdown, cholesterol synthesis and vitamin D metabolism. Mutations in cytochrome P450 genes or deficiencies of the enzymes are responsible for several human diseases.

They provide the primary defensive system against xenobiotics, they are involved in the metabolism of more than 80% of all currently used drugs and they are main target in current cancer therapies. In the context of this functionality the goal of this work is to develop an *in vivo* method to visualize the activity of CYPs in living cells. Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy is a novel and powerful tool that overcomes the disadvantages of conventional vibration spectroscopy. This nonlinear technique utilizes vibrational contrast, which permits rapid and non-invasive *in vivo* imaging with high chemical sensitivity and selectivity as well as a high spatial resolution. The aim of this project is to extend this technique for the first time into the field of CYPs, in order to study physiological and pharmacological aspects on a molecular level, such as enzyme-ligand interactions, metabolism of drugs or processes occurring during cancer evolution. This will be investigated in detail as a function of different parameters, such as concentrations of different substrates, drugs or carcinogens, oxygen content and different cell types. Moreover, the investigation could yield a better understanding of processes related to the evolution of cancer for examples as a consequence of outer factors, such as drugs or chemical compounds.

Publications

- FRIEDRICH, M. G., ROBERTSON, J. W. F., WALZ, D., KNOLL, W., and NAUMANN, R.: Modelling of ion transport processes in tethered bilayer lipid membranes by spice 1. Passive ion transport through defects in the lipid bilayer. *J. Phys. Chem. B.* (2008) (accepted)
- FRIEDRICH, M. G., PLUM, M. A., KIRSTE, V. U., KNOLL, W., LUDWIG, B., and NAUMANN, R. L. C.: In-situ monitoring of the catalytic activity of cytochrome c oxidase in a biomimetic architecture. *Biophys. J.* (2008) (in press)
- FRIEDRICH, M. G., KIRSTE, V., ZHU, J., GENNIS, R. B., KNOLL, W., and NAUMANN, R. L. C.: Activity of membrane proteins immobilized on surfaces as a function of packing density. *Phys. Chem. B.* *112/10*, 3193 (2008)
- FRIEDRICH, M. G., ROBERTSON, J. W. F., WALZ, D., KNOLL, W., and NAUMANN, R. L. C.: Electronic wiring of a multi-redox site membrane protein in a biomimetic surface architecture. *Biophys. J.* *94*, 3698 (2008)

Dr. rer. nat. Jan Gläscher

(BMBF LPD 9901/8-140)

Born in 1972. From October 1995 to October 2001 Studies in Psychology at the University of Gießen and the University of Mannheim. January 2002 to September 2005 dissertation project at the Department of Systems Neuroscience, Neuroimage Nord at the University of Hamburg. From March 2006 to February 2008 Postdoctoral Fellowship from the Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina, Research at the Department of Humanities and Social Sciences, Caltech, Pasadena, CA (USA) in the Group of Professor Dr. Ralph ADOLPHS and Assistant Professor Dr. John O'DOHERTY. Since 2/2008 continuing the studies at Caltech.



Project:

Encoding of Action-Outcome Values in the Ventromedial Prefrontal Cortex

When studying decision-making in a controlled experimental setting the different decision options are usually signified by different discriminative stimuli (S). The subject then has select one of them (action selection, A) in order to receive an outcome (O). Over the course of the experiment the subject learns by trial and error which outcomes (e. g. monetary rewards) are associated with each cue. Thus, each stimulus acquires a predictive value that guides the individual decision. These values can be improved and adjusted over time by utilizing the prediction error, i. e. the difference between the actual and expected outcome.

While recent years have brought about a substantial body of knowledge about the brain regions involved in computing these predictive values, the nature of these value representations remains essentially unclear. In principle, they can arise through Pavlovian associations between a stimulus and an outcome (S-O). Alternatively, values can also emerge via instrumental associations between a stimulus and a particular action (S-A). Finally, action-outcome associations (A-O) – often seen as essential for goal-directed learning – can also drive value representations in the human brain.

In this study, we devised a functional neuroimaging experiment to investigate the neural underpinnings of these different value representations using a probabilistic reversal learning task (GLÄSCHER et al. 2008). The task involves repetitive choices between two different options that have different probabilities of obtaining a monetary reward. By trial and error the subjects have to learn to choose the option with the larger reward probability. At certain points in the experiment these probabilities switch; the subjects then have to detect these change points and adapt their choices accordingly.

In order to study different value representations we designed two variants of this task: *stimulus reversal learning*, in which 2 discriminative stimuli were presented randomly at 2 different positions on the screen and the subjects had to choose between them, and *action reversal learning*, in which a single stimulus was presented and the subjects had to choose between two different motor actions (a button press and a slide on a trackball). Because the same stimulus is always presented in the latter condition, the subjects can only use the values based on the action-outcome associations to guide their choice behavior.

We used an extension of classic reinforcement learning (RL) theory which captures the structure of this task, namely that the 2 reward probabilities are anti-correlated: if the probability of one option is large, the one of the other is small. The values in this model can be computed using the following update rule:

$$V_{t+1}^c = V_t^c + \alpha(R_t - V_t^c)$$

$$V_{t+1}^{nc} = V_t^{nc} + \alpha(-R_t - V_t^{nc})$$

where V_{t+1}^c is the value of chosen option on trial $t + 1$, V_{t+1}^{nc} is the value of the non-chosen option, $(R_t - V_t^c)$ is the actual prediction error, i. e. the difference between the actual outcome R_t and the expected value V_t^c , $(-R_t - V_t^{nc})$ is a fictitious prediction error, and α is the learning rate. The crucial enhancement to classic RL is the fictitious prediction error, which is computed by assuming that the alternative outcome $-R_t$ would have taken place. We fitted this model to the behavioral data of our subjects, derived trial-by-trial predictive values, and correlated these with the time series of brain activation data. We found that a region in the ventromedial prefrontal cortex (vmPFC) and in the amygdala-hippocampal junction correlated significantly with the value of the chosen option in both the stimulus and the action reversal condition.

Although at first the findings seem to be difficult to reconcile, we believe that these data suggest an interpretation which attributes more abstract and flexible value representations to the vmPFC which are not concrete mappings of physical motor responses to outcomes. The value of the chosen option during action reversal pertains to both motor actions (button press and trackball slide) and the activation in this region is higher if the currently chosen action has a higher predictive value *regardless of which specific action was chosen*. This suggests a role for the vmPFC in goal-directed learning, a finding compatible with rodent data, in which goal-directed action-outcome learning appears to be neurally dissociable from Pavlovian stimulus-outcome associations.

On the contrary, the correlation of vmPFC activation with the value of the chosen stimulus during stimulus reversal learning seems to suggest that this region is driven by stimulus-outcome associations. However, it is crucial to realize that although the stimuli were presented randomly on the screen, the particular motor response in either case (pressing either the left or right button) is perfectly correlated with the spatial location of the stimulus. Thus, it is quite possible that the relevant association for the emergence of stimulus value representations is formed between the stimulus, its spatial location and the pertaining motor response, and the outcome itself. Taken together with the fact that an extended RL model, which does not exclusively rely on stimulus outcome associations but rather incorporates the higher-order task structure, these findings support the view that the vmPFC encodes the value of a chosen decision option in an abstract and flexible manner.

Publications

GLÄSCHER, J.: Visualization of group inference data in functional neuroimaging. (under review)

GLÄSCHER, J., TRANEL, D., PAUL, L. K., RUDRAUF, D., RORDEN, C., HORNADAY, A., GRABOWSKI, T., DAMASIO, H., and ADOLPHS, R.: Lesion mapping of cognitive abilities comprising intelligence. (under review)

GLÄSCHER, J., HAMPTON, A. N., and O'DOHERTY, J. P.: Determining a role for ventromedial prefrontal cortex in encoding action-based value signals during reward-related decision making. *Cereb. Cortex* (2008) [Epub ahead of print, doi:10.1093/cercor/bhn098]

SOMMER, T.*, GLÄSCHER, J.*, MORITZ, S., and BÜCHEL, C.: Emotional enhancement effect of memory: removing the influence of cognitive factors. *Learn. Mem.* 15/8, 569–573 (2008) (* shared first authorship)

BINGEL, U., ROSE, M., GLÄSCHER, J., and BÜCHEL, C.: fMRI reveals how pain modulates visual object processing in the ventral visual stream. *Neuron* 55/1, 157–167 (2007)

- DOMES, G., HEINRICHS, M., GLÄSCHER, J., BÜCHEL, C., BRAUS, D. F., and HERPERTZ, S.: Oxytocin attenuates amygdala responses to emotional faces regardless of valence. *Biol. Psychiatry* 62/10, 1187–1190 (2007)
- GLÄSCHER, J., ROSE, M., and BÜCHEL, C.: Independent effects of emotion and working memory on visual activation in the lateral occipital complex. *J. Neurosci.* 27/16, 4366–4373 (2007)
- YACUBIAN, J., SOMMER, T., SCHROEDER, K., GLÄSCHER, J., BRAUS, D. F., and BÜCHEL, C.: Subregions of the ventral striatum show preferential coding of reward magnitude and probability. *Neuroimage* 38/3, 557–563 (2007)
- YACUBIAN, J., SOMMER, T., SCHRÖDER, K., GLÄSCHER, J., KALISCH, R., LEUENBERGER, K., BRAUS, D., and BÜCHEL, C.: Gene-gene interaction associated with neural reward sensitivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104/19, 8125–8130 (2007)

Dr. rer. nat. Sabine Gorynia

(BMBF LPD 9901/8-167)

Born September 6, 1979, in Berlin. April 2000–July 2004 Study of Biochemistry, Freie Universität (FU) Berlin including internships at the Harvard Medical School in the group of Prof. Tom RAPOPORT, Boston, MA (USA) and at the University of Florence under supervision of Prof. Giampietro RAMPONI, Florence (Italy); January–July 2004 Diploma thesis at the Max-Delbrueck Center for Molecular Medicine in the laboratory of Dr. Thomas SOMMER, Berlin-Buch; November 2004–September 2007 Dissertation at Schering AG Berlin in collaboration with the Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB), Oeiras (Portugal) supervised by Prof. Peter DONNER und Prof. Maria Arménia CARRONDO; October 2007–August 2008 Lab head at Bayer Schering Pharma, Berlin; from September 2008 Postdoctoral Fellow at the University of California, Los Angeles (UCLA) in the laboratory of Prof. Gregory PAYNE as Leopoldina Research Fellow (Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina).



Project:

Identification and Characterization of Proteins Involved in the AP-3-dependent Transport Pathway

Transport pathways regulated by the evolutionarily conserved AP-3 adaptor complex have important biological roles in humans, flies, mice, and yeast. The AP-3 pathway regulates the transport of newly-synthesized lysosomal proteins from the *trans* Golgi network (TGN) to lysosomes and also plays a role in transport of proteins to lysosome-like organelles such as platelet dense granules and pigment granules in specialized cell types. Defects in the AP-3 β 3A subunit in humans lead to a medically relevant inherited disorder, Hermansky-Pudlak Syndrome (HPS), which defines a group of at least seven autosomal recessive disorders characterized by albinism and prolonged bleeding. In addition AP-3 plays a key role in HIV particle assembly by interacting with the matrix region of HIV-1 Gag, which directs the intracellular trafficking of Gag to the plasma membrane assembly site. The composition of the AP-3 transport intermediates and the molecules involved in their formation are not clearly defined. For that reason it is one goal of the project to identify and characterize genes/proteins involved in AP-3-dependent protein transport. The second goal of the project is to co-crystallize AP-3 together with the dileucine sorting signal, which is necessary for incorporation into the AP-3 pathway, in order to solve the three-dimensional structure and to illuminate the molecular basis for cargo recognition.

References

- DI PIETRO, S. M., FALCÓN-PÉREZ, J. M., TENZA, D., SETTY, S., MARKS, M., RAPOSO, G., and DELL'ANGELICA, E. C.: BLOC-1 interacts with BLOC-2 and the AP-3 complex to facilitate protein trafficking on endosomes. *Mol. Biol. Cell* 17 (9), 4027–4038 (2006)

- NEWELL-LITWA, K., SEONG, E., BURMEISTER, M., and FAUNDEZ, V.: Neuronal and non-neuronal functions of the AP-3 sorting machinery. *J. Cell. Sci.* 120/Pt 4, 531–541 (2007)
- ROBINSON, M. S.: Adaptable adaptors for coated vesicles. *Trends Cell Biol.* 14/4, 167–174 (2004)

Publications

- GORYNIA, S., MATIAS, P. M., GONÇALVES, S., COELHO, R., GATO, G. L., THOMAZ, M., HUBER, M., HAENDLER, B., DONNER, P., and CARRONDO, M. A.: Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of the human RuvB-like protein RuvBL1. *Acta Cryst.* F2, 61–66 (2006)
- MATIAS, P. M., GORYNIA, S., DONNER, P., and CARRONDO, M. A.: Crystal structure of the human AAA+ protein RuvBL1. *J. Biol. Chem.* 281/50, 38918–38929 (2006)

Dr. rer. nat. Stefanie Gräfe

(BMBF-LPD 9901/8-139)

Born 1979 in Düsseldorf. 1998–2003 Studies of Chemistry at the Bavarian Julius-Maximilians University Würzburg, Germany. 1/2003 Diploma (Dipl.-Chem.), Diploma thesis: “Time-dependent photoelectron spectroscopy of non-adiabatic processes” with Prof. Dr. Volker ENGEL; Faculty Award for diploma. 2003–2005 Dissertation: “Laser-control of molecular dynamics” with Prof. Dr. Volker ENGEL. 5/2005: Ph.D. degree (Dr. rer. nat.), Faculty Award for dissertation. 2005–2006 Postdoctoral Fellow in Theoretical Chemistry. Joint position at the Institute for Physical Chemistry (with Prof. Dr. Volker ENGEL) and the Institute for Organic Chemistry (with Prof. Dr. Bernd ENGELS), Würzburg, Germany. 2006–2008 Postdoctoral Fellow (Leopoldina) at the Steacie Institute for Molecular Sciences, National Research Council Canada, Ottawa (Canada), with Prof. Dr. Misha IVANOV. Since 2008: Postdoctoral Fellow (Lise-Meitner scholarship of the FWF) at the Institute for Theoretical Physics, Vienna University of Technology, Vienna (Austria), with Prof. Dr. Joachim BURGDÖRFER.



Project:

Strong-field Imaging of Molecular Structures and Attosecond Electronic Dynamics

My research project was focused on the problem of ultrafast correlated multi-electron dynamics, one of the key theoretical problems in strong-field attosecond dynamics and imaging. Within one research project, strong-field effects such as laser-driven re-collision of the electronic wave-packet with the ion have been examined.

During recollision, double excitation (one of the basic processes in strong field-molecule interaction) is taking place; the single active electron approximation – the workhorse of strong field physics in the past decades – is not adequate in such cases. An analytical model system has been developed, allowing one to handle attosecond two-electron dynamics by replacing the re-collision electron with an effective interaction potential and retaining the full phase-relationship of the two entangled electrons. The model has been tested by performing numerical simulations assuming parameters similar to a recent experiment. My earlier work in the area of time-resolved spectroscopy has been extended recently during my postdoctoral research project. Considering the attosecond electronic dynamics driven by a strong laser field as described above, a novel approach to time-resolved monitor pump-probe spectra has been suggested. We have shown that in spite of the broad spectral width of attosecond XUV probe pulses, the coupled nuclear-electronic dynamics is reflected in asymmetries in the kinetic energy distribution of the photoelectrons.

Lecture:

Attosecond Electron Localization Dynamics Induced by Laser-driven Electron Recollision

Time-resolved pump-probe experiments are very versatile tools allowing us to monitor fundamental dynamic processes in atoms, molecules and clusters. Physically, time-resolved experiments require techniques and (ultra) short light pulses which enable us to make ‘snapshots’

on the same time scale as the dynamics to be observed. Applying femtosecond laser pulses, nuclear dynamics can be monitored, opening the door to the new field of ‘femtochemistry’, making the real-time observation of chemical bond breaking possible. Recently, isolated pulses as short as 130 attoseconds have been generated. This allows observing processes on the sub-femtosecond timescale, thus making possible the real-time observation of electronic dynamics.

It is shown that pump-probe ionization spectroscopy, a standard tool in femtosecond spectroscopy, can be applied to resolve processes on the attosecond timescale. Ionization of the neutral hydrogen molecule and subsequent excitation and dissociation of the molecular ion are induced by an intense few-cycle infrared pulse, which acts as a pump. A time delayed attosecond XUV pulse ionizes H^{2+} , therefore probing the coupled nuclear-electronic dynamics. Although attosecond pulses are spectrally very broad (several eV), it is shown that information about the electronic state can be extracted. It is demonstrated that information about electronic motion can be extracted by monitoring asymmetries in the photoelectron distribution.

We consider the following setup: an intense few-cycle linearly polarized IR pump pulse ionizes the molecule H_2 , producing the hydrogen molecular ion and a correlated free electron. The free electron follows the optical oscillations of the driving field and recollides with the parent ion, inducing excitation onto a dissociative electronic state. During the dissociation the bound electron tunnels between the two nuclei and – controlled by the carrier-envelope phase of the driving IR field – localizes on one of the nuclei.

The XUV probe pulse ionizes the system, transferring the electron during its tunneling motion into the continuum. The electron keeps the momentum and upon ionization will be released preferably in the direction of its momentum. Calculating the photoelectron distribution on a detector placed to the left and to the right of the polarization axis shows asymmetries in the electron distribution: for certain delay times and energies, more electrons fly to the right (left) detector, depending on the direction the electron was tunneling to. Additionally, the photoelectron kinetic energy distribution as a function of delay time directly reflects the nuclear motion so that we besides temporal resolution of the electron tunneling dynamics as well obtain spatial information of the nuclear dynamics.

Publications

- GRÄFE, S., and IVANOV, M. Y.: On the electron localization dynamics induced by laser-driven electronic rescattering. *J. Mod. Optics* (in print)
- GRÄFE, S., ENGEL, V., and IVANOV, M. Y.: Attosecond photoelectron spectroscopy of electron tunneling in a dissociating hydrogen molecular ion. *Phys. Rev. Lett.* (in print)
- LAUSTEN, R., SMIRNOVA, O., SUSSMAN, B. J., GRÄFE, S., MOURITZEN, A. S., and STOLOW, A.: Time- and frequency resolved coherent anti-Stokes scattering spectroscopy with sub-25 fs laser pulses. *J. Chem. Phys.* *128*, 244310-1-244310-13 (2008)
- DIETZKE, B., GRÄFE, S., SCHMITT, M., YARTSEV, A., PASCHER, T., SUNDSTRÖM, V., KIEFER, W., and IVANOV, M. Y.: Experimental observation of different order components of a vibrational wavepacket. *Phys. Rev. Lett.* *98*, 187402-1-187402-4 (2007)
- GRÄFE, S., AKIMOV, D. A., BÖHM, B., ZHELTIKOV, A. M., SCULLY, M. O., ENGEL, V., KIEFER, W., and SIEBERT, T.: Strong-field dressing of vibrational manifolds within ultrafast coherent Raman excitation. *J. Raman. Spectrosc.* *38*, 998–1005 (2007)
- GRÄFE, S., and IVANOV, M. Y.: Electron-localization induced by laser-driven electron recollision. *Phys. Rev. Lett.* *99*, 163603-1-163603-4 (2007)
- GRÄFE, S., KIEFER, W., and ENGEL, V.: On the limitations of adiabatic population transfer between molecular electronic states induced by intense femtosecond laser pulses. *J. Chem. Phys.* *127*, 134306-1-134306-6 (2007)
- GRÄFE, S., MARQUETAND, P., and ENGEL, V.: Corrigendum to: Classical aspects emerging from local control of energy and particle transfer in molecules. *J. Photochem. Photobiol. A.* *189*, 145 (2007)

Dr. rer. nat. Björn Gücker

(BMBF LPD 9901/8-135)

Geboren am 12. 3. 1975 in Frankenberg/Eder. 1994–2001 Studium der Biologie an der Philipps-Universität Marburg und am Imperial College London (Großbritannien). 2001–2005 Doktorarbeit am Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (IGB), Berlin, zum Thema: Regulation des Nährstoffrückhaltes in Fließgewässern. 2005–2008 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiat am Instituto de Ciências Biológicas der Universidade Federal de Minas Gerais in Belo Horizonte (Brasilien). Seit August 2008 Mitarbeiter im BMBF Projekt „Prozessbasiertes Stoffstrommodell für Flussgebiete“ am IGB, Berlin.



Projekt:

Kinetiken des Nährstoffrückhaltes in Fließgewässern

Vortrag:

Auswirkungen von Landnutzungsänderungen auf strukturelle und funktionelle Eigenschaften tropischer Cerradobäche

Fließgewässer sind die Adern der Landschaft, deren Nährstoffüberschüsse sie aufnehmen, transportieren, aber eben auch zurückhalten („Nährstoffretention“). Ihre Eigenschaft, gelöste Pflanzennährstoffe durch abiotische und biotische Prozesse aus der Wassersäule zu eliminieren und damit möglicherweise positiv zur Wasserqualität stromabwärts gelegener Gewässersysteme beizutragen, verleiht kleinen Bächen eine Schlüsselstellung im Stoffhaushalt der Gewässereinzugsgebiete. Bisherige Arbeiten zielten darauf ab, herauszufinden, welche Retentionsleistung Bäche bei gegebenen Umweltbedingungen erbringen, ermöglichten jedoch keine Aussagen zu kurz- und langfristigen Konzentrationskinetiken und damit zur Plastizität der Nährstoffretention. Im geförderten Projekt wurden erstmals Kinetiken der Nährstoffretention verschiedener Bachmorphotypen unter naturnahen Bedingungen und anthropogener Belastungen ermittelt. Ergebnisse von naturnahen Bächen wurden mit Ergebnissen von landwirtschaftlich belasteten und experimentell eutrophierten Bächen verglichen.

Verschiedene Bachtypen unterschieden sich in ihren Nährstoffretentionseigenschaften und -kinetiken, wobei Sumpfbäche aufgrund ihrer geringen spezifischen Abflüsse, großen Breiten/Tiefenverhältnisse und großen hydrodynamischen Totzonenanteile nicht nur höhere maximale Nährstoffaufnahmeleistungen und Halbsättigungskonzentrationen, sondern auch höhere frachtspezifische Retentionseffizienzen als andere Bachtypen aufwiesen.

Naturnahe Bäche aller untersuchten Morphotypen wiesen sowohl bei gegebenen Umweltkonzentrationen als auch bei kurzfristig experimentell erhöhten Nährstoffkonzentrationen aufgrund unterschiedlicher Gewässermorphometrie und -hydrodynamik eine deutlich effektivere frachtspezifische Nährstoffretention als landwirtschaftlich belastete Bäche auf (Abb. 1). Somit konnte erstmals experimentell nachgewiesen werden, dass der Nährstoffrückhalt naturnaher Bäche sogar bei gleichem Belastungsniveau noch deutlich effektiver als der landwirtschaftlich beeinträchtigter Bäche ist. Zudem konnte erstmals gezeigt werden, dass

landwirtschaftlich belastete Bäche sogar höhere Steigungen der Nährstoffaufnahmelängen-Konzentrationsgeraden als naturnahe Bäche aufweisen können (Abb. 1). Somit können landwirtschaftlich belastete Bäche mit zunehmender Nährstoffbelastung sogar zunehmend an frachtspezifischer Retentionseffizienz im Vergleich zu naturnahen Bächen verlieren.

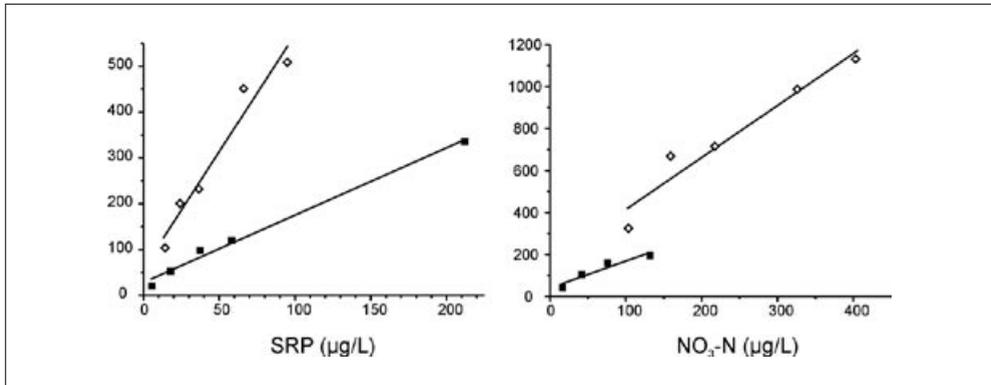


Abb. 1 Repräsentative Ergebnisse von kinetischen Phosphat- und Nitrat-Additionsexperimentserien in naturnahen (schwarze Quadrate) und landwirtschaftlich belasteten Mäanderbächen (weiße Diamanten). Unterschiedliche Anfangskonzentrationen der Experimentserien sind auf unterschiedliche Nährstoffhintergrundkonzentrationen der Bäche zurückzuführen. Die Nährstoffaufnahmelänge stellt die mittlere Transportlänge eines Nährstoffmoleküls im Freiwasser dar; je länger die Aufnahmelänge, desto ineffektiver ist die frachtspezifische Retention. Alle linearen Regressionsen zwischen Nährstoffaufnahmelängen und experimentell erhöhten Nährstoffkonzentrationen sind signifikant mit Irrtumswahrscheinlichkeiten von unter 0,05.

Die Frage, ob Nährstoffbelastung grundsätzlich zu höheren Halbsättigungskonzentrationen und maximalen flächenbezogenen Nährstoffaufnahmeraten in Bächen führt, konnte im Freiland, aufgrund der hier vorliegenden Variabilität anderer Steuergrößen (z. B. C/N/P-Stöchiometrie, Hydrodynamik, Morphometrie), nicht eindeutig aus dem Vergleich zwischen naturnahen und landwirtschaftlich belasteten Bächen geklärt werden. In langfristigen Eutrophierungsexperimenten zeigte sich allerdings, dass sich Organismengemeinschaften von Bächen an höhere Nährstoffverfügbarkeit funktionell anpassen und daher mit zunehmender Nährstoffbelastung auch höhere Halbsättigungskonzentrationen und maximale flächenbezogene Nährstoffaufnahmeraten aufweisen.

Diese erzielten Ergebnisse über die Kinetik und Effizienz der Nährstoffretention in Bächen sind von großer Bedeutung für die Modellierung von Nährstoffflüssen auf Einzugsgebietsebene. Die besondere Bedeutung von Gewässermorphometrie und -hydrodynamik als Steuergrößen der Nährstoffretention liefert zudem prozessrelevante Argumente für strukturelle Renaturierungsmaßnahmen an anthropogen beeinträchtigten Fließgewässern.

Publikationen

- GÜCKER, B., BOËCHAT, I. G., and GIANI, A.: Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams. *Freshwat. Biol.* DOI 10.1111/j.1365-2427.2008.02069.x. (2008)
- BOËCHAT, I. G., WEITHOFF, G., KRÜGER, A., GÜCKER, B., and ADRIAN, R.: A biochemical explanation for the success of mixotrophy in the flagellate *Ochromonas* sp. *Limnol. Oceanogr.* 52, 1624–1632 (2007)
- GÜCKER, B., and PUSCH, M. T.: Regulation of nutrient uptake in eutrophic lowland streams. *Limnol. Oceanogr.* 51, 1443–1453 (2006)
- GÜCKER, B., BRAUNS, M., and PUSCH, M. T.: Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *J. North Amer. Benth. Soc.* 25, 313–329 (2006)
- GÜCKER, B., and BOËCHAT, I. G.: Stream morphology controls ammonium retention in tropical headwaters. *Ecology* 85, 2818–2827 (2004)

Dr. med. Frank Hanses

(BMBF-LPD 9901/8-157)

Born in 1974. 1994–2002 Studies of Medicine at the University of Tübingen. 1997–1998 Research at the Department of Immunology, Laboratoire National de Sante, Luxembourg, Prof. C. P. MULLER (Luxembourg). 7/2003 Ph.D. 1/2003–6/2004 Internship at the University Hospital Regensburg. 7/2004–9/2007 Scientific Associate at the University Hospital Regensburg. Since 10/2007 Leopoldina Postdoctoral Fellow at Harvard Medical School, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital und Channing Laboratory, Boston, MA (USA), in the group of Prof. Dr. Jean Claire LEE.



Project:

Impaired Innate Immunity to *Staphylococcus aureus* in the Diabetic Host

Diabetic patients have an increased susceptibility to bacterial infections, although no obvious defects in humoral or cell-mediated immunity have been described so far. Clinical studies failed to identify clear pathogenic mechanisms or alterations of the innate immune system involved in the defense against bacterial pathogens. The overall goal of our current work is to evaluate defects in the innate immune response of diabetic hosts using NOD mice as an animal model of diabetes.

(i) Characterization of the kinetics of increased susceptibility of diabetic NOD mice following intraperitoneal challenge with *Staphylococcus aureus* – *in vivo* analyses: We were able to show that diabetic animals have a higher bacterial burden after i.p. challenge although the influx (and differential count) of inflammatory cells does not seem to be affected. Moreover, the production of inflammatory cytokines seems to be decreased. We are currently investigating whether decreased chemokine production as demonstrated in diabetic mice may be linked to alterations in signaling mediated by Toll-like receptors (TLRs).

(ii) Characterization of the innate immune response of cells from the diabetic host to stimulation with *S. aureus* – *in vitro* analyses: We found that both cytokine response and the production of NO by elicited macrophages are diminished upon stimulation with *S. aureus in vitro*. Ongoing work is focused on changes of TLR2 and TLR4 expression on peritoneal macrophages from diabetic and nondiabetic mice resulting from *in vitro* stimulation with *S. aureus*. Furthermore, we are testing whether the differences found are also reflected in differential gene regulation and mRNA expression. We found that killing *S. aureus* of is diminished in whole blood whereas isolated mouse neutrophil did not show any defects. The role of a diminished cytokine response in this setting is still being investigated.

(iii) Future analysis of possible defects in the innate immune response in diabetic NOD mice after challenge with *S. aureus* will include

- nuclear NF- κ B translocation in macrophages and neutrophils from mice infected with *S. aureus*;

- factors involved downstream of the TLR-2 signaling cascade (MyD88, IRAK-1, TRAF-6) and nuclear translocation of NF- κ B in cells from diabetic and nondiabetic mice after *in vitro* stimulation with *S. aureus*;
- determination whether neutrophil apoptosis (both spontaneous and pathogen induced) is dysregulated in diabetic mice;
- evaluation whether assembly of the NADPH-dependent oxidase is defective in phagocytes from diabetic mice;
- investigation of the role of insulin and insulin-receptors in the impaired function of neutrophils from diabetic mice.

(iv) In order to investigate whether *S. aureus* gene expression itself is being influenced by the diabetic host environment, we are currently establishing an infection model in diabetic rats.

Publications

- EHRENSTEIN, B. P., HANSES, F., and SALZBERGER, B.: Influenza pandemic and professional duty: family or patients first? A survey of hospital employees. *BMC Public Health*. 6, 311 (2006)
- LINDE, H., WAGENLEHNER, F., STROMMINGER, B., DRUBEL, I., TANZER, J., REISCHL, U., RAAB, U., HOLLER, C., NABER, K. G., WITTE, W., HANSES, F., SALZBERGER, B., and LEHN, N.: Healthcare-associated outbreaks and community-acquired infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Panton-Valentine leucocidin gene in South East Germany. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24/6, 419–422 (2005)
- SALZBERGER, B., HARTMANN, P., HANSES, F., CORNELY, O., WÖHRMANN, A., and FÄTKENHEUER, G.: Incidence and prognosis of CMV-disease in HIV-infected patients before and after introduction of combination antiretroviral therapy. *Infection* 33/5–6, 345–349 (2005)

Dr. med. vet. Kim Hattermann

(BMBF LPD 9901/8-133)

Born March 22, 1974, in Varel. 10/1993–5/1999 Studies at Hanover Veterinary University, Germany; Graduation as a veterinary doctor. 8/1999–12/2002 Robert Koch-Institute, Berlin, Germany; Ph.D. in Virology/Xenotransplantation. 2/2003–12/2004 Postdoctoral fellowship in Virology/Immunology; Robert Koch-Institute and Charité, Berlin, Germany. 1/2005–12/2007 Leopoldina Postdoctoral Fellowship in Immunology/Inflammation; Centre de Recherche du CHUQ, Québec (Canada). Since 3/2008 Manager Biological Research and Development at Boehringer Ingelheim Vetmedica, Ingelheim, Germany.



Project:

TOLL-like Receptor Signaling and the Lipid Mediators of Inflammation

Given the recognized importance of phagocytes (neutrophils, monocytes and macrophages), Toll-like receptors (TLRs) and lipid mediators of inflammation in innate immune response, we investigated the putative links between the TLR system and the biosynthesis of the lipid mediators of inflammation in these cells. In the course of the project, the impact of the lipid mediators on TLR expression and functionality, have been assessed. Conversely, lipid mediator biosynthesis in human neutrophils and monocytes has been determined in response to TLR activation.

Furthermore, in collaboration with Prof. SCHUMANN from the Charité, Berlin, we could show that a functional TLR8 polymorphism was associated with the different clinical course of a RNA-viral disease which could have implications for the individual risk assessment of patients infected with HIV and other RNA viruses as well as for the future HIV vaccine development.

Results

First experiments were focused on the determination of Toll-like receptors in human neutrophils. Therefore, quantitative PCR and FACS analysis have been carried out with the result that all TLRs were expressed by human PMN except of TLR3 and a very weakly expressed TLR7. In a next step we wanted to investigate the impact of TLR activation on lipid mediator production. This was achieved by incubating human PMN with the specific TLR-ligands and measuring the production of the lipid mediator leukotriene B4 (LTB4) by HPLC. Incubation of PMN with TLR agonists alone did not induce the production of LTB4. In contrast, when the cells were first exposed to the TLR-ligands Pam2Cys, Pam3Cys, heat-killed-listeria-monocytogenes (HKLM), Zymosan (all of which activate TLR2), LPS (TLR4) and resiquimod (R-848) (TLR7/8), and then stimulated with fMLP, LTB4 production could be measured. The strongest “priming” effect could be seen with the TLR-ligand R-848 which strongly induced LTB4 production. Therefore, and since not much is known about the impact of TLR8 activation on neutrophils, we focused further research on TLR8.

Efficiency of priming with R-848 was then compared with other commonly used priming agents such as GM-CSF, TNF- α and LPS. The effectiveness of R-848 was found to be stronger than the priming effect of LPS, GM-CSF, TNF- α and GM-CSF/TNF- α when stimulating PMN with fMLP. The cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) is a key enzyme in lipid mediator production and for the production of arachidonic acid (AA). We therefore investigated in a next step if activation of TLR8 and subsequent stimulation with fMLP would result in AA release. We found that the stimulation with fMLP alone results in a slight AA release and that AA is strongly increased when cells are exposed to R-848 30 min prior to stimulation. In contrast, AA release was reduced almost to baseline level, when cells were treated with pyrophenone (PP), a potent inhibitor of cPLA2, 10 min prior to stimulation. Analysis of PAF synthesis demonstrated similar results as analysis of AA release. R-848 alone did not trigger PAF production, but strongly increased its production when PMN were stimulated with fMLP after a 30 min incubation with R-848. PAF production could furthermore be inhibited with PP, as expected.

Since recognition of viral RNA by TLR7/8 has already been shown to depend on endosomal acidification, we treated the cells with Bafilomycin A1, an efficient inhibitor of endosomal acidification to confirm involvement of TLR8 signaling and to see if LTB4 production could be inhibited. The dose-response curve of Bafilomycin A1 indicates almost complete inhibition of LTB4 production at concentration 100 nM.

In addition we showed a strong stimulation of COX-2 expression at the mRNA and protein levels and the production of PGE2 when incubating PMN with R-848.

In collaboration with Prof. SCHUMANN we investigated the impact of a genetic variation of TLR8 on lipid mediator production by mononuclear phagocytes exposed to TLR8 agonists. We isolated PMN from patients positive for this mutation in the TLR8 gene and stimulated these cells with the TLR8 activator R-848. PMNs were isolated from donor pairs differing in their TLR8 A1G genotype, and were pretreated with Resiquimod. Prostaglandin E₂ (PGE₂), a representative of the cyclooxygenase-2 (COX-2) dependent class of lipid mediators, was measured following arachidonic acid (AA) stimulation. Neutrophils from hemizygous mutant individuals displayed a significantly higher enhancement of PGE₂ biosynthesis as compared to wildtype individuals ($p = 0.034$). Next, the effect of Resiquimod on the 5-lipoxygenase (5-LO) product pathway was examined in wildtype and mutant donors by assessing LTB₄ production following formyl-Met-Leu-Phe (f-MLP) stimulation. In TLR8G1 hemizygotes, LTB₄ production was significantly higher than in wildtype individuals, and this difference was even more pronounced than the difference observed in PGE₂ production ($p < 0.001$).

Conclusion

The present study provides evidence for the first time that TLR8 plays a pivotal role in priming human PMN for LTB4 production, showing therefore a novel regulatory mechanism in leukotriene biosynthesis.

Our data further demonstrated that activation of TLR8 with R-848 has a strong impact on leukotrienes, PAF biosynthesis and PGE2 production, supporting the notion that LTB4 plays an important role in host defence against viral infections via TLR8.

In addition this work shows that a certain mutation in the TLR8 genome has a strong impact on the efficacy of the innate immunity and therefore has a protective effect against viral infections.

Publications

- OH, D. Y., TAUBE, S., HANOUDA, O., KÜCHERER, C., POGGENSEE, G., JESSEN, H., ECKERT, J. K., NEUMANN, K., STOREK, A., POULIOT, M., BERGEAT, P., OH, N., SCHREIER, E., PRUSS, A., HATTERMANN, K., and SCHUMANN, R. R.: A functional Toll-like receptor 8 variant is associated with HIV disease restriction. *J. Infect. Diseases* 198/5, 701–709 (2008)
- HATTERMANN, K., PICARD, S., BERGEAT, M., LECLERC, P., POULIOT, M., and BERGEAT, P.: The Toll-like receptor 7/8-ligand resiquimod (R-848) primes human neutrophils for leukotriene B4, prostaglandin E2 and platelet-activating factor biosynthesis. *FASEB J.* 21, 1575–1585 (2007)

Dr. med. Julia Hauer

(BMBF-LPD 9901/8-149)

Geboren 1977. 1997–2004 Studium der Humanmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München. 2001 Doktorandenstipendium der Boehringer-Ingelheim-Stiftung. 2003 Stipendium für die Rotation Innere Medizin, Harvard Medical School, Boston, MA (USA). 2004 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Immunologie, Ludwig-Maximilians-Universität München. 2004–2006 Facharztausbildung am Dr. v. Haunerschen Kinderspital, München. 2005 Promotion am Institut für Immunologie an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Seit 11/2006 Postdoktorandin INSERM U768, Hopital Necker, Paris (Frankreich), mit einem Leopoldina-Stipendium.



Projekt:

Rekonstitution des Rag1-Gendefekts mittels Gentransfer in einem Arf^{-/-}Rag1^{-/-}-Mausmodell (modifizierter Titel 01/2007)

Schwere kombinierte Immundefekte (SCID) im Kindesalter sind seltene monogenetische Erkrankungen, die eine Differenzierungsblockade der hämatopoetischen Stammzelle hervorrufen und in einer Insuffizienz des adaptiven Immunsystems resultieren. Abhängig von der genetischen Mutation kann es zu einem Fehlen von T-Zellen, B-Zellen oder beider Zellreihen gleichzeitig kommen. Dies bedingt eine lebensbedrohliche Anfälligkeit für opportunistische Infektionen und unbehandelt führen diese Erkrankungen zum Tode im ersten Lebensjahr. Einzige derzeit verfügbare kurative Therapieoption ist die allogene Stammzelltransplantation. Bei einem nicht HLA-identischen Spender sind die Erfolge jedoch immer noch unbefriedigend.

Virale *Ex-vivo*-Gentherapie ist daher eine Therapieoption für Patienten ohne HLA-identischen Knochenmarkspender. Hierbei werden den Patienten hämatopoetische Stammzellen entnommen, *ex vivo* mit einem viralen Vektor, der das gesunde Gen trägt, behandelt (transduziert) und im Anschluss dem Patienten retransfundiert. Diese Transduktion wird *ex vivo* unter Stimulation der hämatopoetischen Stammzellen mittels Zytokinen durchgeführt. Aktuell gibt es drei publizierte Langzeitstudien für die Behandlung von SCIDs, nämlich zwei für X-SCID (Defizienz der IL2R γ -Kette) und eine für ADA-SCID (Adenosin-Desaminase-Defizienz). In allen drei Protokollen wurde ein γ -retroviraler Vektor verwendet, der das „gesunde“ Transgen in die hämatopoetischen Stammzellen einschleust. Alle Protokolle zeigten eine Korrektur des Immundefekts, jedoch erkrankten vier von zehn Kindern in dem französischen sowie ein Patient von zehn in dem englischen X-SCID-Protokoll nach der Gentherapie an einer Leukämie. Die behandelten Kinder in dem ADA-SCID-Protokoll zeigten dagegen keine Nebenwirkungen.

Ein Risikofaktor für die Entstehung von lymphoproliferativen Erkrankungen nach Gentherapie ist die Insertion des Virus in transkriptionsaktive Bereiche des Genoms und die Transaktivierung von Onkogenen durch den starken viralen Promotor (Insertionsmutagenese). So

zeigte sich bei den Kindern, die nach dem X-SCID-Protokoll behandelt wurden, eine Aktivierung des Gens LIM-domain only 2 (LMO2), das für die Leukämieentstehung bedeutend ist. Die Insertion des viralen Vektors in das menschliche Genom, die hinsichtlich Anzahl der eingebauten viralen Kopien und Position der Integration nur sehr ungenau steuerbar ist, ist eine der bedeutenden Herausforderungen der Gentherapie. Systematische Analysen der Integrationsstellen bei ADA-SCID-Patienten zeigten, dass auch hier Integrationen nahe dem LMO2-Gen auftreten, dass aber bisher keine Leukämien entstanden sind. Die Frage nach zusätzlich beitragenden Faktoren für die Entstehung von Leukämien nach retroviraler Gentherapie bleibt somit für die Weiterentwicklung klinischer Gentherapieprotokolle bestehen. Neuere Ergebnisse lassen vermuten, dass nicht nur die Eigenschaft der verwendeten Vektoren beiträgt, sondern auch der Differenzierungsstopp der hämatopoetischen Zellen durch die Grunderkrankung sowie der *Ex-vivo*-Transduktionsprozess der hämatopoetischen Stammzelle.

Dieses Projekt arbeitet mit einem Mausstamm, der eine doppelte Defizienz für zwei Gene trägt. Eine Mutation liegt in dem Gen *Rag1*, die für einen T- und B-Zell-negativen Immunphänotyp verantwortlich ist, sowie eine zweite Mutation in dem Gen *Arfp19*, welches ein Tumorsuppressorgen ist und begleitend bei vielen kindlichen Leukämien mutiert ist. In diesem System soll der *Rag1*-Gendefekt durch retrovirale Gentherapie korrigiert werden. Geringe onkogene Einflüsse, die durch die Gentherapie hervorgerufen werden, sollen durch die *Arfp19*-Defizienz erfassbar werden. In klinischen Protokollen mit einer Langzeitnachbeobachtung über Jahrzehnte können diese geringen Einflüsse für das Auftreten von malignen Erkrankungen durchaus bedeutend sein. Inwieweit zusätzliche Faktoren wie der immundefiziente zelluläre Hintergrund oder die Behandlung der Stammzellen außerhalb des Organismus einen besonderen Risikofaktor darstellen, ist derzeit Gegenstand des Projekts.

Das Problem der Nebenwirkungen, die durch die Vektorintegration bzw. den Transduktionsprozess der Stammzellen hervorgerufen werden, zu lösen, wird eine Herausforderung der Gentherapie bleiben. Eine neue Technik, die in Zukunft hierfür eventuell Verwendung finden wird, ist die Homologe Rekombination, ein physiologischer DNA-Reparaturmechanismus in der eukaryotischen Zelle. Hierbei werden DNA-Doppelstrangbrüche an definierten Stellen im Genom induziert, und durch eine in die Zelle eingebrachte DNA-Matrix, die für das nicht mutierte Gen kodiert, wird dieser Doppelstrangbruch durch Homologe Rekombination korrigiert; das defekte Gen somit repariert. Diese Technik konnte bereits erfolgreich an Zelllinien etabliert werden, jedoch noch nicht an hämatopoetischen Stammzellen. In jedem Fall wäre dies in Zukunft eine alternative Therapieoption, um Vektorintegrationen zu vermeiden und Nebenwirkungen zu kontrollieren.

Publikationen

- HACEIN-BEY-ABINA, S., GARRIGUE, A., WANG, G. P., SOULIER, J., LIM, A., MORILLON, E., CLAPPIER, E., CACCAVELLI, L., DELABESSE, E., BELDJORD, K., ASNAFI, V., MACINTYRE, E., DAL CORTIVO, L., RADFORD, I., BROUSSE, N., SIGAUX, F., MOSHOUS, D., HAUER, J., BORKHARDT, A., BELOHRADSKY, B. H., WINTERGERST, U., VELEZ, M. C., LEIVA, L., SORENSEN, R., WULFFRAAT, N., BLANCHE, S., BUSHMAN, F., FISCHER, A., and CAVAZZANA-CALVO, M.: Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J. Clin. Invest.* 118/9, 3132–3142 (2008)
- BENJELLOUN, F., GARRIGUE, A., DEMERENS-DE CHAPPELAIN, C., SOULAS-SPARAUEL, P., MALASSIS-SÉRIS, M., STOCKHOLM, D., HAUER, J., BLONDEAU, J., RIVIÈRE, J., LIM, A., LE LORC'H, M., ROMANA, S., BROUSSE, N., PÂQUES, P., GALY, A., CHARNEAU, P., FISCHER, A., DE VILLARTAY, J.-P., and CAVAZZANA-CALVO, M.: Stable and functional lymphoid reconstitution in Artemis-deficient mice following lentiviral Artemis gene transfer into hematopoietic stem cells. *Mol. Ther.* 16/8, 1490–1499 (2008)
- HAUER, J., TOSI, S., SCHUSTER, F. R., HARBOTT, J., KOLB, H. J., and BORKHARDT, A.: Graft versus leukemia effect after haploidentical HSCT in a MLL-negative infant AML with HLXB9/ETV6 rearrangement. *Paediatr. Blood Cancer* 50/4, 921–923 (2008)

Dr. med. Markus Herrmann

(BMBF-LPD 9901/8-155)

Geboren am 29. 9. 1973 in Leipzig. 1992–1994 Vorklinische Ausbildung an der Medizinischen Fakultät der Universität Regensburg. 1995–2000 Klinische Ausbildung an der Medizinischen Fakultät der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. 2000 Promotion bei Prof. Dr. R. STRAUB an der Universität Regensburg; Thema: „Der Einfluss endogen freigesetzter Katecholamine und Opioide auf die IL-6-Sekretion muriner Milzgewebeschnitte“. 2000–2001 Arzt im Praktikum an der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein der Technischen Universität München. 2001–2003 Arzt im Praktikum am Institut für Sport- und Präventivmedizin der Universität des Saarlandes in Saarbrücken. 2003 Abschluss der Ausbildung zum Sportmediziner. 2003–2007 Assistenzarzt am Zentrallabor des Universitätsklinikum des Saarlandes. 2007 Erwerb der Facharztbezeichnung „Laboratoriumsmedizin“. Seit 7/2007 Forschungsaufenthalt am ANZAC Research Institute in Sydney (Australien) mit einem Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendium.



Projekt:

Glukokortikoid-induzierte Osteoporose: Die Rolle des Osteoblasten

Die Glukokortikoid-induzierte Osteoporose ist eine häufige und ernste Komplikation des chronischen Hyperkortisolismus. Etwa 50% aller Patienten, die für ≥ 6 Monate mit Glukokortikoiden behandelt werden, erleiden einen signifikanten Knochenabbau, wodurch das Frakturrisiko stark ansteigt. Die zugrundeliegenden Mechanismen, durch welche die Glukortikoide den Knochenstoffwechsel beeinflussen, sind bislang jedoch nur unzureichend verstanden. Das Ziel dieses Projektes ist es, die Effekte von Glukokortikoiden auf Osteoblasten detailliert zu analysieren und herauszuarbeiten, wie Osteoblasten die Glukokortikoid-Wirkung auf den Knochen vermitteln. Dieses Ziel soll durch die Analyse der skelettalen Konsequenzen einer gezielten Abschaltung der Glukokortikoid-Wirkung in Osteoblasten erreicht werden. Unter Verwendung eines transgenen Mausmodells, in dem 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase Typ 2 (11 β HSD2), ein Glukokortikoid-inaktivierendes Enzym, selektiv in Osteoblasten überexprimiert ist, soll überprüft werden, ob der Knochenverlust unter exogener Glukokortikoid-Applikation zu einem wesentlichen Teil durch eine verminderte Osteoblastendifferenzierung und Osteoblastenaktivität bedingt ist. Eine Unterbrechung der Glukokortikoid-Signalkaskade mittels osteoblastärer 11 β HSD2-Überexpression sollte deshalb die Glukokortikoid-Effekte zu einem großen Teil rückgängig machen bzw. abmildern, indem vermehrt Osteoblasten heranreifen und ihre Funktion nicht durch die Glukokortikoid-Wirkung inhibiert wird.

Der bisherige Schwerpunkt der Tätigkeit am Gastinstitut bestand in der Etablierung eines Verfahrens zur Applikation exogener Glukokortikoide bei Mäusen, das folgende Kriterien erfüllt:

- Induktion konstant erhöhter Glukokortikoid-Spiegel über vier Wochen;
- Induktion signifikanter Glukokortikoid-induzierter Effekte auf den Knochen (z. B. Knochenmetabolismus, Knochenmasseverlust) in Wildtyp-Tieren;

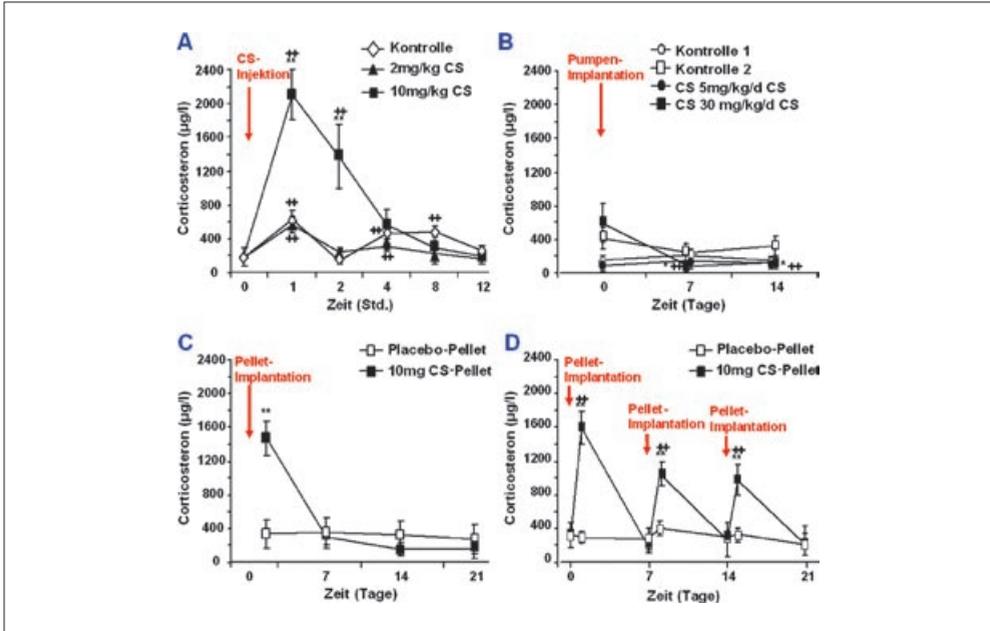


Abb. 1 Kinetik der Corticosteron-Plasma-Konzentration nach: (A) einer einzelnen Injektion von 2 und 10 mg/kg Körpergewicht Corticosteron, (B) Implantation von mit Corticosteron gefüllten mikroosmotischen Pumpen, (C) subkutaner Implantation von Corticosteron-Pellets, (D) subkutaner Implantation von Corticosteron-Pellets, die wöchentlich ersetzt wurden. ** – $p < 0,01$ vs. Kontrolle, ++ – $p < 0,01$ vs. Ausgangswert.

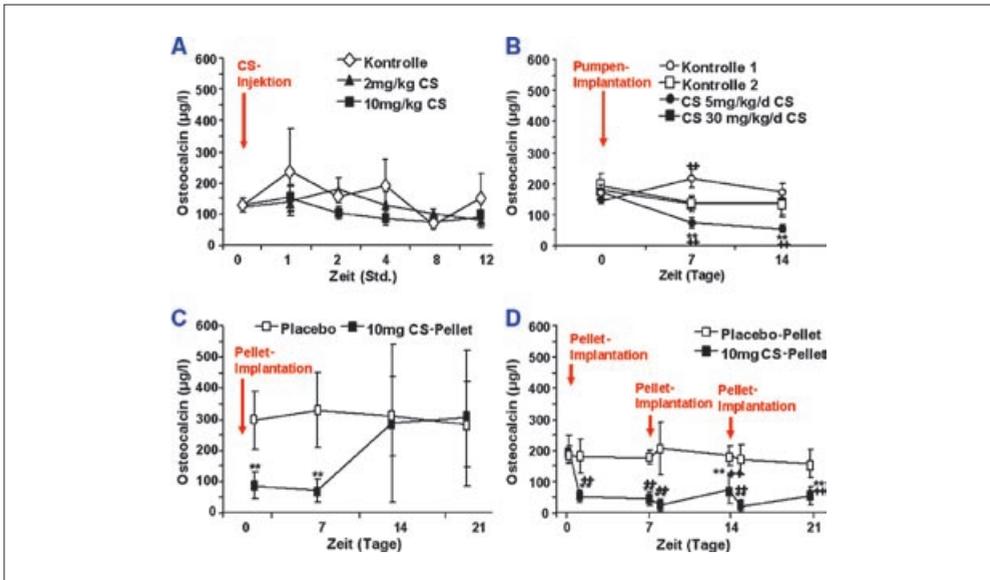


Abb. 2 Kinetik der Osteocalcin-Plasma-Konzentration nach: (A) einer einzelnen Injektion von 2 und 10 mg/kg Körpergewicht Corticosteron, (B) Implantation von mit Corticosteron gefüllten mikroosmotische Pumpen, (C) subkutaner Implantation von Corticosteron-Pellets (D) subkutaner Implantation von Corticosteron-Pellets, die wöchentlich ersetzt wurden. ** – $p < 0,01$ vs. Kontrolle, ++ – $p < 0,01$ vs. Ausgangswert.

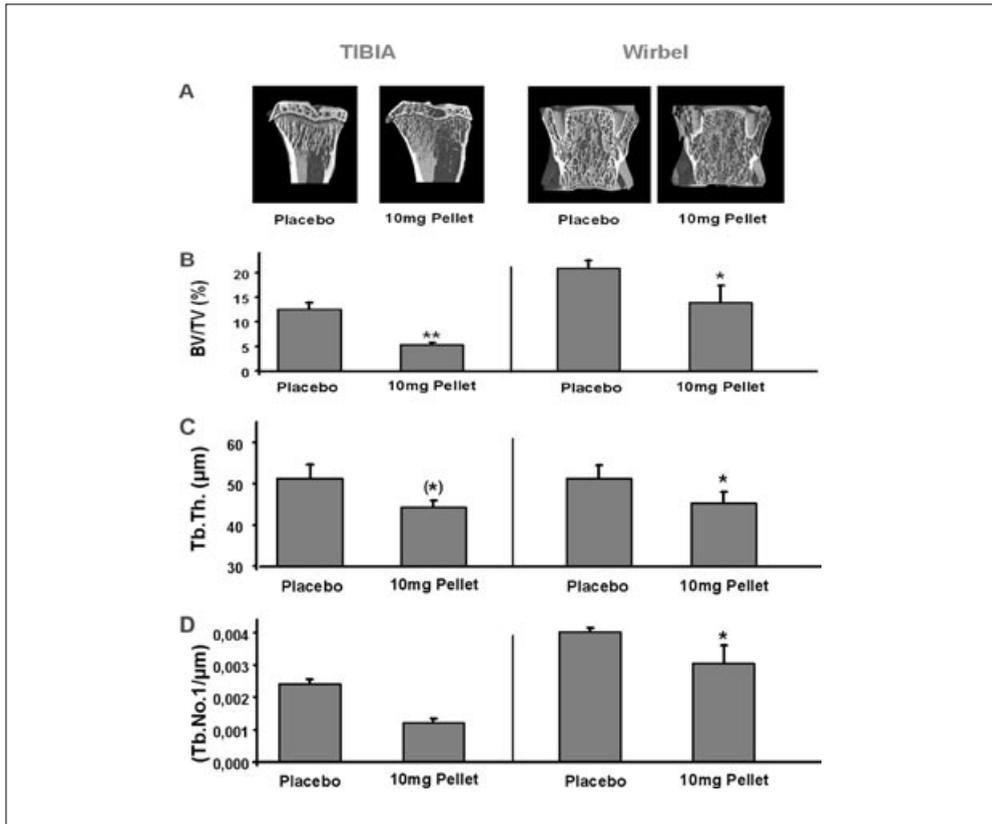


Abb. 3 Mikro-CT-Analyse von Tibia und Wirbelkörper nach vierwöchiger Behandlung mit 10 mg Corticosteron-Pellets, die wöchentlich ersetzt wurden. BV/TV – Knochenvolumen/gesamtes Gewebvolumen, Tb.Th. – Trabekeldicke, Tb.No. – Trabekelanzahl. (*) – $p < 0,10$ vs. Kontrolle, * – $p < 0,05$ vs. Kontrolle, ** – $p < 0,01$ vs. Kontrolle

- Vermeidung einer Überlastung des 11β HSD2-Enzyms der transgenen Tiere, um eine effiziente Unterbrechung der osteoblastären Glukokortikoid-Signalkaskade zu erreichen.

Grundsätzlich stehen drei Verfahren zur Verfügung:

- serielle subkutane Injektionen;
- Implantation von Pellets, die ihren Inhaltsstoff verzögert abgeben;
- subkutane Implantation von mit Glukokortikoiden beladenen mikroosmotischen Pumpen.

Als Glukokortikoid wurde Corticosteron verwendet. Die drei Verfahren wurden anhand folgender Parameter verglichen: Messung von Corticosteron und des osteoblastenspezifischen Knochenformationsmarkers Osteocalcin im Plasma, Mikro-Computertomographie (Mikro-CT) von Tibia und Wirbelkörper.

Abbildung 1 zeigt eindrücklich, dass mit keinem der getesteten Verfahren konstant erhöhte Corticosteron-Konzentrationen im Blut zu induzieren sind. Aus Abbildung 2 geht allerdings hervor, dass sich mit Hilfe der Pellets ein anhaltender biologischer Effekt im Sinne einer supprimierten Osteocalcin-Plasmakonzentration induzieren lässt. Der deutliche Knochenverlust in der in Abbildung 3 gezeigten Mikro-CT-Analyse belegt die biologische Effizienz der

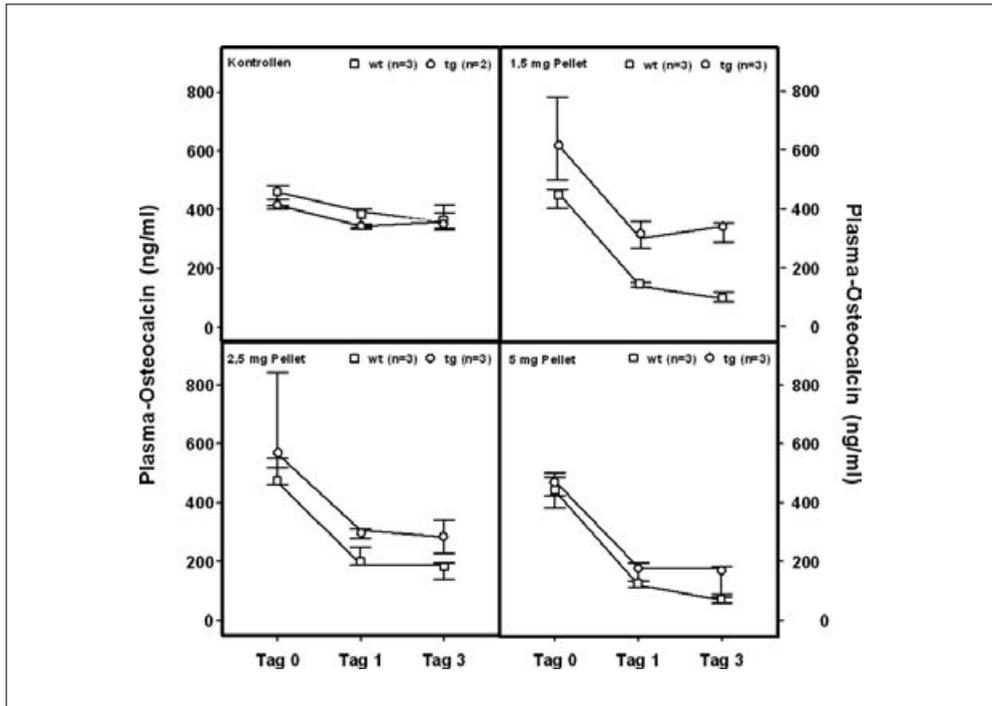


Abb. 4 Vergleich des Einflusses von subkutan implantierten Placebo, 1,5, 2,5 und 5 mg Corticosteron-Pellets auf die Osteocalcin-Konzentration im Plasma von Wildtyp- und transgenen Tieren.

subkutanen Corticosteron-Pellets. Aufgrund dieser Befunde wurden die Pellets als Methode der Wahl für die weiteren Untersuchungen ausgewählt.

Im nächsten Schritt galt es eine Dosis zu finden, die in der Lage ist, signifikante Effekte auf den Knochen zu induzieren, ohne das 11β HSD2-Enzym der transgenen Tiere zu überlasten. Dazu wurden Pellets mit 1,5, 2,5 und 5 mg Corticosteron getestet. Als besonders Glukokortikoid-sensitiver Parameter des Knochenstoffwechsels wurde Osteocalcin im Plasma zur Beurteilung herangezogen (Abb. 4).

Basierend auf diesem Dosisfindungsexperimentes wurde das 1,5 mg Pellet als aussichtsreichste Alternative ausgewählt. Derzeit wird nun die eingangs genannte Hypothese in dem am Gastinstitut zur Verfügung stehenden 11β HSD2-Mausmodell überprüft. Dazu werden Wildtyp- und transgene Tiere über vier Wochen mit 1,5 mg Corticosteron-Pellets behandelt.

Publikationen

- HERRMANN, M., HENNECKE, H., STREET, J., MODZELEWSKI, J., BUTTGEREIT, F., DUNSTAN, C. R., ZHOU, H., and SEIBEL, M.: The challenge of continuous exogenous glucocorticoid administration in mice. (submitted)
- HERRMANN, M., and SEIBEL, M.: The effects of hormonal contraceptives on bone turnover markers and bone health. (submitted)
- HERRMANN, M., TAMI, A., WILDEMANN, B., WAGNER, A., SCHORR, H., TABAN-SHOMAL, O., WOLNY, M., UMANSKAYA, N., ROSS, S., GARCIA, P., HÜBNER, U., and HERRMANN, W.: Homocysteine accumulates in bone tissue by collagen binding and adversely affects bone. Bone (second revision)

- HERRMANN, M., WILDEMANN, B., WAGNER, A., SCHORR, H., TABAN-SHOMAL, O., WOLNY, M., UMANSKAYA, N., ROSS, S., GARCIA, P., HÜBNER, U., and HERRMANN, W.: Experimental folate and vitamin B12-deficiency does not affect bone quality of healthy adult mice. *J. Bone Miner. Res.* (second revision)
- HERRMANN, M., and SEIBEL, M.: The amino- and carboxyterminal cross-linked telopeptides of collagen type I, NTX-I and CTX-I: A comparative review. *Clin. Chim. Acta* 393/2, 57–75 (2008)
- HERRMANN, M., UMANSKAYA, N., WILDEMANN, B., COLAIANNI, G., WIDMANN, T., ZALLONE, A., and HERRMANN, W.: Stimulation of osteoblast activity by homocysteine. *J. Cell Mol. Med.* 12/4, 1205–10 (2008)

Dr. rer. nat. Saskia Hutten

(BMBF LPD 9901/8-177)

Born in 1979. 1998–2003 Studies in Biology at the University of Heidelberg. 2003 Diploma thesis in the laboratory of Dr. Ralph KEHLENBACH at the Department of Virology, University of Heidelberg. 2003–2007 Ph.D. thesis in the laboratory of Dr. Ralph KEHLENBACH at the Institute for Biochemistry and Molecular Cell Biology, University of Göttingen, Germany (“Role of the cytoplasmic nucleoporins Nup214 and Nup358 in nucleocyto-plasmic transport”). 2007–2008 Postdoctoral Fellow in the laboratory of Dr. Ralph KEHLENBACH at the Institute for Biochemistry and Molecular Cell Biology, University of Göttingen.

Since 5/2008 Postdoctoral Fellow of the Leopoldina Academy in the laboratory of Prof. Angus I. LAMOND, Wellcome Trust Biocentre, University of Dundee, Scotland (UK).



Project:

Analysis of the Nucleolar Stress Response

The mammalian nucleus displays a highly complex organization. It contains several distinct subnuclear domains, e. g. chromatin, the nucleolus, Cajal and PML bodies, paraspeckles and splicing speckles. These subnuclear regions display each a very specific proteome which is connected to certain cellular events like transcription, RNA processing or ribosomal biogenesis taking place at the respective domains. Strikingly, the protein composition of the nuclear bodies as well as the nuclear bodies themselves have been shown to be highly dynamic and to change in response to a variety of cell stimuli like the physiological state of the cell or stress. Single proteins can change both, in terms of their steady state distributions, i. e. between different subnuclear compartments, and in their kinetics, i. e. moving in and out of a certain nuclear domain. Some nuclear bodies such as PML or Cajal bodies have been shown to change their mobility within the nucleus under distinct conditions (PLATANI et al. 2002, MURATANI et al. 2002).

The host laboratory of Prof. LAMOND has expertise in analyzing protein dynamics combining both proteomic and imaging approaches. Using SILAC (stable isotope labeling of amino acids in cell culture) as a quantitative and unbiased mass spectrometry-based proteomics method the dynamics of proteins, their subcellular distribution and interaction partners can all be analyzed in a high-throughput approach. This allows a quantitative comparison of the levels of proteins within purified complexes or organelles isolated from two or three different cell populations, which are each uniquely identified through metabolic labeling with isotope encoded amino acids (ANDERSEN and MANN 2006). In this way the metabolic labeling can reflect several experimental conditions (e. g. wild type vs. mutant, or plus vs. minus stress etc.). By using live cell fluorescence imaging techniques (time-lapse microscopy, FRAP etc.) the dynamic behavior of proteins can be analyzed over time *in vivo* at the level of single cells. The combination of these two approaches, SILAC and live cell imaging, provides a powerful way to study mechanisms involved in the nuclear organization and function.

The nucleolus is best known as the site of ribosome subunit biogenesis. However, in recent years the knowledge of its function has significantly expanded linking the nucleolus also to other important cellular processes including cell cycle regulation, DNA repair, RNA processing, cellular stress response and protein stability (for review see BOISVERT et al. 2007). Likewise, the number of known nucleolar proteins has considerably increased: current analyses show that the nucleolar proteome includes more than 3000 proteins. Strikingly, quantitative proteomic analyses of more than 400 nucleolar proteins, addressing their dynamic profile in response to drug treatment, clearly demonstrated specific changes, both in terms of their steady-state distribution and kinetics (ANDERSEN et al. 2005). This showed that the nucleolar proteome is not static but rather highly dynamic in response to the physiological and metabolic state of the cell. Interestingly, preliminary data from the Lamond laboratory have also shown a dependence of the nucleolar proteome on genotype. So, mass-spectrometry based comparison of the dynamic of the nucleolar proteome in p53 wildtype (+/+) and p53 knock-out (-/-) cells revealed differences in a specific subset of nucleolar proteins, without affecting the overall nucleolar proteome. So far, the nucleolus has been mostly studied as a regulatory component for the activation of the tumor suppressor p53. However, few studies have focused on the dynamic behavior of single nucleolar proteins upon stress, dependent of p53. The aim of my project (just started in the Lamond laboratory) is to combine biochemistry- as well as cell biology-based approaches, in order to analyze the nucleolar proteome and to examine the effects of stress and the role of p53 and/or other relevant genes to the nucleolar proteome. Therefore, I will use SILAC to

- identify changes in the relative amounts of nucleolar proteins under different types of stress;
- study the rate of turnover of individual proteins in the nucleolus dependent on the presence or absence of specific genes, such as p53;
- identify the specific interaction partners of selected nucleolar proteins.

In parallel, I will use fluorescence microscopy techniques to study the dynamic behavior and *in vivo* properties of selected nuclear proteins and to validate the obtained MS data. This work will be mainly based on the analysis of stable cell lines expressing fluorescently tagged proteins. By using cells expressing a range of different FP-tagged marker proteins for different nuclear and nucleolar sub-compartments, changes in localization of the proteins of interest can be related to intra-nucleolar and other nuclear regions. Additionally, I will use FRAP to compare the dynamics of single nucleolar proteins after defined stress stimuli.

References

- ANDERSEN, J. S., LAM, Y. W., LEUNG, A. K., ONG, S. E., LYON, C. E., LAMOND, A. I., and MANN, M.: Nucleolar proteome dynamics. *Nature* 433, 77–83 (2005)
- ANDERSEN, J. S., and MANN, M.: Organellar proteomics: turning inventories into insights. *EMBO Rep.* 7, 874–879 (2006)
- BOISVERT, F. M., VAN KONINGSBRUGGEN, S., NAVASCUES, J., and LAMOND, A. I.: The multifunctional nucleolus. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 574–585 (2007)
- MURATANI, M., GERLICH, D., JANICKI, S. M., GEBHARD, M., EILS, R., and SPECTOR, D. L.: Metabolic energy dependent movement of PML bodies within the mammalian cell nucleus. *Nature Cell Biol.* 4, 106–110 (2002)
- PLATANI, M., GOLDBERG, I., LAMOND, A. I., and SWEDLOW, J. R.: Cajal body dynamics and association with chromatin are ATP-dependent. *Nature Cell Biol.* 4, 502–508 (2002)

Publications

- HUTTEN, S., WÄLDE, S., SPILLNER, C., HAUBER, J., and KEHLENBACH, R. H.: The nuclear pore component Nup358 promotes transportin-dependent nuclear import. *J. Cell Sci.* (under review)

- HUTTEN, S., FLOTHO, A., MELCHIOR, F., and KEHLENBACH, R. H.: The Nup358-RanGAP complex is required for efficient importin α/β -dependent nuclear import. *Mol. Biol. Cell.* *19*, 2300–2310 (2008)
- HUTTEN, S., and KEHLENBACH, R. H.: CRM1-mediated nuclear export: to the pore and beyond. *Trends Cell Biol.* *17*, 193–201 (2007)
- HUTTEN, S., and KEHLENBACH, R. H.: Nup214 is required for CRM1-dependent nuclear protein export in vivo. *Mol. Cell Biol.* *26*, 6772–6785 (2006)

Dr. rer. nat. Matthias Keller

(BMBF LPD 9901/8-129)

Geboren 1974 in Ravensburg. 1994–1999 Studium der Physik an der Universität Heidelberg. 2000–2004 Doktorarbeit auf dem Gebiet der Quantenoptik an der Ludwig-Maximilians-Universität München. 2004–2005 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Quantenoptik, Garching. 2005 Otto-Hahn-Medaille der Max-Planck-Gesellschaft. Von März 2005 bis Februar 2007 Advanced Research Fellow an der University of Sussex, Brighton (UK), mit einem Stipendium der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina. Seit März 2007 Lecturer in Atomic, Molecular and Optical Physics an der University of Sussex, Brighton (UK).



Projekt:

Resonator-Quantenelektrodynamik mit gespeicherten Kalzium-Ionen

Resonator-Quantenelektrodynamik (Resonator-QED) mit einzelnen atomaren Teilchen stellt ein einzigartiges Werkzeug zur Untersuchung der Wechselwirkung von elektromagnetischer Strahlung mit Materie dar. Verwendet man einzelne Atome als Medium, so erlaubt dies die Beobachtung der Licht-Materie-Wechselwirkung auf der elementarsten Ebene, d. h. die Interaktion eines einzelnen Lichtteilchens mit einem einzelnen Atom.

Durch die präzise Kontrolle der Licht-Materie-Wechselwirkung wird es möglich, den Quantenzustand eines Atoms auf ein Photon zu übertragen. Ist dieser Übertragungsprozess reversibel, so kann ein solches System als Knotenpunkt eines Netzwerkes dienen, mit dem Quanteninformation ausgetauscht werden kann. Dabei wird die Information von einem Atom auf ein Photon übertragen. Dieses Photon kann dann zu einem anderen Knoten gesendet werden, an dem die Quanteninformation von diesem Photon auf ein weiteres Atom übertragen wird.

Da Photonen zur Informationsübertragung verwendet werden, ist der Abstand zwischen den Ionen nicht von Bedeutung. Dadurch können Ionen miteinander wechselwirken, die viele Meter voneinander entfernt sind (PELLIZZARI et al. 1995). Andererseits können sich die Ionen aber auch im Abstand von nur wenigen Mikrometern im selben Resonator befinden (CIRAC et al. 1997). Durch diese Technologie wird es möglich, neuartige Quantencomputer-Systeme zu entwickeln. Auf Resonator-QED-Techniken basierende Effekte können dazu dienen, mehrere Ionenfallen-Quantenprozessoren miteinander zu verbinden.

Damit der Übertragungsprozess zwischen Atom und Photon reversibel ist, müssen die Verluste durch spontane Prozesse, wie den spontanen Zerfall der atomaren Anregung als auch den Zerfall des Resonatorfeldes, kleiner sein als die kohärente Kopplung zwischen Atom und Resonator. Dies ist das sogenannte Regime der starken Kopplung.

Abgesehen von dieser Bedingung ist die Konstanz der Kopplung eine wichtige Voraussetzung für die effektive Informationsübertragung zwischen Atom und Photon.

Da die Teilchen-Feldkopplung innerhalb des Resonators nicht konstant ist, sondern in longitudinaler Richtung auf einer Skala von der halben Wellenlänge des Übergangs variiert, muss im optischen Bereich die Position des Teilchens auf wenige 10 nm kontrolliert werden.

Das einzige System, mit dem eine solche Lokalisierung bisher demonstriert wurde, ist ein Ionen-Resonator-System. Dabei wurden in einer linearen Paulfalle gefangene Ionen an einen optischen Resonator gekoppelt (GUTHÖHRLEIN et al. 2001). Jedoch waren diese Systeme bisher auf den Bereich der schwachen Kopplung beschränkt.

Im Rahmen des von der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina geförderten Projekts sollte ein Experiment aufgebaut werden, mit dem es erstmals möglich wird, Resonator-QED mit Ionen im Regime der starken Kopplung zu erforschen. Im ersten Teil des Projekts stand die Entwicklung einer neuen Falle mit integriertem Resonator im Vordergrund. Hierfür wurden Daten zur Wechselwirkung zwischen Fallenfeld und Spiegel, die am Max-Planck-Institut für Quantenoptik (MPQ) gemessen wurden, genau analysiert. Auf der Basis dieser Ergebnisse wurde eine neue Ionenfalle entwickelt, mit deren Hilfe sich Resonatorlängen bis unter 1 mm realisieren lassen. Diese Falle mit einem Elektrodenabstand von 200 μm wurde zusammen mit dem zum Betrieb benötigten Resonanzkreis aufgebaut.

Des Weiteren wurde ein Lasersystem aufgebaut, mit dem alle relevanten Prozesse gesteuert werden. So werden verschiedene Laser benötigt, um die Ionen im Resonator zu kühlen, deren elektronischen Zustand zu detektieren und das Ion-Resonator-System zu pumpen. Um die Drift der Laserfrequenzen und des optischen Resonators zu kompensieren, wurde ein Laser aufgebaut, der mittels Polarisationspektroskopie auf die D1-Linie von atomarem Caesium stabilisiert wurde. Zusammen mit der Stabilisierung des Lasers auf einen Stabilisierungsresonator wird eine Linienbreite von weniger als 10 kHz bei gleichzeitiger Kompensation der Frequenzdrift erreicht. Die Stabilität des Referenzlasers wird mittels Transfer-Resonatoren auf die anderen Laser übertragen. Nach Ablauf des Förderzeitraumes wurde der Aufbau weiter entwickelt und die Falle mittels gespeicherter Ionen charakterisiert. Der Einbau des optischen Resonators zur Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Photonen und einzelnen Ionen steht unmittelbar bevor. Zusätzlich wurden die im Rahmen des Projekts gewonnenen Erkenntnisse zur Entwicklung und Realisierung weiterer Ionenfallen für den Einsatz in der Resonator-QED genutzt.

Literatur

- CIRAC, J. I., ZOLLER, P., KIMBLE, H. J., and MABUCHI, H.: Quantum state transfer and entanglement distribution among distant nodes in a quantum network. *Phys. Rev. Lett.* 78, 3221–3224 (1997)
- GUTHÖHRLEIN, G. R., KELLER, M., HAYASAKA, K., LANGE, W., and WALTHER, H.: A single ion as a nanoscopic probe of an optical field. *Nature* 414, 49–51 (2001)
- PELLIZZARI, T., GARDINER, S., CIRAC, J. I., and ZOLLER, P.: Decoherence, continuous observation, and quantum computing: A cavity QED model. *Phys. Rev. Lett.* 75, 3788–3791 (1995)

Publikationen

- KELLER, M., LANGE, B., HAYASAKA, K., LANGE, W., and WALTHER, H.: Stable long-term coupling of a single ion to a cavity mode. *J. Mod. Opt.* 54, 1607–1617 (2007)
- KELLER, M., LANGE, B., HAYASAKA, K., LANGE, W., and WALTHER, H.: Long-term stability of continuous-wave emission from an ion-cavity system. *Euro. Phys. J. D* 32, 161–166 (2005)
- KELLER, M., LANGE, B., HAYASAKA, K., LANGE, W., and WALTHER, H.: A calcium ion in a cavity as a controlled single-photon source. *New J. Physics* 6, 95–116 (2004)
- KELLER, M., LANGE, B., HAYASAKA, K., LANGE, W., and WALTHER, H.: Continuous generation of single photons with controlled waveform in an ion-trap cavity system. *Nature* 431, 1075–1078 (2004)

Dr. rer. nat. Maren von Köckritz-Blickwede

(BMBF LPD 9901/8-187)

Born in 1976. 1995–2001 Studies of Biology (Diplom), University of Hanover (Germany). 7/1998–8/1999 Integrated studies of Tropical Biology, Universidad Nacional de Heredia, Costa Rica (fellowed by German Academic Exchange Service). 2002–2/2005 Ph.D. research studies, Federal Agricultural Research Center for Animal Science, Neustadt-Mariensee (Germany) (fellowed by graduate school “Mucosal Host-Pathogen Interactions”, University of Veterinary Medicine in Hannover, Deutsche Forschungsgemeinschaft). 12/2004 Dr. rer. nat., University of Veterinary Medicine, Hannover (Germany). 2–4/2005 Research Assistant, Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine, Hannover (Germany). 5/2005–8/2008 Research Assistant (Postdoc), Helmholtz Centre for Infection Research (HZI), Department of Microbial Pathogenicity, Research Group Infection Immunology, Braunschweig (Germany). Since 9/2008 Leopoldina Postdoctoral Research Fellow at the Division of Pediatric Pharmacology and Drug Discovery, UCSD School of Medicine, La Jolla, CA (USA).



Project:

Novel Role of Mast Cells in Host Innate Defense against *Staphylococcus aureus* Infection?

Mast cells (MCs) are among the principal effectors of the innate immune system. Found throughout the body, MCs are particularly prevalent at sites which interface with the environment such as the respiratory tract. Thus far, MCs have largely been studied in the context of allergic disease and their activation during certain parasitic infections. Recently, their role in host defence against bacterial pathogens has attracted increasing attention. There is considerable evidence that MCs can mediate a variety of antimicrobial activities following activation upon contact with a pathogen: First, MCs are the only cell type known to pre-store TNF- α in their secretory granules, which can be released immediately upon activation by pathogens to initiate the early phase of the inflammatory response. Secondly, MCs have also been shown to directly kill various bacteria after intracellular uptake and subsequent killing through a combination of oxidative and non-oxidative antimicrobial mechanisms, similar to traditional phagocytes such as neutrophils, macrophages or dendritic cells. Latest investigations have reported that various potent broad-spectrum antimicrobial peptides such as cathelicidin LL-37, β -defensins, or piscidins are present in MC granules and are secreted upon stimulation with various pathogens such as *Streptococcus (S.) pyogenes*. These observations suggested that an extracellular bactericidal mechanism could also operate in these cells.

The mechanisms underlying the extracellular antimicrobial activity of MCs was characterized in VON KÖCKRITZ-BLICKWEDE'S initial postdoctoral study recently published in *Blood*. Using *S. pyogenes* as an infection model, she found that both human and murine MCs exert their extracellular antimicrobial activity through the production of extracellular structures

that strongly resembled neutrophil extracellular traps (NETs). The major components of these mast cell extracellular traps (MCETs) are DNA, histones, and mast cell specific granule proteins such as tryptase and the antimicrobial peptide LL-37. Bacterial entrapment within these structures was required for antimicrobial activity, since dismantling the MCETs structure strongly reduced bacterial growth inhibition. Similar to NETs, production of MCETs was mediated by a reactive-oxygen species (ROS)-dependent cell death mechanism accompanied by disruption of the nuclear envelope. In these studies, she found that induction of MCETs was not restricted to *S. pyogenes*; other important bacterial pathogens including the preeminent human pathogen *S. aureus* were also shown to induce the formation of MCETs (Fig. 1). However, the role of MCETs against *S. aureus* infections and the underlying cellular signaling mechanism mediating this process remained to be determined, and this is the aim of this study.

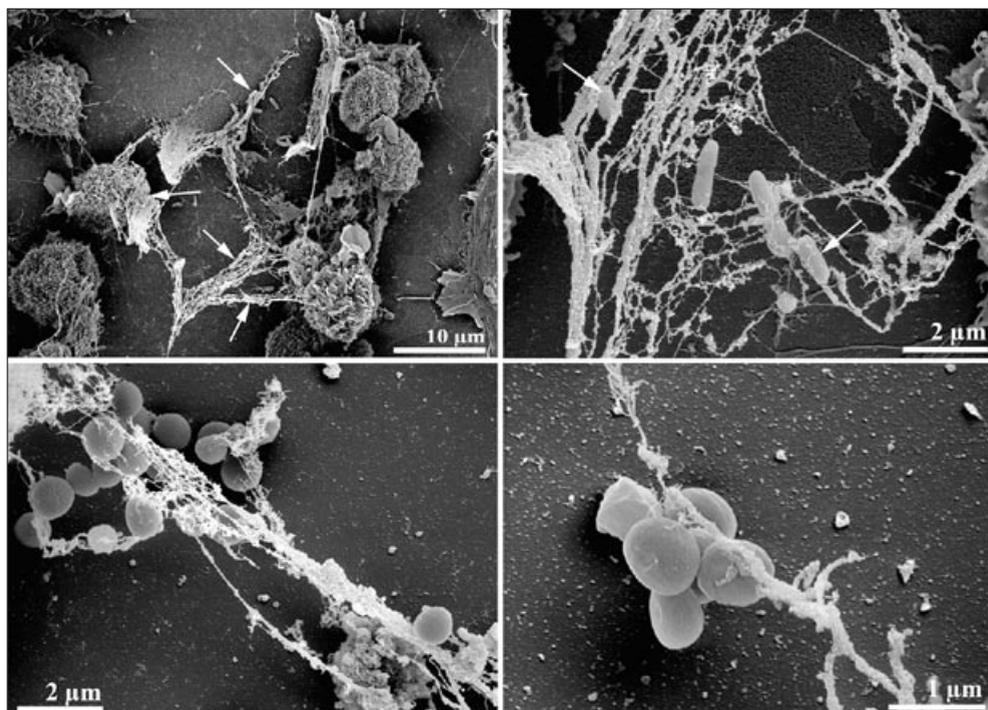


Fig. 1 Different bacteria (top: *Pseudomonas aeruginosa*, bottom: *Staphylococcus aureus*) entrapped by mast cell extracellular traps (VON KÖCKRITZ-BLICKWEDE et al. 2008).

S. aureus is a prominent Gram-positive bacterial pathogen responsible for a wide spectrum of superficial and invasive human infections. Several reports have described the growing incidence of severe life-threatening *S. aureus* pneumonia in otherwise healthy as well as hospitalized individuals. An increasing problem associated with *S. aureus* is its extraordinary potential to develop antimicrobial resistance. The emergence of multi-drug resistant *S. aureus*, especially methicillin-resistant (MRSA) and vancomycin intermediate-resistant strains, is generating an enormous public health concern. The mechanisms mediating an effective host defense against *S. aureus* infection are highly complex and still not completely understood. A broader understanding of host immune factors that influence the host defense against *S. au-*

reus will translate into a greater likelihood of uncovering new mechanisms of host resistance and assist in the identification of cellular functions that can be manipulated for increasing natural resistance of susceptible individuals as well as for therapeutic goals.

Publications

KÖCKRITZ-BLICKWEDE, M. VON, ROHDE, M., OEHMCKE, S., MILLER, L. S., CHEUNG, A.L., HERWALD, H., FOSTER, S., and MEDINA, E.: Immunological mechanisms underlying the genetic predisposition to severe *Staphylococcus aureus* infection in the mouse model. *Amer. J. Pathol.* (2008) (in press)

KÖCKRITZ-BLICKWEDE, M. VON, GOLDMANN, O., HEINEMANN, K., THULIN, P., NORRBY-TEGLUND, A., ROHDE, M., and MEDINA, E.: Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood* *111*, 3070–3080 (2008)

Dr. rer. nat. Holger Kreß

(BMBF LPD 9901/8-162)

Geboren 1976. 1997–2002 Studium der Physik, Universität Heidelberg (Stipendium der Studienstiftung). September 2002 Physik-Diplom, Universität Heidelberg. 2002–2006: Doktorarbeit in der Arbeitsgruppe von Dr. Ernst STELZER, European Molecular Biology Laboratory (EMBL) Heidelberg (Stipendien: Studienstiftung, EMBL-Ph.D.-Programm). Juli 2006 Promotion, Fakultät für Physik und Astronomie, Universität Heidelberg. 2006–2007 Postdoctoral Fellow in der Arbeitsgruppe von Dr. Ernst STELZER, EMBL, Heidelberg. Seit 2007 Postdoctoral Fellow in der Arbeitsgruppe von Prof. Eric DUFRESNE, Yale University, New Haven, CT (USA) (Leopoldina-Stipendium).



Projekt:

Zellstimulierung mit optisch gefangenen Mikroquellen

Die Fortbewegung einzelner Zellen in unserem Körper spielt eine sehr wichtige Rolle in vielen lebenswichtigen Bereichen, wie beispielsweise unserem Immunsystem und der neuronalen Entwicklung unseres Gehirns. Darüber hinaus ist zelluläre Bewegung ein wichtiger Bestandteil vieler Krankheiten, etwa bei metastasierendem Krebs. Im Labor von Prof. DUFRESNE an der Yale University (New Haven, USA) entwickeln wir derzeit eine neue Methode zur Untersuchung der Frage, wie Immunzellen chemischen Signalen folgen, um bakterielle Infektionsherde zu finden und zu bekämpfen. Zu diesem Zweck entwickeln wir Mikropartikel, welche Immunzellen eine Infektion vortäuschen, indem sie die bakteriellen Signalmoleküle in ihre Umgebung abgeben. Mit Hilfe von fokussierten Laserstrahlen können wir die Mikropartikel – die wie künstliche Bakterien agieren – einfangen und gezielt an beliebige Stellen in der Nähe einzelner Immunzellen bringen. Diese neue Methode ermöglicht es, Immunzellen individuell präzise und flexibel zu stimulieren, um somit neue Einblicke in deren sensitives und adaptives Reaktionsverhalten zu bekommen.

Chemotaxis, die gerichtete Bewegung von Zellen entlang chemischer Gradienten, ist ein wichtiger Bestandteil unseres Immunsystems. Während der Chemotaxis misst eine Immunzelle die Konzentrationen von extrazellulären Signalmolekülen an verschiedenen Stellen der Zellmembran. Die Zelle richtet sich daraufhin entlang des Gradienten der Signalmoleküle aus und bewegt sich in Richtung der höheren Konzentration.

Innerhalb der letzten Jahre ist die Anzahl unterschiedlicher mathematischer Modelle, die den Prozess der Chemotaxis beschreiben, stark angestiegen. Um diesen Prozess auf qualitativer und quantitativer Ebene besser zu verstehen, ist es erforderlich, die verschiedenen Vorhersagen unterschiedlicher Modelle zu testen. Für solche Tests ist es notwendig, den chemischen Stimulus, den die Zelle erfährt, genau zu kontrollieren. Einen solchen kontrollierten Stimulus kann man erreichen, wenn man die chemische Mikroumgebung der Zelle präzise und flexibel kontrollieren kann.

Etablierte Techniken zur Herstellung zeitlich stabiler eindimensionaler Gradienten von Molekülen basieren in der Regel auf Diffusionskammern oder Mikropipetten. Neuere Me-

thoden, die auf Mikrofluidik oder dem licht-induzierten Aufbrechen umhüllter Moleküle basieren, erlauben mehr Kontrolle über die Geometrie und die Dynamik von molekularen Konzentrationsprofilen. Keine dieser Techniken erlaubt es jedoch, dreidimensionale Konzentrationsprofile auf einer Längenskala bis hinunter zu einem Mikrometer zu erstellen, die dazu noch zeitlich schnell mit Frequenzen von bis zu 20 Hertz moduliert werden können.

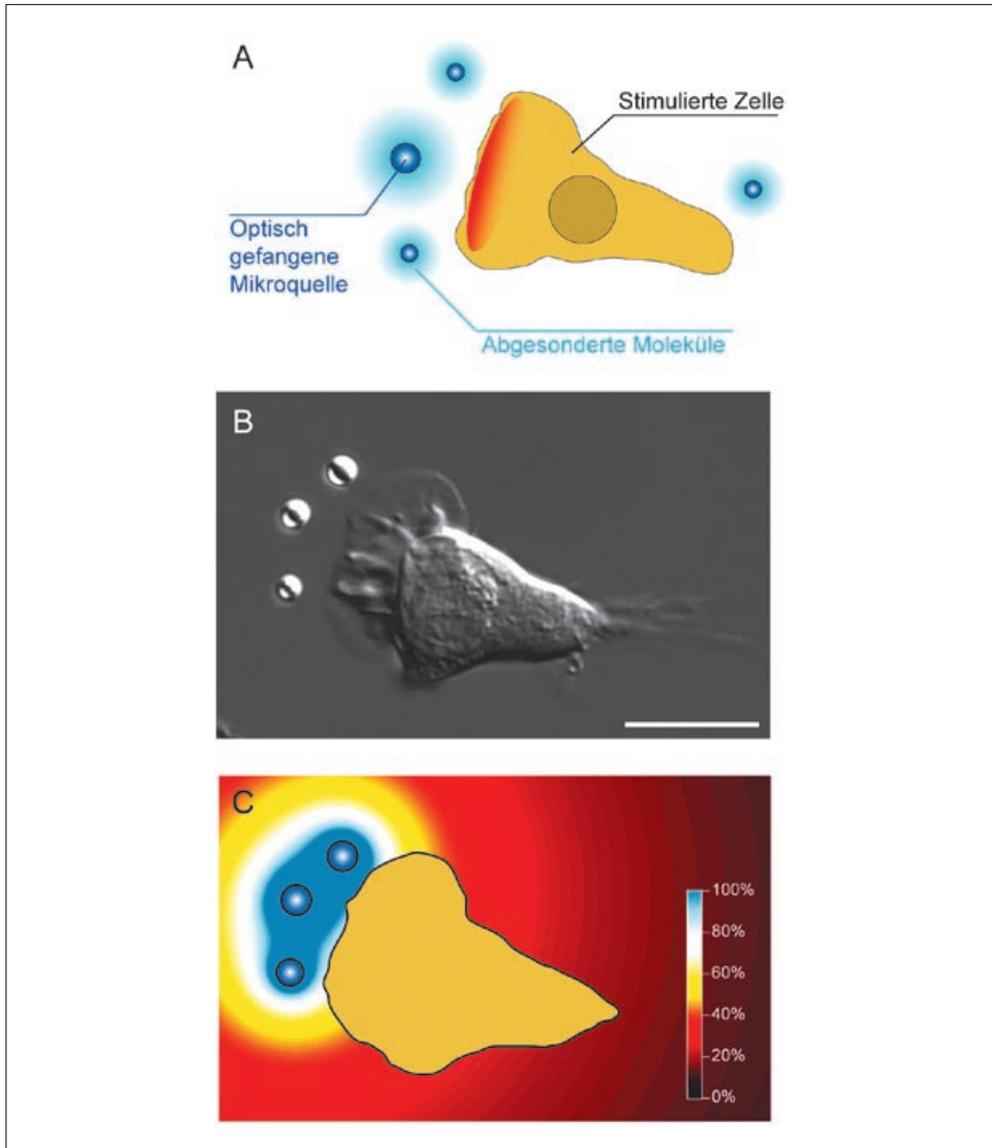


Abb. 1 Flexible Zellstimulierung mit optisch gefangenen Mikroquellen. (A) Schemazeichnung einer stimulierten Zelle mit mehreren optisch gefangenen Mikropartikeln, die Moleküle in ihre Umgebung absondern. (B) Mikroskopische Aufnahme einer lebenden polarisierten Immunzelle (Neutrophile) mit drei optisch gefangenen Mikropartikeln, die stimulierende Moleküle (den Lockstoff fMLP) in ihre Umgebung absondern. (C) Das berechnete Konzentrationsprofil des Lockstoffes, der von den Mikropartikeln aus Bild (B) absondert wird.

Die Strategie, mit der wir diese hohe Flexibilität erreichen, basiert auf optisch manipulierten Mikroquellen-Mikropartikeln, die eine kontrollierte Absonderung von Molekülen ermöglichen. Da diese Mikroquellen mit vielen verschiedenen Chemikalien (Proteinen, Peptiden, Nukleotiden, Farbstoffen, kleinen molekularen Wirkstoffen, etc.) beladen werden können, bietet die hier vorgestellte Methode neben der räumlichen und zeitlichen Flexibilität zusätzlich noch eine hohe chemische Flexibilität. Mit Hilfe von holographischen optischen Pinzetten können mehrere Mikroquellen gleichzeitig und unabhängig voneinander optisch gefangen und beliebig bewegt werden. Indem eine oder mehrere Mikroquellen mit Hilfe der optischen Pinzetten in die Nähe einer lebenden Zelle gebracht werden, können somit flexible Stimulationsmuster für die Zelle erzeugt werden (siehe Abb. 1).

Wir demonstrieren diese Methode, indem wir Chemotaxis in einzelnen Immunzellen (Neutrophilen) induzieren. Zu diesem Zweck haben wir Mikropartikel aus dem Polymermaterial PLGA [Poly(milchsäure-co-glycolsäure)] hergestellt. In diese Mikropartikel wurde der chemotaktische Lockstoff fMLP (formyl-Methionin-Leucin-Phenylalanin) eingebettet. Sobald die Mikropartikel in wässrige Lösung gelangen, wird der Lockstoff kontinuierlich für einige Stunden in die Lösung abgegeben. In Experimenten mit einzelnen Immunzellen konnten wir zeigen, dass mit Hilfe optisch gefangener Mikroquellen einzelne Zellen gezielt polarisiert, in Bewegung gesetzt und sogar die Bewegungsrichtung von Zellen verändert werden kann.

Wir erwarten, dass diese neue Methode zur flexiblen Zellstimulierung in Zukunft in vielen Bereichen der zell- und entwicklungsbiologischen Forschung Anwendung findet.

Publikationen

- KRESS, H., PARK, J., MEJEAN, C. O., FORSTER, J. D., PARK, J., WALSE, S. S., WU, D., WEINER, O. D., FAHMY, T. M., and DUFRESNE, E. R.: Cell stimulation with optically manipulated microsources. (submitted to Nature Methods)
- WANG, P., XU, W., TANG, W., KRESS, H., MANES, T., and WU, D.: Regulation of neutrophil chemotaxis by integrin-induced polarization of PIP5K1 γ 90. (submitted)
- KRESS, H., STELZER, E. H. K., HOLZER, D., BUSS, F., GRIFFITHS, G., and ROHRBACH, A.: Filopodia act as phagocytic tentacles and pull with discrete steps and a load-dependent velocity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *104*/28, 11633–11638 (2007)
- ANES, E., PEYRON, P., STAALI, L., JORDAO, L., GUTIERREZ, M. G., KRESS, H., HAGEDORN, M., MARIDONNEAU-PARINI, I., SKINNER, M. A., WILDEMAN, A. G., KALAMIDAS, S. A., KUEHNEL, M., and GRIFFITHS, G.: Dynamic life and death interactions between *Mycobacterium smegmatis* and J774 macrophages. Cell. Microbiol. *8*/6, 939–960 (2006)

Dr. rer. nat. Robert Kumsta

(BMBF LPD 9901/8-168)

Geboren 1978. 1998–2003 Universität Trier, Studium der Psychologie; Abschluss: Diplom-Psychologe. 2005 Young Investigator Award der International Society of Psychoneuroendocrinology (ISPNE). 2/2007 Promotion zum Dr. rer. nat.; Universität Trier, Abteilung für Theoretische und Klinische Psychobiologie. 2007 Universität Trier, Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Abteilung für Verhaltensgenetik, Postgraduiertenstudium Psychobiologie. Seit 10/2007 Leopoldina-Stipendiat/Visiting Research Fellow am MRC Social, Genetic & Developmental Psychiatry Centre, Institute of Psychiatry, King's College London und School of Psychology, University of Southampton (Großbritannien). 2008 Dissertationspreis, Universität Trier.



Project:

Investigation of Physiological Stress Reactivity and Gene-Environment Interactions in the English and Romanian Adoptees Sample

The English and Romanian Adoptee (ERA) project is a longitudinal, multi-method investigation of the development of children adopted into the UK from Romania in the early 1990's. The vast majority of the adoptees experienced extreme early global deprivation as a consequence of early placement in Romanian orphanages of the Ceausescu regime. The ERA project enrolled 165 children adopted from Romania and 52 non-institutionalized within-UK adoptees, adopted under the age of 6 months, and provides the most complete account of developmental consequences of early institutional deprivation.

The present study will (i) examine early stress exposure as a putative mediating mechanism for the effects of institutional deprivation by exploring psycho-physiological stress reactivity using objective laboratory tests and (ii) examine the moderating role of genetic factors on the effects of institutional deprivation on brain structure and stress reactivity by analyzing polymorphisms in relevant candidate genes.

Adverse or traumatic experiences particularly early in life are related to enhanced vulnerability to psychopathology in later life. It is critical to investigate the lasting changes in signaling pathways within the brain that result in increased vulnerability to negative effects of stress in adulthood. An important neurobiological target is the neural network underlying the neuroendocrine stress response. Early adverse experiences have been related to dysregulations of the hypothalamic-pituitary adrenal (HPA) axis, one of the organisms' major physiological stress systems. The HPA axis was suggested to be both a target for environmental influences and a mediator of the relationship between early-life events and health in adulthood. Potential alteration in psycho-physiological stress regulation as a consequence of early adverse childhood experience will be explored using objective laboratory tests. The focus will be on the hormonal stress response using the Trier Social Stress Test (TSST), a standardized and well validated laboratory stress protocol. Psychological questionnaires will be used to measure the acute subjective stress experience and the perception of chronic stress. Basal

HPA axis activity will be assessed with the Cortisol Awakening Response, a reliable marker of unstimulated HPA axis activity. Furthermore, autonomous nervous system activity under acute stress will be investigated.

The second aim of the project is to study gene-environment interactions. One of the key findings of the ERA study so far is that there is considerable heterogeneity in terms of outcomes for individuals, even in those individuals who experienced the most deprivation. Such response heterogeneity is thought to be associated with pre-existing individual differences in temperament, personality, cognition and autonomic physiology – including stress physiology – all of which are known to be under genetic influence. The hypothesis of genetic moderation implies that differences between the Romanian adoptees in response outcomes originate in part in differences of the DNA sequence, i. e. genetic polymorphisms in relevant candidate genes. HPA axis activity appears to be considerably influenced by genetic factors. Therefore, the susceptibility to early stress and also stress reactivity in early adulthood will be determined in part by variants in genes implicated in HPA axis regulation. Investigations on gene-environment interactions will focus on polymorphisms in relevant candidate genes, e. g. the glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) and the serotonin transporter gene (*SLC6A4*).

In combination with structural and functional imaging data, results of this study will provide data on the neurobiological signaling pathways targeted by early adverse experience and might identify individuals with increased vulnerability to develop emotional problems or psychopathology when confronted with chronic stress and/or trauma.

Publications

- KUMSTA, R., MOSER, D., STREIT, F., KOPER, J. W., MEYER, J., and WÜST, S.: Characterization of a glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*, *GR*) promoter polymorphism reveals functionality and extends a haplotype with putative clinical relevance. *Amer. J. Med. Genet. B Neuropsychiatric Genetics* (2008) (in press)
- KUMSTA, R., ENTRINGER, S., KOPER, J. W., VAN ROSSUM, E. F., HELLHAMMER, D. H., and WÜST, S.: Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and glucocorticoid sensitivity of subdermal blood vessels and leukocytes. *Biol. Psychol.* (2008) (in press)
- MOSER, D., EKAWARDHANI, S., KUMSTA, R., PALMASON, H., BOCK, C., ATHANASSIADOU, Z., LESCH, K. P., and MEYER, J.: Functional analysis of a potassium-chloride co-transporter 3 (*SLC12A6*) promoter polymorphism leading to an additional methylation site. *Neuropsychopharmacology* (2008) (in press)
- ENTRINGER, S., KUMSTA, R., NELSON, E. L., HELLHAMMER, D. H., WADHWA, P. D., and WÜST, S.: Influence of prenatal psychosocial stress on cytokine production in adult women. *Developm. Psychobiol.* 50/6, 579–587 (2008)
- ENTRINGER, S., WÜST, S., KUMSTA, R., LAYES, I., NELSON, E. L., HELLHAMMER, D. H., and WADHWA, P. D.: Prenatal stress is associated with insulin resistance in young adults. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* March 6, 2008, doi: 10.1016/j.ajog.2008.03.006 (2008)
- RIETSCHEL, M., BECKMANN, L., STROHMAIER, J., GEORGI, A., KARPUSHOVA, A., SCHIRMBECK, F., BOESSHENZ, K., SCHMÄL, C., BÜRGER, C., ABOU JAMRA, R., SCHUMACHER, J., HÖFELS, S., KUMSTA, R., ENTRINGER, S., KRUG, A., MARKOV, V., PROPPING, P., WÜST, S., KIRCHER, T., NÖTHEN, M. M., CICHON, S., and SCHULZE, T. G.: *G72* and its association with major depression and neuroticism in large population-based groups from Germany. *Amer. J. Psychiatry* 165, 753–762 (2008)
- SCHLOTZ, W., KUMSTA, R., LAYES, I., ENTRINGER, S., JONES, A., and WÜST, S.: Covariance between psychological and endocrine responses to pharmacological challenge and psychosocial stress: a question of timing. *Psychosomatic Medicine* 70/7, 787–796 (2008)
- KUMSTA, R., ENTRINGER, S., KOPER, J. W., VAN ROSSUM, E. F., HELLHAMMER, D. H., and WÜST, S.: Sex specific associations between common glucocorticoid receptor gene variants and hypothalamus-pituitary-adrenal axis responses to psychosocial stress. *Biol. Psychiatry* 62/8, 863–869 (2007)
- KUMSTA, R., ENTRINGER, S., HELLHAMMER, D. H., and WÜST, S.: Cortisol and ACTH responses to psychosocial stress are modulated by corticosteroid binding globulin levels. *Psychoneuroendocrinology* 32/8–9, 1153–1157 (2007)
- MOSER, D., MOLITOR, A., KUMSTA, R., TATSCHNER, T., RIEDERER, P., and MEYER, J.: The glucocorticoid receptor gene exon 1-F promoter is not methylated at the NGFI-A binding site in human hippocampus. *World J. Biol. Psychiatry* 8/4, 262–268 (2007)

Harald F. Langer, M. D.

(BMBF LPD 9901/8-147)

Born November 26, 1976 in Landshut. 1997–2002 Medical School at Otto-von-Guericke University Magdeburg. 2002–2003 Medical training in München and Johannesburg (South Africa). In 2004 Cardiology at the Klinikum rechts der Isar, München. 2004–2007 Cardiology University Clinic Tübingen. Since 2007 Leopoldina Postdoctoral Fellow at NIH/NCI/Experimental Immunology Branch, Bethesda, MD (USA), in the group of Dr. T. CHAVAKIS.



Project:

Design of a Bifunctional Human Construct from Soluble GPVI-Fc and a Anti-CD133 Antibody for Recruiting Progenitor Cells to Vascular Lesions

Progenitor cells have been recognized to be of central importance for regenerative mechanisms in cardiovascular medicine. Recently, we were able to show that platelets can direct progenitor cells to sites of vascular and tissue injury and potentiate regenerative mechanisms. Accordingly, we designed a bifunctional protein, capable of capturing circulating endothelial progenitor cells to collagen-rich vascular lesions. The protein consists of the soluble platelet collagen receptor glycoprotein VI and an antibody to CD133. *In vitro* and *in vivo*, this construct substantially mediates EPC homing to vascular lesions as shown by static and dynamic adhesion assays and intravital microscopy. Furthermore, it enhances differentiation of EPCs to endothelial cells and augments reendothelialization of vascular lesions, as shown by flow cytometry, colony forming unit assay, confocal immunofluorescence microscopy and injury models of the carotid artery in combination with methods of histology, immuno-fluorescence and *in situ* hybridization. Therefore, this bifunctional protein could be a potential new therapeutic option in regenerative vascular medicine.

Publications

- BIGALKE, B., GEISLER, T., STELLOS, K., LANGER, H., DAUB, K., KREMMER, E., SEIZER, P., MAY, A. E., LINDEMANN, S., and GAWAZ, M.: Platelet collagen receptor glycoprotein VI as a possible novel indicator for the acute coronary syndrome. *Amer. Heart J.* 156, 193–200 (2008)
- LANGER, H. F., and GAWAZ, M.: Platelets in regenerative medicine. *Basic Res. Cardiol.* 103, 299–307 (2008)
- LANGER, H. F., and GAWAZ, M.: Platelet-vessel wall interactions in atherosclerotic disease. *Thromb. Haemost.* 99, 480–486 (2008)
- LANGER, H. F., HAUBNER, R., PICHLER, B. J., and GAWAZ, M.: Radionuclide imaging: a molecular key to the atherosclerotic plaque. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 52, 1–12 (2008)
- SCHULZ, C., PENZ, S., HOFFMANN, C., LANGER, H., GILLITZER, A., SCHNEIDER, S., BRANDL, R., SEIDL, S., MASSBERG, S., PICHLER, B., KREMMER, E., STELLOS, K., SCHONBERGER, T., SIESS, W., and GAWAZ, M.: Platelet GPVI binds to collagenous structures in the core region of human atheromatous plaque and is critical for atheroprogession *in vivo*. *Basic Res. Cardiol.* 10, 356–367 (2008)
- STELLOS, K., LANGER, H., DAUB, K., SCHOENBERGER, T., GAUSS, A., GEISLER, T., BIGALKE, B., MUELLER, I., SCHUMM, M., SCHAEFER, I., SEIZER, P., KRAEMER, B. F., SIEGEL-AXEL, D., MAY, A. E., LINDEMANN, S., and GAWAZ, M.: Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34⁺ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation* 11, 206–215 (2008)

- CELIK, S., LANGER, H., STELLOS, K., MAY, A. E., SHANKAR, V., KURZ, K., KATUS, H. A., GAWAZ, M. P., and DENGELER, T. J.: Platelet-associated LIGHT (TNFSF14) mediates adhesion of platelets to human vascular endothelium. *Thromb. Haemost.* *98*, 798–805 (2007)
- GAWAZ, M., STELLOS, K., and LANGER, H. F.: Platelets modulate atherogenesis and progression of atherosclerotic plaques via interaction with progenitor and dendritic cells. *J. Thromb. Haemost.* *6/2*, 235–242 (2007)
- LANGER, H. F., DAUB, K., BRAUN, G., SCHONBERGER, T., MAY, A. E., SCHALLER, M., STEIN, G. M., STELLOS, K., BUELTMANN, A., SIEGEL-AXEL, D., WENDEL, H. P., AEBERT, H., ROECKEN, M., SEIZER, P., SANTOSO, S., WESSELBORG, S., BROSSART, P., and GAWAZ, M.: Platelets recruit human dendritic cells via Mac-1/JAM-C interaction and modulate dendritic cell function in vitro. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *27*, 1463–1470 (2007)
- LANGER, H. F., MAY, A. E., VESTWEBER, D., BOER, H. C. DE, HATZOPOULOS, A. K., and GAWAZ, M.: Platelet-induced differentiation of endothelial progenitor cells. *Semin. Thromb. Hemost.* *33*, 136–143 (2007)
- LANGER, H., SCHONBERGER, T., BIGALKE, B., and GAWAZ, M.: Where is the trace? Molecular imaging of vulnerable atherosclerotic plaques. *Semin. Thromb. Hemost.* *33*, 151–158 (2007)

Dr. rer. nat. Albrecht Manegold

(BMBF LPD 9901/8-183)

Born in Mannheim in 1973. 1994–2000 study of Biology and Paleontology at the Freie Universität Berlin. 2000 Diploma thesis on the life history of two nematode species associated with cockchafers. 2005 dissertation on the phylogeny and evolution of ‘coraciiform’, piciform, and passeriform birds, awarded with the Bernhard Rensch Medal of the Gesellschaft für Biologische Systematik in 2007. 2005–2008 Postdoctoral Fellow (DFG) at the Research Institute Senckenberg, Frankfurt (Main), studying passerines from the Oligocene and Miocene of Germany and France. Since June 2008 Fellow of the German Academy of Sciences Leopoldina for one year studying Passeriformes and Piciformes from the early Pliocene of South Africa at the Iziko South African Museum, Cape Town (South Africa).



Project:

Phylogenetic and Paleoenvironmental Significance of Fossil Piciform and Passerine Birds from the early Pliocene of Langebaanweg (South Africa)

The former phosphate mining area of Langebaanweg, approximately 130 km northwest of Cape Town, is famous for its richness in vertebrate fossils dating from the early Pliocene. Palynological studies as well as the fossil record of mammals at that site already evidenced the dramatic climate and ecological changes during the Miocene/Pliocene transition, i. e. decrease of paratropical forests along with increasing aridity and spread of grasslands. The fossil record of birds is also exceptionally rich, and Langebaanweg is frequently denoted as one of the largest assemblages of pre-Pleistocene bird bones in the world. However, only a few bird species were identified and described so far. The numerous remains of Passeriformes (songbirds and allies) and Piciformes (woodpeckers and allies) remained unstudied leaving almost the total African pre-Pleistocene fossil record for these taxa virtually unexplored. Piciform and passeriform species, however, should have been particularly affected by the environmental changes during the Miocene and Pliocene. The systematic analysis of these bird fossils will allow conclusions on the composition of the ancient avifauna and its relationship to the paleoenvironment. A first screening of as yet unsorted, unidentified and recently excavated material yielded more than 100 diagnostic bones of at least ten different songbird species and about three piciform species. Some of them show affinities to typical forest-dwelling species, others might be related to specialized seed-eaters such as finches, buntings or waxbills. Very remarkable is the evidence for a large songbird species similar in size to a Black-billed Magpie (*Pica pica*), because songbirds of this size are no longer part of the Southern African avifauna. The ongoing investigations will provide new insights into the paleoenvironment of Langebaanweg and will also contribute to a better understanding of the phylogeography of the fossil specimens and their extant relatives.

Publications

- MANEGOLD, A.: Composition and phylogenetic affinities of Vangas (Vangidae, Oscines, Passeriformes) based on morphology. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* *46*, 267–277 (2008)
- MANEGOLD, A.: Earliest fossil record of the Certhioidea (treecreepers and allies) from the early Miocene of Germany. *J. Ornithol.* DOI: 10.1007/s10336-007-0263-9 (2008)
- MANEGOLD, A.: Passerine diversity in the late Oligocene of Germany: earliest evidence for sympatric coexistence of Suboscines and Oscines. *Ibis* *150*, 377–387 (2008)

Dr. rer. nat. Tobias Meckel

(BMBF LPD 9901/8-124)

Geboren 1973. 1994–1999 Biologiestudium an der Technischen Universität Darmstadt. 1998 Auslandssemester an der Research School of Biological Science (RSBS), Australian National University, Canberra (Australien). 1999–2000 Diplom an der Technischen Universität Darmstadt („Development of a PAGE-based enzyme activity assay for reactive oxygen scavenging enzymes“). 2001–2004 Promotion am Institut für Botanik, Technische Universität Darmstadt bei Prof. Gerhard THIEL, Titel der Arbeit „Endocytosis against high turgor“.

3/2005–5/2007 Leopoldina-Postdoktorand am Leiden Institute of Physics (LION), Universität Leiden (Niederlande) bei Prof. Thomas SCHMIDT (Projekt: „The spatiotemporal heterogeneity of the TOLL-like receptor activation cluster dissected by single molecule microscopy“). Seit 6/2007 Postdoktorand am Laboratory of Immunogenetics, National Institutes of Allergies and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD (USA) in der Gruppe von Dr. Tian JIN und Dr. Susan PIERCE (Thema der Arbeit: „Formation of the HIV entry complex involving viral envelope and target cell receptor proteins followed with single molecule total internal reflection (TIR) microscopy“).



Projekt:

Untersuchungen zur spatio-temporalen Dynamik von Rezeptoren der angeborenen Immunität mit Hilfe von Einzelmolekül-Fluoreszenz-Mikroskopie

Die Lichtmikroskopie hat sich von Beginn an vor allem bei der Erforschung belebter Materie bewährt, denn mit kaum einer anderen Technik ist es möglich, Prozesse in Zellen, Geweben und Organismen mit ähnlich geringer Beeinträchtigung, d. h. nahezu *noninvasiv*, zu untersuchen. Mit dem Einsatz fluoreszierender Moleküle und Proteine (z. B. dem grün fluoreszierenden Protein, GFP) wurde die Methode später um die Möglichkeit erweitert, auch einzelne Molekül- und Proteinklassen in lebenden Zellen getrennt voneinander zu betrachten. Wurden die Quantifizierungen der damit „visualisierten“ Prozesse in Zeit und Raum immer genauer, erlaubt jedoch erst die Detektion einzelner Moleküle die präzise Analyse komplexer dynamischer Netzwerke an lebenden Zellen. Mit dieser Methode lassen sich die lokalen Konzentrationen und Geschwindigkeiten jeder einzelnen Komponente dieses Netzwerks mit hoher Zeit- und Ortsauflösung bestimmen und somit präzise Informationen für eine detaillierte Modellierung gewinnen. Darüber hinaus lassen sich durch die gleichzeitige Detektion mehrerer einzelner Moleküle auch direkte Aussagen über Interaktionen zwischen z. B. Proteinen, Lipiden und anderen Molekülen erhalten.

Die Methode wird eingesetzt, um die spatio-temporale Dynamik der ersten Schritte der Pathogenerkennung direkt in lebenden Zellen zu visualisieren. Im Zentrum des Interesses steht dabei die Familie der *Toll-like*-Rezeptoren, der primären Rezeptoren der angeborenen Immunabwehr. Ihre Aufgabe ist die Erkennung von eindringenden Pathogenen, die Aktivierung von Entzündungsprozessen zur Eindämmung der Verbreitung der Pathogene sowie die

Aktivierung der nachgeschalteten adaptiven Immunantwort, welche für die zielgerichtete Bekämpfung und Entfernung des Pathogens verantwortlich ist.

An einzelnen menschlichen Kulturzellen (HEK293), die eine Fusion aus TLR2 und YFP (gelb fluoreszierendes Protein) exprimieren, wird die Dynamik des Rezeptors fluoreszenzoptisch mit Einzelmolekülaufklärung verfolgt. Es zeigt sich, dass TLR2-Rezeptoren sich nach Inkubation mit bakteriellen Lipoproteinen transient, d. h. für etwa 5–10 min, zu di- und multimeren Komplexen organisieren. Diese nur kurz aufrecht erhaltene Organisation reicht aus, um die Information „Pathogenerkennung“ über die Plasmamembran ins Zellinnere weiterzuleiten und über die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF κ B die Expression entzündungsfördernder Cytokine auszulösen.

Publikationen

- MECKEL, T., SCHAAF, M., SEMRAU, S., SNAAR-JAGALSKA, E., SPAINK, H. P., and SCHMIDT, T.: Transient cluster formation of toll-like receptor 2 revealed by single molecule microscopy. *Biophys J.* 18A-A (51st Annual Meeting of the Biophysical-Society, March 03–07, 2007) (in preparation)
- MECKEL, T., SEMRAU, S., SCHAAF, M., and SCHMIDT, T.: Intensity distributions of autofluorescent proteins in vivo. (in preparation)
- LINDHOUT, B. I., FRANZ, P., TESSADORI, F., MECKEL, T., HOOYKAAS, P. J. J., and VAN DER ZAAL, B. J.: Live cell imaging of repetitive DNA sequences via GFP-tagged polydactyl zinc finger proteins. *Nucleic Acids Res.* 35/16, e107 (2007) [doi:10.1093/nar/gkm618v1-9]
- HOMANN, U., MECKEL, T., HEWING, J., HUTT, M. T., and HURST, A. C.: Distinct fluorescent pattern of KAT1: GFP in the plasma membrane of *Vicia faba* guard cells. *Eur. J. Cell. Biol.* 86, 489–500 (2007)
- HOLTZER, L., MECKEL, T., and SCHMIDT, T.: Nanometric three-dimensional tracking of individual quantum dots in cells. *Applied Physics Letters* 90/5, Art No. 053902 (2007)
- MECKEL, T., GALL, L., SEMRAU, S., HOMANN, U., and THIEL, G.: Guard cells elongate: Relationship of volume and surface area during stomatal movement. *Biophys. J.* 92, 1072–1080 (2007)

Dr. sc. hum. Marco Metzger

(BMBF LPD 9901/8-153)

Geboren 1. 9. 1976 in Mannheim. 10/1997–9/2002 Studium der Biotechnologie. Fachhochschule Mannheim. Diplom-Ingenieur (FH). 10/2002–12/2006 Promotion Anatomisches Institut der Universität Tübingen. Seit 1/2007 Postdoctoral Fellow Neural Development Unit UCL Institute of Child Health (UK) mit Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendium.



Projekt:

Isolierung und Charakterisierung humaner neuraler Stamm- und Progenitorzellen *in vitro* und *in vivo* für den zelltherapeutischen Einsatz bei enterischen Neuropathien

Adulte, gewebespezifische Stammzellen haben neben embryonalen Zellen ein enormes Potenzial, sich bei entsprechender Stimulierung in verschiedene Zelltypen *in vitro* differenzieren zu können. Dies eröffnet die Möglichkeit für ethisch unbedenkliche, autologe zelltherapeutische Ansätze in der Regenerativen Medizin. Adulte Stammzellen aus Knochenmark, Blut und distinkten Hirnbereichen waren in der Vergangenheit Gegenstand ausgiebiger Forschung. Vor kurzem wurden erstmals neurale Stammzellen des Darmnervensystems (enterisches Nervensystem = ENS) aus Säugern charakterisiert.

Das enterische Nervensystem, Teil des autonomen Nervensystems, kontrolliert wichtige Darmfunktionen (z. B. Peristaltik, Sekretion) weitgehend unabhängig vom zentralen Nervensystem und ist daher essentiell in allen Entwicklungsstadien des Lebens. Die Mechanismen der Zelldetermination im enterischen Nervensystem sind im Gegensatz zu obigen Stammzellensystemen jedoch noch weitgehend unerforscht. Ebenso gibt es bisher wenige Erkenntnisse über ENS-Stammzellen in humanem Darm. Neue zellbasierende Therapieformen bei Krankheiten des enterischen Nervensystems könnten jedoch eine vielversprechende Alternative zur konventionellen, langfristig bislang häufig unbefriedigend verlaufenden, chirurgischen und/oder pharmakologischen Intervention darstellen. Hierzu ist allerdings eine reproduzierbare Stammzellisolierung und zielgerichtete Differenzierung Voraussetzung.

Die Ziele des Projektes umfassen zum einen die Optimierung der Isolierungs- und Kultivierungsbedingungen postnataler humaner ENS-Stammzellen sowie die Evaluation der biologischen Kapazität und des Entwicklungspotenzials.

Die Expansion von ENS-Stammzellen beinhaltet die Generierung einer homogenen Zellsuspensionskultur durch Kombination von mechanischen und chemisch-enzymatischen Bearbeitungsschritten sowie die Verwendung eines definierten Zellkulturmediums, dem ein Mix aus Wachstumsfaktoren und neuroprotektiven Substanzen zugesetzt wird. Es hat sich zudem herausgestellt, dass die Zugabe von konditionierten Zellkulturüberständen, gewonnen aus embryonalen oder früh postnatalen ENS-Zellkulturen, sich positiv auf das Überleben der humanen Zellen auswirkt. Zur besseren Zellanhaftung an die Plastikoberfläche der Kulturschalen wurden diese zuvor mit Fibronectin, einem Glykoprotein der Extrazellulärmatrix, beschichtet. Je nach Alter und Pathogenese der Darmprobe, lassen sich so ENS-Stammzellen sehr effizient in Form von kugelförmigen Zellaggregaten (Neurosphären) expandieren.

Ein klinisch routinemäßig durchgeführtes Verfahren bei Patienten mit ENS-Dysfunktionen ist die Entnahme von Darmbiopsien (ca. 1–2 mm²). Im Rahmen des Projektes haben wir überprüft, ob die minimal invasive Endoskopietechnik als Verfahren für die ENS-Stammzellisolation in Frage kommt. Dies würde eine geringe physische und psychische Belastung für die betroffenen Patienten darstellen und könnte bei Bedarf auch mehrmals durchgeführt werden. Es ist uns nun gelungen, aus wenigen Darmbiopsien eine signifikante Anzahl an ENS-Vorläufern in Form von Neurosphären innerhalb von etwa zwei Wochen zu generieren (Abb. 1A). Diese sind mit den aus chirurgisch entnommenen Darmproben stammenden Neurosphären nahezu identisch. Im Vergleich zu embryonalen Zellen wachsen postnatale Neurosphären erwartungsgemäß allerdings langsamer und haben dadurch im gleichen Zeitrahmen einen etwas geringeren Durchmessers, besitzen jedoch ähnliche Charakteristika bezüglich des Genexpressionsmusters und der Differenzierungseigenschaften. So können aus diesen Neurosphären heraus für das enterische Nervensystem typische differenzierte Nerven- und Gliazellen generiert werden.

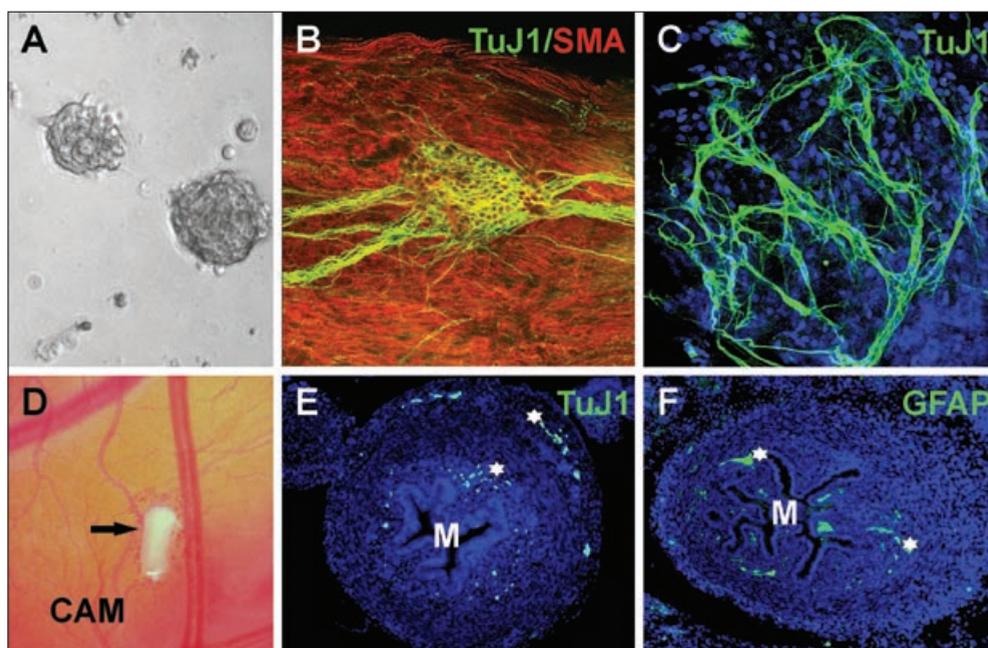


Abb. 1 Humane ENS-Stammzellen können aus postnatalen Darmbiopsien isoliert und in Form von Neurosphären in Kultur vermehrt werden (A). Aganglionäres (d. h. ENS-freies) humanes Darmgewebe kann nach Transplantation mit ENS-Stammzellen rebesiedelt werden (B) und ein neues ENS-Netzwerk ausbilden (C). ENS-Stammzellen migrieren in aganglionären Hühnerdarm (Pfeil) auf der hoch vaskularisierten Chorioallantoismembran (CAM) *in ovo* (D) und differenzieren sich in Nervenzellen (E, TuJ1) und Gliazellen (F, GFAP) in ENS-typischen Darmregionen (vgl. Sterne). Immunhistochemische Färbungen: SMA/smooth muscle actin = Glatte Muskelzellen (rot), TuJ1/beta-Tubulin III = Nervenzellen (grün), Dapi = Zellkerne (blau). M kennzeichnet die Mukosa (Darmschleimhaut) im Darmquerschnitt.

Als wichtiges Projektziel haben wir auch das Integrations- und Differenzierungsverhalten der ENS-Stammzellen nach Transplantation in verschiedene *In-vitro*-3D-Darmkulturmodelle sowie *In-vivo*-Tiermodelle getestet. Die Zellen zeigen in allen verwendeten Modellen ein aktives Migrationsverhalten und können als differenzierte neurale Zellen in entsprechenden

ENS-Mikrokompartimenten nachgewiesen werden (Abb. 1D–F). Unsere Daten weisen darauf hin, dass ENS-Progenitoren auch aganglionären humanen Darm besiedeln und ein ENS-ähnliches Netzwerk ausbilden können (Abb. 1B–C). Inwieweit transplantierte ENS-Zellen funktionale Verbindungen untereinander bzw. mit anderen Komponenten der Neuromuskulatur eingehen können, ist Gegenstand aktueller Forschungen.

Die Erstellung von Protokollen für eine einfache und standardisierte Etablierung von Stamm- und Vorläuferzellen aus dem humanen enterischen Nervensystem stellt einen wichtigen Meilenstein in Richtung zelltherapeutischer Anwendungen im Bereich von genetisch-bedingten oder alters-/krankheitsassoziiierter ENS-Dysfunktionen dar.

Publikationen

- METZGER, M., CALDWELL, C., BARLOW, A. J., BURNS, A. J., and THAPAR, N.: Enteric nervous system stem cells derived from human gut mucosa for the treatment of aganglionic gut disorders. *Gastroenterology* (2008) (in revision)
- METZGER, M., CONRAD, S., SKUTELLA, T., and JUST, L.: RGMa inhibits neurite outgrowth of neuronal progenitors from murine enteric nervous system via the neogenin receptor in vitro. *J. Neurochem.* 103/6, 2665–2678 (2007)
- METZGER, M., BAREISS, P. M., NIKOLOV, I., SKUTELLA, T., and JUST, L.: Three-dimensional slice cultures from murine fetal gut for investigations of the enteric nervous system. *Dev. Dyn.* 236/1, 128–133 (2007)

Dr. rer. nat. Michael P. W. Moos

(BMBF LPD 9901/8-132)

Ich wurde am 8. 7. 1977 in Erfurt geboren. Im Oktober 1997 begann ich an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena mein Biologiestudium, das ich im Mai 2002 mit dem Diplom abschloss. Danach promovierte ich am Institut für Vaskuläre Medizin des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität. Von Juli 2005 bis Juli 2008 forschte ich, gefördert von der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina, im Department of Physiology der Queen's University Kingston (Kanada). Seit September 2008 arbeite ich an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf im Bereich Experimentelle Hepathologie.



Projekt:

Untersuchungen zur Expression des Cysteinylleukotrien-2-Rezeptors und Charakterisierung seiner Funktion im kardiovaskulären System durch Generierung von Cysteinylleukotrien-2-Rezeptor/Enhanced Green Fluorescent Protein-Knockin-Mausmutanten

Cysteinylleukotriene (CysLTE) gehören zu den aktivsten bisher bekannten Entzündungsmediatoren. Ihre Synthese erfolgt durch die 5-Lipoxygenase (5-LO) und die Aktivität weiterer peripherer Enzyme sowie eines 5-LO-aktivierenden Proteins (FLAP). Nach exogener Applikation lösen CysLTE ausgeprägte pro-inflammatorische und kardiovaskuläre Effekte bereits in pikomolaren Konzentrationen aus. Durch welchen der beiden CysLT-Rezeptoren diese Effekte vermittelt werden, ist unbekannt. Während es umfangreiche Informationen über den Cysteinylleukotrien-1-Rezeptor (CysLT₁R) gibt, sind unsere Kenntnisse über den Cysteinylleukotrien-2-Rezeptor (CysLT₂R) noch sehr begrenzt. Transkripte des CysLT₂R wurden präferentiell im Herzen, der Nebenniere, Lymphorganen und dem zentralen Nervensystem nachgewiesen, seine eindeutige zelluläre Lokalisation ist bisher nicht gelungen. Um diesen Rezeptor zu charakterisieren, sollte eine Cysteinylleukotrien-2-Rezeptor/Enhanced Green Fluorescent Protein-Knockin-Mausmutante (CysLT₂R/eGFP-Maus) generiert werden. Mit Hilfe der CysLT₂R/eGFP-Maus sollte der CysLT₂R *in vivo* lokalisiert und seine Funktion, insbesondere im kardiovaskulären System, in experimentellen Modellen der Entzündung, der Atherogenese und der Gewebeischämie/Reperfusion, untersucht werden.

Aufgrund technischer Probleme war es nicht möglich, die CysLT₂R/eGFP-Maus zu generieren. S. ISHII stellte uns freundlicherweise seine CysLT₂R/lacZ-Maus zur Verfügung. Anhand von X-Gal-Färbungen war es uns möglich, in diesen Mäusen natürliche CysLT₂R-Expression nachzuweisen. Während beispielsweise in Lunge und Leber kein und im Herzen, im Diaphragma und in der Bauchwand der CysLT₂R nur punktuell in Blutgefäßen nachweisbar war, zeigten kleine Blutgefäße in der Haut, im Gehirn, in der Blase und im Cremaster-Muskel generell eine starke Expression des CysLT₂R. Der CysLT₂R wird unseren Ergebnissen zufolge im Gefäßsystem organspezifisch und in Abhängigkeit von der Gefäßgröße exprimiert.

Der Vergleich von CysLT₂R-*Knockout* (CysLT₂R/lacZ), Wildtyp und endothel-spezifisch Human-CysLT₂R überexprimierenden Mäusen offenbart eine direkte Korrelation der Herzinfarktgröße mit dem CysLT₂R-Expressionsniveau. Darüber hinaus wurde die Expression des CysLT₂R im ischämischen Gewebe induziert. Weiterführende Analysen zeigten, dass der CysLT₂R zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität und verstärkten Entzündungsreaktionen im Infarkt beiträgt.

Möglicherweise kann die Schädigung des Herzens im Falle eines Infarktes durch Hemmung des CysLT₂R verringert werden.

Vortrag:

Expressionsmuster und Funktionen des Cysteinylleukotrien-Rezeptors 2 (CysLT₂R)

Cysteinylleukotriene (CysLT, LTC₄/LTD₄/LTE₄) sind hochaktive Entzündungsmediatoren. Erste Untersuchungen an C57BL/6J Wildtyp (WT) und CysLT₂R-*Knockout* (KO)-Mäusen zeigten, dass durch Stimulation des CysLT₂R die Gefäßpermeabilität signifikant erhöht werden kann. Weitere Analysen mit transgenen endothelial Human-CysLT₂R überexprimierenden (TG) Mäusen bestätigten diese Befunde.

Wir haben versucht, Teile des Mechanismus zur CysLT₂R-kontrollierten Regulation der Gefäßpermeabilität aufzuklären. Intravitalmikroskopie bietet die Möglichkeit, im Cremaster-Muskel, wo der CysLT₂R in kleinen Blutgefäßen konstitutiv exprimiert wird, die Gefäßpermeabilität *in vivo* direkt zu beobachten und zu messen. Gleichzeitig können mit dieser Technik *in vivo* örtlich Substanzen appliziert werden, ohne systemische Effekte hervorzurufen.

In unseren Experimenten wurde fluoreszenz-markiertes Albumin über einen Katheder in der Jugular-Vene injiziert und die Gefäßpermeabilität zeitabhängig durch Messung der Fluoreszenz im Gewebe bestimmt. Unsere Untersuchungen zeigen, dass bei WT-Mäusen durch einen Stimulus mit LTC₄/LTD₄ die Gefäßpermeabilität im Cremaster-Muskel massiv erhöht wird. Bei TG-Mäusen war bereits ohne zusätzlichen LTC₄/LTD₄-Stimulus eine hohe Gefäßpermeabilität zu beobachten. Diese Reaktion wird wahrscheinlich durch bei der Präparation des Cremaster-Muskels freigesetzte LT stimuliert. KO-Mäuse hingegen reagierten nicht mit erhöhter Gefäßpermeabilität auf CysLT-Stimulation. Durch Zugabe des CysLT₁R/CysLT₂R-Antagonisten BAY-u9773 konnte eine sofortige Reduktion der Gefäßpermeabilität in TG-Mäusen und CysLT-stimulierten Wildtyp-Mäusen induziert werden.

Durch detailliertere fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Analysen konnte nachgewiesen werden, dass die CysLT₂R-regulierte Gefäßpermeabilität auf transzellulärem Vesikeltransport im Endothelium basiert.

Versuche mit *Human Umbelical Vein Endothelial Cells* (HUVEC) in der Vergangenheit haben gezeigt, dass diese Zellen CysLT₂R exprimieren und Stimulation mit CysLTs ein starkes initiales Ca²⁺-Signal, dem ein oszillierendes Ca²⁺-Signal folgt, induzieren. Unsere Versuche mit Thapsigargin, einer Substanz, die intrazelluläre Ca²⁺-Speicher entleert, und BAPTA-AM, einem Ca²⁺-Chelator, der Ca²⁺-Oszillationen unterbindet, legen nahe, dass das CysLT-stimulierte initiale starke Ca²⁺-Signal luminale Endozytose und das oszillierende Ca²⁺-Signal ab-luminale Exozytose in Endothelzellen initiiert.

Die Analyse der meisten Mausorgane auf natürliche CysLT₂R-Expression in unserer CysLT₂R/lacZ-Maus zeigte neben der Ausprägung im Blutgefäßsystem auch eine starke Expression dieses Rezeptors im Nervensystem.

Der CysLT₂R wird in Teilpopulationen der Neuronen des enterischen Nervensystems im myenterischen und submucosalen Plexus exprimiert. Außerdem lässt er sich im Vagus-Nerven

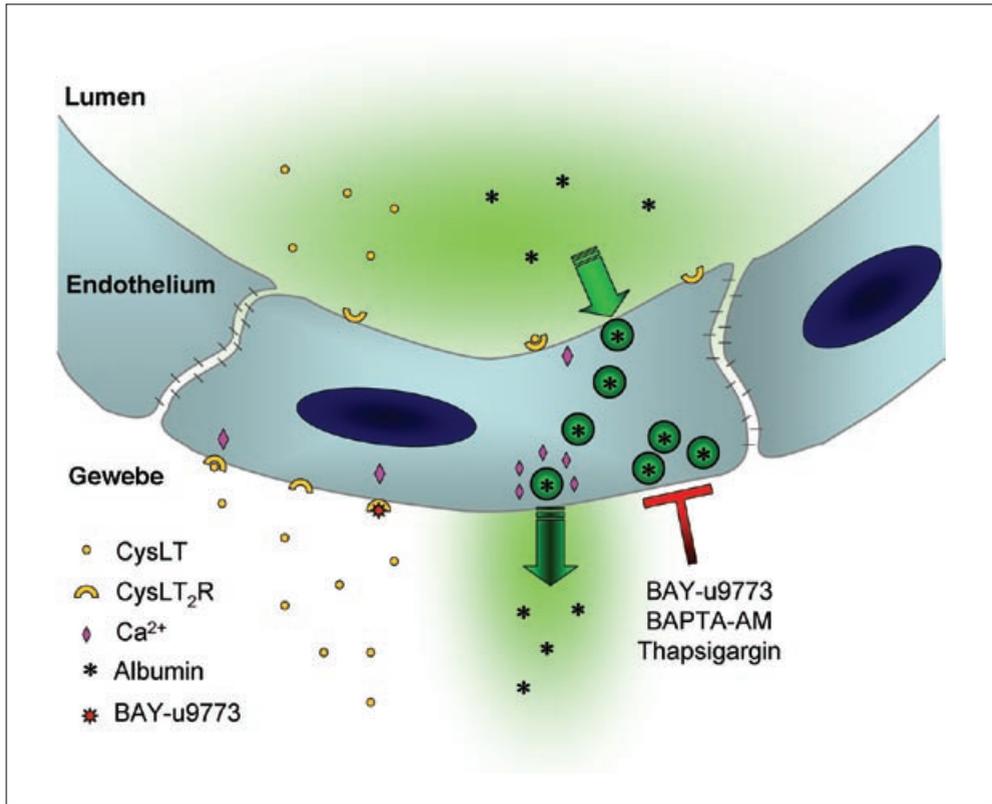


Abb. 1 Modell der CysLT₂R-regulierten Gefäßpermeabilität. Die Aktivierung des CysLT₂R durch CysLTs oder den partiellen Agonisten BAY-u9773 resultiert in einem Ca²⁺-Signal in Endothelialzellen, das auch durch Thapsigargin induziert werden kann. Dieses Ca²⁺-Signal stimuliert Vesikelbildung und Endozytose an der luminalen Seite, wodurch die Zelle Albumin aufnimmt. Die Albumin-gefüllten Vesikel wurden zur abluminalen Seite transportiert. Die Exozytose der Albumin-gefüllten Vesikel und die daraus resultierende Gefäßhyperpermeabilität ist höchstwahrscheinlich durch ein oszillierendes Ca²⁺-Signal gesteuert, das durch die CysLT-Stimulierung des CysLT₂R induziert wird. Das oszillierende Ca²⁺-Signal kann durch den CysLT₂R-Antagonist BAY-u9773, intrazelluläre Chelatbildung mit BAPTA oder durch Entleerung der intrazellulären Speicher mit Thapsigargin blockiert werden. Dies verhindert Exozytose und führt zu einer Akkumulation von Albumin-gefüllten Vesikeln in den Endothelzellen.

und in Zellen des Ganglion nodosum nachweisen. Dies legt eine Funktion des CysLT₂R für sensorische Nerven, möglicherweise in der Wahrnehmung von Appetit/Sättigung, nahe. Untermuert wird diese Hypothese durch die Beobachtung, dass KO-Mäuse eine stärkere Gewichtszunahme und einen schnelleren Aufbau von Fettgewebe zeigen.

Darüber hinaus lässt sich natürliche CysLT₂R-Expression in Spinalnerven, Teilpopulationen der Neuronen der Spinalganglien und in Zone 2 im dorsalen Bereich der grauen Substanz des Rückenmarks nachweisen. Die Lokalisation in diesen Teilen des Nervensystems macht eine Funktion des CysLT₂R für sensorische Nerven und insbesondere Schmerzempfindung wahrscheinlich.

Insgesamt betrachtet scheint der CysLT₂R in sensorischen Nerven eine Rolle zu spielen. Um dies im Detail aufzuklären, sind allerdings weiterführende Versuche notwendig, die momentan in Zusammenarbeit mit der Queen's University durchgeführt werden.

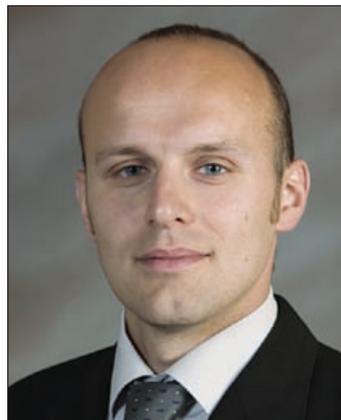
Publikationen

- MOOS, M. P. W., MEWBURN, J. D., KAN, F. W. K., ISHII, S., ABE, M., SAKIMURA, K., NOGUCHI, K., SHIMIZU, T., and FUNK, C. D.: Cysteinyl leukotriene 2 receptor-mediated vascular permeability via transendothelial vesicle transport. *FASEB J.* 23 (2009) (accepted)
- JIANG, W., HALL, S. R., MOOS, M. P. W., CAO, R. Y., ISHII, S., OGUNYANKIN, K. O., MELO, L. G., and FUNK, C. D.: Endothelial cysteinyl leukotriene 2 receptor expression mediates myocardial ischemia-reperfusion injury. *Amer. J. Pathol.* 172, 592–602 (2008)

Dr. rer. nat. Friedrich A. Mühlthau

(BMBF LPD 9901/8-148)

Geboren am 3. Oktober 1977 in Salzburg (Österreich). 1997–2002 Studium der Chemie an der Technischen Universität München. 2002–2005 Diplom- und Doktorarbeit in der Gruppe von Prof. Dr. Thorsten BACH, TU München (Thema: „Faciale Diastereoselektivität in Reaktionen α -chiraler Carbokationen“). Sommer 2005 Forschungsaufenthalt in den Arbeitsgruppen von Prof. Dr. George A. OLAH und Prof. Dr. G. K. Surya PRAKASH an der University of Southern California, Los Angeles, CA (USA) (Thema: „Untersuchung von α -chiralen Carbokationen in Lösung“). Anfang 2006 Praktikum bei Sanofi-Aventis, Frankfurt (Main). Von Juni 2006 bis Dezember 2007 Postdoktorand als Leopoldina-Stipendiat in der Gruppe von Prof. Dr. Ian PATERSON an der University of Cambridge (Großbritannien). Seit Februar 2008 Laborleiter in der Forschung bei Bayer CropScience, Monheim, Deutschland.



Projekt:

Studien zur Totalsynthese des immunosuppressiven Macrolids Brasilinolid A

Ziel des Aufenthalts an der University of Cambridge in der Gruppe von Prof. Dr. Ian PATERSON war die Entwicklung einer Synthese des Naturstoffs Brasilinolid A (Abb. 1A) und dessen Analoga. Diese Klasse von macrocyclischen Polyketiden wurde 1996 erstmals von der Gruppe um J. KOBAYASHI aus dem pathogenen Actinomyceten *Nocardia brasiliensis* isoliert. Die Struktur der Verbindung wurde 2004 von derselben Gruppe publiziert. Im Gegensatz zu den momentan klinisch angewendeten Immunosuppressiva, wie z. B. Cyclosporin A und FK506, wies Brasilinolid A neben einer starken immunosuppressiven Wirkung keine akute Toxizität auf. Weitere Vertreter dieser Strukturklasse, deren immunosuppressive Wirkung allerdings schwächer ausfällt, zeigen hingegen auch noch fungizide und antibakterielle Wirkung.

Die Malonylgruppe am C₂₃ und die Zuckereinheit am C₃₇ sind für die immunosuppressive Wirkung zuständig. Diese beiden Gruppen sollten daher am Ende der Synthese eingeführt werden, um maximale Flexibilität bei der Anbringung dieser beiden Gruppen zu haben. Weitere retrosynthetische Schnitte beinhalten das Öffnen des Makrozyklus und das Spalten der C₁₉-C₂₀-Bindung, was zu zwei Fragmenten ähnlicher Größe und Komplexität führt. Meine Aufgabe bestand darin, eine Synthese für das südliche C₁-C₁₉-Fragment von Brasilinolid A zu entwickeln.

Die gewählte Strategie greift dabei auf die in der Gruppe von Prof. Dr. Ian PATERSON entwickelten substratkontrollierten Aldol-Reaktionen mit acyclischer Stereokontrolle zurück. Diese moderne Methodik, gepaart mit einer konvergenten Synthesestrategie, ermöglicht es, auch einzelne Untereinheiten gezielt zu variieren. Die dabei hergestellten analogen Verbindungen ermöglichen es, den Zusammenhang zwischen der Struktur dieser Moleküle und ihrer Wirkung im biologischen System zu ergründen.

Innerhalb des Förderungszeitraums ist es gelungen, das südliche Fragment auf zwei unterschiedliche Arten zu synthetisieren und so die Stereochemie des C₁-C₁₉-Fragments ein-

deutig zu beweisen (Abb. 1B). Die kürzere der beiden Routen beinhaltet zehn Stufen in der längsten linearen Sequenz, mit einer Gesamtstufenzahl von 19, was die hohe Konvergenz der entwickelten Sequenz widerspiegelt. Die Gesamtausbeute über diese Stufen beträgt 6,7% und ist derzeit Gegenstand weiterer Optimierung. Um diese Synthesesequenz zu ermöglichen, konnte ein neuer Substrattyp für die 1,5-anti-selektive Aldol-Reaktion etabliert werden. Die entwickelte Synthese des südlichen Fragments stellt einen wichtigen Meilenstein in der Synthese von Brasilinolid A dar und bildet zusammen mit dem Abschluss der Synthese des nördlichen Fragments eine gute Grundlage für die Totalsynthese von Brasilinolid A.

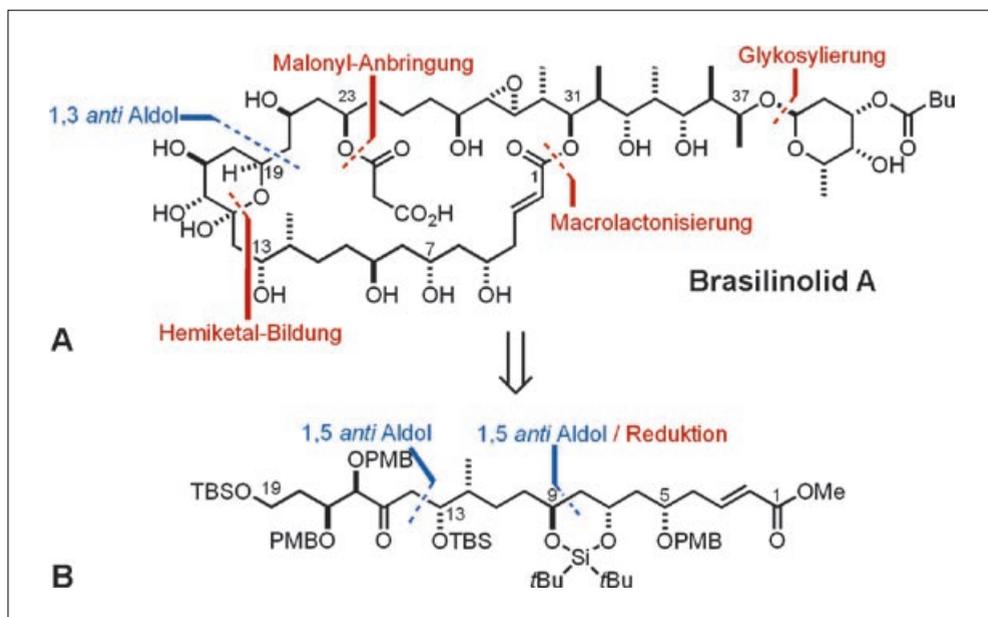


Abb. 1 (A) Naturstoff Brasilinolid A und (B) retrosynthetische Zerlegung zu dem während des Förderzeitraums synthetisierten Fragment 1.

Publikationen

- MÜHLTHAU, F., STADLER, D., GOEPPERT, A., OLAH, G. A., PRAKASH, G. K. S., and BACH, T.: Chiral α -branched benzylic carbocations: Diastereoselective intermolecular reactions with arene nucleophiles and NMR spectroscopic studies. *J. Amer. Chem. Soc.* *128*, 9668–9675 (2006)
- MÜHLTHAU, F., and BACH, T.: Diastereoselective Friedel-Crafts cyclization reactions to 2-substituted 1-henyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalenes. *Synthesis* *2005/19*, 3428–3436 (2005)
- MÜHLTHAU, F., SCHUSTER, O., and BACH, T.: High facial diastereoselectivity in intra- and intermolecular reactions of chiral benzylic cations. *J. Amer. Chem. Soc.* *127*, 9348–9349 (2005)

Dr. rer. nat. Barbara Katrin Müller

(BMBF LPD 9901/8-174)

I was born in 1979. I studied Physics at the Georg-August-Universität Göttingen from 1998–2003 and completed my studies with a diploma thesis about fluorescence correlation spectroscopy in microfluidic devices in the group of Prof. Petra SCHWILLE at the Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry. For my Ph.D. thesis I joined the group of Prof. Christoph BRÄUCHLE at the Ludwig-Maximilians-Universität in Munich from 2003–2007 and graduated with a thesis about ultrasensitive fluorescence methods with applications in Biology. Since 10/2007 I am working as a Leopoldina Postdoctoral Fellow at the Ecole Normale Supérieure in Paris (France) in the group of Dr. Maxime DAHAN.



Project:

A New Imaging and Micromanipulation Tool for Studying Asymmetric Cell Division and Cell Polarity

A new single molecule technique is developed, which combines the advantages of single particle tracking and magnetic tweezers. This new technique enables the investigation of asymmetric cell division and cell polarity *in vivo*. Novel magneto-fluorescent nanoparticles are used that allow for manipulation with magnetic gradients and simultaneous visualization of conjugated target molecules in living cells. Thus, it is possible to generate intracellular activity gradient and to monitor the cell response.

Introduction: Cell polarity plays an essential role in many processes in developmental cell biology. The polarity is often fundamental for differentiation, proliferation and morphogenesis in both unicellular and multi-cellular organisms. However, cell polarity is not only important for a single cell but a prerequisite for asymmetric cell division and thus determinant for different cell fates. The asymmetric cell division (ACD) is essential to generate cellular diversity during the development of multicellular organisms. For the unequal segregation of cell fate determinants the cell first needs to be polarized in response to intrinsic or extrinsic signals before mitosis. Therefore an axis of polarity is created before division, the mitotic spindle is oriented along the axis of polarity and the cell fate determinants are localized to one side of the cell. Thus, those determinants are inherited only to one of the daughter cells, and as a consequence two distinct daughter cells are formed. Stem-cell like *Drosophila* neuroblasts (NBs) are an excellent model system for studying the mechanisms regulating ACD. They divide along their apical-basal axis, and one daughter cell remains a NB while the other one becomes a ganglion mother cell.

Project: Single particle tracking and magnetic tweezers are well-established single molecule techniques, which are ideally suited for *in vivo* applications with high spatiotemporal resolution. The combination of these two methods gives the possibility to tailor the spatial distribution of specific molecules and to monitor the cell response. By applying magnetic forces on the magneto-fluorescent nanoparticles (MNFPs) conjugated to active proteins, we

can generate and visualize activity gradients with controlled orientation and amplitude. Measuring the spatiotemporal dynamics of the cell-fate determinants in response to these imposed gradients will enable in particular the determination of: (i) the molecular mechanisms by which cell fate determinants are asymmetrically localized, (ii) the set of gradient parameters which can promote cell polarization, (iii) the robustness of the cell response to noise.

The setup for visualization and manipulation of the MFNPs were developed and characterized. Therefore, two different magnetic tips were built: an electro-magnetic and a permanent magnetic. The characterization was performed by tracking single magnetic particles with known magnetization in a highly viscous solution. To test the versatility of the new system MFNPs were manipulated in giant multilamellar vesicles as well as in water droplets in oil of a size similar to NBs. Magnetic nanoparticles were successfully manipulated in highly viscous solutions in these vesicles/droplets in order to create asymmetric distributions.

As a first test system the small RhoGTPase CDC42 is used, which plays a central role in establishing cell polarity in all eukaryotic cells. It regulates signaling pathways that control diverse cellular functions including cell morphology, migration, endocytosis and cell cycle progression. This protein was labeled with a Biotin-tag and thus can be coupled to Streptavidin-coated magnetic nanoparticles. By localizing this protein asymmetrically in a living cell morphological changes in the actin cytoskeleton like the formation of filopodia and lamellipodia can be observed.

Publications

SHARMA, S.*, CHAKRABORTY, K.*, MULLER, B. K.*, ASTOLA, N., TANG, Y. C., LAMB, D. C., HAYER-HARTL, M., and HARTL, F. U.: Monitoring protein conformation along the pathway of chaperonin-assisted folding. *Cell* 133/1, 142–153 (2008) (*Authors contributed equally)

Dr. rer. nat. Christian Werner Müller

(BMBF-LPD 9901/8-159)

Geboren 1974. 1995–2000 Studium der Chemie an der Universität Göttingen. 10–12/1998 Erasmus-Aufenthalt, Universidade da Coruna (Spanien). 11/2000 Diplom, Physikalische Chemie. 8/1999–11/2003 Studium der Philosophie an der Universität Göttingen, Zwischenprüfung. 6/2005 Promotion. 7/2005–2/2007 Postdoktorand am Institut für Physikalische Chemie der Universität Göttingen und an der Purdue University, West Lafayette, IN (USA). Seit 3/2007 Leopoldina-Stipendiat am Department of Chemistry, Purdue University, West Lafayette, IN (USA), bei Professor Timothy S. ZWIER.



Projekt:

Experimentelle und theoretische Untersuchungen der konformations- und zustands-spezifischen Isomerisierungsdynamik flexibler Biomoleküle in Molekülstrahlen

Für die Funktion, Wirkungsweise und Selektivität biologisch aktiver Moleküle ist die Molekülkonformation von entscheidender Bedeutung. In molekularen Wiedererkennungsprozessen, für die Funktion von Neurotransmittern und Enzymen oder bei den spezifischen Wechselwirkungen zwischen Wirkstoffen und ihren Rezeptoren ist die Konformation der aktiven Biomoleküle wesentlich. Das vorliegende Forschungsvorhaben richtet ein besonderes Augenmerk auf die laserspektroskopische Untersuchung der konformations- und zustands-spezifischen Isomerisierungsdynamik flexibler Biomoleküle „mittlerer Größe“ in Molekülstrahlen. Ganz allgemein zielen die experimentellen wie theoretischen Untersuchungen auf eine Vertiefung des Verständnisses der intra- und intermolekularen Wechselwirkungen ab, die die dominierenden Konformationen einer Vielzahl von Molekülklassen, ihre relative Häufigkeit und ihre Isomerisierungsdynamik bestimmen. Die Kombination laserspektroskopischer Doppel- und Tripelresonanz-Methoden mit der Erzeugung kalter, isolierter Moleküle in Molekülstrahlen ermöglicht die von Lösungsmiteleinflüssen freie Untersuchung einzelner Konformere. Insbesondere sollen die Potentialbarrieren der Isomerisierung zwischen Konformerpaaren, die relative energetische Stabilität einzelner Konformere, ihre relative Häufigkeit und konformations- und zustands-spezifische Isomerisierungsquantenausbeuten bestimmt werden. Dem Einfluss intermolekularer Wechselwirkungen auf die Isomerisierungsdynamik soll durch die Untersuchung supramolekularer Solvens-Solvat-Cluster Rechnung getragen werden.

Bei den im bisherigen Projektverlauf untersuchten Molekülen handelte es sich einesteils um flexible excitonische Systeme (DPM, 2BP, 2HDPM), die infolge der Ausbildung intramolekularer OH- π -Bindungen in unterschiedlichen Konformeren vorliegen können. Diese Moleküle boten zudem Gelegenheit, den Einfluss der niederfrequenten Torsionsmoden auf die excitonische Wechselwirkung und die innere Konversion zu untersuchen.

Die zwei Isomere des Naphthalins, (Z)- und (E)-Phenylvinylacetylen, wurden unlängst in unserem Arbeitskreis als Produkte der Reaktion UV-angeregten Diacetylen mit Styrol im elektronischen Grundzustand gefunden. Ihre detaillierte spektroskopische Charakterisierung

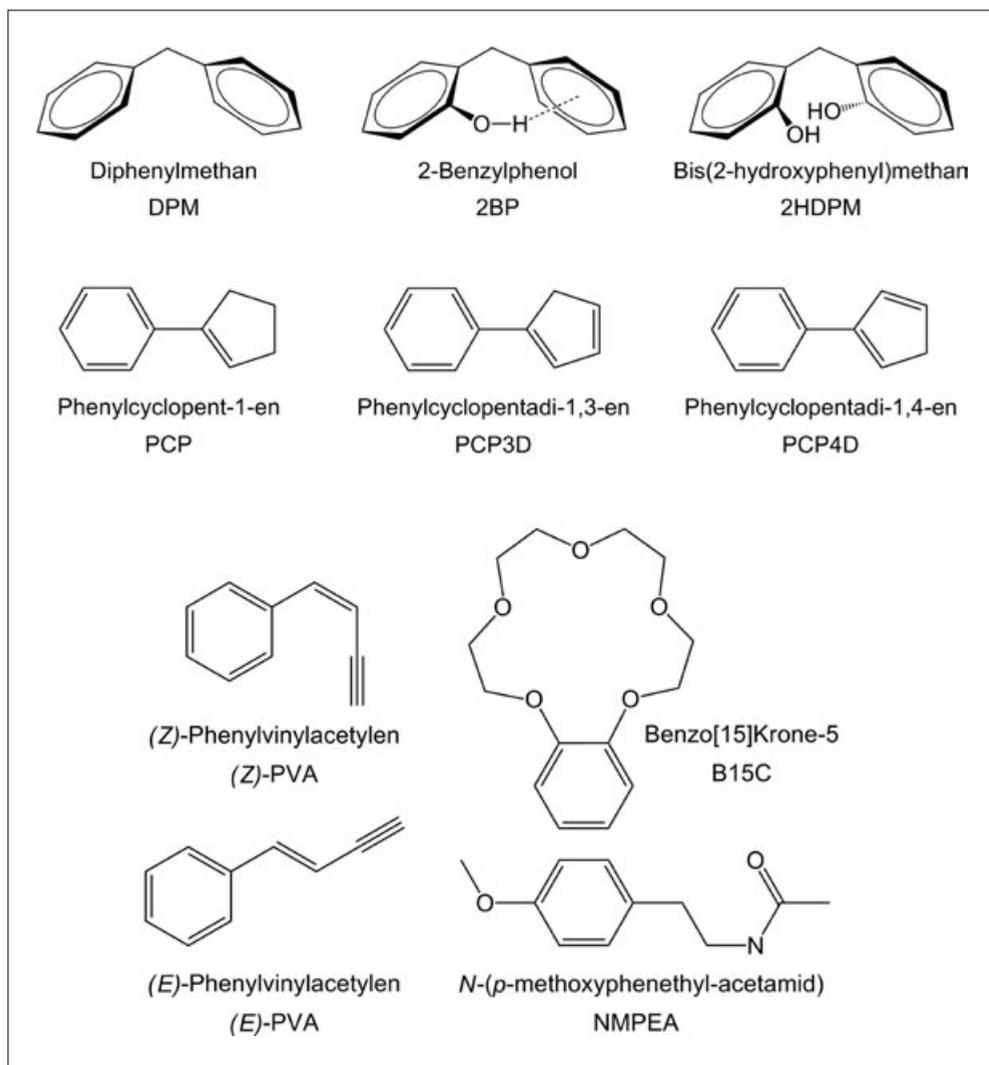


Abb. 1 Untersuchte Moleküle

erfolgte in der Absicht, sie als Intermediate in rußenden Verbrennungsprozessen, Entladungen oder der Atmosphärenphotochemie des Saturntrabanten Titan zu identifizieren, die in einer Kaskade perizyklischer Reaktionen zu Naphthalin und höheren polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH) photoisomerisieren.

PCP, PCP3D und PCP4D wurden als Produkte in Butadien und Vinylacetylen Entladungen identifiziert und boten Gelegenheit, die Potentiale der flexiblen, niederfrequenten Torsionsmoden und deren Asymmetrisierung durch die Fältelungsordinate (*puckering mode*) zu untersuchen.

Besondere Erwähnung verdient die spektroskopische Charakterisierung der Konformere des Kronenethers B15C und seiner einfach und zweifach komplexierten Wassercluster. Kronenether sind seit ihrer Entdeckung vor mehr als 40 Jahren für ihre Eigenschaft bekannt, selektiv Gastsuststrate zu binden, und haben seither vielfältiges Interesse gefunden, beispiels-

weise als Modellverbindungen für Enzym-Substrat-Wechselwirkungen und für den Ionen-transport durch eine Membran, als potentielle Agenzien für die Extraktion von Cäsium- und Strontiumionen aus Abwässern oder als molekular-elektronische Komponenten von Booleschen UND-Schaltungen. Die hier durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass der B15C-Makrozyklus eine außerordentliche Flexibilität besitzt und die Komplexierung mit ein bzw. zwei Wassermolekülen zu drastischen Konformationsänderungen führt.

NMPEA zeichnet sich durch zwei flexible Alkyl-/Alkoxy-Seitenketten aus, die die Untersuchung der Konformerstabilitäten „gestreckter“ und „gefalteter“ Konformere und ihrer Isomerisierungsdynamik gestatten. Kürzlich publizierte Untersuchungen aus unserem Arbeitskreis haben gezeigt, dass NMPEA unter Molekülstrahlbedingungen drei Konformere besitzt: zwei dominierende *gauche*-Konformere (A und B), die durch eine intramolekulare NH- π -Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert werden und ein nur schwach bevölkertes gestrecktes Anti-Konformer (C), das keine Wasserstoffbrückenbindungen enthält. Im bisherigen Projektverlauf konnte zudem die Energiebarriere für die Konformationsisomerisierung A \rightarrow B bestimmt werden. Die Bestimmung der Energiebarrieren für die Isomerisierungen A \rightarrow C und B \rightarrow C ist für die kommenden Monate vorgesehen.

Überdies wird im weiteren Verlauf des zweiten Förderungsjahres ein Hauptschwerpunkt meiner Tätigkeit der spektroskopischen Charakterisierung der Konformere kleiner α -Peptide gelten. Diese Untersuchungen sollen die Ergebnisse der letzten Jahre hinsichtlich der Konformationpräferenzen synthetischer β - und γ -Peptide und gemischter α/β -Peptide ergänzen. Ein zentrales Anliegen dieser Untersuchungen besteht darin, mit den an Molekülen „mittlerer Größe“ gewonnenen mikroskopischen Erkenntnissen das Verständnis der Faltungspräferenzen und der Isomerisierungsdynamik biologisch relevanter Makromoleküle zu erhellen.

Publikationen

- LIU, C.-P., NEWBY, J. J., MÜLLER, C. W., LEE, H. D., and ZWIER, T. S.: Spectroscopic characterization of structural isomers of naphthalene: (E)- and (Z)-phenylvinylacetylene. *J. Phys. Chem. A*, DOI: 10.1021/(jp803254d, Web Release Date: August 12, 2008, submitted for publication in the special issue: A: Stephen Leone Festschrift.)
- PILLSBURY, N. R., STEARNS, J. A., MÜLLER, C. W., PLUSQUELLIC, D. F., and ZWIER, T. S.: State-specific studies of internal mixing in a prototypical flexible bichromophore: Diphenylmethane. *J. Chem. Phys.* (2008) (accepted)
- MÜLLER, C., SCHROEDER, J., and TROE, J.: Intramolecular hydrogen bonding in 1,8-dihydroxyanthraquinone, 1-aminoanthraquinone, and 9-hydroxyphenalenone studied by picosecond time-resolved fluorescence spectroscopy in a supersonic jet. *J. Phys. Chem. B* 110, 19820–19832 (2006)
- MÜLLER, C., KLÖPPEL-RIECH, M., SCHRÖDER, F., SCHROEDER, J., and TROE, J.: Fluorescence and REMPI spectroscopy of jet-cooled isolated 2-phenylindene in the S1 state. *J. Phys. Chem. A* 110, 5017–5031 (2006)

Dr. rer. nat. Kevin Pagel

(BMBF LPD 9901/8-185)

Born 1979. 1998–2003 Studies in Chemistry, University of Leipzig and Universitaire Instelling Antwerpen (UIA) (Belgium). 2003–2007 Ph.D. student in the group of Prof. B. KOKSCH, University Leipzig and FU Berlin. 2006 Bert L. Schram Young Investigators Award (29th European Peptide Symposium). Ph.D. 12/2007. 2007–2008 Research associate in the group of Prof. B. KOKSCH, FU Berlin. Since 9/2008 Leopoldina Fellow in the group of Prof. C. V. ROBINSON, University of Cambridge (UK).



Project:

Development of Tools to Retain the Native Conformation of Proteins and Protein Assemblies in the Gas Phase

Electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) is a valuable and well established tool to characterize the composition of small amounts of biologically relevant macromolecules and has therefore emerged as one of the key techniques in modern proteomics. Moreover, recent investigations of various proteins and protein assemblies revealed that prominent structural features can also be retained in the gas phase at certain conditions. This facilitates the structural characterization of difficult proteinaceous species which are usually not amenable to study by conventional methods such as X-ray crystallography and NMR spectroscopy. As a consequence, ESI-MS is one of the most rapidly evolving techniques in structural biology (for an excellent recent review see BENESCH et al. 2007).

Mass spectrometry experiments that address the stoichiometry and structure of intact biomolecular assemblies require conservation of the native conformation during generation, transfer, storage, and detection of the ions. In other words, it is necessary to optimize a set of parameters to maintain, or at least not significantly disturb the different types of interactions which govern folding and oligomerization in solution. Since gas-phase conditions are explicitly different to the native aqueous environment of a protein, this is a challenging prerequisite which is usually difficult to achieve. In this context, the accumulation of equal charges at the exterior of ESI-generated ions often causes unfavorable Coulomb repulsions that may lead to unfolding of the macromolecule or dissociation of the macromolecular assembly, respectively. In practice, this means that ions with a low net charge usually retain their globular, native-like structure, while highly charged ions tend to unfold and adopt an extended conformation in the gas phase. The ability to directly control the overall charge state of large biomolecules within the ESI process is limited. Thus, there is an urgent need for tools which limit the charge-driven unfolding of proteins and protein assemblies in the gas phase. Within this project, different strategies, such as the direct reduction of the charge state and/or the non-covalent attachment of small charge-shielding molecules, will be developed and applied.

The idea of reducing the charge of large biomolecular ions is not new and was first introduced in 1999 (SCALF et al. 1999). Here, charge reduction was achieved by collisions between

an ESI-generated aerosol and bipolar, i. e. positively and negatively charged gas molecules. However, thus far this charge-reduction strategy has not been used extensively to determine or quantify the effect of charge on gas-phase conformation. A charge-neutralization chamber analogous to that reported by SCALF et al. (1999) has been constructed recently in our group and will be used extensively within this project. A second strategy to avoid intramolecular Coulomb repulsions in the gas phase is to attach small, charge-shielding molecules at the exterior of the protein ion. These molecules can either be introduced selectively as a “decharging cap” at protonated side chains (e. g. crown ethers at charged Lys residues), or attached nonselectively in the sense of a charge covering shell (e. g. shells of water, salts, and sugars). In both cases, non-covalent complexation results in a blurring of charges. Therefore, Coulomb repulsions within the protein assembly are expected to be reduced significantly, which should, consequently, help to maintain the solution-like conformation in the solvent-free environment of the mass spectrometer.

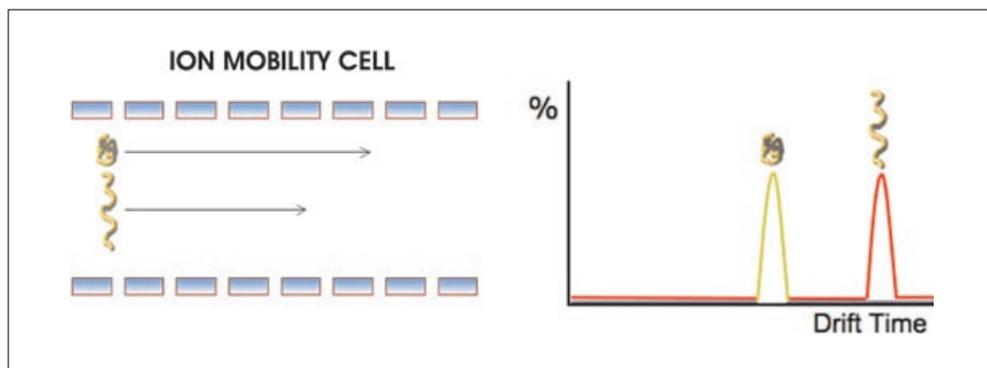


Fig. 1 Simplified illustration of an ion mobility separation. *Left:* Ions traveling through the ion mobility cell. *Right:* Drift time distribution for similar ions of different shape. Ions with a compact form exhibit a higher mobility and thus display a shorter drift time than the same ion in an extended conformation.

The development of approaches to retain the native-like conformation of proteins and protein assemblies in the gas phase additionally requires the parallel development of tools that enable the structural characterization of gas-phase ions. One of the most suitable techniques to monitor conformational aspects in the absence of solvent is ion mobility (IM) spectrometry. A simplified illustration of the underlying principles is shown in Figure 1. The basic concept of ion mobility involves the injection of a package of ions into a cell filled with inert neutral gas. Aided by an electric field, these ions travel through the cell and collide with neutral gas molecules. Those ions having a compact globular shape undergo fewer collisions with the gas (i. e., their collision cross section is small) and thus possess a higher mobility than ions having a more extended conformation. This effectively allows the separation of ions with similar m/z values but different sizes and conformations and therefore provides valuable insights into the structural arrangement of proteins and protein assemblies in the gas-phase. Within this project, commercially available hybrid IM-MS Systems (Waters SynaptTM HDMSTM), which have been customized for the analysis of large non-covalent assemblies, will be used.

References

- BENESCH, J. L. P., RUOTOLO, B. T., SIMMONS, D. A., and ROBINSON, C. V.: Protein complexes in the gas phase: Technology for structural genomics and proteomics. *Chem. Rev.* 107/8, 3544–3567 (2007)
- SCALF, M., WESTPHALL, M. S., KRAUSE, J., KAUFMAN, S. L., and SMITH, L. M.: Controlling charge states of large ions. *Science* 283/5399, 194–197 (1999)

Publications

- PAGEL, K., and KOKSCH, B.: Following polypeptide folding and assembly with conformational switches. *Curr. Opin. Chem. Biol.* (2008) (accepted)
- PAGEL, K.; SERI, T., BERLEPSCH, H. VON, GRIEBEL, J., KIRMSE, R., BÖTTCHER, C., and KOKSCH, B.: How metal ions affect amyloid formation – Cu²⁺ and Zn²⁺ sensitive peptides, *ChemBioChem*, 9/4, 531–536 (2008)
- PAGEL, K., WAGNER, S. C., SAMEDOV, K., BERLEPSCH, H. VON, BÖTTCHER, C., and KOKSCH, B.: Random coils, β -sheet ribbons and α -helical fibers – one peptide adopting three different secondary structures at will. *J. Amer. Chem. Soc.* 128/7, 2196–2197 (2006)

Dr. rer. nat. Steffen U. Pauls

(BMBF LPD 9901/8-169)

Geboren 1975 in Ottawa (Kanada). 1995–2001 Studium im Fach Ökologie an der Universität Duisburg-Essen. 1998–1999 Auslandsstudium (Gewässerökologie) an der University of Newcastle (Australien) mit einem Stipendium des Deutschen Akademischen Austauschdienstes (DAAD). 2001–2004 Promotion am Forschungsinstitut Senckenberg und der Universität Duisburg-Essen. 2005–2006 DAAD-Postdoktoranden-Stipendiat am Field Museum, Chicago, IL (USA). 2006–2007 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Forschungsinstitut Senckenberg Frankfurt (Main), Abteilung Limnologie und Naturschutzforschung. Seit 9/2007 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiat in der Abteilung Entomologie an der University of Minnesota, MN (USA).



Projekt:

Evolution of Endemism in Biodiversity Hotspots: Speciation Processes and Phylogeography of Aquatic Insects in the Chilean Andes

Die Flora und Fauna Südamerikas gilt als extrem divers und weist ein außergewöhnlich hohes Maß an endemischen Arten auf. Insbesondere die Winterregengebiete Chiles beheimaten sehr viele Endemiten. Entsprechend wird diese Region von *Conservation International* als einer von weltweit 34 „Biodiversity Hotspots“ eingestuft. Unter den Köcherfliegen – der artenreichsten Wasserinsektenordnung – liegt dieser Grad an Endemiten in Chile bei fast 100% und somit deutlich höher als in den artenreicheren, tropischen Gebieten Südamerikas. Eine diverse und strikt endemische Gruppe ist die *annulicornis*-Artengruppe in der Köcherfliegen-gattung *Smicridea*. Diese Artengruppe ist daher geeignet, um Diversifikations- und Artbildungsprozesse sowie die Evolution des lokalen Endemismus zu untersuchen.

Diversifikation wird häufig als Folge von Populationsfragmentation verstanden, welche durch geologische Ereignisse oder Klimawandel bedingt wird. Im subtropischen Südamerika sind Vulkanismus, andere Gebirgsbildungsprozesse und die pleistozänen Klimaschwankungen vermutlich die primären Faktoren, die zur Isolierung von Teilpopulationen und folglich zur Artbildung geführt haben. Interessant in Chile ist vor allem die Anordnung der Nord-Süd ausgerichteten parallelen Gebirgsketten (die Küstenkordillere im Westen, die Anden im Osten) und die Eingrenzung der gemäßigten Zone durch die extrem trockene Atacama-Wüste im Norden und Patagonien im Süden. Dies führt zur heutigen extremen Isolierung der Region.

Im hier vorgestellten Projekt möchte ich die Rolle von historischem Klimawandel auf Änderungen in der Populationsdynamik und -struktur, und der daraus resultierenden Fragmentation und Diversifizierung erforschen. Dazu werde ich beispielhaft die genetische Populationsstruktur, Phylogeographie und molekulare Phylogenie der chilenischen *Smicridea*-Arten untersuchen. Es kommen mitochondriale und nukleäre Sequenzdaten sowie für das Projekt neu entwickelte Mikrosatellitenloci zum Einsatz.

Das Projekt hat drei konkrete Ziele:

- Entwickeln und Testen von Hypothesen zur Entstehung des Endemismus und zur Evolution montaner Wasserinsekten Chiles;
- Untersuchung der historischen Populationsdynamik chilenischer Wasserinsekten und Vergleich mit der uns bekannten pleistozänen Populationsdynamik in den gemäßigten Breiten der nördlichen Hemisphäre;
- Zuordnung von Larven und adulten Tieren der chilenischen *Smicridea*-Arten, basierend auf DNA-Sequenzen, und Beschreiben der bisher unbekanntenen Larvenstadien. Erarbeiten eines Bestimmungsschlüssels für die Larven dieser Artengruppe.

Basierend auf phylogenetischen Analysen von Sequenzdaten mehrerer Gene werde ich prüfen, wann und wie sich die vielen Endemiten in Chile evolviert haben. Diese Ergebnisse werden mit Studien aus anderen endemitenreichen Artengruppen der gemäßigten Breiten anderer Kontinente, z. B. Europas, verglichen, um mögliche Diversifikationsmuster zu erkennen. Dieser Teil der Untersuchung soll auch klären, inwieweit es noch Hybridisierung zwischen sympatrisch vorkommenden, nah verwandten Arten gibt.

Auf der Grundlage von mitochondrialen Sequenzdaten des mtCOI-Gens und von Allelvariationen in neu entwickelten Mikrosatellitenloci werde ich die historische Populationsdynamik der beiden inselartig verbreiteten Arten *Smicridea mucronata* und *S. pucara* untersuchen. Insbesondere möchte ich dabei die Rolle des Zentraltals („Valle Central“) in den mittleren Breiten Chiles zwischen Anden und Küstengebirge als rezente und historische Ausbreitungsbarriere untersuchen. Die Daten sollen mit Ergebnissen aus anderen temperierten Gebieten der Welt, vor allem Europa und Nordamerika, verglichen werden. Ein solcher Vergleich wird allgemeine Phänomene in der pleistozänen Geschichte von temperierten Arten aufdecken. Ferner können Gemeinsamkeiten in der Reaktion von aquatischen Wirbellosen auf historische Klimaveränderungen erarbeitet werden und die Hypothese überprüft werden, ob aquatische Wirbellose eine andere pleistozäne Geschichte haben als terrestrische Arten.

Die molekulare Phylogenie soll auch als Basis dafür dienen, die bislang noch unbekanntenen Larvenstadien der *Smicridea*-Arten zu identifizieren. Die anschließende morphologische Untersuchung der Larven nach Differentialmerkmalen wird in einem Bestimmungsschlüssel der Arten zusammengefasst. Mit diesem Bestimmungsschlüssel möchte ich einen Beitrag zur besseren Erfassung und zum Schutz der Wasserinsektenfauna Chiles leisten sowie Möglichkeiten der Bewertung und des Managements von Fließgewässern anhand der Makrozoobenthosarten verbessern helfen.

Publikationen

- ENGELHARDT, C., PAULS, S. U., and HAASE, P.: Population genetic structure of the caddisfly *Rhyacophila pubescens*, Pictet 1834, north of the Alps. *Fund. Appl. Limnol.* (in press)
- LEHRMAN, S., PAULS, S. U., and HAASE, P.: Contrasting patterns of population structure in the montane caddisflies *Hydropsyche tenuis* and *Drusus discolor* in central European highlands. *Freshwater Biol.* (in press)
- THEISSINGER, K., FELDHEIM, K. A., TAUBMANN, J., SEITZ, A., and PAULS, S. U.: Isolation and characterization of 10 highly polymorphic di- and trinucleotide microsatellite markers in the mayfly *Ameletus inopinatus* (Ephemeroptera: Siphonuridae). *Mol. Ecol. Res.* (in press)
- SUNDERMANN, A., PAULS, S. U., CLARKE, R. T., and HAASE, P.: Within-stream variability of benthic invertebrate samples and EU Water Framework Directive assessment results. *Fund. Appl. Limnol.* (in press)
- PAULS, S. U., GRAF, W., HAASE, P., LUMBSCH, H. T., and WÄRINGER, J.: Grazers, shredders and filtering carnivores – The evolution of feeding ecology in the Drusinae (Trichoptera: Limnephilidae): insights from a molecular phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46/2, 776–791 (2008)

- WARINGER, J., GRAF, W., PAULS, S. U., VINCENTINI, H., and LUBINI, V.: DNA based association and description of the larval stage of *Drusus melanchaetes* McLachlan, 1876 (Trichoptera: Limnephilidae: Drusinae) with notes on ecology and zoogeography. *Limnologica* 38/1, 34–42 (2008)
- PAULS, S. U., FELDHEIM, K. A., and HAASE, P.: Isolation and characterization of microsatellite markers in the caddisfly *Drusus discolor* (Trichoptera: Limnephilidae). *Mol. Ecol. Notes* 7/1, 150–152 (2007)
- WARINGER, J., GRAF, W., PAULS, S., and LUBINI, V.: The larva of *Drusus nigrescens* Meyer-Dür, 1875 (Trichoptera: Limnephilidae: Drusinae) with notes on its ecology, genetic differentiation and systematic position. *Ann. Limnol. – Int. J. Lim.* 43/3, 161–166 (2007)
- PAULS, S. U., LUMBSCH, H. T., and HAASE, P.: Phylogeography of the montane caddisfly *Drusus discolor*: evidence for multiple refugia and periglacial survival. *Mol. Ecol.* 15/8, 2153–2169 (2006)

Dr. rer. nat. Britta Planer-Friedrich

(BMBF LPD 9901/8-138)

Geboren 15. 9. 1975 in Gunzenhausen. 2000 Diplom Geologie (Technische Universität Freiberg). 2004 Promotion Hydrogeologie/Geochemie (TU Freiberg, Stipendiat der Studienstiftung des Deutschen Volkes) zum Thema „Volatile Metall(oid)e in aquatischen Systemen“. 2004–2005 Wissenschaftlicher Mitarbeiter mit Lehrdeputat (TU Freiberg), Gastwissenschaftler am Marie-Curie-Exzellenzzentrum für Voltammetrie in Liverpool (Großbritannien). 2005–2007 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiatin, Trent University, Peterborough (Kanada), zum Thema „Umweltrelevanz von Arsen-Schwefel-Verbindungen“. Ab 10/2008 Juniorprofessur Umweltgeochemie an der Universität Bayreuth mit DFG-Emmy-Noether-Nachwuchsgruppe.



Projekt:

Umweltrelevanz von Arsen-Schwefel-Verbindungen

Vortrag:

Ein giftiger Cocktail aus Yellowstones heißen Quellen – die Bedeutung von Thioarsenaten in der Umwelt

Im ältesten Nationalpark der Welt, dem 1872 gegründeten Yellowstone-Nationalpark, brodelt in unzähligen heißen Quellen ein teuflischer Cocktail: Der Geruch nach faulen Eiern hängt in der Luft, und bereits seit Ende des 19. Jahrhunderts weiß man, dass hier eines der beliebtesten Gifte des Mittelalters ganz natürlich im Wasser vorkommt: Arsen. Seit etwa drei Jahrzehnten gibt es intensive Untersuchungen zur Bildung, Umwandlung und Mobilität des Arsens in Yellowstones heißen Quellen. Man stellte dabei fest, dass unmittelbar nach Austritt der Tiefenwässer Arsen in seiner reduzierten Form als Arsenit prädominiert und erst nach Kontakt mit Luftsauerstoff langsam zu Arsenat oxidiert; Mikroorganismen beschleunigen den Oxidationsprozess. Da generell Arsenit als mobiler und toxischer angesehen wird als Arsenat, gilt also die Annahme, dass sich mit zunehmender Fließdistanz von der Quelle Mobilität und Toxizität des Arsens verringern. Dass reduzierter Schwefel, der in Form von H_2S entweicht und den charakteristischen Geruch nach faulen Eiern hervorruft, die Arsenspezifizierung in suboxischen bis anoxischen Wässern gewaltig verändern kann, konnte ich erstmalig 2006 im Rahmen meines Postdoktoranden-Projektes nachweisen.

Grundlage ist die Bildung sogenannter Thioarsen-Verbindungen durch den Ersatz von Sauerstoff gegen reduzierten Schwefel. Theoretisch existieren zwei monomere Serien: drei Thioarsenite $[(H_xAsS_yO_{3-y})^{(3-x)-} y = 1-3]$ und vier Thioarsenate $[(H_xAsS_yO_{4-y})^{(3-x)-} y = 1-4]$. Eine Polymerisierung tritt erst nahe der Sättigung bezüglich Orpiment (As_4S_6) ein. Das Verhalten der Thioarsen-Verbindungen gegenüber Standardanalysenverfahren sowie deren Mobilität, Toxizität und Umweltrelevanz ist bislang vor allem für die Thioarsenite noch weitgehend unklar. – Dabei weisen neben geothermalen Wässern gerade einige der derzeit größten Arsen-Problemgebiete, wie z. B. Bangladesch, suboxische bis anoxische, sulfidische Bedin-

gungen auf, die die Bildung von Arsen-Schwefel-Verbindungen wahrscheinlich erscheinen lassen (am Beispiel Grundwasser aus Bangladesh konnten wir dies mit dem Nachweis von Monothioarsenat direkt zeigen).

Im Rahmen meines Postdoktoranden-Projektes charakterisierten wir zunächst aus synthetisierten Standards die vier Thioarsenate Mono-, Di-, Tri- und Tetrathioarsenat in Lösung bezüglich ihrer Bildung und Zerstörung unter verschiedenen pH-, Redox- und Temperaturbedingungen sowie bei Anwesenheit von elementarem Schwefel, Sulfid, Polysulfiden und Thiosulfat mittels Ionenchromatographie induktiv-gekoppelter Plasmamassenspektrometrie (IC-ICP-MS) und *Electrospray*-Massenspektrometrie (ES-MS). Dabei stellte sich heraus, dass nur Monothioarsenat über den gesamten pH-Bereich stabil ist, während sich Tetrathioarsenat schon bei alkalischen pH-Werten vollständig zu Trithioarsenat sowie Di- und Trithioarsenat bei sauren pH-Werten zu Arsenit umwandeln. Starkes Ansäuern – bislang eine Routinetechnik zur Arsenspeziesstabilisierung – führt zur Ausfällung amorpher Arsen-Schwefel-Mineralphasen und damit zu einer Verringerung des Gesamtarsengehaltes in Lösung. Als bislang optimale Stabilisierungsmethode erwies sich das Schockgefrieren der filtrierten Proben auf Trockeneis.

Mit Hilfe dieser Technik konnten wir 2006 zum ersten Mal zeigen, dass anorganische Thioarsenate in geothermalen Wässern des Yellowstone-Nationalparks über einen weiten pH-Bereich von 2 bis 10 auftreten. In neutralen bis alkalischen Wässern sind sie dabei die dominanten Arsenspezies und machen über 80% des Gesamtarsens aus. Monothioarsenat wurde wie in den Laborexperimenten sogar unter sauren Bedingungen (bis 30% des Gesamtarsens) gefunden. In der mikrobiell katalysierten Oxidation von Arsenit zu Arsenat nehmen Thioarse-



Abb. 1 Hydrogeochemische Probenahme an einer heißen Quelle und ihrem Abflusssystem im Gibbon Geyser Basin, Yellowstone-Nationalpark.

nate eine Schlüsselfunktion ein, wie wir sowohl an den Abflusskanälen heißer Quellen in Yellowstone als auch in Laborexperimenten mit Wasser vom Mono Lake zeigen konnten. Dabei spielt der schrittweise Ligandenaustausch von Trithioarsenat über Di- und Monothioarsenat zu Arsenat überraschenderweise nur eine untergeordnete Rolle. Der dominante Prozess ist die Umwandlung von Trithioarsenat zunächst zu Arsenit, das erst in einem weiteren Schritt zu Arsenat oxidiert wird. Damit wird die klassische Annahme der abnehmenden Toxizität und Mobilität von Arsen mit zunehmendem Abstand von der heißen Quelle völlig auf den Kopf gestellt.

Untersuchungen des Hydridbildungsverhaltens von Thioarsenaten zeigten auch, warum Thioarsenate bislang trotz ihrer Dominanz nie detektiert wurden. Routinemäßig eingesetzte Hydrid-basierte Analysetechniken sind zur Arsenbestimmung in sulfidischen Wässern völlig ungeeignet. Per Definition unterscheiden sie nur zwischen einer reduzierten As(III)- und einer oxidierten As(V)-Fraktion. Sie sehen also Thioarsenate als individuelle Spezies gar nicht vor, aufgrund ihres Oxidationszustandes müssten diese aber in der As(V)-Fraktion mitbestimmt werden. Für Monothioarsenat trifft dies zu. Tetra-, Tri- und teils auch Dithioarsenat werden bei Standardverfahren aber zu Arsenit umgewandelt und damit in der As(III)-Fraktion mitbestimmt. Ausfällungen im sauren Bereich führen darüber hinaus auch zu einem Verlust an gelöstem Gesamtarsen. Entsprechende Fehler ergeben sich für die Interpretation der Speziesmobilität und -toxizität.

Wie giftig der Thioarsenat-Cocktail in Yellowstones heißen Quellen denn nun wirklich ist, war zunächst völlig unbekannt. Unsere Tests mit dem biolumineszierenden Bakterium *Vibrio fischeri* ergaben, dass die Toxizität mit zunehmender Anzahl an SH-Gruppen, also von Mono- über Di- bis Trithioarsenat, deutlich zunimmt. Monothioarsenat ist dabei deutlich weniger toxisch als Arsenat, was insofern überraschend ist, als beide Verbindungen strukturell sehr ähnlich sind. Trithioarsenat ist vor allem bei Langzeitexposition toxischer als Arsenit, was auf einen fehlenden Detoxifikationsmechanismus oder fehlende Adaptation hinweist. Eine interessante Entdeckung war, dass bei gleichzeitiger Anwesenheit von Arsenit und Trithioarsenat die Toxizität deutlich niedriger war als im Einzelexperiment mit Arsenit oder Trithioarsenat. Dies könnte auf eine antagonistische toxikologische Interaktion zwischen Arsenit und Trithioarsenat hindeuten. Ob dieses Toxizitätsmuster allerdings ebenso für höhere Lebewesen gilt, ist bislang nicht getestet.

Derzeit untersuchen wir mit Hilfe von Röntgenabsorptionsspektroskopie an den Synchrotron-Einrichtungen in Grenoble und Stanford die Bildung von Thioarsenaten versus Thioarseniten, nachdem wir für letztere in allen bisherigen Experimenten und Analysen mittels IC-ICP-MS und ES-MS keinen Hinweis finden konnten. Da zur Stabilität der Thioarsenite bislang kaum etwas bekannt ist, könnten sie während der Analyse oxidiert und somit zusammen mit den Thioarsenaten bestimmt werden. Einmal mehr könnte sich dann der Cocktail aus Yellowstones heißen Quellen als komplexer erweisen als gedacht.

Publikationen

- PLANER-FRIEDRICH, B., and WALLSCHLÄGER, D.: A critical investigation of hydride generation-based arsenic speciation in sulfidic waters. *Environ. Sci. Technol.* (submitted)
- PLANER-FRIEDRICH, B., FRANKE, D., MERKEL, B., and WALLSCHLÄGER, D.: Acute toxicity of thioarsenates to *Vibrio fischeri*. *Environ. Toxicol. Chem.* DOI: 10.1897/07-633.1 (2008)
- FISHER, J. C., WALLSCHLÄGER, D., PLANER-FRIEDRICH, B., and HOLLIBAUGH, J. T.: A new role for sulfur in arsenic cycling. *Environ. Sci. Technol.* 42, 81–85 (2008)
- PLANER-FRIEDRICH, B., LONDON, J., MCCLESKEY, R. B., NORDSTROM, D. K., and WALLSCHLÄGER, D.: Thioarsenates in geothermal waters of Yellowstone National Park – determination, preservation, and geochemical importance. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5245–5251 (2007)

Dr. rer. nat. Bettina Posselt

(BMBF LPD 9901/8-170)

Geboren 1977. 1996–2003 Diplomstudium der Physik an der Ruprecht-Karls-Universität in Heidelberg, der Martin-Luther-Universität in Halle (Saale), der Friedrich-Schiller-Universität Jena und an der Staatlichen Universität St. Petersburg (Russland). 2/2003 Diplom in Physik, Diplomarbeit: „Millimeterbeobachtungen in Sternentstehungsgebieten“, Betreuer: Prof. Dr. T. HENNING (jetzt Max-Planck-Institut für Astronomie Heidelberg). 2003–2006 Doktorandin, Astrophysikalisches Institut und Universitätssternwarte (AIU), Friedrich-Schiller-Universität Jena, und am Max-Planck-Institut für extraterrestrische Physik (MPE), Garching. 12/2006 Promotion in Astrophysik, Doktorarbeit: „Isolierte Neutronensterne und ihre sub-stellaren Begleiter“, Betreuer: Prof. Dr. R. NEUHÄUSER (AIU Jena), Prof. Dr. G. HASINGER (MPE Garching). 12/2006–1/2007 Fortbildungsstipendium der Max-Planck-Gesellschaft. 1/2007–10/2007 CNRS-Postdoktorandin am Observatoire de Strasbourg (Frankreich). Seit 11/2007 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiatin am Harvard-Smithsonian Center for Astrophysics, Cambridge, MA (USA).



Projekt:

Interstellare Absorption und die Suche nach neuen thermisch emittierenden Neutronensternen

Neutronensterne repräsentieren die dichteste, beobachtbare Materie im Universum. Die physikalische Zustandsgleichung dieser Materie ist gegenwärtig unbekannt. Einen wichtigen Beitrag zur Einschränkung diskutierter Zustandsgleichungen liefern die Radiusmessungen an Neutronensternen mit thermischer Röntgenstrahlung, bei denen man im Gegensatz zu anderen Neutronensternen direkt die Emission der Sternoberflächen beobachtet. Im Moment sind nur sieben dieser Neutronensterne bekannt. Ihre weiche (bis zu 1 keV) Röntgenstrahlung wird stark durch das interstellare Medium (ISM) gestreut und absorbiert, was eine der Ursachen für die geringe Anzahl bekannter Objekte dieser Art ist.

Ziele meines Projektes sind zum einem das Erstellen eines dreidimensionalen Modells des interstellaren Mediums für die Röntgenastronomie, zum anderen die Suche nach neuen Kandidaten thermisch emittierender Neutronensterne.

Die meisten Daten zur interstellaren Extinktion liegen in anderen Wellenlängen als im Röntgenbereich vor. Zuerst müssen daher die Umrechnungen der Extinktionswerte zwischen den verschiedenen Wellenlängenbereichen auf ihre Genauigkeit und Zuverlässigkeit evaluiert werden. Dabei stellte sich beispielsweise heraus, dass Infrarotbeobachtungen sowohl eine sehr gute Korrelation zu Werten aus dem Röntgenbereich aufweisen als auch weitestgehend unabhängig von Schwankungen gewisser Parameter, z. B. der Elementhäufigkeiten oder der Staubkorngröße des interstellaren Mediums, sind. Allerdings sind Infrarotextinktionsmessungen erst ab einer relativ großen Säulendichte an Materie mit ausreichender Präzision durchführbar. Andere Extinktionsbestimmungen, z. B. über Messungen des CO-Moleküls im Radiobereich, sind abhängig vom (als konstant angenommenen) Gas-zu-Staub-Verhältnis.

Ein besonders kritischer Parameter für das Erstellen eines dreidimensionalen ISM-Modells ist jedoch die Entfernung der jeweiligen Messpunkte. Parallaktische Messungen von Sternen im sichtbaren Licht, seltener auch im Radiofrequenzbereich, bieten die besten Distanzen. Leider sind solche Distanzen in ausreichender Anzahl nur für die sehr nahe Sonnenumgebung bekannt.

Eine aussichtsreiche Methode zur Bestimmung eines *lokalen* dreidimensionalen ISM-Modells ist das Analysieren möglichst vieler Sterne auf Spektraltyp und Extinktion im sichtbaren Licht, gefolgt von der Bestimmung der spektroskopischen Parallaxe mit Hilfe theoretischer Sternmodelle. Die so erhaltenen Sternentfernungen ermöglichen den Aufbau eines 3D-Extinktionsmodells.

Gegenwärtig werden im Rahmen meines Projekts am Very Large Telescope der Europäischen Südsternwarte Sternfelder um zwei der thermisch emittierenden Neutronensterne beobachtet, um Spektraltypen zu bestimmen. Gleichzeitig wurden die ersten photometrischen Beobachtungen an amerikanischen Teleskopen durchgeführt. Hierbei ist extreme Genauigkeit nötig, da die interessierenden Extinktionswerte sehr klein sind.

Das Ziel ist die Bestimmung der Entfernungen der beiden Neutronensterne mit Hilfe der aus der Röntgenemission bestimmten Extinktion. Gegenwärtig können die Distanzen zu diesen beiden Neutronensternen auf keinem anderen Weg bestimmt werden. Die Entfernung ist kritisch für die Bestimmung der Sternradien und damit der Zustandsgleichung. So wird z. B. für eines der beiden Objekte die Möglichkeit eines Quarksterns (sehr kleiner Radius) diskutiert.

Um neue Kandidaten für Neutronensterne mit thermischer Röntgenstrahlung zu finden, bedarf es guter Röntgenpositionen und tiefer optischer (Nach-)Beobachtungen. Letztere sind sehr zeitaufwendig und erfordern eine bereits sehr gute Kandidatenvorauswahl. Dies kann mit Hilfe von Archivdaten der im Orbit befindlichen Röntgensatelliten *XMM-Newton* und *Chandra* geschehen. Eine Einschränkung auf vielversprechende Himmelsregionen erfolgt mit Hilfe der Verteilungsvorhersagen der sogenannten Populationssynthese dieser Neutronensterne, die ich gemeinsam mit Kollegen bereits durchgeführt habe. Gegenwärtig bin ich an einem Röntgenquellenidentifizierungsprogramm beteiligt, bei dem u. a. das Auffinden neuer Neutronensterne erwartet wird. Die Identifikation der Quellen erfolgt anhand von Beobachtungen oder Archivdaten im ganzen Spektralbereich – von Radiofrequenzen bis zu Gammastrahlen.

Publikation

POSSELT, B., POPOV, S. B., HABERL, F., TRÜMPER, J., TUROLLA, R., and NEUHÄUSER, R.: The needle in the haystack: where to look for more isolated cooling neutron stars. *Astronomy & Astrophysics* 482, 617–629 (2008)

Dr. rer. nat. Julia Rastelli

(BMBF LPD 9901/8-178)

Born May 14, 1979. Mag. rer. nat. 2003 University of Vienna (Austria); Human Biology, with specialization in Immunology and Tumor Biology. Ph.D. thesis 2004–2007, Helmholtz Zentrum München – German Research Center for Environmental Health, Munich, Germany, funded by Boehringer Ingelheim Fonds. Ph.D. thesis title: “Latent Epstein-Barr virus infection and the germinal center reaction”. Ph.D. 6/2007 Ludwig-Maximilians University of Munich, Germany. Since 09/2007 Postdoctoral Fellow, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA (USA), Laboratory of Dr. Robert A. WEINBERG. Leopoldina Postdoctoral Fellowship.



Project:

Cross-talk between Tumors and the Sympathetic Nervous System

Cancer has long been studied in a reductionist way as a genetic disease of single cells. In the last decades it became increasingly clear that cancer cells are not isolated autonomous cells, but that many traits of tumors arise from the interaction of malignant cells with the non-malignant surroundings. Most tumors are histologically complex tissues consisting of neoplastic cells and a variety of tumor stromal cells, such as fibroblasts, myofibroblasts, immune and inflammatory cells, and blood vessel-forming cells. These stromal cells provide a variety of functions that are critical to the survival and proliferation of the neoplastic cells.

However, even this so-called tumor microenvironment cannot be regarded as an autonomous structure within the body. Most malignant tumors spread metastases all over the body, a phenomenon that accounts for the majority of cancer deaths. In addition, it was recently shown that tumors actively perturb the bone marrow to activate and recruit supportive stromal cells from the bone marrow to the tumor site. These observations indicate that cancer, at least in advanced stages, is a systemic disease.

The nervous system is the major regulatory organ of the human organism, and many cells found in the tumor stroma, i. e. immune and inflammatory cells, are known to communicate with the nervous system. However, there is not much known if and how the nervous system interacts with malignant tumors.

The aim of my project is to study the cross-talk between tumors and the sympathetic nervous system (SNS). Many tumors (cancer cells themselves and adjacent stroma cells) secrete cytokines that are also released during a normal immune response, and in the latter were shown to activate the sympathetic nervous system. Moreover, many cancer cells express adrenergic receptors, therefore most likely able to respond to SNS mediators. Using *in vitro* and *in vivo* tumor models, I am currently studying the role of the sympathetic nervous system in tumor initiation, tumor progression, tumor-stroma interaction and metastasis.

Publications

- HOEMIG-HOELZL, C., HOJER, C., RASTELLI, J., CASOLA, S., STROBL, L. J., MUELLER, W., QUINTANILLA-MARTINEZ, L., GEWIES, A., RULAND, J., RAJEWSKY, K., and ZIMBER-STROBL, U.: Constitutive CD40 signaling in B cells selectively activates the noncanonical NF-kappaB pathway and promotes lymphomagenesis. *J. Exp. Med.* 205/6, 1317–1329 (2008)
- LE CLORENNEC, C., OUK, T. S., YOULYOUZ-MARFAK, I., PANTEIX, S., MARTIN, C. C., RASTELLI, J., ADRIAENSSENS, E., ZIMBER-STROBL, U., COLL, J., FEUILLARD, J., and JAYAT-VIGNOLES, C.: Molecular basis of cytotoxicity of Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein 1 (LMP1) in EBV latency III B cells: LMP1 induces type II ligand-independent autoactivation of CD95/Fas with caspase 8-mediated apoptosis. *J. Virol.* 82/13, 6721–6733 (2008)
- RASTELLI, J., HOEMIG-HOELZL, C., SEAGAL, J., MUELLER, W., HERMANN, A., RAJEWSKY, K., and ZIMBER-STROBL, U.: LMP1 signaling can replace CD40 signaling in B cells in vivo and has unique features of inducing class switch recombination to IgG1. *Blood* 111/3, 1448–1455 (2008)

Dr. phil. nat. Stefan Raunser

(BMBF LPD 9901/8-163)

Geboren 1976. 1995–2000 Studium der Biologie und Chemie an der Universität Mainz sowie an der britischen Nottingham Trent University (Großbritannien). Diplomarbeit in der Gruppe um Prof. Dr. H. PAULSEN an der Universität Mainz. 2001–2004 Doktorarbeit in der Gruppe um Prof. Dr. W. KÜHLBRANDT am Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt (Main). 2005–2008 Postdoktorand in der Gruppe um Prof. Dr. T. WALZ an der Harvard Medical School, Boston, MA (USA), mit einem Stipendium der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina. Seit August 2008 Emmy-Noether-Gruppenleiter am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Dortmund.



Projekt:

Struktur- und Funktionsanalyse von Harnstofftransportern

Harnstoff ist der Hauptkatabolit in Säugetieren und wird als Abfallprodukt in deren Harn und Kot ausgeschieden. Biologische Membranen haben nur eine geringe Permeabilität für Harnstoff. Aus diesem Grund existieren mehrere Membranproteine aus unterschiedlichen Proteinfamilien, die Harnstoff über die Membran transportieren. Die Forschung an Harnstofftransportern bzw. Harnstoffkanälen ist wichtig, da sie zum einen von zentraler Bedeutung bei der Harnstoffkonzentrierung in der menschlichen Niere sind und zum anderen humanen Pathogenen das Überleben ermöglichen. Strukturanalysen werden benötigt, um zu verstehen, wie diese Proteine aus unterschiedlichen Familien bei unterschiedlichen Regulations- und Schließungsmechanismen die gleiche Transportfunktion erfüllen. Das Hauptziel meiner Untersuchungen ist deshalb die dreidimensionale Strukturbestimmung von Harnstoffkanälen anhand von Elektronenkristallographie von zweidimensionalen Kristallen (Abb. 1). Bakterielle Proteine haben viele Vorteile gegenüber ihren eukaryotischen Homologen, besonders in Strukturstudien. Sie sind zum einen leichter zu exprimieren und haben keine posttranslationalen Modifikationen. Zum anderen sind sie normalerweise stabiler in Detergenz und deshalb leichter aufzureinigen und zu kristallisieren. Aus diesen Gründen arbeite ich an bakteriellen Vertretern der Harnstoffkanäle. Prokaryotische Harnstofftransporter aus verschiedenen Familien wurden kloniert und in *E. coli* exprimiert. Während die Ausbeute bei den meisten der getesteten Transporter sehr gering war, konnte der Harnstofftransporter ApUT von *Actinobacillus pleuropneumoniae*, einem Pathogen, das Rippenfell- und Lungenentzündung bei Schweinen hervorruft, in größerer Menge in *E. coli* exprimiert und aufgereinigt werden. Das Protein war mindestens 95% rein und über mehrere Tage stabil in Detergenz. Eine Analyse des rekombinanten Proteins mit „cross-linking“, blauer Nativgelelektrophorese und Einzelpartikel-Elektronenmikroskopie zeigte, dass ApUT ein Dimer in Detergenzlösung ist. Um die Kinetik des Harnstofftransports zu bestimmen, wurde der aufgereinigte Transporter in Liposomen rekonstituiert und der Transport dann anhand von „stopped-flow“-Fluorometrie gemessen. Der Harnstofftransport war saturierend, unabhängig vom pH-Wert und inhibierbar durch Phloretin, einen bekannten Inhibitor von Harnstoffkanälen.

Zweidimensionale Kristalle des biologisch aktiven ApUT (Abb. 1) lieferten die erste strukturelle Information eines Harnstofftransporters und zeigten, dass der Transporter auch als Dimer in einer Lipidmembran vorliegt.

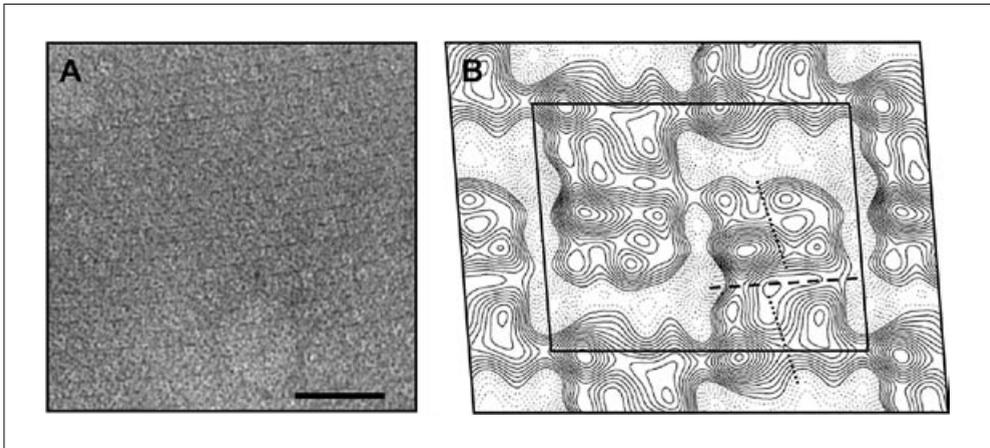


Abb. 1 Zweidimensionale Kristalle des Harnstofftransporters ApUT. (A) Negativ gefärbte 2D-Kristalle von ApUT mit tetragonalem Gitter. Der Maßstabsbalken ist 50 nm lang. (B) Projektionskarte eines negativ gefärbten ApUT-Kristalls mit $p12_1$ -Symmetrie und einer Auflösung von 24 Å.

Als nächstes gilt es, die Qualität der Kristalle zu verbessern, um eine atomare Struktur des Harnstoffkanals zu erhalten, die Aussagen zum Mechanismus des Harnstofftransports erlaubt.

Publikation

RAUNSER, S., MATHAI, J. C., ABEYRATHNE, P. D., RICE, A. J., ZEIDEL, M. L., and WALZ, T.: Oligomeric structure and functional characterization of the urea transporter from *Actinobacillus pleuropneumoniae*. J. Biol. Chem. (2008) (submitted)

Dr. rer. nat. Tobias Riede

(BMBF LPD 9901/8-127)

Geboren 1971. 1995 Diplom in Biologie, Humboldt-Universität zu Berlin. 2000 Dr. rer. nat., Zoologie, Humboldt-Universität zu Berlin. 2000 Staatsexamen Tiermedizin, Freie Universität Berlin. 2000–2002 Praktischer Tierarzt, in Lüchow. Von 2002–2006 Postdoktorand in folgenden Laboren: Voice Lab, Cornell University, Ithaca, NY (USA); Bird Song Physiology Lab, Indiana University, Bloomington, IN (USA); Institut für Theoretische Biologie, Humboldt-Universität zu Berlin; Voice Lab, University of Wisconsin, Madison, WI (USA). Von 2/2006 bis 4/2008 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiat am National Center for Voice and Speech, Denver, CO (USA). Seit 5/2008 Postdoktorand am Bird Physiology Lab, University of Utah, Salt Lake City, UT (USA).



Projekt:

Stimmbildung bei Säugetieren und Vögeln

Wir wissen sehr wenig über die Physiologie der Stimmbildung bei Säugetieren. Nur für den Menschen existieren zahlreiche Studien. In meinen Arbeiten versuche ich, ungeklärte Zusammenhänge zwischen der Morphologie der stimmbildenden Organe und der Akustik der Laute von Tieren besser zu verstehen. Ergebnisse sind für das Verständnis der akustischen Kommunikation von Tieren wichtig, sie erlauben aber auch die bessere Einordnung der menschlichen Stimme in die Evolution akustischen Verhaltens. Auch verschiedene klinische Aspekte der menschlichen Stimme lassen sich in Tiermodellen besser untersuchen.

Stimme wird bei vielen Säugern am Kehlkopf erzeugt. Aufbau und Verhalten der Stimmlippen bestimmen die akustischen Eigenschaften erzeugter Laute. Stimmlippenelastizität ist eine solche Stellgröße. Teilweise kann man das Verhalten einer Stimmlippe mit dem einer Saite eines Instrumentes vergleichen. Länge, Masse und Spannung der Saite bestimmen die Schwingungsfrequenz.

Wir vermuten, dass die morphologische Vielfalt von Kehlköpfen auch in der Anpassung an unterschiedliche vokale Repertoires begründet liegt. Verschiedene Tierarten produzieren sehr hohe Töne. Wir testeten die Hypothese, dass Anpassungen an die Produktion hoher Grundfrequenzen z. B. in der Veränderung der elastischen Eigenschaften der Stimmlippen zu erkennen sind. Die Hypothese wurde an Stimmlippen des Wapiti (*Rocky Mountain Elk, Cervus elaphus nelsoni*) getestet, der sehr hohe Grundfrequenzen produziert. Der Maultierhirsch (*Mule deer, Odocoileus hemionus*), eine Art, bei der die akustische Kommunikation nur eine geringe Rolle spielt, diente zum Vergleich. Daten vom Menschen liegen aus Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen zum Vergleich vor.

Jedes Material reagiert auf Druck, Dehnung oder Drehung mit materialspezifischem Stress, d. h., verschiedene Materialien lassen sich unterschiedlich stark verformen. Eine Stimmlippe ist z. B. aus unterschiedlichen Materialien schichtenweise aufgebaut. Jede dieser Schichten hat eine spezielle Funktion bei der Stimmbildung. Das sogenannte Stimmband (Ligamen-

tum vocale) weist die höchste Stressresistenz unter den Schichten der Stimmlippe auf und übernimmt somit höchstwahrscheinlich die Funktion eines Stabilisators, insbesondere um die Kraffteinwirkung bei einer Längenausdehnung der Stimmlippe zu kompensieren. Diese Funktion ist äußerst wichtig bei der Produktion sehr hoher Grundfrequenzen, weil hierbei die Stimmlippen stark gedehnt und einem enormen Stress ausgesetzt werden.

Wir haben die Stressreaktion von Stimmlippenmaterial in Dehnungsversuchen getestet. Den Wapiti haben wir aus zwei Gründen berücksichtigt. Der Wapiti mit Grundfrequenzen im Kilohertz-Bereich liegt deutlich über dem Grundfrequenzbereich, den man für ein Tier dieser Größenordnung erwarten würde. Die Verhältnisse könnten allgemein für ‚große‘ Säuger, die sehr hohe Grundfrequenzen produzieren (wie z. B. einige Primaten und Schweine), gültig sein. Zweitens bietet der männliche Wapiti während der Paarungszeit eine beeindruckende akustische Vorstellung, die sehr großen Stress für die Stimmlippen darstellt. Wir erhoffen uns von unseren Untersuchungen auch Erkenntnisse über Anpassungen auf zellulärer Ebene an solche extremen Leistungen. Die Untersuchung des Maultierhirschs (*Mule deer*) kontrastiert die Untersuchung des Wapiti, weil die akustische Kommunikation bei dieser Tierart nur eine kleine Rolle spielt. Wapiti und Maultierhirsch sind zwei sehr unterschiedliche Vertreter einer Familie, und Unterschiede in der Biomechanik sollten deshalb auch auf die akustische Funktion zurückzuführen sein.

Frisches Kehlkopfmaterial bekommen wir von der *Colorado Division of Wildlife* in Fort Collins. Wapiti und Maultierhirsch werden im Herbst reichlich gejagt, und Kopf-Hals-Präparate müssen von den Jägern zur Testung auf „chronic wasting disease“ eingereicht werden. Ich präpariere das notwendige Material und führe die Experimente am gleichen Tag durch.

Im Dehnungsversuch wird Gewebe einer definierten Streckung ausgesetzt und die dafür nötige Kraft gemessen. Im Prinzip wird die Stimmlippenverlängerung während der Produktion hoher Grundfrequenzen simuliert. Aus den Werten Dehnung, Kraft und Materialgeometrie kann Materialstress berechnet werden.

Die Ergebnisse deuten an, dass tatsächlich Unterschiede in den biomechanischen Eigenschaften der Stimmlippen zwischen den Tierarten existieren, insbesondere in den hohen Dehnungsbereichen. Die Stimmlippen von Mensch und Maultierhirsch sind etwas steifer als jene des Wapiti. Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass unterschiedliche vokale Funktion mit Unterschieden in der Biomechanik einhergeht. Die Ergebnisse sind aber auch etwas überraschend, denn wir hatten erwartet, dass die Stimmlippen eines an hohe Grundfrequenzen angepassten Säugers (z. B. Wapiti) sehr viel steifer sein müssten. Das Stimmlippenmaterial vom Wapiti verhält sich aber genau umgekehrt. Wir diskutieren verschiedene Erklärungsmöglichkeiten.

Publikationen

- RIEDE, T., and TITZE, I. R.: Vocal fold elasticity of the Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) – in the search for adaptations to produce high fundamental frequency vocalization with a large larynx. *J. Exp. Biol.* *211*, 2144–2154 (2008)
- RIEDE, T., TOKUDA, I. T., MUNGER, J. B., and THOMPSON, S. L.: Mammalian laryngeal air sacs add variability to the vocal tract impedance: Physical and computational modeling. *J. Acoustical Soc. Amer.* *124*, 634–647 (2008)
- ZOLLINGER, S. A., RIEDE, T., and SUTHERS, R. A.: Two-voice complexity from a single sound source: nonlinear phenomena in northern mockingbird (*Mimus polyglottos*) vocalizations. *J. Exp. Biol.* *211*, 1978–1982 (2008)
- TITZE, I. R., RIEDE, T., and POPOLLO, P.: Nonlinear source-filter coupling in phonation: Vocal exercises. *J. Acoustical Soc. Amer.* *123*, 1902–1915 (2008)

Dr. med. Jürgen Schauber

(BMBF LPD 9901/8-119)

Geboren 1973. 1993–2000 Studium der Humanmedizin an der Universität des Saarlandes, Karolinska Institut, Stockholm (Schweden), und an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. 2001 Promotion. 2001–2004 Klinische und wissenschaftliche Ausbildung, Medizinische Klinik I, Universität Würzburg. 2004–2007 Postdoctoral Research Fellow, Department of Dermatology, University of California San Diego, CA (USA). Seit 6/2007 Assistenzarzt und Emmy-Noether-Arbeitsgruppenleiter an der Klinik für Dermatologie und Allergologie, der Ludwig-Maximilians-Universität München. Auszeichnungen und Stipendien: Sokrates Stipendium (1996), Leopoldina-Stipendium (2004–2007), Albert Kligman Fellowship (2006), Emmy-Noether-Programm der DFG (2007), Heinz-Maurer-Preis (2008).



Projekt:

Regulation des antimikrobiellen Peptids Cathelizidin in Hautepithelzellen

Antimikrobielle Peptide sind als endogene Antibiotika ein essentieller Bestandteil der angeborenen Immunabwehr an epithelialen Oberflächen. Cathelizidine sind eine Familie evolutionär konservierter, antimikrobieller Peptide, die von Immunzellen und Epithelzellen der Haut und des Gastrointestinaltraktes exprimiert werden. Inzwischen konnte gezeigt werden, dass das einzige humane Cathelizidin eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie humaner Erkrankungen wie der Psoriasis, der atopischen Dermatitis und der Shigellenenteritis, spielt. Im vorgestellten Forschungsprojekt wurden am *Department of Dermatology* der *University of California*, San Diego, CA (USA), mittels verschiedener *In-vivo*- und *In-vitro*-Modelle die molekularen Mechanismen der Cathelizidinregulation in Keratinozyten und Kolonepithelzellen charakterisiert. Ziel des Projektes war besseres Verständnis der Regulation und damit der potentiellen therapeutischen Beeinflussbarkeit der Expression von Cathelizidin an epithelialen Oberflächen.

Im Projektverlauf konnte überraschenderweise beobachtet werden, dass die hormonal aktive Form von Vitamin D₃–1,25(OH)₂ Vitamin D₃ (1,25D₃) – die Expression und Aktivierung von Cathelizidin in humanen Keratinozyten steigert. Andere antimikrobielle Peptide in Keratinozyten werden durch 1,25D₃ nicht beeinflusst. Ebenso haben andere Faktoren des Hautmikromilieus, wie Wachstumsfaktoren, Entzündungsmediatoren und mikrobielle Substanzen, keinen Effekt. Weiterhin beschränkt sich die Wirkung von 1,25D₃ auf Hautepithelzellen, in Kolonepithelzellen wird Cathelizidin durch Faktoren des dortigen Mikromilieus reguliert. Parallel zur Aktivierung der Cathelizidinexpression erhöht 1,25D₃ die antimikrobielle Aktivität von Hautepithelzellen gegen pathogene Bakterien. *In vivo* steigert die topische Applikation von 1,25D₃ die Expression von Cathelizidin in der Haut. Molekular wird der Effekt von 1,25D₃ über ein „Vitamin D responsive element“ im Cathelizidinpromotor vermittelt. Eine Deletion dieses Promotorelements hebt die Wirkung von 1,25D₃ auf die Cathelizidinexpression vollständig auf. Insgesamt belegen unsere Ergebnisse eine bislang nicht

bekannte Rolle von Vitamin D3 in der Regulation von antimikrobiellen Peptiden als Faktoren der angeborenen Immunabwehr der Haut.

In einem Folgeprojekt wurde untersucht, ob bei Hauterkrankungen, die durch eine gestörte Cathelicidinexpression charakterisiert sind, möglicherweise eine Dysregulation von Vitamin-D3-abhängigen Signalwegen vorliegt. Die Cathelicidinexpression ist bei verschiedenen Hautentzündungen, wie der Psoriasis, oder in akuten Wunden gesteigert. Bei Untersuchungen eines Wundmodells konnten wir beobachten, dass Zytokine im Wundmilieu die Expression von 1,25D3-aktivierenden Enzymen steigern. Die Vitamin-D3-Proform (25-OH Vitamin D3) wird demnach vermehrt in die aktive Form – 1,25D3 – umgewandelt, die nach Aktivierung des Vitamin-D-Rezeptors eine Induktion Vitamin-D-regulierter Gene bewirkt. Neben einer Expressionssteigerung des antimikrobiellen Cathelicidins induziert 1,25D3 im Wundmilieu die Expression des *Toll-like*-Rezeptors (TLR) TLR2 und des TLR-Kofaktors CD14. TLRs sind spezialisierte Rezeptoren, die für die Erkennung mikrobieller Oberflächensmuster und anschließender Immunreaktion in Immun- und Epithelzellen wichtig sind. Als funktionelle Konsequenz detektieren Keratinozyten nach Stimulation mit 1,25D3 bestimmte mikrobielle Faktoren, die ohne eine 1,25D3-Inkubation nicht erkannt werden. Insbesondere führt eine Aktivierung der Hautepithelzellen mit 1,25D3 zu einer Erkennung von mikrobiellen Faktoren, die über den TLR2,6-Rezeptor detektiert werden.

Zusammenfassend belegen die vorliegenden Daten eine wichtige, wenngleich bislang wenig beachtete, Rolle von Vitamin D3 in der angeborenen Immunabwehr der Haut. Möglicherweise lassen sich aus den vorliegenden Studien Empfehlungen zum Einsatz dieses kostengünstigen, leicht verfügbaren Hormons in der Prävention und Therapie von infektiösen Hauterkrankungen ableiten.

Vortrag:

Die Rolle von Vitamin D3 in der Regulation der angeborenen Immunabwehr der Haut

Antimikrobielle Peptide (AMPs) wirken als chemischer Schutzschild auf der Hautoberfläche gegen Bakterien, Viren und Pilze. Antimikrobielle Peptide werden von unterschiedlichen Zellen der Haut produziert, darunter Keratinozyten, Sebozyten und Mastzellen. Neben ihrer antibiotischen Wirkung aktivieren und koordinieren antimikrobielle Peptide viele Komponenten des angeborenen sowie des adaptiven Immunsystems. Diese Rolle als „Alarmine“ unterstreicht ihre Bedeutung für die Funktion der angeborenen Immunabwehr der Haut. Cathelicidine und β -Defensine sind die am besten untersuchten AMP-Familien der Haut, aber mehr als 20 weitere kutane Proteine zeigen antimikrobielle Aktivität. Eine Schwierigkeit bei der Identifizierung der primären Funktion solcher Proteine ergibt sich aus der Unkenntnis der tatsächlichen Konzentrationen *in vivo* und damit der Übertragung in Modellsysteme *in vitro*. Generell bleibt festzuhalten, dass antimikrobielle Peptide strukturell eine große Variabilität aufweisen und nur aufgrund ihrer antimikrobiellen Eigenschaften zusammengefasst werden.

Cathelicidine sind eine wichtige AMP-Familie der Haut, da sie zum einen die ersten beschriebenen antimikrobiellen Peptide in der Haut von Säugetieren waren und zum anderen ihre Relevanz in der Infektabwehr in geeigneten Tiermodellen nachgewiesen werden konnte. Ihr Name leitet sich von einer hochkonservierten Pro-Region ab, einer Sequenz, die Cathepsin L, einem Zysteinproteaseinhibitor, sehr ähnelt. Im humanen Genom findet sich auf Chromosom 3 nur ein einziges Gen für Cathelicidin, das aus vier Exons besteht. Als erstes wurde das Cathelicidinpeptid aus Neutrophilen isoliert, mittlerweile ist bekannt, dass Cathelicidin in vielen verschiedenen Zelltypen exprimiert wird. Cathelicidin wird oft auch nach der pro-

zessierten Peptidform als LL-37 oder nach dem Vorläuferprotein als hCAP18 bezeichnet. Die Prozessierung der Peptidproformen gilt als entscheidender Schritt für die Kontrolle der Cathelicidinaktivität. Unprozessiertes hCAP18 ist biologisch inaktiv. Erst durch die Spaltung mittels Serinproteasen werden Peptide generiert, die vielfältige Aktivitäten ausüben können. LL-37, bestehend aus 37 Aminosäuren, bildet in Lösung eine α -Helixstruktur und kann sowohl bakterielle Membranen als auch virale Hüllen penetrieren. Des Weiteren kann LL-37 Säugerzellen aktivieren und eine Immunreaktion auslösen. Diese wird durch direkte Interaktionen mit Rezeptoren an Zelloberflächen vermittelt. Zudem beeinflusst Cathelicidin LL-37 *Toll-like*-Rezeptor-Signalkaskaden in Immunzellen, die Transaktivierung des EGF-Rezeptors sowie die intrazelluläre Ca^{2+} -Mobilisierung. Alle diese Effekte tragen zur antimikrobiellen Aktivität der Cathelicidine und ihrer essentiellen Bedeutung als Abwehrmoleküle im Rahmen der angeborenen Immunabwehr bei.

Cathelicidin trägt zum Schutz der Haut vor bakteriellen und viralen Infektionen bei, wird jedoch in gesunder Haut von Keratinozyten in nur sehr geringen Mengen produziert. Eine starke Induktion und Sekretion erfolgt im Rahmen von Infektionen oder Barrierestörungen. Bei verschiedenen Hauterkrankungen ist die normale Barrierefunktion der Haut beeinträchtigt oder die Kontrolle einer Entzündungsreaktion gestört. Das atopische Ekzem (AE) ist gekennzeichnet durch eine chronische Entzündung, welche durch eine bakterielle Fehlbesiedelung unterhalten wird. Eine mögliche Ursache liegt in der verminderten Induzierbarkeit der AMP-Expression in läsionaler Haut von AE-Patienten. Die daraus resultierende, verminderte antimikrobielle Barriere korreliert mit einer gesteigerten Suszeptibilität dieser Patienten für weitere mikrobielle Superinfektionen. Die geringere Induzierbarkeit von Cathelicidin und Defensinen scheint u. a. durch ein verändertes, Th2 lastiges, Zytokinmilieu bestimmt zu sein.

In der Pathogenese anderer chronisch-entzündlicher Hauterkrankungen scheint der immunstimulatorische Effekt von antimikrobiellen Peptiden eine wichtige Rolle zu spielen. Wie bereits erwähnt, aktiviert Cathelicidin LL-37 die Expression proinflammatorischer Zytokine in Keratinozyten sowie die Chemotaxis adaptiver Immunzellen und die Angiogenese. Auf der Hautoberfläche wird LL-37 durch Serinproteasen zu kleineren Peptiden prozessiert, die eine stärkere antimikrobielle Aktivität bei verminderter proinflammatorischer Wirkung aufweisen. Untersuchungen an Patienten mit Rosazea, die durch eine Entzündung und vaskuläre Reaktivität der Gesichtshaut charakterisiert ist, zeigten eine überhöhte kutane Cathelicidinexpression. Zusätzlich wurde ein Muster an Peptidfragmenten nachgewiesen, das sich von jenem gesunder Probanden deutlich unterschied. Dieses resultiert aus einer abnormen posttranslationalen Prozessierung von Cathelicidinpeptiden, hervorgerufen durch eine gesteigerte Proteaseaktivität in der Epidermis. Mäuse, deren Proteaseaktivität in der Haut erhöht wurde oder denen diese unphysiologischen Peptide injiziert wurden, zeigten eine kutane Entzündungsreaktion, mit einem Erythem und Teleangiektasien, welche jener erkrankter Patienten ähnelte.

Ein weiteres Beispiel für den Zusammenhang einer inflammatorischen Hauterkrankung und veränderter AMP-Expression ist die Psoriasis, bei der Cathelicidin in läsionaler Haut überexprimiert wird. Psoriasis ist eine chronische inflammatorische Hauterkrankung, und es wird vermutet, dass eine Autoimmunreaktion eine zentrale Rolle im Krankheitsverlauf spielt. Die beteiligten Autoantigene waren bislang unbekannt. Erst kürzlich konnte jedoch gezeigt werden, dass Cathelicidin LL-37, isoliert aus läsionaler Haut, mit humaner körpereigener DNA einen Komplex bildet, der wiederum plasmazytoide dendritische Zellen (pDCs) aktiviert. Normalerweise reagieren pDCs nicht auf körpereigene DNA, aber die Bindung an LL-37 wandelt diese in einen potenten Stimulus der pDC-Aktivierung um. Interessanter-

weise treten die Hautläsionen bei Psoriasis häufig an Stellen mit mechanischer Belastung auf („Köbner-Phänomen“). Die Unterschiede in der Cathelicidinexpression, die in gesunder Haut sehr gering ist und erst nach einer Verletzung stark induziert wird, könnten dieses als isomorpher Reizeffekt bezeichnete Phänomen mit erklären.

Da eine gestörte Regulation der Expression und Funktion antimikrobieller Peptide eine wichtige Rolle in der Pathogenese infektiöser und autoimmuner Erkrankungen spielt, könnten sich aus dem Verständnis der Regulation neue Therapien ableiten lassen. Cathelicidine werden, wie die meisten antimikrobieller Peptide, in Keratinozyten, Neutrophilen und vielen anderen Zelltypen produziert. In mikrobiell infizierter oder verletzter Haut findet sich eine stark erhöhte Cathelicidinexpression. Bis vor kurzem waren die molekularen Mechanismen der Cathelicidinregulation unklar, vor allem da klassische Entzündungs- und Infektionsmediatoren die Expression nicht zu beeinflussen scheinen. Ein Durchbruch im Verständnis der Regulation kam mit der Identifikation einer Vitamin-D-Rezeptor-Bindungsstelle innerhalb der Promotorsequenz des Cathelicidins. Mittlerweile belegen mehrere Studien, dass Cathelicidin ein direktes Zielgen von Vitamin D₃ in Keratinozyten ist. Weitere Elemente der Vitamin-D₃-Signalkaskade sowie die Rekrutierung von Koaktivatoren oder epigenetische Veränderungen, die zu einer gesteigerten Expression beitragen, wurden inzwischen identifiziert. Dennoch blieb unklar, wie Cathelicidin bei bakteriellen Infektionen oder in Wunden induziert wird, da ein plötzlicher Anstieg der Vitamin-D₃-Spiegel in diesen Situationen als unwahrscheinlich erschien. Geklärt wurde dies durch die Erkenntnis, dass 1 α -Hydroxylase (CYP27B1), ein Enzym, welches den Hydroxylierungsschritt in Hautzellen vollzieht, wodurch die biologisch aktive Form von Vitamin D₃ – 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ (1,25D₃) – gebildet wird, bei Infektionen oder Hautverletzungen induziert wird. Dieser Aktivierungsschritt durch die Induktion von CYP27B1 tritt in Monozyten und Keratinozyten auf und unterliegt der Kontrolle durch Entzündungs- und Infektionssignale. Bei einer Verletzung bzw. bakteriellen Infektion der Haut wird die lokale Expression des Enzyms z. B. durch Aktivierung von *Toll-like*-Rezeptoren gesteigert und mehr aktives 1,25D₃ gebildet, welches wiederum die Expression und Aktivierung von Cathelicidin erhöht.

Die Wirkung von Vitamin D₃ als essentieller Faktor der Calciumhomöostase und des Knochenmetabolismus ist gut charakterisiert, über seine Funktion als Immunregulator ist jedoch bislang wenig bekannt. Epidemiologisch gesehen ist dies von Relevanz, da ein Vitamin-D₃-Mangel vor allem bei älteren Menschen häufig auftritt, was zu einer gesteigerten Morbidität beitragen könnte. Ein Vitamin-D₃-Mangel wird auf unzureichende Zufuhr mit der Nahrung und mangelnde Sonnenexposition zurückgeführt. Letzteres wird durch Empfehlungen verschärft, die Sonnenlichtexposition wegen des potentiellen Hautkrebsrisikos generell zu vermindern. Allerdings ist der menschliche Körper bei minimaler UV-Exposition in der Lage, ausreichend aktives Vitamin D₃ zu synthetisieren, vorausgesetzt es sind genügend Vorläufermoleküle vorhanden. An dieser Synthese sind verschiedene Zelltypen beteiligt. Die Synthese der Vitamin-D₃-Vorstufen, ausgehend von 7-Dehydrocholesterol, erfolgt in der Haut und erfordert UVB-Strahlung, welche die Epidermis penetriert. Das resultierende Produkt Calcidiol ist eine inaktive Vorstufe von Vitamin D₃. Um das aktive Hormon Calcitriol (1,25-Dihydroxycholecalciferol, 1,25D₃) zu bilden, muss Calcidiol zweimal hydroxyliert werden. Die erste Hydroxylierung erfolgt in der Leber durch das Enzym Vitamin-D₂₅-Hydroxylase (CYP2R1), die zweite in der Niere durch das bereits erwähnte CYP27B1. Ein Charakteristikum von Keratinozyten ist, dass sie, neben anderen Zellen, diese beiden Enzyme exprimieren und somit aktives 1,25D₃ unabhängig von den renalen und hepatischen Hydroxylierungsschritten produzieren können. Dies ist für die Haut von

zentraler Bedeutung, da Vitamin D3 essentiell für eine normale Entwicklung und Proliferation von Keratinozyten ist. Dabei reguliert Vitamin D3 autokrin die Proliferation und Differenzierung von Hautepithelzellen und somit die Aufrechterhaltung einer intakten epidermalen Barriere. Schwankungen in der lokalen Vitamin-D3-Konzentration bzw. deren Aktivierung beeinflussen die normale Funktion von Keratinozyten sowie die antimikrobielle Barriere.

Die Aufklärung der beteiligten molekularen Faktoren bei der Cathelicidinregulation könnte zu neuen Behandlungsformen bei entzündlichen und infektiösen Hauterkrankungen führen und zugleich den Mechanismus bereits angewandter Therapien verstehen helfen. Wie oben beschrieben, wird die Cathelicidinexpression durch den Vitamin-D3-Signalweg beeinflusst, der wiederum durch epigenetische Veränderungen, z. B. die Azetylierung von Histonen, moduliert wird. Die zielgerichtete Beeinflussung des Vitamin-D3-Metabolismus könnte sich als wirksam bei der Behandlung des atopischen Ekzems, der Rosazea und der Psoriasis erweisen. Mehrere klinische Ansätze sind denkbar:

Bei der Behandlung des atopischen Ekzems wird sehr häufig eine UVB-Bestrahlungstherapie eingesetzt. Der positive Effekt wird momentan auf die Beeinflussung von T-Zellen bzw. der T-Zell-induzierten Immunantwort zurückgeführt. Doch könnte dieser Effekt auch auf einer Aktivierung der Vitamin-D3-Synthese in der Haut beruhen. Auch die orale Gabe von 1,25D3 oder seiner Vorläufer könnte sich als therapeutisch wirksam erweisen. Durch die daraus resultierende gesteigerte Cathelicidinexpression könnte eine effektive antimikrobielle Barriere wiederhergestellt werden, die beim atopischen Ekzem beeinträchtigt ist.

Bei Rosazea-Patienten könnte eine Therapie hilfreich sein, welche die gesteigerte Cathelicidinexpression reduziert oder die gesteigerte Proteinprozessierung unterbindet. Polymorphismen im Gen des Vitamin-D-Rezeptors wurden bei Patienten mit schwerer Rosazea beschrieben, was auf einen Einfluss des Vitamin-D3-Signalwegs in der Pathogenese hindeutet. Hier könnten Vitamin-D3-Analoga ohne intrinsische Aktivität am Vitamin-D-Rezeptor eingesetzt werden, für die *in vitro* bereits eine Blockierung der Vitamin-D3-induzierten Cathelicidinexpression in Keratinozyten beschrieben wurde. Alternativ könnte eine Blockade der Proteaseaktivität bei Rosazea erfolversprechend sein, da so fehlerhaft prozessierte Peptide vermieden werden könnten. Interessanterweise können Tetrazykline, die erfolgreich bei der Behandlung der Rosazea eingesetzt werden, Metalloproteasen inhibieren.

In der Psoriasis schließlich könnte eine Blockade des Cathelicidinpeptids den Kreislauf unterbinden, der aus einer gesteigerten LL-37-Expression, einer daraus resultierenden Aktivierung von pDCs und letztlich einer Entzündung der Haut besteht. Hier könnte wieder eine Strategie zur Verminderung von Cathelicidinpeptid angewandt werden, die am Vitamin-D3-Signalweg ansetzt. Paradoxerweise werden bis heute eine Reihe von Vitamin-D3-Analoga in der Therapie der Psoriasis eingesetzt. Diese binden und aktivieren den Vitamin-D3-Rezeptor und sollten den Cathelicidinspiegel in Keratinozyten erhöhen, wodurch sich die Entzündung eigentlich verschlimmern müsste. Aber das Gegenteil ist der Fall: Diese Analoga sind einer der Pfeiler in der Behandlung der Psoriasis. Sie lindern die Entzündungsreaktion und führen zu einem Abklingen morphologischer Veränderungen innerhalb läsionaler Haut. Eine mögliche Erklärung könnte eine Konkurrenz um die Bindung an den Vitamin-D3-Rezeptor im Cathelicidigen sein, so dass der stark induzierende Effekt von Vitamin D3 in Anwesenheit der Analoga gehemmt wird.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine Beeinflussung der Cathelicidinexpression über den Vitamin-D3-Signalweg neue Therapieansätze bei häufig auftretenden Hautkrankheiten verspricht. Allerdings bedarf es zusätzlicher experimenteller und klinischer Studien bis zu einer sicheren und zielgerichteten Beeinflussung von Cathelicidin.

Publikationen

- SCHAUBER, J., ODA, Y., BÜCHAU, A. S., YUN, Q. C., STEINMEYER, A., ZÜGEL, U., BIKLE, D. D., and GALLO, R. L.: Histone acetylation in keratinocytes enables control of the expression of cathelicidin and CD14 by 1,25 dihydroxy vitamin D3. *J. Invest. Dermatol.* *128/4*, 816–824 (2008)
- SCHAUBER, J., DORSCHNER, R. A., CODA, A. B., BÜCHAU, A. S., LIU, P. T., KIKEN, D., HELFRICH, Y., KANG, S., ELALIEH, H. Z., STEINMEYER, A., ZÜGEL, U., BIKLE, D. D., MODLIN, R. L., and GALLO, R. L.: Injury enhances TLR2 function and cathelicidin expression through a vitamin D dependent mechanism. *J. Clin. Invest.* *117*, 803–811 (2007)
- LIU, P. T., STENGER, S., LI, H., WENZEL, L., TAN, B. H., KRUTZIK, S., OCHOA, M. T., SCHAUBER, J., WU, K., MEINKEN, C., KAMEN, D. L., WAGNER, M., BALS, R., STEINMEYER, A., ZÜGEL, U., GALLO, R. L., EISENBERG, D., HEWISON, M., HOLLIS, B. W., ADAMS, J. S., BLOOM, B. R., and MODLIN, R. L.: Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* *311/5768*, 1770–1773 (2006)
- SCHAUBER, J., DORSCHNER, R. A., YAMASAKI, K., BROUHA, B., and GALLO, R. L.: Control of the innate epithelial antimicrobial response is cell-type specific and dependent on relevant microenvironmental stimuli. *Immunology* *118*, 509–519 (2006)
- SCHAUBER, J., RIEGER, D., WEILER, F., WEHKAMP, J., ECK, M., FELLERMANN, K., SCHEPPACH, W., GALLO, R. L., and STANGE, E. F.: Heterogeneous expression of human cathelicidin hCAP18/LL-37 in inflammatory bowel diseases. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* *18/6*, 615–621 (2006)
- YAMASAKI, K., SCHAUBER, J., CODA, A., LIN, H., SCHECHTER, N., BONNART, C., DESCARGUES, P., HOVNANIAN, A., and GALLO, R. L.: Kallikrein mediated proteolysis regulates cathelicidin innate immune defense of the skin. *FASEB J.* *20*, 2068–2080 (2006)

Dr. rer. nat. Christian Schmitz

(BMBF LPD 9901/8-150)

Geboren 1975. 1996–2001 Chemiestudium, Universität Kaiserslautern und University of Edinburgh (Großbritannien). 2001–2002 Forschungsaufenthalt, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg (Prof. Dr. BACHERT). 2003–2005 Promotionsstudium, Universität Heidelberg (Prof. Dr. SPATZ). 2005–2006 Postdoktoranden-Aufenthalt, Max-Planck-Institut für Metallforschung, Stuttgart (Prof. Dr. SPATZ). 2006 Klaus-Tschira-Preis für verständliche Wissenschaft. 2006–2007 Leopoldina-Postdoktoranden-Aufenthalt, Harvard University, Cambridge, MA (USA) (Prof. Dr. WEITZ). Seit 11/2007 Strategie- und Unternehmensberatung, The Boston Consulting Group.



Projekt:

Mikrofluidik-basierte Einzelzelluntersuchungen zur Erfassung stochastischer zellulärer Prozesse – Entwicklung der Dropspots-Mikrofluidikplattform

Viele zelluläre Prozesse unterliegen stochastischen Schwankungen, die zu einer bemerkenswerten Heterogenität auch genetisch identischer Zellen führen. Eine eingehende Analyse dieses biologischen Rauschens und dessen Bedeutung für zelluläre Vorgänge erfordert besondere experimentelle Methoden: Sensitive Einzelzelluntersuchungen müssen auf große Populationen angewendet werden. Konventionelle Methoden basieren üblicherweise auf einer simultanen Messung einer Vielzahl von einzelnen Untersuchungsobjekten. Die gewonnenen Daten stellen dabei einen gemittelten Wert dar und lassen keine direkten Aussagen über das Verhalten eines individuellen Objektes, z. B. einer Zelle, und die zugrundeliegenden Mechanismen zu. Eine Erfassung von Informationen auf Einzelzell- bzw. Molekülebene setzt weiterhin voraus, dass diese Objekte über den Untersuchungszeitraum verfolgbar, von anderen Objekten unterscheidbar und gegebenenfalls isolierbar sind. Darüber hinaus erfordern Untersuchungen von Prozessen und von deren zeitlichem Verlauf die Möglichkeit, eine Vielzahl von Objekten gleichzeitig und zeitaufgelöst zu untersuchen, um so statistisch relevante Daten zu generieren.

Im Rahmen dieses Projekts wurde eine Mikrofluidikplattform entwickelt, mit der sich stochastische Schwankungen der Genexpression in Hefezellen erfassen lassen. Das System verwendet dazu in Öl suspendierte Wassertropfen als Mikrocontainer. Der Einschluss einzelner Zellen in isolierte Tropfen ordnet Stoffwechselprodukte eindeutig der Herkunftszelle zu. Gleichzeitig lassen sich die Tropfen gezielt manipulieren, bewegen, sortieren und verschmelzen. Durch das geringe Volumen der Tropfen lässt sich selbst eine geringe Anzahl von Molekülen, die beispielsweise von einer Zelle sekretiert werden, schnell detektieren. Um eine zeitaufgelöste Datenerfassung zu erreichen, wurde die Dropspots-Mikrofluidikplattform entwickelt, die eine Immobilisierung von Mikrotropfen erlaubt. Diese Plattform entspricht damit einer Picoliterplatte, mit der sich Zehntausende einzelner Picoliterproben zeitaufgelöst beobachten lassen.

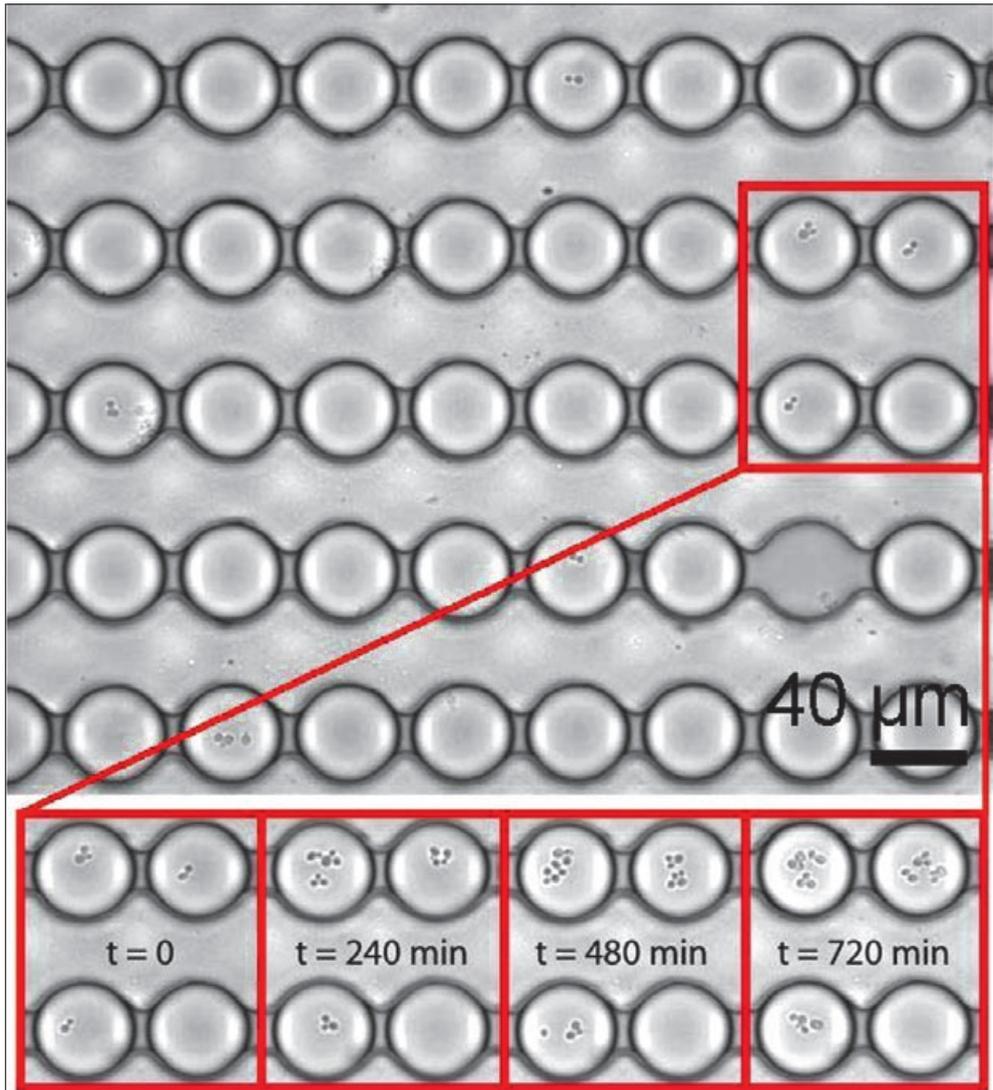


Abb. 1 Ein Dropspots-Chip ist mit Tropfen befüllt, die Hefezellen enthalten. Über einen Zeitraum von 15 h wird das Teilungsverhalten der Zellen beobachtet. Die Anzahl der Zellen kann dabei für einzelne Tropfen zeitlich verfolgt werden.

Die Dropspots-Plattform wurde zur Ermittlung der Teilungsraten individueller Hefezellen eingesetzt. Dazu wurden zunächst Hefezellen in Tropfen eingeschlossen. Die Gesamtzahl der Zellen zeigt einen sigmoidalen Anstieg, wie er typischerweise auch in klassischen Zelldichtemessungen an Suspensionen mit einer Vielzahl von Zellen beobachtet wird. Auf der Ebene einzelner Zellen variieren die Zellteilungsraten allerdings wesentlich. Diese Unterschiede lassen sich durch unterschiedliche Zellstadien und andere Faktoren, welche zur biologischen Heterogenität beitragen, erklären.

In einem weiteren Experiment wurden die Dropspots-Chips zur Erfassung der Expression von Enzymen auf Einzelzellebene eingesetzt. Enzyme in Kombinationen mit fluorogenen Substraten sind gebräuchliche Reportersysteme für die Genexpression. Allerdings muss in

vielen Fällen die Zelle permeabilisiert werden, um einen Eintritt des fluorogenen Substrats in die Zelle und damit den Zugang zum Enzym zu ermöglichen. Oft werden die Fluoreszenzfarbstoffe auch durch die Zelle aktiv nach außen transportiert, so dass das Fluoreszenzsignal nicht mehr der Ursprungszelle zugeordnet werden kann. Durch den Einschluss von Zellen in Picolitertropfen kann eine eindeutige Zuordnung zur Ursprungszelle gewährleistet werden. Das geringe Volumen der Tropfen ermöglicht die schnelle Aufkonzentration der Fluoreszenzfarbstoffmoleküle und damit eine sensitive Signalerfassung.

Über die Anwendung zur Untersuchung einzelner Zellen hinaus, bieten die Dropspots-Chips eine einfache Möglichkeit, jede Art von Femtoliter- oder Picoliterreaktion in großer Zahl zeitaufgelöst zu detektieren. Statistische Daten tausender identischer Reaktionsproben können einfach generiert werden. Das entwickelte Design zeichnet sich durch eine hohe Robustheit aus: Die Dropspots-Chips können ohne Störung der Tropfenfixierung bewegt und unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt werden. Selbst eine PCR in den Tropfen und die damit verbundenen schnellen und hohen Temperaturwechsel sind möglich. Weiterhin lässt sich das Dropspots-Design mit anderen existierenden Mikrofluidikeinheiten kombinieren und kann als Interface zur Makrowelt genutzt werden, um Tropfen aus einer definierten Anordnung zu entnehmen und beispielsweise in größere Volumina zur Kultur oder Analyse zu überführen.

Publikationen

- HOLTZE, C., ROWAT, A., AGRESTI, J., HUTCHISON, B., ANGLÉ, F., SCHMITZ, C., KÖSTER, S., DUAN, H., HUMPHRY, K., PISIGNANO, D., and WEITZ, D.: Biocompatible surfactants for water-in-fluorocarbon emulsions. (submitted)
- SCHMITZ, C., ROWAT, A., KÖSTER, S., and WEITZ, D.: Dropspots: a picoliter array in a microfluidic device. (submitted)
- UHRIG, K., KURRE, R., SCHMITZ, C., CURTIS, J., HARASZTI, T., CLEMEN, A., and SPATZ, J.: Laser trap driven force sensor array in a microfluidic environment for analysing quasi-two-dimensional biomimetic protein networks. (submitted)
- KÖSTER, S., ANGLÉ, F., DUAN, H., AGRESTI, J., WINTNER, A., SCHMITZ, C., ROWAT, A., MERTEN, C., PISIGNANO, D., GRIFFITHS, A., and WEITZ, D.: Drop-based microfluidic devices for encapsulation of single cells. *Lab on a Chip* 8, 1110–1115 (2008)
- SCHRÖDER, L., SCHMITZ, C., and BACHERT, P.: Carnosine as molecular probe for sensitive detection of Cu(II) ions using localized 1H NMR spectroscopy. *J. Inorg. Biochem.* 102, 174–183 (2008)

Dr. rer. nat. Oliver Scholz

(BMBF-LPD 9901/8-151)

Geboren 1970 in Braunschweig. 1991–1996 Studium der Biologie an der Universität Erlangen. 1997–2002 Dissertation am Institut für Biologie der Universität Erlangen, gefördert durch ein Stipendium des Fonds der Chemischen Industrie. 2002–2004 Postdoktoranden-Stipendiat im Graduiertenkolleg „Protein-Protein-Interaktion in der Signaltransduktion“ am Lehrstuhl für Mikrobiologie der Universität Erlangen. 2004–2006 Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Biologie der Universität Erlangen. Seit Januar 2007 Postdoktorand im Förderprogramm der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina am Institut für Biochemie der Universität Zürich (Schweiz).



Projekt:

Untersuchung der humanen Telomerstruktur *in vivo* durch Selektion hochaffiner Bindepoteine

Telomere sind DNA-Proteinkomplexe, die zum Schutz der Chromosomenenden dienen. Sie erfüllen zwei Funktionen: Zum einen muss die Zelle die natürlichen DNA-Enden von reparaturbedürftigen DNA-Doppelstrangbrüchen unterscheiden können. Zum anderen darf keine genetische Information durch Verkürzung der Enden verlorengehen. Telomere bestehen aus Sequenzen, die G- und T-reiche Repeats aufweisen. Beim Menschen sind 5–15 kb eines TTAGGG-Repeats an jedem Chromosomenende, bei der Maus sogar 25–40 kb. Das letzte Stück steht als 3'-Überhang in einzelsträngiger Form ca. 150–200 b über (G-tail). Die Telomerlänge wird durch Telomerase aufrechterhalten, da die DNA-Replikationsmaschinerie die extremen 5'-Enden von DNA nicht synthetisieren kann. Während in Keimzellen und einigen anderen Geweben lange Telomere nachgewiesen werden, nimmt die Länge in den meisten somatischen Zellen mit jeder Teilung ab, da die Telomeraseaktivität sehr gering ist.

Die Telomere sind mit Histon und zusätzlich mit einem Multiproteinkomplex, dem Shelterin, besetzt. Auch das einzelsträngige Ende ist mit Proteinen besetzt, z. B. mit POT1 in der Spaltheife (*S. pombe*), in Pflanzen und beim Menschen; TEBP α und TEBP β in *Styloynchia*. Wird POT1 in *S. pombe* inaktiviert, so treten Degradation der Telomere, Chromosomenfusionen und Zelltod auf. Intakte Telomere sind daher für eine erfolgreiche Zellteilung essentiell. Dies gilt auch und insbesondere für Tumorzellen: In 90% aller Tumore ist eine erhöhte Telomerase-Aktivität nachweisbar.

Aufgrund des hohen Guanosin-Gehaltes kann der Einzelstrang am Telomerende unterschiedliche Sekundärstrukturen einnehmen. Durch Rückfaltung können Quadruplex-Strukturen entstehen, die anstelle der kanonischen Basenpaarungen Wasserstoffbrücken zwischen je vier Guanin-Resten enthalten (G-Quartette). So bildet sich eine viersträngige DNA. Dabei sind mehrere Anordnungen möglich, die sich in der Laufrichtung der vier DNA-Stränge sowie der thermodynamischen Stabilität unterscheiden. Während zu Quadruplexen mit humaner

DNA-Sequenz *in vitro* umfangreiche Daten, darunter auch NMR- und Kristallstrukturdaten, vorliegen, gibt es zur Struktur der Telomerenden in der Zelle bisher nur wenige indirekte Hinweise.

Durch Quadruplex-bindende Agenzien kann die Telomeraseaktivität behindert werden. Mit Telomestatin aus *Streptomyces anulatus* wurde ein natürlicher Quadruplex bindender Telomerase-Inhibitor gefunden. Telomestatin kann sich durch *Stacking* an Quadruplex-DNA anlagern und diese so stabilisieren. Als Ursache der inhibierenden Wirkung wird das Entziehen des einzelsträngigen Telomerase-Templates durch die Bildung der G-Quartette vermutet. Dies führt in proliferierenden Zellen zu Seneszenz und Zelltod. Daher werden Quadruplex-bindende bzw. Quadruplex-induzierende Stoffe als Chemotherapeutika entwickelt.

Das Ziel des Forschungsprojektes ist, Erkenntnisse über die Struktur der Telomerüberhänge in der lebenden Zelle zu gewinnen. Es soll dazu dienen, ihre Funktion besser zu verstehen und eine Basis für die Weiterentwicklung der Quadruplex-bindenden Substanzen zu schaffen. Die experimentelle Durchführung der Aufgabe setzt sich aus zwei Teilen zusammen: Als erstes sollten verschiedene Quadruplexstrukturen aus Oligonukleotiden mit mehreren Telomer-Repeats (TTAGGG) dargestellt und zur Selektion von synthetischen Bindeproteinen genutzt werden. Im zweiten Teil ist die Expression dieser Bindeproteine in humanen Zelllinien geplant, um zu testen, ob sie auch hier an die Telomerenden binden können.

Zunächst wurden Quadruplexstrukturen aus synthetischen Oligonukleotiden mit Telomerasequenz *in vitro* unter Zugabe geeigneter Puffer erzeugt. Durch CD-Spektroskopie und MALS-SEC (*Multi Angle Light Scattering* mit *Size-Exclusion-Chromatographie*) wurde die Faltung und die monomere Form der DNA überprüft. Die Ergebnisse bestätigen publizierte Daten und deuten auf das Vorliegen von Quadruplexen hin.

Für die Selektion von Bindeproteinen wurde mit dem *Ribosome Display* eine Methode verwendet, die vollständig *in vitro* abläuft. So kann eine Mutantenbibliothek mit einer Diversität von mindestens 10^{11} eingesetzt werden. Nach drei Runden dieser *In-vitro*-Evolution mit einer Mutantenbibliothek aus Ankyrin-*Repeat*-Proteinen lagen Binder mit einer Affinität von etwa 20 nM bis 200 nM für die Telomerquadruplexe vor. Die Spezifität der Bindung gegenüber doppelsträngiger Telomer-DNA wurde mit Gelretardationsexperimenten und ELISA bestätigt. Die vorliegenden Daten zeigen weiterhin, dass Komplexe mit definierter Stöchiometrie entstehen. Damit ist es gelungen, Varianten von Ankyrinen zu erzeugen, die DNA binden. Solche Moleküle waren aus der Natur bisher nicht bekannt.

POT1, das den guaninreichen Überhang in der Zelle bindet, entfaltet wahrscheinlich bei der Bindung die Quadruplexe. Da ein solcher Effekt auch bei den selektierten Ankyrinen denkbar, jedoch unerwünscht wäre, wurden CD-Spektren der DNA im Komplex mit den Ankyrinen gefahren. Es wurde festgestellt, dass bei der Bindung der Ankyrine die Quadruplexstruktur der Telomer-DNA erhalten bleibt.

Für den weiteren Verlauf des Projektes ist geplant, die Quadruplexbinder in den Nuclei lebender Zellen nachzuweisen und relativ zu den Telomeren zu lokalisieren. Aufgrund der wenigen Bindestellen (pro Zelle 92 Telomere mit geschätzten 4 Bindestellen) sind dazu hochsensitive Techniken erforderlich. Die Binder sollen als Fusion mit fluoreszierenden Proteinen exprimiert werden. Eine grobe Lokalisierung kann etwa durch Vergleich der räumlichen Lage von POT1-GFP im konfokalen Mikroskop mit den selektierten Ankyrinen als Fusion mit anderen fluoreszierenden Proteinen gewonnen werden. Zur Feinlokalisierung bietet sich beispielsweise FRET (Fluoreszenzresonanzenergietransfer) zwischen geeigneten fluoreszierenden Spezies an. Wenn es gelingt, die Bindung der selektierten Ankyrine an die Telomerenden lebender Zellen zu zeigen, ist dies ein deutlicher Hinweis auf das Vorliegen von Quadruplexen.

Publikationen

- KRUEGER, M., SCHOLZ, O., WISSHAK, S., and HILLEN, W.: Engineered Tet repressors with recognition specificity for the tetO-4C5G operator variant. *Gene* 404/1–2, 93–100 (2007)
- MOELLER, N., MUELLER-SEITZ, E., SCHOLZ, O., HILLEN, W., BERGWERFF, A. A., and PETZ, M.: A new strategy for the analysis of tetracycline residues in foodstuffs by a surface plasmon resonance biosensor. *European Food Research and Technology* 224, 285–292 (2007)

Dr. rer. nat. Marc Schönwiesner

(BMBF LPD 9901/8-121)

Geboren am 10. 9. 1975 in Halle. 1995–2000 Studium der Biologie an der Universität Leipzig. 2000–2004 Doktorand in Neurobiologie an der Universität Leipzig und am Max-Planck-Institut für Kognitive Neurowissenschaften als Stipendiat der Studienstiftung des Deutschen Volkes. 2004–2005 Postdoktorand in der Cognitive Brain Research Unit der Universität Helsinki (Finnland). 2006–2008 Postdoktorand des Leopoldina-Förderprogramms am Department of Neurology and Neurosurgery des Montreal Neurological Institute, Montreal (Kanada). Seit April 2008 Assistant Professor am International Laboratory for Brain, Music, and Sound Research, Université de Montréal (Kanada).



Project:

Mapping the Human Cerebral and Brainstem Auditory System with Functional Magnetic Resonance Imaging

I am interested in the function of the human auditory system at all levels. The auditory system is an excellent model to study the neural mechanisms that encode sensory information, extract behaviorally relevant features, and eventually lead to perception and cognition. The Leopoldina supported my studies about the representation of auditory space and motion in the cortex and subcortical structures, hemispheric asymmetries in spectro-temporal processing, attentional modulation of hemispheric asymmetries, the mechanisms that underlie involuntary shifts of attention to sounds, the cortical representation of speech sounds, and about the mechanisms of pitch processing using intracranial recordings from an epilepsy patient. Work in progress focuses on processing of reverberation using virtual acoustics, on high-resolution mapping of frequency, pitch, interaural time differences, and spectro-temporal parameters using functional magnetic resonance imaging, and on the subcortical lateralization of speech and music. In these studies I try to adapt experimental approaches used in single-cell studies in animals with the goal to facilitate the interpretation of human neuroimaging results with respect to models of neuronal function. I am currently using a stimulation protocol, originally designed to map spectro-temporal receptive fields of single neurons, to map response properties of cortical fields in humans with fMRI. The Figure 1 shows spectrograms of so-called dynamic ripple sounds (*lower left*) that were presented to a test participant, and an example of an extracted modulation transfer function (*lower right*) of a small patch of auditory cortex of the person (*upper panel*).

These modulation transfer functions can be used to predict the response of a patch of cortex to sound. The detailed knowledge from animal work about the neuronal coding of those stimuli puts strong constraints on the interpretation of the human data.

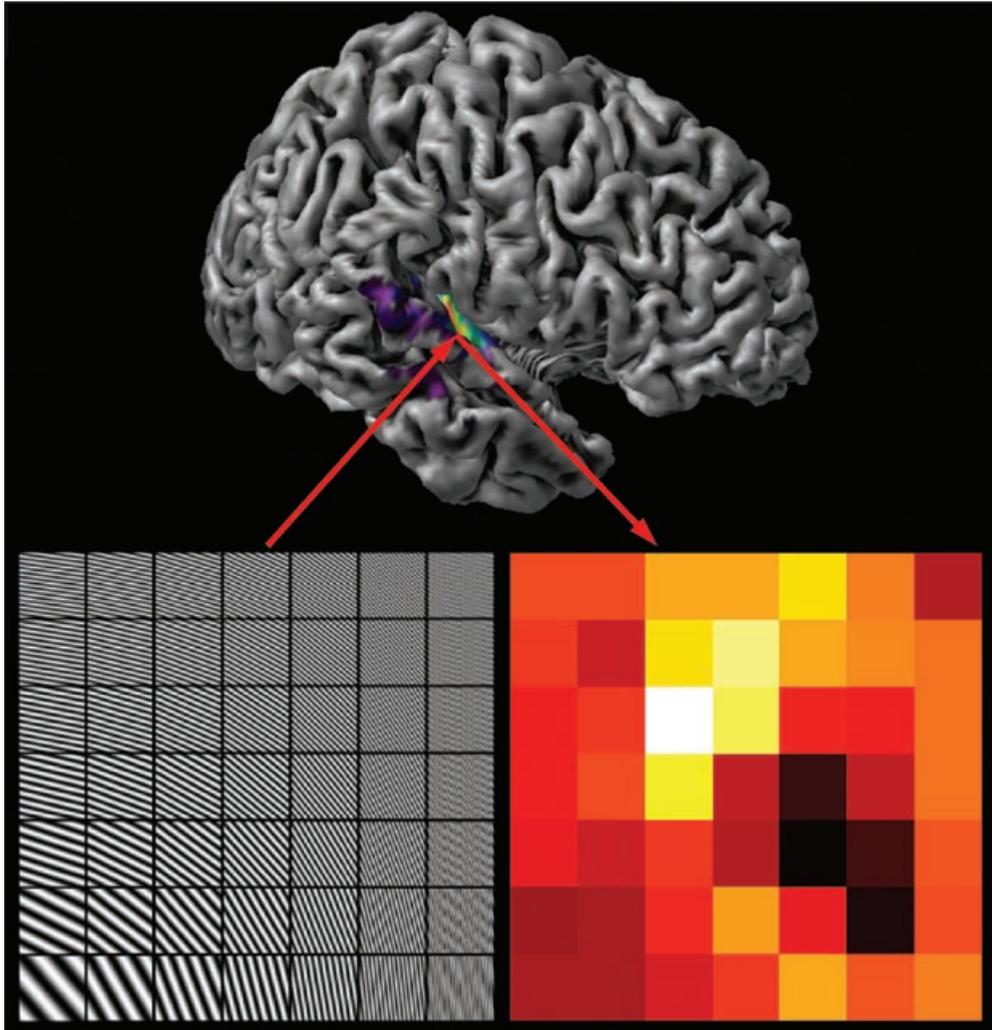


Fig. 1 Spectrograms of so-called dynamic ripple sounds

Publications

- SCHÖNWIESNER, M., and ZATORRE, R. J.: Spectro-temporal modulation transfer function of single voxels in the human auditory cortex measured with high-resolution fMRI. (submitted)
- SCHÖNWIESNER, M., and ZATORRE, R. J.: Depth electrode recordings show double dissociation between pitch processing in lateral Heschl's gyrus and sound onset processing in medial Heschl's gyrus. *Exp. Brain Res.* 187/1, 97–105 (2008)
- KRUMBHOLZ, K., HEWSON-STOATE, N., and SCHÖNWIESNER, M.: Cortical response to auditory motion suggests an asymmetry in the reliance on inter-hemispheric connections between the left and right auditory cortices. *J. Neurophysiol.* 97/2, 1649–1655 (2007)
- SCHÖNWIESNER, M., KRUMBHOLZ, K., RÜBSAMEN, R., FINK, G. R., and CRAMON, D. Y. VON: Hemispheric asymmetry for auditory processing in the human auditory brain stem, thalamus, and cortex. *Cereb. Cortex* 17/2, 492–499 (2007)
- SCHÖNWIESNER, M., NOVITSKI, N., PAKARINEN, S., CARLSON, S., TERVANIEMI, M., and NÄÄTÄNEN, R.: Heschl's gyrus, posterior superior temporal gyrus, and mid-ventrolateral prefrontal cortex have different roles in the detection of acoustic changes. *J. Neurophysiol.* 97/3, 2075–2082 (2007)
- HEWSON-STOATE, N., SCHÖNWIESNER, M., and KRUMBHOLZ, K.: Vowel processing evokes a large sustained response anterior to primary auditory cortex. *Eur. J. Neurosci.* 24/9, 2661–2671 (2006)

Dr. rer. nat. Birgit Schulze

(BMBF LPD 9901/8-152)

Geboren 1975. 1995–2000 Studium der Pharmazie an der Philipps-Universität Marburg. 2001 Wissenschaftliche Angestellte am Max-Planck-Institut für Biogeochemie, Jena. 2001–2005 Promotion am Max-Planck-Institut für chemische Ökologie, Jena. 2005–2006 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Max-Planck-Institut für chemische Ökologie, Jena. 2007–2008 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiantin am Botanischen Institut der Universität Basel.



Projekt:

Rezeption und Verarbeitung mikrobieller Signale in der pflanzlichen Immunantwort

Pflanzen nehmen ihre Umwelt auf ähnlich komplexe Weise wahr wie Tiere, auch wenn sie oft nur als passive Organismen angesehen werden. So reagieren Pflanzen nicht nur auf Veränderungen ihrer abiotischen Wachstumsbedingungen, sondern verteidigen sich effektiv gegen ihre Fraßfeinde und wehren Infektionserreger ab. In pflanzlichen und tierischen Organismen ähneln sich die biochemischen Mechanismen der Signalrezeption und -verarbeitung oft auf erstaunliche Weise. So können Pflanzen mit Hilfe von spezifischen Rezeptoren die Anwesenheit von Mikroorganismen erkennen und sich mit Abwehrreaktionen gegen potentielle Pathogene verteidigen. Eine Schlüsselrolle bei dieser Art von Immunität spielen membranständige Rezeptoren, die mikrobielle Elizitoren erkennen. Solche Elizitoren sind strukturelle Elemente, die in einem breiten Spektrum von Mikroorganismen vorkommen, z. B. Zellwandbestandteile von Bakterien oder Pilzen, und deshalb auch PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*) genannt werden.

Zu den bekanntesten PAMP-Rezeptoren gehören FLS2 (*Flagellin sensing 2*) und EFR (EF-tu-Rezeptor), die beide zu der Familie der *Leucin rich repeat-receptor like*-Kinasen (LRR-RLK) gehören und starke Ähnlichkeit zu den *Toll-like*-Rezeptoren haben, die eine wichtige Rolle in der angeborenen Immunantwort tierischer Organismen spielen. FLS2 und EFR wurden von der Arbeitsgruppe Thomas BOLLER erstmalig beschrieben und seither intensiv studiert (GÓMEZ-GÓMEZ und BOLLER 2000, ZIPFEL et al. 2006). So wurde kürzlich die Rezeptorkinase BAK1 (*BRI1-associated*-Kinase) als Korezeptor von FLS2 identifiziert und gezeigt, dass die Liganden-abhängige Heterodimerisierung dieser beiden Rezeptoren für die Signalweiterleitung essentiell ist (Abb. 1) (CHINCHILLA et al. 2007).

Im Rahmen dieses Projektes sollen nun weitere Schritte in der Signaltransduktion identifiziert werden. Der Fokus meines Interesses liegt in der intrazellulären Kinasedomäne dieser beiden Proteine, die mit großer Wahrscheinlichkeit über verschiedene Phosphorylierungsschritte das extrazelluläre Signal an intrazelluläre Proteine weitergibt.

In einem ersten Teilprojekt habe ich nach direkten Bindungspartnern der FLS2 und BAK1-Kinasen gesucht. Dazu habe ich über einen *Phage-display*-Assay nach Peptidsequenzen gesucht, die eine hohe Affinität zu den genannten Kinasen haben. Über einen Vergleich solcher Peptidsequenzen mit der Proteindatenbank von *Arabidopsis thaliana*

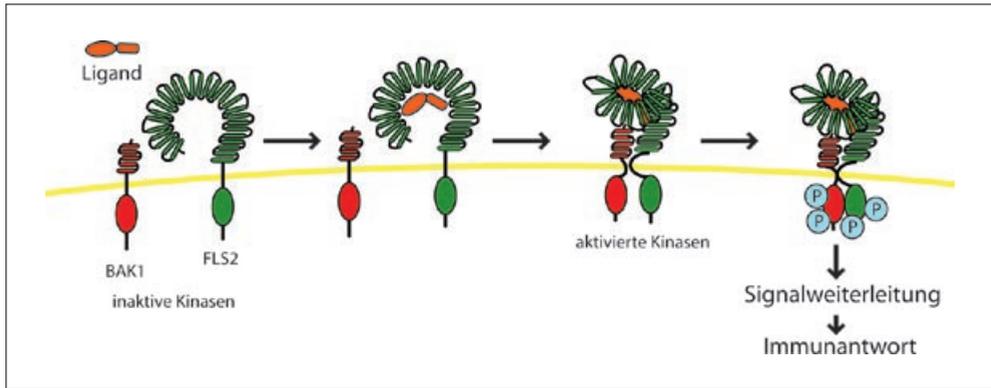


Abb. 1 Hypothetisches Modell zur Signalwahrnehmung und -verarbeitung des FLS2-Rezeptors. Nach Bindung des Liganden, in diesem Fall eines Peptidfragmentes des bakteriellen Proteins Flagellin, kommt es zu einer Konformationsänderung des Rezeptors und der Dimerisierung mit dem Korezeptor BAK1. Wie dies zu Auto- oder Transphosphorylierung und letztendlich zu einer Signalweiterleitung an weitere Proteine führt, ist Gegenstand dieses Projektes.

wurden Kandidaten, die als Interaktionspartner in der Signaltransduktion von FLS, EFR und BAK1 in Frage kommen, herausgefiltert. Vielversprechende Kandidaten wurden kloniert, und es folgen nun weitere Experimente, um ihre Interaktion mit den Rezeptorkinasen zu verifizieren.

Parallel dazu untersuchen wir frühe Schritte der Rezeptoraktivierung (Abb. 1). Die Liganden-induzierte Heterodimerisierung von FLS2 und BAK1 impliziert, dass die beiden intrazellulären Kinasedomänen über Auto- oder Transphosphorylierungsschritte aktiviert werden, ähnlich wie es bei anderen Rezeptorkinase-Systemen der Fall ist (WANG et al. 2008). Um *in vivo* Phosphorylierungsereignisse auf den beiden Rezeptorkinasen zu beobachten, werden Zellkulturen von *Arabidopsis thaliana* mit radioaktivem Phosphat inkubiert und anschließend mit dem Liganden von FLS2 behandelt. Unsere ersten Ergebnisse bestätigen, dass die Phosphorylierung der Rezeptorkinasen mit der Heterodimerisierung einhergeht und für die Signalantwort der Zellen essentiell ist. Ziel ist es nun, die *In-vivo*-Markierung der Rezeptoren mit radioaktivem Phosphat auf Pflanzenkeimlinge auszudehnen. Das gibt uns die Möglichkeit, an Pflanzentransformaten zu arbeiten und mittels gezielter Mutationen in den Rezeptorkinasen den Mechanismus dieser Auto- oder Transphosphorylierung weiter aufzuklären.

Literatur

- CHINCHILLA, D., ZIPFEL, C., ROBATZEK, S., KEMMERLING, B., NÜRNBERGER, T., JONES, J. D., FELIX, G., and BOLLER, T.: A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 448/7152, 497–500 (2007)
- GÓMEZ-GÓMEZ, L., and BOLLER, T.: FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol. Cell* 5/6, 1003–1011 (2000)
- WANG, X., KOTA, U., HE, K., BLACKBURN, K., LI, J., GOSHE, M. B., HUBER, S. C., and CLOUSE, S. D.: Sequential transphosphorylation of the BRI1/BAK1 receptor kinase complex impacts early events in brassinosteroid signaling. *Dev. Cell* 15/2, 220–235 (2008)
- ZIPFEL, C., KUNZE, G., CHINCHILLA, D., CANIARD, A., JONES, J. D. G., BOLLER, T., and FELIX, G.: Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell* 125/4, 749–760 (2006)

Publikationen

- ARIMURA, G., GARMS, S., MAFFEI, M., BOSSI, S., SCHULZE, B., LEITNER, M., MITHÖFER, A., and BOLAND, W.: Herbivore-induced terpenoid emission in *Medicago truncatula*: concerted action of jasmonate, ethylene and calcium signaling. *Planta* 227/2, 453–464 (2008)
- SCHULZE, B., and SPITELLER, D.: Counterdefense strategies – Evolution of defense strategies. In: JORGENSEN, S. E., and FATH, B. D. (Eds.): *Encyclopaedia of Ecology*. Dordrecht: Elsevier 2008
- SCHULZE, B., DĄBROWSKA, P., and BOLAND, W.: Rapid enzymatic isomerization of 12-oxophytodienoic acid in the gut of Lepidopteran larvae. *ChemBioChem* 8/2, 208–216 (2007)

Dr. rer. nat. Dirk Schuricht

(BMBF LPD 9901/8-145)

Geboren 1978 in Zeulenroda (Thüringen). 1998–2003 Studium der Physik an der Universität Karlsruhe. Januar 2006 Promotion an der Universität Karlsruhe, anschließend Wissenschaftlicher Angestellter. Oktober 2006 bis September 2008 Leopoldina-Postdoktoranden-Stipendiat am Rudolf Peierls Centre for Theoretical Physics an der University of Oxford (Großbritannien). Seit Oktober 2008 Wissenschaftlicher Angestellter an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen.



Project:

Theory of Scanning Tunneling Microscopy Experiments on One-dimensional Mott Insulators and Charge Density Wave States in the Presence of an Impurity

Condensed matter physics studies properties of solid materials such as the electrical resistivity or their response to magnetic fields. These properties are governed by the behavior of the electrons in the materials. Each electron possesses an electronic charge and a spin, the latter being responsible for phenomena such as magnetism. The peculiarity of one-dimensional (1D) systems is that these two degrees of freedom decouple, i. e. charge and spin can propagate independently.

In recent years scanning tunneling microscopy (STM) techniques have proved to be very useful tools for studying systems such as high-temperature superconductors (HTSC), carbon nanotubes, and rare-earth compounds. Scanning tunneling microscopy measures the local differential conductance, which is directly related to the local density of states (LDOS), a measure of the maximal density of electrons, of the sample (see Fig 1a). A theoretical description of STM experiments hence requires the calculation of the LDOS. Impurities break translational invariance and lead to a modification of the LDOS in their vicinity, from which one can infer characteristic properties of the bulk state of matter as well as the nature of its electronic excitations.

Here we theoretically study scanning tunneling microscopy in a system of strongly correlated electrons moving in 1D in the presence of an impurity. We will consider systems with a finite gap Δ in the spin spectrum but no gap in the charge sector, the so-called charge density wave (CDW) states. This problem is of interest to the study of two-leg ladder materials with strong superconducting correlations like $\text{Sr}_{14}\text{Cu}_{24}\text{O}_{41}$ and the stripe phases of HTSC. We focus on the regime in which the scattering at the impurity is strong and, hence, at sufficiently low energies it acts as a physical boundary. In the same way one can also study 1D Mott insulators in which the gap appears in the charge sector.

We describe the CDW state by an effective low-energy field theory which contains five free parameters: the spin and charge velocities v_s and v_c , the Luttinger parameters K_s and K_c , and the value of the gap Δ . These parameters depend on the microscopic details of the material and have to be determined separately. In the framework of the low-energy field theory the LDOS of the CDW state can be calculated using the boundary state formalism (GHOSHAL and

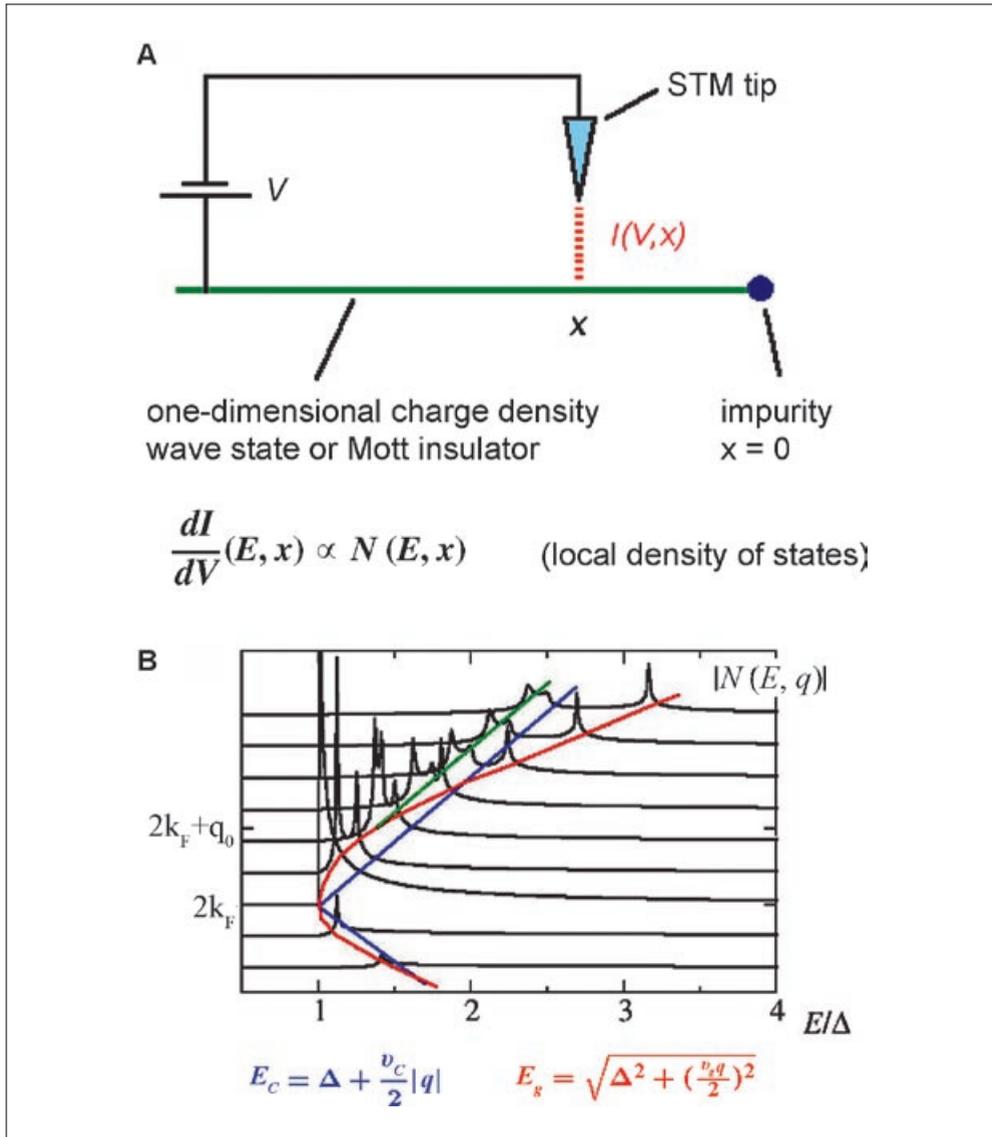


Fig. 1 (A) Sketch of an STM experiment. The current I between the sample and the STM tip depends on the applied voltage V and the position x , which can be resolved on an atomic scale. (B) Spatial Fourier transform of the LDOS for attractive electron interactions like in superconductors. We observe propagating charge (blue) and spin (red) degrees of freedom. Above the critical momentum q_0 a third dispersive peak (green) appears.

ZAMOŁODCHIKOV 1994) together with a form-factor expansion (LUKYANOV and ZAMOŁODCHIKOV 2001). The details will be published elsewhere (SCHURICHT et al., in preparation). We have also used this technique to calculate the dynamical correlation functions in the Ising model with a boundary magnetic field (SCHURICHT and ESSLER 2007).

The LDOS for typical values of the effective parameters is shown in Figure 1B (SCHURICHT et al. 2008). The LDOS is dominated by the static peak at momentum $2k_F$, which is indicative of the CDW order being pinned at the boundary. This is analogous to the Luttinger liquid

case (KIVELSON et al. 2003), in which the spin and charge sectors are gapless. At low energies above the spin gap Δ we further observe two dispersing features associated with the collective spin and charge degrees of freedom respectively: (i) a charge peak that follows the linear dispersion E_c and (ii) a spin peak following E_s , a dispersion with non-vanishing curvature. For momenta q above the critical value q_0 a third dispersing peak appears which is propagating parallel to E_c . This feature can be thought of as collective propagation of a spin excitation and a charge excitation with identical velocities. The third dispersing peak only exists in the case of attractive electron interactions where $v_s > v_c$ and $K_c > 1$. In the case of repulsive interactions ($v_s < v_c$, $K_c < 1$) as well as in the Luttinger liquid the third peak is absent. In addition, depending on the boundary conditions we observe a non-dispersing singularity of the LDOS within the spin gap, i. e. $E < \Delta$, which is caused by the existence of a boundary-bound state.

In summary, we have determined the low-energy LDOS in strongly correlated gapped 1D systems in the presence of a strong impurity potential. We have shown that the spatial Fourier transform of the LDOS can be used to infer characteristic properties of the bulk state of matter such as the pinning of the CDW order at the impurity. The LDOS further exhibits clear signatures of propagating collective spin and charge modes, which reflect the nature of the underlying electron-electron interactions.

References

- GHOSHAL, S., and ZAMOLODCHIKOV, A. B.: Boundary S-matrix and boundary state in two-dimensional integrable quantum field theory, *Int. J. Mod. Phys. A* *9*, 3841 (1994); *ibid.* *9*, E4353 (1994)
 KIVELSON, S. A., FRADKIN, E., OGANESYAN, V., BINDLOSS, I. P., TRANQUADA, J. M., KAPITULNIK, A., and HOWALD, C.: How to detect fluctuating stripes in the high-temperature superconductors. *Rev. Mod. Phys.* *75*, 1201 (2003)
 LUKYANOV, S., and ZAMOLODCHIKOV, A. B.: Form factors of soliton-creating operators in the sine-Gordon model, *Nucl. Phys. B* *607*, 437 (2001)

Publications

- SCHURICHT, D., ESSLER, F. H. L., JAEFARI, A., and FRADKIN, E.: Local density of states in Luttinger liquids with a dynamically-generated spin gap in the presence of an impurity. (in preparation)
 SCHURICHT, D.: Many-spinon states and representations of Yangians in the SU(n) Haldane-Shastry model, *J. Phys. A: Math. Theor.* *41*, 015208 (2008)
 SCHURICHT, D., ESSLER, F. H. L., JAEFARI, A., and FRADKIN, E.: Local density of states of 1D Mott insulators and CDW states with a boundary. *Phys. Rev. Lett.* *101*, 086403 (2008)
 SCHURICHT, D., and RACHEL, S.: Valence bond solid states with symplectic symmetry. *Phys. Rev. B* *78*, 014430 (2008)
 SCHURICHT, D., and ESSLER, F. H. L.: Dynamical response functions in the quantum Ising chain with a boundary. *J. Stat. Mech. Theor. Exp.* P11004 (2007)

Dr. rer. nat. Oliver Schuster

(BMBF LPD 9901/8-179)

Geboren am 5. 7. 1978. 1997–2002 Studium der Chemie an der Technischen Universität München. 11/2002 Diplom. 5/2005 Promotion über Alkynylgold(III)-Verbindungen bei Prof. H. SCHMIDBAUR. 9/2005–5/2007 Feodor-Lynen-Stipendiat der Alexander-von-Humboldt-Stiftung an der Universität Stellenbosch (Südafrika), unter Prof. H. G. RAUBENHEIMER. 2007–2008 Rückkehr-Stipendiat an der TU München bei Prof. W. A. HERRMANN, Fortsetzung der Forschung an „nicht-klassischen“ N-heterozyklischen Carbenliganden. Seit Mai 2008 im Rahmen des Leopoldina-Förderprogramms am Department für Chemie der Université de Fribourg (Schweiz).



Projekt:

Synthese und Anwendung von Komplexen „remote“ N-heterozyklischer Carbene

Carbene sind ganz allgemein Verbindungen des zweiwertigen Kohlenstoffs mit einem Elektronensextett. Wegen ihres Bestrebens, eine stabile Edelgaskonfiguration mit acht Valenzelektronen zu erreichen, sind sie Elektronenmangelverbindungen und als solche höchst reaktiv. Deshalb treten sie zumeist nur als Zwischenstufen in chemischen Reaktionen auf und können nur in Ausnahmefällen isoliert werden. Mittels ihres freien Elektronenpaares sind sie jedoch in der Lage, über eine dative Bindung Metallionen zu stabilisieren (und werden im Gegenzug selbst formal stabilisiert). In solchen metallorganischen Komplexverbindungen fungieren sie als neutrale Liganden. In dieser Rolle werden wegen ihrer Robustheit vermehrt N-heterozyklische Carbene (NHCs), welche den zweiwertigen Kohlenstoff in einen organischen Ring mit mindestens einem Stickstoffatom einbetten (vgl. Abb. 1), eingesetzt. Sie bieten dem Organometallchemiker eine willkommene Alternative zu den bislang besonders weit verbreiteten Phosphanliganden und übertreffen diese in essentiellen Eigenschaften wie Elektronendonorumvermögen und Thermostabilität. So konnte mit ihrer Hilfe die Effizienz und Lebensdauer homogener Katalysatoren zur Feinchemikalienherstellung signifikant gesteigert werden. Die erreichten Fortschritte bei der Olefinmetathese wurden kürzlich sogar mit dem Nobelpreis gewürdigt.

Trotz der Vielzahl von Verbindungen, auf welche die Bezeichnung „N-heterozyklisches Carben“ zutrifft (vgl. Beispiele in Abb. 1), werden in der chemischen Literatur unter NHCs oft nur Imidazol-2-ylidene (**A**) und eng verwandte Derivate (z. B. **B**, **C**) verstanden, in welchen das Carbenkohlenstoffatom in einem fünfzähligen Ring von zwei stabilisierenden Stickstoffatomen flankiert wird. Der Einfluss zweier benachbarter Heteroatome bedingt eine besonders hohe Stabilität und macht es sogar möglich, solche Liganden in freier Form zu isolieren. Bei entsprechender Wahl der Substituenten sind diese sogar an Luft stabil. Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass NHCs mit der beschriebenen Geometrie bei weitem am besten untersucht sind. Im Gegensatz dazu, sind nur wenige Beispiele von Verbindungen carbener Liganden bekannt, in welchen das Carbenzentrum durch lediglich ein benachbartes Heteroatom stabilisiert wird (z. B. **D**, **E**).

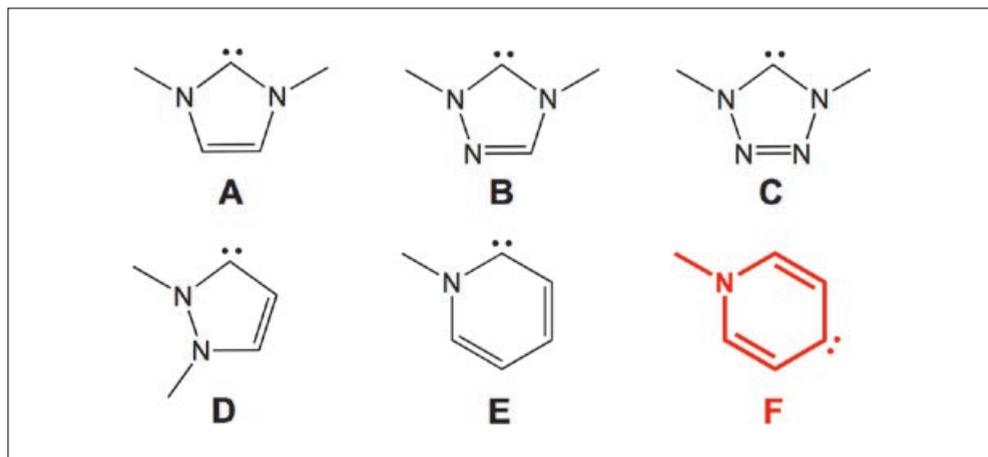


Abb. 1 Beispiele für N-heterozyklische Carbene (NHCs)

Das aktuelle Forschungsvorhaben geht noch einen Schritt weiter und konzentriert sich auf solche Carbene, deren Stickstoffatom seinen stabilisierenden Einfluss nur noch mittelbar über Konjugation ausüben kann (**F**). Wegen der darin vorgegebenen Distanz zwischen Heteroatom und Carbenzentrum werden diese Liganden als „remote“ N-heterozyklische Carbene („rNHCs“) bezeichnet. Das Interesse an diesen Exoten begründet sich durch ihre intrinsischen Eigenschaften. So haben erst kürzlich theoretische Untersuchungen gezeigt, dass rNHCs sogar noch bessere σ -Donoren als „klassische“ NHCs (**A**) sind. Dies ist bemerkenswert, da die hohe Basizität zu den herausragenden Eigenschaften Letzterer gehört. Gleichzeitig ist auch ihr π -Akzeptorcharakter stärker ausgeprägt.

Relevant ist dies u. a. für die Entwicklung leistungsstarker Katalysatoren. An einzelnen, ausgewählten Beispielen konnte bereits eindrucksvoll bewiesen werden, dass rNHC-Komplexe, bereits ohne Optimierung der Reaktionsbedingungen, mit den besten konventionellen Katalysatorsystemen konkurrieren können. Ihr Potential ist hoch einzuschätzen, da die Variabilität dieser Liganden eine sehr gute Feinabstimmung der elektronischen und sterischen Eigenschaften ermöglicht: (1.) Die Substitution in unmittelbarer Nähe zum Carbenkohlenstoffatom ist im Gegensatz zu den Imidazol-2-ylidenen (**A**) nicht auf organische Reste beschränkt; (2.) die Entfernung des Heteroatoms vom reaktiven Zentrum kann variiert werden.

Ein weiterer Aspekt ist ihre Anwendung in redoxaktiven Systemen, welche durch die erhöhte π -Konjugation den Elektronentransfer vom Metall zum Reservoir (Ligand) deutlich verbessern sollte. Wegen der intrinsischen Bifunktionalität der Carbenvorstufen erscheint die Organisation solcher molekularer Schalter in organometallischen Polymeren oder Monolagen vielversprechend. Diese neuen Materialien besitzen im Idealfall aufgrund der hohen Dichte an aktiven Zentren neue kollektive Eigenschaften.

Ungeachtet der späteren Anwendung besteht die Herausforderung derzeit vor allem darin, eine flexible Synthese für rNHC-Komplexe verschiedenster Übergangsmetalle zu erarbeiten, denn im Moment beschränkt sich ihre Chemie weitgehend auf Nickel, Palladium und Platin als Zentralatom. Dies liegt darin begründet, dass als Syntheseroute lediglich die oxidative Addition etabliert ist, welche nur für die genannten Metalle befriedigende Ergebnisse liefert. Die aktuellen Anstrengungen konzentrieren sich deshalb darauf, die Anwendbarkeit von Transmetallierung, Decarboxylierung, Zyklometallierung und anderer Reaktionen zu prüfen.

Publikationen

- HEYDENRYCH, G., SCHUSTER, O., STANDER, E., RAUBENHEIMER, H. G., and FRENKING, G.: The metal-carbene bond in remote and abnormal six-membered, one-N heterocyclic carbene complexes. (in preparation)
- STANDER, E., SCHUSTER, O., CRONJE, S., HEYDENRYCH, G., FRENKING, G., and RAUBENHEIMER, H. G.: Pyridine-derived NHCs: A combined experimental and theoretical evaluation of normal, abnormal and remote pyridylidene complexes. (in preparation)
- SCHUSTER, O., YANG, L., RAUBENHEIMER, H. G., and ALBRECHT, M.: Beyond standard N-heterocyclic carbenes: Ligands with reduced heteroatom stabilization. *Chem. Rev.* (accepted for publication)
- SCHUSTER, O., and RAUBENHEIMER, H. G.: Synthesis of the first rNHC (remote N-heterocyclic carbene) complexes with no heteroatom in the carbene carbon-containing ring. *Inorg. Chem.* 45/20, 7997–7999 (2006)

Dr. rer. nat. Christine Selhuber-Unkel

(BMBF LPD 9901/8-164)



Geboren am 21. 11. 1980. 2000–2002 Physikstudium an der Universität Heidelberg. Vordiplom April 2002. 2002–2003 Physikstudium an der Universität Uppsala (Schweden); M.Sc. im Juni 2003. 2003–2006 Doktorarbeit an der Universität Heidelberg und am Max-Planck-Institut für Metallforschung (Prof. J. SPATZ); Titel der Doktorarbeit: „Biological adhesion on nanopatterned substrates studied with force spectroscopy and microinterferometry.“ 12/2006–4/2007: Postdoktorand an der Universität Heidelberg und am Max-Planck-Institut für Metallforschung. Seit 5/2007 Leopoldina-Stipendiatin (Postdoktorandin) am Niels-Bohr-Institut, Kopenhagen (Dänemark). 2007 Dieter-Rampacher-Preis 2006 der Max-Planck-Gesellschaft, 2008 Otto-Hahn-Medaille der Max-Planck-Gesellschaft.

Projekt:

Charakterisierung der Kräfte und der viskoelastischen Eigenschaften der mitotischen Spindel in lebenden Zellen

Zielsetzung: Die Zellteilung ist der Mechanismus, der die Reproduktion aller lebenden Organismen gewährleistet. Ein Schlüsselereignis während einer spezifischen Phase der mitotischen Zellteilung ist die Ausbildung der mitotischen Spindel. Diese besteht aus einem organisierten Netzwerk von Proteinfilamenten, den Mikrotubuli, und stellt das mechanische Gerüst für die Trennung der replizierten Tochterchromatide dar. Das Ziel meines Projekts ist eine quantitative Untersuchung der mechanischen Eigenschaften des intrazellulären Raums während der Zellteilung. Als biologische Proben dienen eukaryotische Zellen, z. B. der Spaltheefe (*Schizosaccharomyces pombe*), aber auch Fibroblastenzellen. Meine Arbeit umfasst zum einen die Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften des intrazellulären Raums und des Spindelgerüsts in den unterschiedlichen Phasen der mitotischen Zellteilung. Dafür werden u. a. auch neue Methoden der intrazellulären Kraftmessung entwickelt. Zum anderen gilt es in den Experimenten, die funktionellen Konsequenzen intrazellulärer Kraftanwendung auf Zellen quantitativ zu erfassen. Dies könnte es künftig ermöglichen, entartete Zellteilungsprozesse, wie sie in Krebszellen vorkommen, besser zu verstehen.

Methodische Umsetzung des Projekts: Optische Pinzetten im intrazellulären Raum. Um die viskoelastischen Eigenschaften des Zellinneren und der mitotischen Spindel in den verschiedenen Stadien der Zellteilung zu charakterisieren, werden mit Hilfe einer optischen Pinzette Kräfte an der mitotischen Spindel von *S. pombe* angelegt. Die Kräfte der optischen Pinzette werden durch chemisch funktionalisierte Mikro- bzw. Nanopartikel vermittelt, die durch Mikroinjektion in das Zellinnere eingebracht werden und dort an Mikrotubuli oder andere Zellorganelle binden. Mit Hilfe von konfokaler Fluoreszenzmikroskopie ist es dann möglich, die dreidimensionalen Auswirkungen der Kraftanwendung auf das Mikrotubuli-Netzwerk im Zellinneren zu beobachten. Kürzlich ist es uns gelungen, stäbchenförmige Gold-Nanopartikel als neuartige Kraftsensoren für optische Pinzetten zu etablieren (SELHUBER-UNKEL et al.

2008a). Mit diesen Kraftsensoren soll es in Zukunft auch möglich sein, Rotationsbewegungen im Zellinneren zu erzeugen und optisch zu verfolgen.

Eine weitere Möglichkeit zur Untersuchung der mechanischen Eigenschaften des intrazellulären Raums bieten Fettkügelchen, die natürlich im Inneren der Zelle vorkommen. Da der Brechungsindex dieser Kügelchen sehr niedrig ist, ist es zwar nicht möglich, sie optisch zu fangen, allerdings streuen sie das Licht des Pinzettenlasers, so dass ihre Brownsche Bewegung mit Nanometer-Auflösung verfolgt werden kann. Mit Hilfe der Analyse solcher Diffusionsbewegungen ist es uns bereits gelungen, Unterschiede in den mechanischen Eigenschaften des Zellinneren während der verschiedenen Zellteilungsphasen zu charakterisieren (SELHUBER-UNKEL et al. 2008b).

Methodische Umsetzung des Projekts: Magnetische Pinzetten auf einem Mikro-Chip. Mit Hilfe der „Atomchip“-Technik, die bisher vor allem in der Quantenoptik Verwendung fand, arbeite ich derzeit daran, einen neuartigen Typ von magnetischen Pinzetten aufzubauen. Dieser soll die gleichzeitige koordinierte Manipulation mehrerer kolloidaler magnetischer Partikel erlauben. Zudem ist zu erwarten, dass die erzielten Kräfte wesentlich höher liegen als diejenigen, die bisher in der Literatur berichtet wurden. Berechnungen zufolge können die enorm hohen Feldgradienten auf dem Chip (bis zu 10^4 T/m) Kräfte von mehreren Nanonewton auf mikroskopische Magneteilchen ausüben. Dies entspricht mehr als dem Zehnfachen der maximalen Kraft, die mit optischen oder konventionellen magnetischen Pinzetten ausgeübt werden kann. Mit diesem System sollen künftig die Kräfte gemessen werden, die nötig sind, um die Tochterchromatide zu separieren; dies sind die Kräfte, die die mitotische Spindel aktiv ausüben muss, um die replizierten Chromatide zu trennen. Die magnetischen Pinzetten werden in Zusammenarbeit mit der Gruppe von Prof. Jörg SCHMIEDMAYER (TU Wien) aufgebaut, wo Mikrochips in ähnlicher Konfiguration bereits für quantenoptische Experimente eingesetzt werden.

Publikationen

SELHUBER-UNKEL, C., ZINS, I., SCHUBERT, O., SÖNNICHSEN, C., and ODDERSHEDE, L. B.: Quantitative optical trapping of single gold nanorods. *Nano Letters* (2008a) (accepted)

SELHUBER-UNKEL, C., YDE, P., BERG-SØRENSEN, K., and ODDERSHEDE, L. B.: Intracellular diffusion in *S. pombe* studied with optical tweezers. *Phys. Biol.* (2008b) (submitted)

SELHUBER-UNKEL, C., LÓPEZ-GARCÍA, M., KESSLER, H., and SPATZ, J. P.: Cooperativity in adhesion cluster formation during initial cell adhesion. *Biophys. J.* (2008c) (accepted)

Dr. rer. nat. Lars Sonnenberg

(BMBF LPD 9901/8-175)

I was born in 1977. In 2003 I completed my studies in Physics at the Georg-August-Universität Göttingen with an external diploma thesis at the Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry with Dr. Marc BALDUS and Prof. Christian GRIESINGER in the field of NMR-based structural biology. For my doctoral thesis I joined the group of Prof. Hermann GAUB at the Ludwig-Maximilians-Universität München to study the adhesion of single polymers to solid surfaces from 2003 to 2007. I am currently working as postdoctoral researcher with Dr. Costantino CRETON at the Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles in Paris (France) with funding by Leopoldina Academy since October 2007.



Project:

Effect of the Nanostructure of Water-borne Composite Polymer Films on the Materials Properties

Nanostructured heterogeneous polymer materials promise breakthroughs in material properties. A controlled design of future advanced materials requires a detailed understanding of molecular interactions and organization on the nanoscale. At present the scientific challenge is to establish the relationship between nanostructure and macroscopic materials properties. In this project the morphology as well as the adhesion and deformation properties of a novel type of polymer materials, namely composite polymer films made from the coalescence of nanostructured latex particles are studied. Applied experimental techniques comprise near-field probe methods like atomic force microscopy as well as macroscopic methods such as the probe tack method and the tensile test in large strain.

Polymer films are of particular interest for applications such as coatings, paints or adhesives. Nanostructured polymer films promise advanced materials properties like optimized adhesive properties, increased hardness for the same minimum film formation temperature or lower permeability to liquids and gases. However, at present no established technology is available for the production of nanostructured polymer films but only very recently the first polymer films were successfully made from water-borne composite nanoparticles.

Since these waterborne nanostructured polymer films are a completely new kind of material their characterization implies several scientific challenges. Beside the determination of the empirical structure-properties relationship, new concepts involving the nanostructure and molecular interactions have to be developed in this case because a controlled film production with well-defined knowledge-based material properties requires knowledge about the impact of the nanostructure on the macroscopic materials properties.

In cooperation with three European synthetic chemistry laboratories different types of nanostructured very small (ca. 100 nm) latex particles are synthesized by miniemulsion polymerization. Two main families of nanostructured materials are synthesized: A polymer-polymer system where the matrix polymer is an acrylic statistical copolymer and the second phase

is a suitable hydrophobic polymer and a polymer-inorganic system where the second phase is an inorganic clay platelet. The possibility to use aqueous media is extremely interesting as it proposes ecological benefits by decreasing the amount of organic solvents.

The scientific challenge about such nanostructured polymer materials in materials science and the aim of this project are the investigation how the nanostructure and nanoscale properties manifest themselves in the polymer film properties on the macroscopic scale.

The most important consequence of the nanostructure for the characterization is that the material has to be probed on completely different length scales as the composite nanoparticles have submicron sizes, while the polymer film has macroscopic dimensions. On the nanoscale the film structure can be investigated by means of an atomic force microscope (AFM) giving information about the nanostructure and morphology as well as the elastic and dissipative properties of the polymer films. On a more macroscopic length scale, the films can be characterized at least in three ways: in a rheometer to probe their linear viscoelastic properties, in a tensile tester to determine their large strain nonlinear deformation properties and finally with probe tack experiments to study the adhesive properties of films with a low glass transition temperature designed to be self-adhesive.

Publications

SONNENBERG, L., BILLON, L., and GAUB, H. E.: Competitive adhesion reduces the effective bridging length of polymers. *Macromolecules* *41*, 3688–3691 (2008)

LUO, Y., SONNENBERG, L., and CÖLFEN, H.: Novel method for generation of additive-free high-energy crystal faces and their reconstruction in solution. *Cryst. Growth Des.* *8*, 2049–2051 (2008)

SONNENBERG, L., LUO, Y., SCHLAAD, H., CÖLFEN, H., SEITZ M., and GAUB, H. E.: Quantitative single molecule measurements on the interaction forces of poly(L-glutamic acid) with calcite crystals. *J. Amer. Chem. Soc.* *129*, 15364–15371 (2007)

Dr. rer. nat. Thorsten Stafforst

(BMBF LPD 9901/8-158)

Born in 1978. 1997–2002 Study of Chemistry in Göttingen and Groningen (Netherlands). 5/2001 Graduation with diploma thesis “Synthesis of an analog of the Green Fluorescent Protein”. 2002–2005 Ph.D. scholarship by the Fonds der Chemischen Industrie, work in the group of Ulf DIEDERICHSEN in Göttingen and investigation of excess electron transfer in DNA. 11/2005 Ph.D. 12/2005–4/2006 DFG-Postdoctoral scholarship at the University of Göttingen. Since 6/2006 Postdoctoral research in the group of Don HILVERT at the ETH Zürich (Switzerland), supported by the Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina.



Project:

Evolving Antibody Catalyst 1E9 by Means of *in-vitro*-directed Evolution Based on Fluorescence Assisted Selection for Catalytic Activity

Tailored antibody catalysts have been created for diverse chemical transformations over the past twenty years. In recapitulating the properties of authentic enzymes, they have proven to be valuable tools for studying how protein catalysis work and evolve. Nevertheless, their efficiency is typically orders of magnitude lower than their natural counterparts, severely limiting their utility in practice. We build on recent success in the Hilvert lab with yeast cell surface display to explore *in vitro* evolutionary strategies as a means of optimizing first generation catalytic antibodies. Specifically, I focus on immunoglobulin 1E9, which catalyzes the Diels-Alder reaction between *N*-ethyl maleimide and tetrachlorothiophenedioxide and for which detailed structural and mechanistic information are available. The main objectives include: (i) exploration of the generality and limits of surface display for augmenting the catalytic efficiency of Diels-Alderase 1E9 and (ii) development of a fluorescence assay to allow for screening based upon catalytic activity. This work includes directed evolution methods, yeast cell surface display, fluorescence-assisted cell sorting, development and synthesis of a fluorescence assay, and a complete mechanistic and structural characterization of the best antibodies obtained. If successful, the efforts of this work may provide a practical and general method for optimizing catalytic antibodies as well as other engineered proteins via directed evolution methods. Since pericyclic reactions are of both theoretical and practical importance, we anticipate that the outlined experiments will lead to a deeper understanding of enzyme chemistry, affording valuable insights into the utilization of binding energy for catalysis and evolution of biological function. If enzyme-like activity can be achieved, this may open up and accelerate the broad application of catalytic antibody technology in selective organic chemistry, biology and medicine.

Publications

- STAFFORST, T., and HILVERT, D.: Kinetic characterization of Spiroyrans in aqueous media. (submitted)
- STAFFORST, T., and DIEDERICHSEN, U.: Synthesis of the chromophore of the Green Fluorescent Protein functionalized with alanine and N-(2-aminoethyl)glycine for incorporation into peptides and PNA. *Eur. J. Org. Chem.* *2007*, 899–911 (2007)
- STAFFORST, T., and DIEDERICHSEN, U.: Synthesis of acid-sensitive N-(2-aminoethyl)glycine-PNA oligomers via Fmoc/Bhoc-strategy, *Eur. J. Org. Chem.* *2007*, 681–688 (2007)
- STAFFORST, T., and DIEDERICHSEN, U.: Thymine oxetanes as charge traps for chemical monitoring of nucleic acid mediated transfer of excess electrons. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* *45*, 5376–5380 (2006) [Thyminoxetane als Ladungsfälle zum chemischen Nachweis des Nucleinsäure-vermittelten Überschusselektronentransfers. *Angew. Chem.* *118*, 5502–5506 (2006)]
- STAFFORST, T., and DIEDERICHSEN, U.: (6-4)-Photolyase activity requires a charge shift reaction. *Chem. Commun.* *2005*, 3430–3432 (2005)

Dr. rer. nat. Peter Staib

(BMBF LPD 9901/8-146)

Born in 1971. 1991–1997 Biology (diploma), University of Würzburg. 1998–2001 Ph.D. (Fellowship, Studienstiftung des deutschen Volkes), University of Würzburg. 2001–2006 Postdoc, University of Würzburg. 2003–2006 Project Leader Sonderforschungsbereich 630, University of Würzburg. 2005 Young Investigator Award, Federation of European Biochemical Societies. 2006–2008 Postdoctoral Fellow (Leopoldina), University of Lausanne (Switzerland). Since 2008 Head of Junior Research Group, Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology – Hans Knoell Institute (HKI), Jena.



Project:

Identification and Analysis of Virulence-associated Traits of Dermatophytes – Pathogenic Fungi of Major Clinical Importance

In contrast to well studied fungal pathogens such as *Candida albicans* or *Aspergillus fumigatus*, little is known about virulence properties of a quite different group of fungi, the dermatophytes. These microorganisms cause the majority of superficial mycoses in humans and animals, infections which are often difficult to cure. Among the approximately ten human pathogenic dermatophyte species isolated in Europe, the most frequently detected are *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* (teleomorph: *Arthroderma benhamiae*) and *Microsporum canis*. As a particular characteristic, dermatophytes share the ability to invade keratinized structures, such as skin, hair and nails. The elucidation of host adaptation mechanisms of dermatophytes should provide insights into the pathogenicity of these fungi and may identify targets for the development of new antifungal drugs. However, dermatophytes have so far not been very attractive for molecular studies. They grow slowly under laboratory conditions, genetic tools are poorly developed, and full genome sequence information is not yet available for these microorganisms.

The high secreted proteolytic activity of dermatophytes during growth on proteins is assumed to be crucial for their ability to exclusively infect keratinized host structures during infection. Individual secreted dermatophyte proteases were recently described and linked with the *in vitro* digestion of keratin, in particular endoproteases and aminopeptidases. However, carboxypeptidases have so far not been detected in these fungi, the identification of which was hence one aim of the present investigation. A metallo-carboxypeptidase McpA was identified in *T. rubrum* by a genomic approach and found to be secreted during growth in protein medium, concomitantly with specific endoproteases, which in turn were shown to remove the propeptide of McpA to generate the mature enzyme. In addition, two serine carboxypeptidases were revealed, which were predicted to be glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored.

Although individual dermatophyte proteases are obviously important for keratin degradation, the overall adaptation and transcriptional response of dermatophytes during growth under such conditions is largely unknown. To address this question, a cDNA microarray was

constructed for *T. rubrum*, which is based on transcripts of the fungus grown on proteins. The array contained a total set of 2626 PCR products, covering approximately 20–25% of the expected genome size. During growth of *T. rubrum* in keratin medium, 258 genes were more than twofold upregulated and 222 genes were found to be repressed. Among the activated sequences, a large set of genes encoding secreted endo- and exoproteases was detected. In addition, other specifically induced factors with a potential role in keratin utilization were identified, such as heat shock proteins, transporters, metabolic enzymes, transcription factors and hypothetical proteins.

Dermatophyte proteases, which are activated during *in vitro* growth on keratin are assumed to be also involved in the specialization of these microorganisms to colonize and degrade keratinized host structures during infection. To test this hypothesis a guinea pig infection model was established for the zoophilic dermatophyte *Arthroderma benhamiae* which causes highly inflammatory cutaneous dermatophytosis in humans and rodents. Control microarray analysis revealed a similar protease gene expression profile in *A. benhamiae* during *in vitro* growth on keratin as compared to the related species *T. rubrum*. Surprisingly, however, the pattern elicited during *A. benhamiae* infection was significantly different (STAIB et al., manuscript in preparation). Instead of major keratinolytic *in vitro* expressed enzymes other proteases were activated specifically during infection. This result suggests that signals which induce protease gene expression *in vivo* are much more complex, and that the individual proteases are not exclusively assigned to protein digestion. In addition to proteases, the approach identified other putatively pathogenicity related factors in *A. benhamiae*. This is the first broad transcriptional profiling approach during dermatophyte infection. The results give new molecular insights into pathogenicity associated mechanisms that make these microorganisms the most successful causative agents of superficial mycoses.

Publications

- ZAUGG, C., MONOD, M., WEBER, J., HARSHMAN, K., PRADERVAND, S., THOMAS, J., BUENO, M., GIDDEY, K., and STAIB, P.: Gene expression profiling in the human pathogenic dermatophyte *Trichophyton rubrum* during growth on proteins. (submitted)
- ZAUGG, C., JOUSSON, O., LÉCHENNE, B., STAIB, P., and MONOD, M.: *Trichophyton rubrum* secreted and membrane-associated carboxypeptidases. Int. J. Med. Microbiol. (2008) (electronic publication ahead of print)
- DEGEL, B., STAIB, P., ROHRER, S., SCHEIBER, J., MARTINA, E., BÜCHOLD, C., BAUMANN, K., MORSCHHÄUSER, J., and SCHIRMEISTER, T.: Cis-configured aziridines are new pseudo-irreversible dual-mode inhibitors of *Candida albicans* secreted aspartic protease 2. Chem. Med. Chem. 3/2, 302–315 (2008)
- STAIB, P., LERMANN, U., BLASS-WARMUTH, J., DEGEL, B., WÜRZNER, R., MONOD, M., SCHIRMEISTER, T., and MORSCHHÄUSER, J.: Tetracycline-inducible expression of individual secreted aspartic proteases in *Candida albicans* allows isoenzyme-specific inhibitor screening. Antimicrob. Agents Chemother. 52/1, 146–156 (2008)

Dr. rer. nat. Roald Alberto Tagle Berdan

(BMBF LPD 9901/8-130)

Geboren am 15. 11. 1973 in Havanna (Kuba). 1993–1998 Chemiestudium an der Universität Leipzig, 1999–2004 Promotion am Naturkunde-Museum der Humboldt- Universität zu Berlin, 2005–2007 Postdoktorand der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina an der Freien Universität Brüssel (Belgien) sowie ein viermonatiger Gastaufenthalt am „Planetary Space Centre“ der Universität von New Brunswick (Kanada). Seit 2007 Applikationswissenschaftler der Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse bei Bruker AXS.



Projekt:

Identifizierung von Einschlagkörpern – eine systematische Untersuchung von Einschlagskratern

Einschlagkrater sind die häufigsten topographischen Strukturen fester Körper unseres Sonnensystems. Diese Tatsache verdeutlicht die Wichtigkeit von Einschlägen, nicht nur bei der Entstehung von Planeten, sondern auch bei späteren Oberflächenumbildungsprozessen. Die zeitliche Übereinstimmung zwischen dem Massenaussterben an der Kreide-Tertiär-Grenze vor 65 Millionen Jahren und dem Chicxulub-Impakt ist ein Beispiel für die Bedeutung solcher Ereignisse für die Biosphäre unserer Erde. Die Identifizierung der einschlagenden Asteroidentypen spielt eine wichtige Rolle für das Verstehen solcher Prozesse.

Rund die Hälfte aller untersuchten Impaktkrater sind von chondritischen Impaktoren verursacht worden. Dabei spielen gewöhnliche Chondrite anscheinend eine dominierende Rolle. Diese Erkenntnis habe ich bereits auf der „Lunar and Planetary Science Conference“ im März dieses Jahres vorgestellt. Weitere Untersuchungen haben außerdem gezeigt, dass nicht nur, wie im Abstract genannt, Serenitatis Basin auf dem Mond, Lappajärvi, Morokweng, Popigai und Clearwater East (Zuordnung noch nicht eindeutig), sondern auch Dellen und Roter Kamm durch gewöhnliche Chondrite entstanden sind. Die Erkenntnis, dass der relativ kleine Rote Kamm mit einem Durchmesser von 2,5 km ebenfalls von einem chondritischen Projektil verursacht wurde, liefert ein Beispiel, dass auch kleinere Impaktstrukturen durch Chondriten verursacht werden können. Bis dato hatte der kleinste Krater, von dem bekannt war, dass hier ein chondritisches Projektil vorliegt, einen Durchmesser von 3,4 km. Laut numerischer Modellierung müsste die minimale Größe eines Kraters von diesem Projektiltyp bei ca. 2 km liegen. Mit diesem Ergebnis haben sich Theorie und Praxis demnach einen entscheidenden Schritt genähert.

Die andere Hälfte der untersuchten Krater ist, was völlig neuen Erkenntnissen entspricht, durch nicht-magmatische Eisenmeteorite entstanden. Die Entstehungsprozesse nicht-magmatischer Eisenmeteorite sind bisher nicht vollständig geklärt. Diese Meteorite bestehen aus Eisen und enthalten bis zu 90% Silikateinschlüsse. Im Rahmen meiner Promotion hatte ich ein ähnliches Projektil für den Rochechouart-Krater vorgeschlagen. Eine Publikation über

die Häufigkeit von nicht-magmatischen Eisenmeteoriten als Projektile ist in Arbeit. Das Auftreten derartiger Projektile, speziell bei Kratern von mittlerem bis kleinem Durchmesser, ist sowohl für das Verständnis der Entstehungsprozesse dieser Meteorite an sich als auch für die Interpretation von Asteroidenspektren von großer Relevanz.

Publikationen

- TAGLE, R., GRIEVE, R. A. F., SCHMITT, R. T., ERZINGER, J., and CLAEYS, P.: A second late Eocene L chondrite impact: Results from the Wanapitei impact structure, Canada. *Meteoritics and Planetary Sci.* (submitted)
- HECHT, L., REIMOLD, W. U., SHERLOCK, S., TAGLE, R., KOEBERL, C., and SCHMITT, R. T.: New impact melt rock from the Roter Kamm impact structure, Namibia: Further constraints on impact age, melt rock chemistry, and projectile composition. *Meteoritics and Planetary Science* (in press)
- TAGLE, R., and BERLIN, J.: A database of chondrite analyses including platinum group elements, Ni, Co, Au, and Cr: Implications for the identification of chondritic projectiles. *Meteoritics and Planetary Sci.* 43/3, 541–559 (2008)
- GRIEVE, R. A. F., CINTALA, M. J., and TAGLE, R.: Planetary Impacts. *Encyclopedia of the Solar System 2e*, 813–828 (2007)
- FRITZ, J., TAGLE, R., and ARTEMIEVA, N.: Lunar helium-3 in marine sediments: Implications for a late Eocene asteroid shower. *Icarus* 189, 591–594 (2007)
- TAGLE, R., ÖHMAN, T., SCHMITT, R. T., ERZINGER, J., and CLAEYS, P.: Traces of an H chondrite in the impact-melt rocks from the Lappajärvi impact structure, Finland. *Meteoritics and Planetary Sci.* 42/10, 1841–1854 (2007)
- GODERIS, S., TAGLE, R., SCHMITT, R. T., ERZINGER, J., and CLAEYS, PH.: Platinum group elements provide no indication of a meteoritic component in ICDP cores from the Bosumtwi crater, Ghana. *Meteoritics and Planetary Sci.* 42/4–5, 731–741 (2007)
- TAGLE, R., and HECHT, L.: Geochemical identification of projectiles in impact rocks, meteoritic and planetary science. *Meteoritics and Planetary Sci.* 41, 1721–1735 (2006)

Dr. rer. nat. Daniel Thomas

(BMBF LPD 9901/8-111)

Geboren 1972. 1991–1997 Studium der Physik an der Ludwig-Maximilians-Universität München. 1997 Physik-Diplom. 2000 Promotion. 2000–2004 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für extraterrestrische Physik in Garching. 2/2005–1/2007 Leopoldina-Stipendiat am Astrophysics Department der Oxford University (Großbritannien). Seit 2/2007 Senior Lecturer am Institute of Cosmology and Gravitation, University of Portsmouth (Großbritannien).



Projekt:

Chemical Properties of Stellar Populations in Galaxies

Wir befinden uns in der Ära der Präzisions-Kosmologie. Der Energiegehalt des Universums, die kosmologischen Parameter und die Entwicklung des Universums sind uns in einem beeindruckendem Detail bekannt. Dennoch verstehen wir nicht, wie Galaxien, die wichtigsten Bausteine des Universums, entstehen. Bereits vor mehr als dreißig Jahren wurde die Struktur des Universums unter der Annahme beschrieben, dass es unsichtbare, rein gravitativ wechselwirkende Materie – die sogenannte Dunkle Materie – geben muss. Zur selben Zeit wurde auch realisiert, dass die Physik der Baryonen, das Kühlen von Gas und Dissipationsprozesse eine sehr wichtige Rolle in der Entstehung von Galaxien spielen. Diese beiden Aspekte wurden zu einer Theorie der Galaxienentstehung im Rahmen der sogenannten „Kalten Dunklen Materie“ vereinigt. In den darauffolgenden Jahrzehnten wurde diese Theorie zu einem wesentlichen Eckstein unseres Verständnisses wie Galaxien entstehen und sich entwickeln. Dennoch konnten einige fundamentale Probleme nicht gelöst werden. Eines dieser Probleme ist eine Charakteristik der Galaxienpopulation, die im Englischen als „downsizing“ bezeichnet wird. Demnach hat man den Beobachtungsdaten von Galaxien entnommen, dass die größten und massereichsten Galaxien schon vor zehn Milliarden Jahren im sehr jungen Universum entstanden sein und ihre stellaren Populationen auf sehr kurzen Zeitskalen gebildet haben müssen. Dies steht in klarem Widerspruch zu obiger Theorie, wonach sich massereiche Galaxien Schritt für Schritt über einen längeren Zeitraum hinweg durch Verschmelzung kleinerer Galaxien bilden sollten.

Ich selbst habe mit meiner wissenschaftlichen Arbeit zu dieser beobachterischen Erkenntnis wesentlich beigetragen. In einer Veröffentlichung aus dem Jahre 2005 (THOMAS et al. 2005) haben wir die Epochen der Entstehung von massereichen Galaxien bestimmt, deren Entstehungszeitskalen abgeleitet und gezeigt, dass diese mit herkömmlichen Modellen der Galaxienentstehung nicht reproduziert werden können. Mögliche Lösungen des Problems liegen in der Kopplung von Dunkler und Leuchtender Materie, von der wir heute noch sehr wenig verstehen. Die inzwischen populärste Lösung ist die Einführung eines neuen Prozesses, nämlich die Rückkopplung eines super-massereichen Schwarzen Lochs im Zentrum der Galaxie, sogenanntes „AGN-Feedback“. Die Idee ist, dass das Schwarze Loch im Zentrum durch Akkretion von Materie (ein sogenannter AGN, d. h. „Active Galactic Nuc-

leus“) genug Energie erzeugt, um gigantische Winde und Stoßwellen innerhalb der Galaxie zu erzeugen, die die interstellare Materie soweit aufheizen, dass die weitere Bildung von Sternen unmöglich wird. Wenn dieser Mechanismus in massereichen Galaxien bereits im jungen Universum einsetzt, kann dies dazu führen, dass diese Galaxien schon vor langer Zeit die Bildung von Sternen aufgehört haben. Erste Arbeiten aus dem Jahre 2006, die diese Idee in ihre Simulationen aufnehmen, können in der Tat die Entstehungsgeschichten, die wir in THOMAS et al. (2005) aus der Beobachtung abgeleitet haben, recht gut reproduzieren (DE LUCIA et al. 2006).

Das Hauptproblem liegt nun darin, dass wir weiterhin nur sehr wenig von den physikalischen Gesetzen des „AGN-Feedbacks“ verstehen. Dieser Mechanismus scheint unserem Verständnis der Galaxienentstehung zwar zu helfen, doch wissen wir nicht mit Sicherheit, ob er in der Natur überhaupt vorkommt. In den zwei Jahren an der *University of Oxford*, gefördert durch das Leopoldina-Stipendium, habe ich mich mit genau dieser Frage beschäftigt. Unser Ziel war es herauszubekommen, ob die Sternentstehung in massereichen Galaxien tatsächlich von ihren Schwarzen Löchern im Zentrum beeinflusst wird. Mit Kollegen in Oxford, insbesondere Kevin SCHAWINSKI, einem Doktoranden unter meiner Betreuung, haben wir ein Sample von etwa 15 000 massereichen Frühtyp-Galaxien aus dem *Sloan Digital Sky Survey* zusammengestellt. Entscheidend war, dass wir 50 000 Objekte einzeln visuell inspiziert und morphologisch klassifiziert haben, um einen Auswahleffekt gegen Galaxien mit Sternentstehung oder AGN-Aktivität zu vermeiden. Daraufhin führten wir eine detaillierte Analyse der Spektren dieser Objekte hinsichtlich ihrer Absorptions- und Emissionslinien anhand des Vergleichs mit Stellaren Populationsmodellen (THOMAS et al. 2003, MARASTON 2005) durch. Somit konnten wir deren Sternentstehungsgeschichten und ihre AGN-Aktivitäten bestimmen (SCHAWINSKI et al. 2007, THOMAS et al., eingereicht). Es stellte sich heraus, dass ein klarer Zusammenhang zwischen diesen Charakteristiken bestehen muss. Wir konnten nachweisen, dass AGN-Feedback tatsächlich in massereichen Galaxien stattfindet. Mit Radio-Beobachtungen einer kleinen Auswahl der 15 000 Objekte konnten wir außerdem zeigen, dass die aktiven Schwarzen Löcher in den Zentren der Galaxien das Molekulargas aufheizen und somit die Sternentstehung zum Stillstand bringen (SCHAWINSKI et al. 2008).

Diese neuen Erkenntnisse sind sehr wichtig, weil sie zeigen, dass das sogenannte AGN-Feedback, deren Existenz in der modernen Theorie der Galaxienentstehung postuliert wurde, tatsächlich in der Natur vorkommt. Zudem werden weitere Analysen des Galaxien-Samples, das wir erstellt haben, tiefere Einsichten in die Physik dieses so wichtigen und doch kaum verstandenen Prozesses liefern. Unsere Vorgehensweise, mehrere zehntausende Galaxien visuell zu klassifizieren, hat außerdem die Gründung eines weiteren interessanten Projektes stimuliert. An der *University of Oxford* haben wir das Projekt *Galaxy Zoo* (www.galaxyzoo.org) geplant und ins Leben gerufen (LINTOTT et al. 2008). Darin rufen wir die Öffentlichkeit über das Internet auf, eine Million Galaxien zu wissenschaftlichen Zwecken zu klassifizieren. Aufgrund der umwerfenden Resonanz (etwa 100 000 User) hat dieses Projekt bereits nicht nur zu einer Reihe wissenschaftlicher Veröffentlichungen geführt, sondern auch geholfen, eine Brücke zwischen Öffentlichkeit und Wissenschaft zu schlagen.

Literatur

- DE LUCIA, G., SPRINGEL, V., WHITE, S. D. M., CROTON, D., and KAUFFMANN, G.: The formation history of elliptical galaxies. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 366, 499–509 (2006)
- LINTOTT, C. J., SCHAWINSKI, K., SLOSAR, A., LAND, K., BAMFORD, S., THOMAS, D., RADDICK, M. J., NICHOL, R. C., SZALAY, A., ANDREESCU, D., MURRAY, P., and VAN DEN BERG, J.: Galaxy Zoo: Morphologies derived from visual inspection of galaxies from the Sloan Digital Sky Survey. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 389, 1179–1189 (2008)

- MARASTON, C.: Evolutionary population synthesis: models, analysis of the ingredients and application to high-*z* galaxies. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 362, 799–825 (2005)
- SCHAWINSKI, K., LINTOTT, C. J., THOMAS, D., KAVIRAJ, S., VITI, S., SILK, J., MARASTON, C., SARZI, M., YI, S. K., JOO, S.-J., DADDI, E., BAYET, E., BELL, T., and ZUNTZ, J.: Destruction of molecular gas reservoirs in early-type galaxies by AGN feedback. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* (2008) (in press)
- SCHAWINSKI, K., THOMAS, D., SARZI, M., MARASTON, C., KAVIRAJ, S., JOO, S.-J., YI, S. K., and SILK, S.: Observational evidence for AGN feedback in early-type galaxies. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 382/4, 1415–1431 (2007)
- THOMAS, D., MARASTON, C., and BENDER, R.: Stellar population models of Lick indices with variable element abundance ratios. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 339, 897–911 (2003)
- THOMAS, D., MARASTON, C., BENDER, R., and MENDES DE OLIVEIRA, C.: The epochs of early-type galaxy formation as a function of environment. *Astrophys. J.* 621, 673–694 (2005)
- THOMAS, D., MARASTON, C., SCHAWINSKI, K., SARZI, M., JOO, S.-J., KAVIRAJ, S., YI, S. K., and SILK, S.: Environment and self-regulation in galaxy formation. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* (submitted)

Publikationen

- BAMFORD, S., NICHOL, R. C., BALDRY, I. K., LAND, K., LINTOTT, C. J., SCHAWINSKI, K., SLOSAR, A., SZALAY, A. S., THOMAS, D., TORKI, M., ANDREESCU, D., EDMONDSON, E. M., MILLER, C. J., MURRAY, P., RADDICK, M. J., and VANDENBERG, J.: Galaxy Zoo: The independence of morphology and colour. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* (submitted)
- MARASTON, C., STRÖMBÄCK, G., THOMAS, D., WAKE, D. A., and NICHOL, R. C.: Modeling the color evolution of luminous red galaxies – improvements with empirical stellar spectra. *Astrophys. J. Lett.* (submitted)
- SLOSAR, A., LAND, K., BAMFORD, S., LINTOTT, C., ANDREESCU, D., MURRAY, P., NICHOL, R., RADDICK, M. J., SCHAWINSKI, K., SZALAY, A., THOMAS, D., and VANDENBERG, J.: Galaxy Zoo: Chiral correlation function of galaxy spins. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* (submitted)
- MARASTON, C., NIEVES, L., BENDER, R., and THOMAS, D.: Absorption line indices in the UVI. Exploration of empirical calibrations and stellar population models. *Astronomy & Astrophysics* (2008) (in press)
- THOMAS, J., SAGLIA, R. P., BENDER, R., THOMAS, D., GEBHARDT, K., MAGORRIAN, J., CORSINI, E. M., and WEGNER, G.: Dark matter scaling relations and the assembly epoch of Coma early-type galaxies. *Astrophys. J.* (2008) (in press)
- LAND, K., SLOSAR, A., LINTOTT, C., ANDREESCU, D., BAMFORD, S., MURRAY, P., NICHOL, R., RADDICK, M. J., SCHAWINSKI, K., SZALAY, A., THOMAS, D., and VAN DEN BERG, J.: Galaxy Zoo: The large-scale spin statistics of spiral galaxies in the Sloan Digital Sky Survey. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 388, 1686–1692 (2008)
- CORSINI, E. M., WEGNER, G., SAGLIA, R. P., THOMAS, J., BENDER, R., and THOMAS, D.: Spatially resolved spectroscopy of Coma cluster early-type galaxies IV. Completing the dataset. *Astrophys. J. Suppl. Ser.* 175, 462–484 (2007)
- THOMAS, J., SAGLIA, R. P., BENDER, R., THOMAS, D., GEBHARDT, K., MAGORRIAN, J., CORSINI, E. M., and WEGNER, G.: Dynamical modelling of luminous and dark matter in 17 Coma early-type galaxies. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 382, 657–684 (2007)

Dr. rer. nat. Arne Traulsen

(BMBF LPD 9901/8-134)

Geboren am 28. 10. 1975 in Kiel. Von Oktober 1996 bis März 2002 Studium der Geophysik und Physik in Kiel, Göteborg (Schweden) und Leipzig. Von September 2002 bis Februar 2005 Promotion am Institut für Theoretische Physik der Christian-Albrechts-Universität Kiel. Mai bis Juli 2002 sowie März bis Juni 2005 Unternehmensberatung bei McKinsey & Company. Von August 2005 bis August 2007 Stipendiat der Leopoldina am Program for Evolutionary Dynamics an der Harvard University, Cambridge, MA (USA). Seit September 2007 Arbeitsgruppenleiter für Evolutionäre Dynamik am Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie in Plön, gefördert durch ein Emmy-Noether-Stipendium der DFG.



Projekt:

Mathematische Evolutionsbiologie: Stochastische und deterministische Selektion auf mehreren Ebenen

Evolution basiert auf dem Wettbewerb zwischen Individuen. Für eine freiwillige Reduktion der eigenen Konkurrenzfähigkeit, um andere zu unterstützen, scheint es keinen Platz zu geben. Trotzdem wird eine solche Kooperation zwischen Individuen immer wieder beobachtet. Gene kooperieren in Genomen. Zellen kooperieren in multizellulären Organismen. Jäger kooperieren bei der Jagd auf Großwild. Moderne Rentensysteme oder öffentliche Verkehrsmittel sind Beispiele für Kooperation. Es gibt verschiedene Mechanismen für die Evolution von Kooperation: Die Kooperation zwischen Verwandten, Kooperation auf der Basis von wiederholten Interaktionen oder angetrieben durch stabile Nachbarschaftsverhältnisse. Bei der Gruppenselektion entsteht Kooperation durch Konkurrenz zwischen Gruppen. Für jedes Individuum bringt es einen kurzfristigen Vorteil, die anderen Gruppenmitglieder auszunutzen. Langfristig setzen sich aber die Gruppen durch, deren Mitglieder miteinander kooperieren. Kooperation innerhalb einer Gruppe kann sich also dann durchsetzen, wenn die Konkurrenz zwischen Gruppen wichtiger wird als die zwischen Individuen.

Es ist seit langem bekannt, dass es dafür am günstigsten ist, wenn es viele kleine Gruppen gibt. Diese Ansätze beruhen meist auf Computersimulationen, die immer nur für eine bestimmte Wahl von Parametern durchgeführt werden können.

Im Verlauf des Forschungsprojektes wurde ein Modell entwickelt, für das die Kooperationschwelle analytisch berechnet werden kann, also ohne Annahme von bestimmten Parameterwerten (TRAULSEN und NOWAK 2006). Dieses Modell basiert auf einem relativ neuen Ansatz zur mathematischen Beschreibung von evolutionärer Spieldynamik in endlichen Populationen, der während des Forschungsprojektes weiter entwickelt wurde (z. B. TRAULSEN et al. 2008). Kern dieser Beschreibung ist die Beobachtung, dass in endlichen Populationen Evolutionsprozesse stochastisch sind. Insbesondere die Übertragung der Nahrung für schwache Selektion aus der Populationsgenetik (hierbei werden nur kleine Korrekturen zu einem im Wesentlichen zufälligen Prozess berechnet) auf die Spieltheorie hat dabei in den

vergangenen Jahren zu zahlreichen neuen Erkenntnissen geführt. Im Rahmen des Projektes wurde untersucht, auf welche Weise diese neuen Ergebnisse mit den klassischen Resultaten zusammenhängen.

Darüber hinaus wurden die während des Projektes angewandten Methoden der evolutionären Dynamik auf die somatische Evolution von Krebs angewandt. Viele Krebsarten sind durch die Entstehung und Anreicherung von schädlichen Mutationen im Körper gekennzeichnet, die man mit den Methoden der theoretischen Biologie untersuchen kann. In Zusammenarbeit mit Medizinern sind dabei neuartige Modelle für Krebsentstehung entstanden (z. B. TRAULSEN et al. 2007, DINGLI et al. 2008). Im Verlaufe dieser Arbeiten wird nun untersucht, auf welche weiteren Bluterkrankungen sich dieser mathematische Ansatz übertragen lässt.

Vortrag: Mathematische Modelle des Blutsystems

Die Blutbildung kann als evolutionärer Prozess im Körper interpretiert werden. Unterschiedliche Zellen haben unterschiedliche Replikationsraten. Mutationen, die zu Krankheiten führen und die Replikationsraten erhöhen, können sich in einem solchen System durchsetzen. Die meisten bisherigen Modelle des Blutsystems basieren auf Differentialgleichungen. Dieser Ansatz wird mit der großen Anzahl von Blutzellen im Körper begründet. Die Anzahl der hämatopoetischen Stammzellen, die die Blutbildung antreiben, ist jedoch nicht sehr groß, sie scheint sogar unter 400 Zellen zu liegen. Daher geht das neu entwickelte Modell von einer stochastischen Dynamik bei der Blutbildung aus, um die Hierarchie der unterschiedlich differenzierten und spezialisierten Zellen zu beschreiben. Nachdem das Modell an biologischen Parametern kalibriert wurde, kann die Dynamik unterschiedlicher Krankheiten betrachtet werden. Dies führt zu neuen Hypothesen, auf welche Weise Krankheiten auf den verschiedenen Hierarchiestufen des Blutsystems entstehen könnten. Bisher haben wir uns dabei auf paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH), zyklische Neutropenie (CN) und chronische myeloische Leukämie (CML) konzentriert. Das Modell wurde auch auf andere Säugetiere übertragen. Aus dieser Übertragung ergibt sich z. B. eine theoretische Untermauerung der Hypothese, dass Zellen nur eine bestimmte Anzahl von Zellteilungen überstehen können (Hayflick-Hypothese). Aus der allometrischen Skalierung von durchschnittlicher Lebenserwartung und Replikationsraten von Stammzellen mit der Körpermasse ergibt sich, dass die erwartete Anzahl von Stammzellteilungen bei Säugetieren ungefähr konstant ist.

In Zusammenarbeit mit Prof. Dr. David DINGLI (Hämatologie, Mayo Klinik, Rochester, Minnesota, MN, USA) und Prof. Dr. Jorge M. PACHECO (Theoretische Physik, Universität Lissabon, Portugal).

Publikationen

- DINGLI, D., TRAULSEN, A., and PACHECO, J. M.: Dynamics of haemopoiesis across mammals. *Proc. Roy. Soc. London B* (2008) (in press)
- DINGLI, D., TRAULSEN, A., and PACHECO, J. M.: Chronic myeloid leukemia: Origin, development, response to therapy and relapse. *Clinical Leukemia* 2, 133–139 (2008)
- TRAULSEN, A., SHORESH, N., and NOWAK, M. A.: Analytical results for individual and group selection of any intensity. *Bull. Math. Biol.* 70, 1410–1424 (2008)
- HAUERT, C., TRAULSEN, A., BRANDT, H., NOWAK, M. A., and SIGMUND, K.: Via freedom to coercion: The emergence of costly punishment. *Science* 316, 1905–1907 (2007)

- TRAULSEN, A., and NOWAK, M. A.: Chromodynamics of cooperation in finite populations. *PLoS One* 2, e270 (2007)
- TRAULSEN, A., PACHECO, J. M., and DINGLI, D.: On the origin of multiple mutant clones in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Stem Cells* 25, 3081–3084 (2007)
- TRAULSEN, A., and NOWAK, M. A.: Evolution of cooperation by multi-level selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 10952–10955 (2006)

Dr. med. Stefan Volkenstein

(BMBF LPD 9901/8-171)

Geboren am 15. 4. 1978 in Würzburg. Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg (1998–2004, Praktisches Jahr am Charing Cross Hospital sowie Chelsea & Westminster Hospital in London, Großbritannien, am Spital GZO Wetzikon in Wetzikon, Schweiz, und am Spital Limmattal [beides Lehrkrankenhäuser der Universität Zürich] in Schlieren, Schweiz). 7/2004–7/2006 Arzt im Praktikum/Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für Hals-Nasen- und Ohrenheilkunde des Universitätsklinikums Essen.



Dissertation: „Das Wachstumsverhalten von Nucleus cochlearis-Zellen auf verschiedenen Halbleitermaterialien“ (5/2005). Plester-Preis (Dissertations-Preis) der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie (5/2006). 8/2006–7/2007 Assistenzarzt an der HNO-Klinik der Ruhr-Universität Bochum im St. Elisabeth-Hospital gGmbH Bochum. Seit 8/2007 Postdoctoral Fellow der Leopoldina im Department of Otolaryngology der Stanford University, CA (USA), Arbeitsgruppe: Prof. Stefan HELLER, Ph.D. Resident-Research-Award der Prosper-Meniére-Society (3/2008).

Project:

Enhancement of Neuron-device Interactions in Cochlear Implants by Surface Presentation of Small Molecule Neurotrophin Receptor Agonists

Hearing loss is the leading birth defect in industrialized countries with 2–3 children in 1000 born with partial to profound compromise of auditory function. Approximately 15 million Germans are suffering from sensorineural hearing loss caused by endogenous and exogenous factors (i. e. age, noise exposure, genetic defects, infections, aminoglycosides). The cochlear implant (CI) is the only routinely implanted electronic device capable of functionally restoring a lost sensory function. Approximately 59,000 people worldwide have received cochlear implants, and alone in Germany, about 250,000 people would be good candidates for cochlear implants.

Despite its large success, there is a substantial variability in the performance of implanted devices; this performance greatly depends on the correct positioning of the electrode array inside the cochlea. A correctly positioned device requires much less power for nerve stimulation than a sub-optimally positioned implant. More significantly, it is thought that the ability of an implant patient to learn and to perform advanced communication tasks, such as participating in a telephone conversation, greatly depends on proper interfacing between electrodes at all frequencies with the auditory nerve. Despite several surgical and device-design efforts, it is generally acknowledged that strategies aimed at improving the interface between the electrodes and the nerve fibers would greatly improve cochlear implant efficacy.

A CI consists of an electrode array that is surgically inserted into the cochlea of patients with hearing loss. The CI functionally replaces hair cells, which are located in the Organ of Corti (OoC), and provides direct stimulation via electrodes of auditory nerve fibers that originate in the spiral ganglion (SG) and extend to the hair cells. Despite extensive research

on electrode design for more than 30 years, it is not possible to achieve optimal stimulation of the auditory nerve because of the anatomical gap between the insertion place inside the scala tympani and the remaining deafferented nerve fibers localized nearby in Rosenthal's canal, a fissure connecting the SG with the OoC. Unfortunately, there is generally no growth of auditory nerve fibers to the electrode array. Factors likely impeding growth include fibrous tissue accumulating around the implant and the lack of attractant signals that are released by targets to attract incoming neurites.

During embryonic development, the neurotrophin proteins BDNF and NT-3 are expressed by auditory hair cells and initially they direct growth of radial fiber bundles from the centrally localized spiral ganglion into the OoC over distances as far as 0.6 mm. Subsequently, both neurotrophins mediate survival of auditory neurons. Recent studies have shown that BDNF and NT-3 are capable of inducing resprouting and mediating survival of auditory neurons either immediately but also one month after deafferentation. Intracochlear infusion of either BDNF or NT-3 can prevent spiral ganglion neuron degeneration in ototoxically deafened guinea pigs, an effect that is even more enhanced when treatment was combined with electrical stimulation. Nevertheless, the positive effect on auditory neuron survival disappears following cessation of neurotrophin treatment, an indication that combination of drug delivery devices with implant electrodes would potentially require continuous neurotrophin supplementation. Implantable pumps would have to be refilled on a regular basis and require the insertion of a delivery device into the cochlea, which increases the permanent risk for introduction of infection. Any intracochlear infection would be devastating not only for the remaining spiral ganglion neurons but also because it could potentially spread via the cochlear aqueduct into the brain and CNS, which could lead to meningitis or similar conditions.

This project aims to develop a durable surface material that is capable of permanently providing neurotrophic stimulation. This surface material would be the basis for a novel cochlear implant device, which could be used in combination with single neurotrophin application into the cochlea. The single application of diffusible neurotrophins or Trk B and C agonists could make use of a biodegradable coating, such as alginate or collagen, which would provide the initial attraction cues for spiral ganglion neurites. Lasting neurotrophic action will be achieved by chemical compounds that are presented on the surface of the CI surrounding the electrodes of the array, and by the combination with electrical stimulation via usage of the CI. The poor stability and other physical chemical properties of neurotrophin proteins render impractical approaches involving their chronic derivatization to an implant surface. The discovery of synthetic small molecule BDNF mimetics capable of activating Trk receptors makes possible the potentially significant technical advance of creating for the first time a derivatization surface capable of attracting neurites and promoting neuronal survival and function on chronic basis.

Ultimately, we plan to collaborate with a cochlear implant company on the development of experimental electrode arrays that can be coated with collagen-bound Trk B agonists or, in the long run, we plan exploring novel materials with cross-linked Trk B agonists surrounding the individual electrodes.

Publications

- BRORS, D., HANSEN, S., MLYNSKI, R., VOLKENSTEIN, S., ALETSEE, C., SENDTNER, M., RYAN, A. F., and DAZERT, S.: Spiral ganglion outgrowth and hearing development in p75-deficient mice. *Audiol. Neurootol.* 13/6, 388–395 (2008)
- VOLKENSTEIN, S., BRORS, D., HANSEN, S., MLYNSKI, R., DINGER, T. C., MÜLLER, A. M., and DAZERT, S.: Investigation of neural stem cell-derived donor contribution in the inner ear following blastocyst injection. *Laryngorhinootologie* 87/3, 168–173 (2008)

- DAZERT, S., SCHICK, B., HARTENSUER, R., VOLKENSTEIN, S., ALETSEE, C., HANSEN, S., SHEHATA-DIELER, W. E., EIGENTHALER, M., WALTER, U., RYAN, A. F., and BRORS, D.: Hearing development and spiral ganglion neurite growth in VASP deficient mice. *Brain Res.* 1178, 73–82 (2007)
- VOLKENSTEIN, S., DAZERT, S., JAHNKE, K., SCHNEIDER, M., and NEUMANN, A.: Prosthetic supply of tissue defects in head and neck surgery. *Laryngorhinootologie* 86/12, 854–860 (2007)

Dr. rer. nat. Silke Wissing

(BMBF LPD 9901/8-144)

Geboren am 15. April 1971 in Emsdetten. Von 1996 bis 2001 Studium der Biochemie an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen. 2001 bis 2005 Promotion in Biochemie am Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Tübingen. Von Juni 2005 bis Januar 2006 Postdoktorand am Interfakultären Institut für Biochemie Tübingen. Seit Februar 2006 Postdoktorand am J. David Gladstone Institute of Virology and Immunology, San Francisco, CA (USA).



Project:

Mechanisms of Defending Endogenous Retroelements in Human Embryonic Stem Cells

“Jumping genes” or endogenous mobile genetic elements are DNA sequences that have the ability to integrate at a new site into the genome in their cells of origin. These mobile elements can be distinguished into four different classes, (i) small interspersed nuclear elements (SINE) of which Alu is the most common element (13% of the human genome), (ii) long interspersed nuclear elements (LINE) of which LINE-1 is the most prevalent (20% of the human genome), (iii) human endogenous retroviruses (HERV) (8% of the human genome) and (iv) DNA transposons (4% of the human genome). Retrotransposons and their recognizable remnants account for nearly half of the mammalian genome, but the vast majority of these retroelements have been rendered inactive. Nevertheless ~100 L1 elements remain retrotransposition competent, indicating that they can either newly integrate into the genome or assist Alu retroelement retrotransposition into the genome. Alu, as a non-autonomous retroelement depends upon the LINE-1 ORF2p for successful retrotransposition. Although it is very difficult to measure the rate of retrotransposition events, studies suggest that a new integration occurs once in every 3–30 live human births and likely more often in spontaneous abortions.

Due to the fact that *de novo* retrotransposition events may cause damage not only by integrating into genes but also due to post insertion deletion mutation caused by recombination, retroelements can sharply shape the health of the whole organism, it seems likely that metazoan genomes have evolved mechanisms to regulate mobilization of transposable elements. DNA methylation is one important mechanisms involved in the silencing of transposons in mammalian cells. Recent publications also suggest an important role for APOBEC3 proteins in guarding genome stability. Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G (APOBEC3G, A3G) was first identified as a potent anti-HIV factor by SHEEHY et al. in 2002. A3G belongs to a larger group of deoxycytidine deaminases (A3A-A3H). Of note, primates contain seven different A3 genes while mice contain only one single A3 gene. These seven A3 genes have evolved through tandem duplication as well as unequal crossover. Moreover the remarkable high rate of non-synonymous amino acid changes in A3 genes place these genes among the most rapidly evolving mammalian genes. The driving force of this expansion during evolution was almost certainly the need to control retroelement retrotransposition.

Consistent with this idea several recent publications have shown a suppression of various retroelements by various members of the A3 protein family. The antiviral action of A3 proteins involves both enzymatic (hypermutation) and non-enzymatic effects. For A3G, it is known that the enzyme exists in two different complexes. In the low molecular mass complex (LMM) form A3G is enzymatically active while in the high molecular mass complex (HMM) A3G is enzymatically inactive. In the HMM complex A3G is bound to numerous proteins, mostly RNA binding proteins, and several RNA species. The most prominent RNA belongs to the SINE family of retroelements including Alu and hY. It is widely suspected that the binding of A3 proteins to retroelements is responsible for their ability to impair retrotransposition.

In somatic cells, retroelement retrotransposition is chiefly suppressed by DNA methylation. These epigenetic changes result in tight chromatin packing of the retroelement DNA and greatly diminished production of RNA and consequently very low levels of retrotransposition. In sharp contrast to somatic cells, embryonic stem cells exhibit very dynamic changes in DNA methylation, where the methylation patterns are gained and lost at high rates. During period of DNA hypomethylation in ES cells, high levels of retroelement RNA are expected. Accordingly, hES cells must deploy other defensive strategies in order to maintain genomic integrity. Furthermore, since retroelements are transcribed in hES cells and transcripts are easily detectable in hES cells (consistent with hypomethylation), this second line of defense must act at a point later in the retrotransposition cycle after the retroelement RNAs are produced.

In my project I determine the role of the members of the A3 family of deoxycytidine deaminases (A3A-A3H) in retroelement defense in hESCs.

Publications

- BRAUN, R. J., ZISCHKA, H., MADEO, F., EISENBERG, T., WISSING, S., BUTTNER, S., ENGELHARDT, S. M., BURINGER, D., and UEFFING, M.: Crucial mitochondrial impairment upon CDC48 mutation in apoptotic yeast. *J. Biol. Chem.* *281/35*, 25757–25767 (2006)
- WALTER, D., WISSING, S., MADEO, F., and FAHRENKROG, B.: Bir1p is a substrate for Nma11p and is able to inhibit apoptosis in yeast. *J. Cell Sci.* *119*, 1843–1851 (2006)
- WISSING, S., LUDOVICO, P., HERKER, E., BÜTTNER, S., ENGELHARDT, S. M., DECKER, T., LINK, A., PROKSCH, A., RODRIGUES, F., CORTE-REAL, M., FRÖHLICH, K.-U., MANN, J., CANDÉ, C., SIGRIST, S. J., KROEMER, G., and MADEO, F.: An AIF orthologue regulates apoptosis in yeast. *J. Cell Biol.* *166/7*, 969–974 (2004)

Dr. med. Roland Zahn

(BMBF LPD 9901/8-122)

Geboren 1970. Staatsexamen in Humanmedizin 1997 und Abschluss der Promotion 1999 an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule (RWTH) Aachen. Wissenschaftliche Tätigkeit und Facharztweiterbildung in Neurologie mit Forschungsschwerpunkt Neuropsychologie und Bildgebung an der RWTH Aachen von 1998 bis 2000, anschließend Weiterbildung zum Facharzt für Psychiatrie und Psychotherapie an der Universität Freiburg (Abschluss 2007). Von Juli 2004 bis Juli 2007 Postdoctoral Fellow am National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Bethesda, MD (USA), gefördert durch die Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina. Seitdem Stepping Stone Research Fellow an der University of Manchester (Großbritannien).



Projekt:

Zur Funktionellen Neuroanatomie sozialer Begriffe

Vortrag:

Die funktionelle Neuroanatomie sozialer Begriffe und Werte

Im Ersten Weltkrieg beobachtete Karl KLEIST (1922) bei Hirnverletzungen des Temporallappens selektive Störungen des Bedeutungswissens für sogenannte „Begriffe subjektiver Art“ (z. B. „tapfer“, „Hochmut“), welche es uns ermöglichen, Sozialverhalten und Wertvorstellungen zu beschreiben. Das Ziel unseres Forschungsvorhabens war die systematische Aufklärung der funktionellen Neuroanatomie des zugrundeliegenden begrifflichen Bedeutungswissens und der assoziierten Gefühle mithilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT).

In einem neurokognitiven Modell moralischer und sozialer Kognition hatten wir aufgrund klinischer Beobachtungen bei Patienten mit neurodegenerativen Temporallappenerkrankungen die Hypothese aufgestellt, dass dieses begriffliche Wissen in spezialisierten Regionen innerhalb des vorderen Temporallappens repräsentiert sei. Tatsächlich gelang es in der fMRT, während Probanden die Bedeutungsverwandtschaft sozialer Begriffspaare beurteilten (z. B.: höflich-rücksichtsvoll), eine solche selektiv aktivierte Region in der vorderen oberen Temporalwindung nachzuweisen (ZAHN et al. 2007). Diese Region war umso stärker aktiviert, je detaillierter ein Begriff Sozialverhalten beschreibt. Zum deskriptiven Detail der verwendeten Begriffe hatten wir zuvor umfangreiche normative Daten erhoben. Zum Beispiel ist der Begriff „geizig“ wesentlich deskriptiver als „schlecht“, und Begriffe wie „geizig“ führten zu stärkerer Aktivierung der oberen vorderen Temporalwindung. Das heißt, diese Hirnregion scheint dann aktiviert zu werden, wenn wir begriffliche Feindifferenzierungen bei der Interpretation von Sozialverhalten machen.

In einer Untersuchung bei Patienten mit Neurodegeneration des Temporallappens bei Frontotemporaler Demenz haben wir inzwischen gezeigt, dass rechtsseitige Schädigungen

dieser Region tatsächlich zu einem selektiven Verlust begrifflichen Wissens über Sozialverhalten bei erhaltenem Wissen über andere Eigenschaften lebendiger Dinge führen. Außerdem zeigten Patienten mit selektivem Verlust begrifflichen Wissens über Sozialverhalten auch tatsächlich stärkere Verhaltensstörungen nach Beurteilung ihrer Angehörigen in neuropsychiatrischen Interviews. Dieser Befund eröffnet eine neue Interpretation der seit langem bekannten Störungen des Sozialverhaltens bei Patienten mit Hirnschädigungen und bestätigt unsere fMRT-Ergebnisse.

Aufbauend auf diesen Untersuchungen ist es uns in einem weiteren fMRT-Experiment bei gesunden Probanden erstmals gelungen, die komplexe Neuroanatomie sozialer und moralischer Wertvorstellungen aufzudecken, welche durch abstrakte soziale Begriffe wie „Großzügigkeit“ oder „Mut“ beschrieben werden (ZAHN et al. 2008). Solche Wertvorstellungen sind von Tugendethikern, wie ARISTOTELES, seit der Antike in den Mittelpunkt philosophischer Debatten gestellt worden. Im 18. Jahrhundert hatte eine einflussreiche Schule britischer Philosophen sogenannte „moralische Gefühle“ als intuitive Quellen moralischer Urteile über Wertvorstellungen postuliert. In den letzten Jahren ist es der Arbeitsgruppe von Jorge MOLL in Rio de Janeiro gelungen, ein Netzwerk fronto-temporo-mesolimbischer Hirnregionen aufzudecken, welches bei der Induktion solcher moralischen Gefühle aktiver ist als bei der Induktion negativer oder positiver Gefühle ohne starke moralische Implikationen (Übersicht in MOLL et al. 2005). Allerdings war bisher unklar, wie abstraktes Bedeutungswissen über Sozialverhalten, wie z. B. das Wissen darum, was es bedeutet, sich großzügig zu verhalten, mit solchen moralischen Gefühlen im Gehirn gekoppelt wird. Wertvorstellungen können jedoch nur zureichend erklärt werden, wenn ihre Zusammensetzung aus kontext-unabhängigem abstraktem begrifflichem Wissen über Sozialverhalten und vom Handlungskontext abhängigen Gefühlsqualitäten berücksichtigt wird. So ist z. B. die Kernbedeutung des Begriffes „Großzügigkeit“ identisch, egal ob jemand sich selbst als großzügig handelnd erlebt oder ob er einen anderen als großzügig ihm gegenüber handelnd wahrnimmt. Jedoch wird er wahrscheinlich im ersten Fall eher Stolz und im zweiten Fall eher Dankbarkeit empfinden. Im Gegensatz dazu wird ein Zuwiderhandeln gegen die Wertvorstellung der Großzügigkeit beim Handelnden eher Schuldgefühle und beim Empfangenden eher Empörung oder Wut auslösen.

Die Hypothese, welche wir mit unserem Experiment untersuchten, war, dass das abstrakte begriffliche Wissen über Sozialverhalten, welches wir in unserer ersten Untersuchung in der oberen vorderen Temporalwindung lokalisieren konnten, auch während einer emotionalen Beurteilungsaufgabe automatisch mitaktiviert werden würde, selbst wenn in diesem Experiment keine bewusste Unterscheidung von Wortbedeutungen wie im ersten Experiment vorgenommen werden musste. Weiterhin nahmen wir an, dass dieses begriffliche Wissen unabhängig vom Gefühls- und Handlungskontext gleich stark aktiviert werden sollte. Demgegenüber nahmen wir außerdem an, dass verschiedene moralische Gefühle, wie Schuld, Empörung/Wut, Stolz und Dankbarkeit, zu unterscheidbaren Aktivierungen in fronto-mesolimbischen Netzen führen sollten.

Um diese Hypothesen zu untersuchen, instruierten wir Probanden im fMRT, kurze Sätze, welche eigenes Sozialverhalten gegenüber ihrem besten Freund oder Verhalten ihres besten Freundes gegenüber den Probanden beschrieben, intuitiv emotional zu beurteilen (angenehm/unangenehm). Die Hälfte der Verhaltensweisen waren im Einklang (z. B. „Tom verhält sich großzügig gegenüber Sam“), die andere Hälfte im Widerspruch (z. B. „Tom verhält sich geizig gegenüber Sam“) zu persönlichen und sozialen Wertvorstellungen. Nach der fMRT mussten die Probanden beurteilen, welche Gefühle sie mit den beschriebenen Verhaltensweisen am ausgeprägtesten assoziierten. Zur Auswahl standen die folgenden moralischen Gefühle: Empörung/Wut, Peinlichkeit, Schuld, Stolz, Dankbarkeit und eine Restkategorie: Anderes/kein Gefühl.

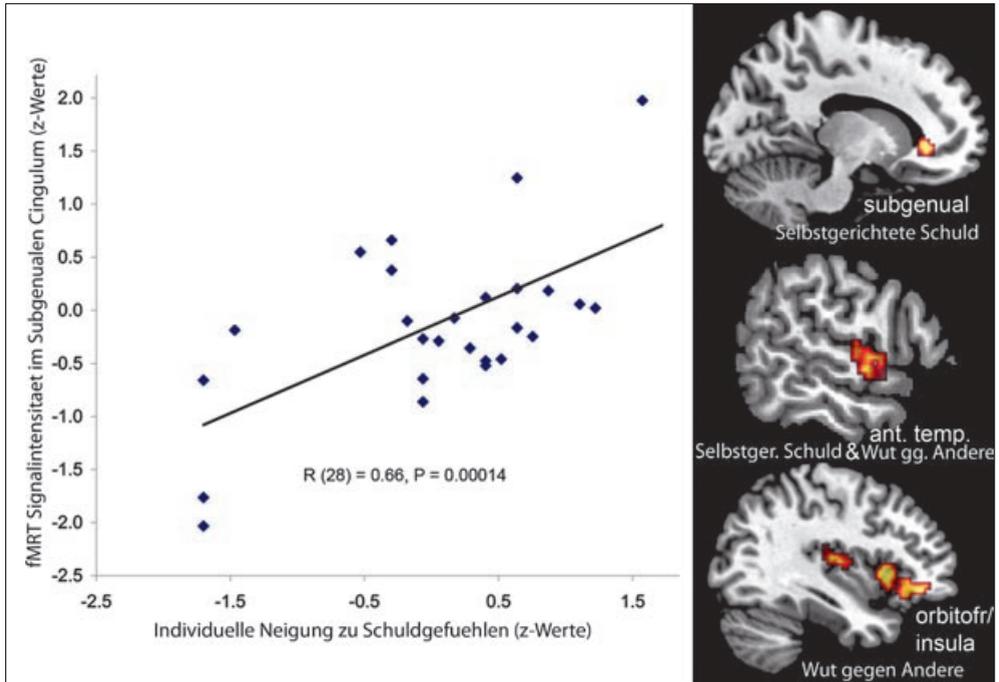


Abb. 1 Aktivierung in der rechten vorderen oberen Temporalwindung bei sozialen Begriffen (Erläuterung im Text)

Abbildung 1 zeigt, dass tatsächlich eine stabile Aktivierung in der rechten vorderen oberen Temporalwindung nachgewiesen werden konnte, die unabhängig vom Gefühls- (Schuld, Empörung/Wut, Stolz, Dankbarkeit) und Handlungskontext (selbsthandelnd oder fremdhandelnd) gleich stark vorlag. Weiterhin war diese Aktivierung, wie im ersten Experiment, umso stärker je detaillierter ein Begriff Sozialverhalten beschrieb. Demgegenüber zeigten sich unterscheidbare Aktivierungsmuster in fronto-mesolimbischen Hirnregionen für die verschiedenen wertbezogenen moralischen Gefühle. Als wichtigster Befund ist die Aktivierung für Schuld für eigenes Handeln im Widerspruch mit Wertvorstellungen im subgenualen Cingulum und die Aktivierung des lateralen Orbitofrontalkortex für Empörung/Wut gegenüber anderen, welche gegen dieselben Wertvorstellungen gehandelt hatten, dargestellt.

Weiterhin sieht man im Streudiagramm, dass die 28 Probanden sich deutlich in ihrer Tendenz zu Schuldgefühlen unterschieden und dass die Stärke der Aktivierung im subgenualen Cingulum eine hohe Korrelation mit der individuellen Schuldneigung aufwies.

Interessanterweise wird bei schweren depressiven Erkrankungen häufig eine Überaktivierung des subgenualen Cingulums gefunden. Menschen mit schwerer Depression interpretieren ihr eigenes Verhalten meist als Ausdruck ihrer wahrgenommenen Minderwertigkeit und fühlen sich schuldig für geringfügige Zuwiderhandlungen gegen soziale Wertvorstellungen.

Die Ergebnisse dieses Projektes haben eine wichtige Grundlage zum Verständnis der gestörten Bewertung und Wahrnehmung des eigenen Sozialverhaltens bei affektiven Störungen wie Depression und bei Verhaltensstörungen nach Hirnschädigungen auf funktionell neuroanatomischer Basis gelegt.

An der *University of Manchester* untersuchen wir derzeit, ob Veränderungen der funktionellen Kopplung in fronto-temporo-mesolimbischen Netzwerken während der Beurteilung

eigenen Sozialverhaltens ein Risikofaktor für die Entwicklung depressiver Erkrankungen sind. Zudem analysieren wir, wie der Verlust moralischer Gefühle und sozialen Wissens zur Genese von Verhaltensstörungen bei Frontotemporaler Demenz beiträgt. Diese Untersuchungen werden hoffentlich wichtige Grundlagen zur besseren Früherkennung, Behandlung und Prävention affektiver und neuropsychiatrischer Erkrankungen leisten.

Literatur

KLEIST, K.: In: BONHOEFFER, K. (Ed.): Geistes- und Nervenkrankheiten. Leipzig: Verlag von Johann Ambrosius Barth 1922

Publikationen

ZAHN, R., MOLL, J., PAIVA, M., GARRIDO, G., KRUEGER, F., HUEY, E., and GRAFMAN, J.: The neural basis of human social values: evidence from functional MRI. *Cerebral Cortex* (2008) (doi:10.1093/cercor/bhn080)

MOLL, J., OLIVEIRA-SOUZA, R. DE, and ZAHN, R.: The neural basis of moral cognition: sentiments, concepts and values. In: MILLER, M., and KINGSTONE, A. (Eds.): *The Year Book in Cognitive Neuroscience*. Ann. New York Acad. Sci. 1124/1, 161–180 (2008)

ZAHN, R., TALAZKO, J., and EBERT, D.: Loss of the sense of self-ownership for perceptions of objects in a case of right inferior temporal, parieto-occipital and precentral hypometabolism. *Psychopathology* 41, 397–402 (2008)

KRUEGER, F., MCCABE, K., MOLL, J., KRIEGESKORTE, N., ZAHN, R., STRENZIOK, M., HEINECKE, A., and GRAFMAN, J.: Neural correlates of trust. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 104/50, 20084–20089 (2007)

KRUEGER, F., MOLL, J., ZAHN, R., HEINECKE, A., and GRAFMAN, J.: Event frequency modulates the processing of daily life activities in human medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex* 17/10, 2346–2353 (2007)

MOLL, J., OLIVEIRA-SOUZA, R. DE, GARRIDO, G. G., BRAMATI, I. E., CAPARELLI-DAQUER, E. M. A., PAIVA, M. L. M. F., ZAHN, R., and GRAFMAN, J.: The self as a moral agent: linking the neural bases of social agency and moral sensitivity. *Social Neuroscience* 2, 336–352 (2007)

ZAHN, R., MOLL, J., KRUEGER, F., HUEY, E., GARRIDO, G., and GRAFMAN, J.: Social concepts are represented in the superior anterior temporal cortex. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 104, 6430–6435 (2007)

MOLL, J., KRUEGER, F., ZAHN, R., PARDINI, M., OLIVEIRA-SOUZA, R. DE, and GRAFMAN, J.: Human fronto-mesolimbic networks guide decisions about charitable donation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 103, 15623–15628 (2006)

ZAHN, R., GARRARD, P., TALAZKO, J., GONDAN, M., BUBROWSKI, P., JUENGLING, F., SLAWIK, H., DYKIEREK, P., KOESTER, B., and HUELL, M.: Patterns of regional brain hypometabolism associated with knowledge of semantic features and categories in Alzheimer's disease. *J. Cogn. Neurosci.* 18/12, 2138–2151 (2006)

MOLL, J., ZAHN, R., OLIVEIRA-SOUZA, R. DE, KRUEGER, F., and GRAFMAN, J.: The neural basis of human moral cognition. *Nature Rev. Neurosci.* 6/10, 799–809 (2005)

Dr. rer. nat. Katharina Zweig

(BMBF LPD 9901/8-182)

Geboren 1976. 9/1993–1/1996 Ausbildung zur Chemisch-Technischen Assistentin (CTA), parallel zur Oberstufe. 6/1995 Abitur an der Gelehrtenschule des Johanneums zu Hamburg. 4/1996–7/2001 Biochemiestudium (Schwerpunkt Physikalische Chemie), Diplom, Universität Tübingen. 10/1996–10/2006 Bioinformatikstudium (Schwerpunkt Biochemie). Diplom, Universität Tübingen. 1/2003–3/2008 Mitarbeiterin am Wilhelm-Schickard-Institut für Informatik, Universität Tübingen. 7/2005 Complex System Summer School, Santa Fe Institute of Complex Systems, Santa Fe, NM (USA). 8/2007 Promotion an der Universität Tübingen. 10/2007 Forschungsaufenthalt, University of Arizona, AZ (USA). Seit 4/2008 Eötvös-Loránd-Universität (ELTE), Budapest, Ungarn, als Leopoldina-Stipendiatin.



Projekt: Complex Network Analysis in Computer Science

Als komplexe Systeme werden solche Systeme bezeichnet, deren globale Eigenschaften von lokalen Aktionen und Interaktionen ihrer Elemente abhängen. Die Interaktionen zwischen diesen Elementen können vereinfacht auch als sogenannte komplexe Netzwerke dargestellt werden. Die Analyse und Modellierung dieser komplexen Netzwerke wird von Wissenschaftlern aus den unterschiedlichsten Disziplinen durchgeführt, beispielsweise aus der Biologie und Physik, den Wirtschaftswissenschaften und der Informatik.

Es konnte gezeigt werden, dass komplexe Netzwerke aus Natur und Technik eine ganz eigene Struktur haben, die sich durch klassische Modellierungsansätze aus der Physik gut beschreiben lässt. Die Frage, auf die sich unser Projekt konzentriert, ist nun, inwieweit diese Strukturen hilfreich bei der Lösung sogenannter ‚schwerer‘, also rechenaufwendiger Probleme sein können. In der klassischen Informatik ist schon lange bekannt, dass manch ‚schweres Problem‘ in der Praxis sehr viel einfacher zu beantworten ist, als theoretisch vorhergesagt wurde. Ein gutes Beispiel dafür ist das Lösen von sogenannten Erfüllbarkeitsproblemen, die z. B. beim Chipdesign oder auch in der Automobilbranche auftreten. Obwohl es theoretisch hier schon bei einer kleinen Anzahl von Problemparametern passieren könnte, dass das Berechnen der Lösung Jahrzehnte oder gar Jahrhunderte dauert, können in der Realität auch Probleme mit sehr vielen Parametern noch innerhalb kurzer Zeit gelöst werden. Es ist bisher unbekannt, welche Struktur zwischen den Parametern in Problemen aus der realen Welt es erlaubt, die Lösung so schnell zu finden.

Durch Erstellen einer neuen Analysesoftware werden wir auf verschiedenen Netzwerken nach algorithmisch relevanten Strukturen suchen und versuchen, diese formal zu modellieren. Die formale Modellierung soll den danach folgenden Prozess des Algorithmendesigns und der Algorithmenanalyse unterstützen. Im Idealfall werden durch die Kombination von Analyse, Modellierung und Algorithmendesign neue, effizientere Algorithmen entstehen, die sich auf die für die Praxis relevanten Problemklassen konzentrieren. Wie die Abbildung 1

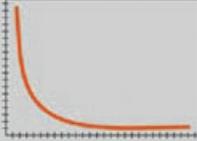
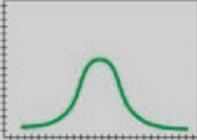
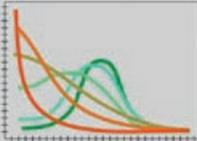
	Schritt	Analytische Methode
	1) Analyse der Struktur von Netzwerkdaten aus Natur, Technik und Industrie.	Experimentell
	2) Modellierung als Zufallsgraph.	Theoretisch
	3) Analyse der Netzwerkstruktur des Graphenmodells.	Experimentell Theoretisch
	4) Wenn die Strukturen von Modell und Daten vergleichbar sind: Parametrisierung der Struktur um zwischen verschiedenen Extremen skalieren zu können.	Theoretisch
	5) Analyse, wie sich das Modell bezüglich eines Problems verhält. Ist das Problem z.B. bei Parameter A meistens leicht zu lösen, für Parameter B aber schwierig? Welcher Parameter ist realistisch?	Experimentell Theoretisch
	6) Entwicklung neuer Algorithmen, die die entdeckte Struktur der Realweltdaten benutzen. Analyse der Laufzeit auf dem entwickelten Graphenmodell.	Theoretisch

Abb. 1 Entwicklung von Algorithmen in experimentellen und theoretischen Schritten

zeigt, greifen in diesem Prozess verschiedene experimentelle und theoretische Schritte ineinander, um die neuen Algorithmen zu entwickeln.

Das Projekt wird unter der Leitung von Professor Tamás VICSEK durchgeführt, der sich als Physiker seit Jahren mit der Analyse und Modellierung komplexer Systeme durch physikalische Modelle beschäftigt.

Wir erhoffen uns durch die Interdisziplinarität in diesem Projekt neben den neuen wissenschaftlichen Einblicken auch ein weitergehendes Verständnis davon, wie die jeweilig andere wissenschaftliche Tradition und Perspektive den Studierenden der nächsten Generation vermittelt werden kann, um in Zukunft die interdisziplinäre Kommunikation zwischen Physik und Informatik zu erleichtern.

Publikationen

ZWEIG, K. A., and ZIMMERMANN, K.: Wanderer between the worlds – Self-organized network stability in attack and random failure scenarios. Proceedings of the 2nd IEEE SASO (2008) (accepted)

ZWEIG, K. A.: To cluster or not to cluster – A meta-analytic approach. Proceedings of the 4th European Conference on Complex Systems (2008) (accepted)

BINUCCI, C., BRANDES, U., DI BATTISTA, G., DIDIMO, W., GAERTLER, M., PALLADINO, P., PATRIGNANI, M., SYMNONIS, A., TOLLIS, I. G., and ZWEIG, K.: Streamed graph drawing. ISAAC (2008) (submitted)

Zur Zukunft der Lehre an Universitäten in Deutschland

Von Katharina LANDFESTER (Mainz)

Die Empfehlungen der AG Lehre der Jungen Akademie an der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften und der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina werden vorgestellt.

Entscheidend für die Qualität der Ausbildung an deutschen Universitäten ist die enge Verbindung von Forschung und Lehre. Die Arbeitsgruppe zeigt verschiedene Wege auf, wie dieses Ziel erreicht werden könnte. So sollte das bestehende Engagement von Dozierenden anerkannt werden, während die bisher an der Lehre unbeteiligten Personen des Wissenschaftsbetriebs dazu angeregt werden sollten, sich ebenfalls einzubringen. Doch dazu muss Lehre attraktiver werden, als sie heute ist.

Verschiedene Maßnahmen können dazu beitragen. Einerseits sollte es finanzielle Anreize geben, aber auch die Möglichkeit, sich durch zusätzliche Hilfskräfte und eine besser qualifizierte Administration zeitliche Freiräume zu verschaffen. Andererseits müssen sich die Rahmenbedingungen der Lehre so verbessern, dass sie inhaltlich befriedigender wird. Denn auch für Lehrende ist die Betreuung lernintensiver Studienprojekte und die Diskussion in Kleingruppen attraktiver als eine anonyme Abfertigung der Massen.

Die Umstellung auf das Bachelor-Master-System birgt die Chance zur durchgreifenden Reform: nicht nur im Sinne einer quantitativen, sondern auch einer qualitativen Steigerung. Doch diese Chance muss jetzt ergriffen werden. Nur so können die Lehrenden dafür einstehen, dass die Absolventen wirklich höchst qualifiziert sind. Nur so können die Universitäten auch außerfachliche Schlüsselqualifikationen vermitteln und damit direkt arbeitsmarktbezogene Ausbildung leisten. Nur so bleibt die deutsche Universität eine historische Errungenschaft, eine europäische Höchstleistung und ein universeller humanistischer Wert.

Die AG Lehre der Jungen Akademie bündelt innerhalb der Jungen Akademie die Diskussionen zu allen Fragen, die mit dem umfangreichen Themenkomplex Lehre zusammenhängen.

So veranstaltete die Arbeitsgruppe ein (Streit-)Gespräch zum Thema „Wo endet Forschung, wo beginnt Lehre?“, das unter Beteiligung von Prof. Dr. Karin LOCHTE (Vorsitzende der Wissenschaftlichen Kommission des Wissenschaftsrates), BMBF-Staatssekretär Prof. Dr. Frieder MEYER-KRAHMER und HGF-Präsident Prof. Dr. Jürgen MLYNEK am 12. November 2007 in Berlin stattgefunden hat.

Diese Debatte sowie die daran anschließenden Überlegungen der Arbeitsgruppe mündeten in ein differenziertes Positionspapier „Zur Zukunft der Lehre an Universitäten in Deutschland“, das im April 2008 vorgelegt wurde und als Broschüre in der Geschäftsstelle der Jungen Akademie erhältlich ist:

Bettina BEER, Christian FLEISCHHACK, Matthias KLATT, Matthias KOENIG, Sabine KOLLER, Katharina LANDFESTER, Verena LEPPER, Kärin NICKELSEN, Bénédicte SAVOY und Christine SILBERHORN: Zur Zukunft der Lehre an Universitäten in Deutschland. Broschüre, Berlin, April 2008

Das Positionspapier „Zur Zukunft der Lehre an deutschen Universitäten“ (PDF) zum Herunterladen unter:

[http://www.diejungeakademie.de/publikationen/index_2.htm]

Eine kurze Zusammenfassung des Positionspapiers wurde im *Junge Akademie Magazin* veröffentlicht und ist ebenfalls in der Geschäftsstelle der Jungen Akademie erhältlich. Katharina LANDFESTER und Kärin NICKELSEN plädieren für einen höheren Stellenwert der universitären Lehre. Dabei gelte es, das Humboldtsche Prinzip der Einheit von Lehre und Forschung zu erhalten, gleichzeitig aber neue, alternative und vor allem flexiblere Konzepte der Lehrgestaltung zu ermöglichen.

Katharina LANDFESTER und Kärin NICKELSEN: Gemischte Gefühle. Zur Zukunft der Lehre an deutschen Universitäten. In: *Junge Akademie Magazin* Heft 8, Juli 2008, S. 16–17.

Zur Person: Prof. Dr. Katharina LANDFESTER (Jahrgang 1969)

Nach dem Chemiestudium an der Technischen Universität Darmstadt, ging Katharina Landfester 1993 zur Diplomarbeit an die Ecole d'Application des Hauts in Strasbourg. Ihre Promotion beendete sie 1995 am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPI-P) Mainz in der Gruppe von Prof. Hans W. SPIESS.

Als wissenschaftliche Mitarbeiterin arbeitete sie anschließend am Emulsion Polymers Institute in Bethlehem, PA (USA). Von 1998 bis 2003 war sie als Wissenschaftlerin am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung in Golm tätig und schloss 2002 ihre Habilitation ab. Sie gehörte von 2002 bis 2007 der Jungen Akademie an und engagierte sich als deren Sprecherin. Sie beteiligte sich in dieser Zeit an den Empfehlungen der Jungen Akademie zu den Themen „Juniorprofessur“ und „Zukunft der Lehre“. Im Jahr 2003 erhielt Katharina LANDFESTER einen Ruf an den Lehrstuhl für Makromolekulare Chemie der Universität Ulm. Seit September 2008 ist sie Direktorin am MPI-P in Mainz. Sie leitet am MPI-P den Arbeitskreis „Physikalische Chemie der Polymere“, der derzeit 50 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter umfasst.

Für ihre bisherigen Forschungsarbeiten erhielt sie Stipendien des Fonds der Chemischen Industrie, der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie den Raimund-Stadler-Preis der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh).

Geschäftsstelle der Jungen Akademie
Jägerstraße 22/23
10117 Berlin
Telefon: +49 (0)30-203 70-6 50
Telefax: +49 (0)30-203 70-6 80
E-Mail: office@diejungeakademie.de

Prof. Dr. Katharina Landfester
Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Postfach 3148
55021 Mainz
Telefon: +49 (0)61 31-3 79-0
Homepage: <http://www.mpip-mainz.mpg.de>
E-Mail: landfester@mpip-mainz.mpg.de