B M F Z

HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

1. BMFZ-Klausurtagung
Kardinal-Schulte-Haus
Bergisch-Gladbach
11. - 12. August 2006

Inhalt Seite

1.	**Programm**	**3**
2.	**Abstracts der Mitglieder**	**5**
3.	**Expertisen der Mitglieder**	**29**
4.	**Anfahrtsbeschreibung**	**47**

HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

BMFZ

1. BMFZ-KLAUSURTAGUNG

Kardinal-Schulte-Haus, Bergisch-Gladbach

11.-12. August 2006

PROGRAMM

Freitag, 11.8.2006

14.00 h	**Begrüßung**	Guido Reifenberger
14.15 h – 16.00 h	**Sitzung 1**	Moderation: William Martin, Dieter Willbold
	Morphogenese und Wirtszell-Interaktion von *Candida albicans*	Joachim Ernst (Mikrobiologie)
	Anti-Immunology: evasion of adaptive and innate immune responses by cytomegalovirus	Hartmut Hengel (Virologie)
	Role of the IFN-gamma inducible 65kDa murine guanylate-binding proteins (mGBPs) in pathogen defence	Sandra Beer (Medizinische Mikrobiologie und Hygiene)
	Towards in vivo conditions in biophysical characterization of prions	Detlev Riesner (Physikalische Biologie)
	Strukturbiologie und Ligandeninteraktion von Proteinen mittels NMR-Spektroskopie	Dieter Willbold (Physikalische Biologie)
	ABC-transporters: From ions to large proteins	Lutz Schmitt (Biochemie)
	Neues auf dem Gebiet der anaeroben Mitochondrien	William Martin (Pflanzenphysiologie)
16.00 h – 16.30 h	**Kaffee**	
16.30 h – 18.15 h	**Sitzung 2**	Moderation: Brigitte Royer-Pokora, Klaus Schulze-Osthoff
	Identification of an unusual member of the inhibitor of NF-κB family	Klaus Schulze-Osthoff (Molekulare Medizin)
	Identifizierung und Charakterisierung des „Macrophage Capping Proteins“ CapG als putatives Onkogen in Mammakarzinomen	Dieter Niederacher (Frauenklinik)
	Veränderungen der DNA-Methylierung in urologischen Tumoren	Wolfgang Schulz (Urologie)
	Molekulare Wirk- und Resistenzmechanismen bei der Behandlung der chronischen myeloischen Leukämie mit dem selektiven Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib	Rainer Haas (Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie)
	Array-CGH Untersuchungen bei myelodysplastischem Syndrom	Brigitte Royer-Pokora (Humangenetik und Anthropologie)
	Molekulare Pathogenese zentralnervöser Tumoren: Von den genetischen Grundlagen zu neuen Modellen	Guido Reifenberger (Neuropathologie)
	Funktionelle Konsequenzen einer kardialen Überexpression der induzierbaren NO Synthase	Axel Gödecke (Herz- und Kreislaufphysiologie)
18.15 h – 19.30 h	**Abendessen**	
19.30 h – 20.30 h	**Sitzung 3 – Vorstellung der Zentrallaboratorien**	Moderation: Rainer Haas, Guido Reifenberger
	Aufgaben und Leistungen des Molekularbiologischen Zentrallabors	Karl Köhrer (Molekularbiologisches Zentrallabor)
	Proteine & Modifikationen: Bioanalytik im Analytischen Zentrallabor	Sabine Metzger (Analytisches Zentrallabor)
	Das Zentrallabor für transgene Tiere	Ulrich Rüther (Zentrallabor für Transgene Tiere)
ab ca. 20.30 h	**Individuelle Diskussionsrunden im Biergarten des Kardinal-Schulte-Hauses**	

Samstag, 12.8.2006

8.00 h – 9.00 h	**Frühstück**	
9.00 h – 11.00 h	**Sitzung 4**	Moderation: Helmut Haas, Hans Werner Müller
	Intrazelluläre Ionensignale in zentralen Nerven- und Gliazellen	Christine Rose (Neurobiologie)
	Antikörperreaktion gegen konformations-abhängige Myelinantigene bei der Multiplen Sklerose	Bernhard Hemmer (Neurologie)
	Neurochips. Science oder Fiktion?	Mario Siebler (Neurologie)
	Neues vom Schlafen und Wachen	Helmut Haas (Neuro- und Sinnes-physiologie)
	Regeneration im Zentralnervensystem	Hans-Werner Müller (Molekulare Neurobiologie)
	Tricyclische Antidepressiva, Quinacrin und synthetische Chimären daraus beseitigen Prionen unter Beteiligung der Lysosomen	Ralf Klingenstein (Neuropathologie)
	Die neurochemischen und Verhaltenseffekte von Kokain in der Ratte	Christian Müller (Physiologische Psychologie)
	Neuroinflammation und zerebrale Ischämie	Sebastian Jander (Neurologie)
11.00 h – 11.30 h	**Kaffee**	
11.30 h – 13.00 h	**Sitzung 5**	Moderation: Elisabeth Knust, Rüdiger Scharf
	DNA-Topoiosmerasen als intrinsische Kofaktoren der Abnutzung nuklearer und mitochondrialer Genome	Friederich Boege (Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik)
	Pluripotente Zellen aus humanem Nabelschnurblut	Peter Wernet (Transplantations-diagnostik und Zelltherapeutika)
	Untersuchungen zu molekularen und genetischen Ursachen Licht-abhängiger retinaler Degeneration bei *Drosophila melanogaster*	Elisabeth Knust (Genetik)
	Hedgehog-Signale und Embryonalentwicklung	Ulrich Rüther (Entwicklungs- und Molekularbiologie der Tiere)
	Eine experimentell gestützte bioinformatische Analyse Krankheits-assoziierter 5' Spleißstellenmutationen	Heiner Schaal (Virologie)
	Struktur und molekularer Mechanismus der Ethylenrezeptorfamilie aus *Arabidopsis thaliana*	Georg Groth (Biochemie der Pflanzen)
13.00 h – 14.00 h	**Mittagessen**	
14.00 h – 16.00 h	**Sitzung 6**	Moderation: Ulrich Rüther, Helmut Sies
	Mechanismen und Konsequenzen der stressinduzierten Aktivierung zellulärer Signalkaskaden	Lars-Oliver Klotz (Biochemie und Molekularbiologie I) (Antrag auf BMFZ Mitgliedschaft)
	Funktion, Regulation und biologische Rolle der Gi-vermittelten Autophagie;	Antje Gohla (Biochemie und Molekularbiologie II)
	Funktion Gi-abhängiger Signalwege im kardiovaskulären System	Roland Piekorz (Biochemie und Molekularbiologie II)
	UV-vermittelte Signaltransduktion in der Haut	Susanne Grether-Beck (Umweltmedizin)
	Singulettsauerstoff und Peroxynitrit: biologische Schutzsysteme und Anwendung am Menschen	Helmut Sies (Biochemie und Molekularbiologie I)
	Cell hydration and mTOR-dependent signalling	Freimut Schliess (Gastroenterologie, Hepatologie und Infektionsmedizin)
	Einfluss thrombozytärer Rezeptorpolymor-phismen auf die arterielle Thrombogenese	Rüdiger E. Scharf (Hämostaseologie und Transfusionsmedizin)
	Protein-Identifikation aus Multiplen Tandem Massenspektrometrie Datensätzen	Tilo Grosser (Pharmakologie)
16. 00 h	**Kaffee**	
16.15 h – 17.00 h	**BMFZ-Vorstands-Sitzung**	

2. Abstracts

AG Bender

Identifizierung und Charakterisierung des „ Macrophage Capping Proteins“ CapG als putatives Onkogen in Mammakarzinomen

Niederacher D[1], Seier N[1], Betz B[1], Heimerzheim T[1], Renz M[2] und D' Haese J[3]

[1]Universitäts-Frauenklinik Düsseldorf, Heinrich-Heine Universität; [2]Abteilung Biophysik der Makromoleküle, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), 69120 Heidelberg; [3]Institut für Zoomorphologie, Parasitologie und Zellbiologie, Heinrich-Heine Universität

Genomweite Expressionsanalysen ermöglichen die systematische Suche nach Kandidatengenen, die an der Tumorgenese und –progression beteiligt sind. Basierend auf einer umfassenden Datenanalyse von Expressionsdatenbanken mit dem Ziel, in Tumor- und Normalgeweben differentiell exprimierte Gene zu identifizieren, wurden über einen mehrstufigen Selektionsprozess 40 putative tumorassoziierte Kandidatengene identifiziert, die im Rahmen eines Verbundprojekts im Deutschen Humangenomprojekt weitergehend charakterisiert wurden. Die in der „in silico“ Analyse der Expressionsdatenbanken als Tumorsuppressorgen- oder Onkogen-Kandidaten identifizierten Gene wurden durch Expressionsanalysen mittels Cancer-Profiling-Arrays (CPA, Clontech) und durch RT-PCR bestätigt [Dahl et al., J Path, 2005]. Ein putatives Onkogen, welches in 54% der untersuchten Mammakarzinome (MC) höher exprimiert wurde als in normalem Brustgewebe, konnte als das der Gelsolin-Proteinfamilie zugehörige „Macrophage-Capping Protein“ (CapG) identifiziert werden.

In der Mammakarzinom-Zelllinie MDA-MB 231 konnte bislang die höchste relative CapG Expression sowie ein hohes Metastasierungspotential im Matrigel-Invasionsassay nachgewiesen werden. Die CapG Expressionsanalyse in 39 MC zeigte eine deutlich häufigere CapG-Überexpression in metastasierten MC (M+). Diese Befunde führten zu der Hypothese, dass die Überexpression von CapG zu einer Erhöhung der Zellmobilität und invasivem Wachstum beiträgt. Diese Annahme wird auch dadurch gestützt, dass die mittels siRNA erreichte 50-60%-ige Reduktion der CapG-Expression in der MC Zelllinie MDA-MB 231 mit einer bis zu 40%-igen Reduktion der Zellmobilität im Matrigel-Assay korreliert.

Für weitere funktionelle Untersuchungen wurden drei Peptide aus verschiedenen Domänen des CapG Proteins synthetisiert und „custom anti-peptide antibodies“ generiert. Die Spezifität der polyklonalen Kaninchenseren wurde in Western Blot Analysen gezeigt. Der CapG Proteinnachweis mittels Immunhistochemie an MC und normalem Brustgewebe sowie Western Blots in Tumorzelllinien stimmten mit den Ergebnissen der CapG Expressionsanalyse (RT-PCR) überein.

Weitere funktionelle Analysen fokusieren sich auf die Lokalisation von CapG im Zellkern, die von der Phosphorylierung des CapG abzuhängen scheint. Der Phosphorylierungsstatus von CapG bei verschiedenen Proben wurde durch Auftrennung der CapG-Varianten mittels zweidimensionaler Gelelektrophorese und anschließendem Western Blot mit CapG-spezifischen Antikörpern untersucht. Ergebnisse der zwei-dimensionalen Gelelektrophorese lassen vermuten, dass in Karzinom-Zelllinien (Hela, MDA-MB 231) der phosphorylierte Anteil von CapG deutlich höher ist, als in normalen Zellen (MCF-12A).

Der gegenwärtige Kenntnisstand deutet auf eine Beteiligung des CapG Proteins als mögliches Onkogen bei der Metastasierung von Mammakarzinomen. Ansatzpunkte zur Aufklärung der Funktion des CapG Proteins in diesem Prozess sind funktionelle Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen dem invasiven Wachstumsverhalten von Tumorzellen und dem Expressionslevel, dem Phosphorylierungsgrad und der subzellulären Lokalisation des CapG Proteins sowie dessen Interaktion mit Actin, einem wichtigen Baustein des Cytoskeletts und der Kernmatrix.

AG Boege

DNA-Topoiosmerasen als intrinsische Kofaktoren der Abnutzung nuklearer und mitochondrialer Genome.

F. Boege, C. Mielke, Institut für Klinische Chemie und Labordiagnostik

Wir haben eine janusköpfige Rolle der DNS-Topoisomerasen bei der Homöostase des menschlichen Genoms gezeigt. Einerseits sind diese Enzyme essentiell – ihr Mangel provoziert Replikationsarrest, Malmitose und Aneuploidie (7-9). Andererseits produzieren sie fortlaufend Topoisomerase•DNS-Strangbrüche, die das Genom mutieren und fragmentieren, wenn sie nicht rasch beseitigt werden (1-4,9). Dieser Ambivalenz wegen werden Topoisomerasen stringent reguliert (7,8), was durch oxidativen Stress und Umweltfaktoren gestört wird: In photo-oxidativ geschädigten Chromatinbereichen akkumulieren rasch große Mengen von Topoisomerase•DNS-Strangbrüchen (2,3); pflanzliche Nahrungsinhaltsstoffe induzieren Topoisomerase•DNS-Strangbrüche oder hemmen die Enzyme (1); mitochondriale Überexpression von Topoisomerasen deletiert die mtDNS (unpubliziert). Diese und weitere Vorbefunde zeigen, dass Topoisomerasen oxidative DNS-Schäden verstärken und indirekte genotoxische Effekte auf die Genome übertragen. Wir wollen nun herausfinden ob und wie dieser Mechanismus die extrinsische Alterung von Zellen und Organ(ism)en beeinflusst und wie exogen induzierte DNS-Dysfunktionen erkannt und intra- sowie interzellulär kommuniziert werden.

1. Anthocyanidins Modulate the Activity of Human DNA Topoiosmerases I and II and Affect Cellular DNA Integrity. Habermeyer, M. Fritz, J., Barthelmes, H.U., Christensen M.O., Larsen, M.K., Boege, F., Marko, D. (2005) *Chem. Res. Toxicol.* 18,1395-1404.
2. TDP1 Overexpression in Human Cells Counteracts DNA Damage Mediated by Topoisomerases I and II. Barthelmes, H.U., Habermeyer, M, Christensen, M.O., Interthal, H., Boege, F. & Marko, D. (2004) *J.Biol.Chem.* 279, 55618-25
3. Enhanced processing of UVA-irradiated DNA by human topoisomerase II in living cells. Christian Mielke, C., Morten O. Christensen, Hans Ullrich Barthelmes & Fritz Boege (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 20559-20562
4. Distinct effects of topoisomerase I and RNA polymerase I inhibitors suggest a dual mechanism of nucleolar/nucleoplasmic partitioning of topoisomerase I. Christensen MO, Krokowski RM, Barthelmes HU, Hock R, Boege F, Mielke C. (2004) *J Biol Chem.* 279, 21873-21882
5. Residues 190-210 of Human Topoisomerase I are Required for Enzyme Activity *in vivo* but not *in vitro.* Christensen MO, Barthelmes HU, Boege F, Mielke C. (2003) *Nucl. Acid. Res* 31, 7255-7263.
6. The N-terminal Domain Anchors Human Topoisomerase I at Fibrillar Centers of Nucleoli and Nucleolar Organizer Regions of Mitotic Chromosomes.. Christensen MO, Barthelmes HU, Boege F, Mielke C. (2002) *J Biol Chem.* 277, 35932-8. IF 7
7. Changes in Mobility Account for Camptothecin Induced Subnuclear Relocation of Topoisomerase I. Morten O. Christensen, Hans U. Barthelmes, Silke Feineis, Birgitta R. Knudsen, Anni H. Andersen, Fritz Boege, & Christian Mielke. (2002) *J. Biol. Chem.* 27715661-5.
8. Dynamics of Human DNA Topoisomerases IIα and IIβ in Living Cells.. Morten O. Christensen, Morten K. Larsen, Hans Ullrich Barthelmes, Robert Hock, Claus L. Andersen, Eigil Kjeldsen, Birgitta R. Knudsen, Ole Westergaard, Fritz Boege, & Christian Mielke. (2002) *J. Cell Biol.* 1567, 31-44
9. Lycobetaine acts as a selective topoisomerase IIβ poison and inhibits the growth of human tumor cells. Hans-Ullrich Barthemes, Ellen Niederberger, Thomas Roth, Kerstin Schulte, Wei Ci Tang, Fritz Boege, Heinz-H. Fiebig, Gerhard Eisenbrand & Doris Marko (2002) *Brit. J. Cancer* **85**, 1585-1591

AG Ernst

Morphogenese und Wirtszell-Interaktion von Candida albicans

Joachim Ernst, Institut für Mikrobiologie

Candida albicans ist der bedeutendste Erreger von Pilzkrankheiten des Menschen. Die Fähigkeit des Pilzes, einzellig als Hefe oder filamentös in Hyphenform zu wachsen, ist als wichtige Virulenzeigenschaft erkannt worden. Die Hyphenform, die im Mensch induziert wird, ist für die Adhärenz an Epithelschichten und deren Penetration von besonderer Bedeutung. Im Rahmen des Projekts werden Signalketten, die im Kontakt mit Wirtszellen ausgelöst werden und zur Hyphenmorphogenese bzw. zu spontanen Veränderungen der Zelloberfläche („phenotypic switching“) führen, analysiert werden. Hierbei wird die Bedeutung möglicher Signalkomponenten durch Transkriptomanalysen und gezielte Gendisruptionen und untersucht. Im Vordergrund der Untersuchungen stehen pilzspezifische bHLH-Transkriptionsfaktoren (Efg1p und Efh1p), die als zentrale Schalter die Zelldifferenzierung, wie die Hyphenmorphogenese, das "phenotypic switching" und die Chlamydosporenbildung von C. albicans regulieren. In diesem Zusammenhang interessieren wir uns aktuell für den erheblichen Einfluss von Sauerstoff-Limitierung (Hypoxie), welche in tiefen Gewebeschichten und in infizierten Zellen auftritt, auf die Signaltransduktion und die Virulenz des Pilzes. In einem zweiten Projekt wird die O-Glykosylierung von Oberflächenproteinen, welche unter anderem als Sensoren für die Morphogenese, die Adhärenz an Wirtszellen und die Resistenz gegenüber Antimykotika verantwortlich sind, bearbeitet. Hierbei wird insbesondere Struktur und Funktion der Protein-O-Mannosyltransferase-Familie (5 Isoformen) untersucht.

Innerhalb des BMFZ sind wir besonders an Zusammenarbeiten interessiert, durch die die gegenseitige Beeinflussung von Pilz- und menschlichen Zellen genauer charakterisiert werden kann. Hierbei könnten Interaktionen von Oberflächenstrukturen, sowie der molekulare Ablauf von Signalketten beider Zelltypen bearbeitet werden.

AG Groth

Struktur und molekularer Mechanismus der Ethylenrezeptorfamilie aus *Arabidopsis thaliana*

Georg Groth, Biochemie der Pflanzen

Ethylen ist ein wichtiges Phytohormon, das zahlreiche pflanzliche Wachstums- und Entwicklungsprozesse, wie z.B. Zellstreckung, Blütenentwicklung, Blattfall, Frucht- und Samenreifung, kontrolliert. Darüber hinaus spielt Ethylen auch bei der Vermittlung verschiedenster biotischer und abiotischer Stresssignale, wie z.B. bei der Pathogenabwehr, bei Trockenheit, Hitze oder Kälte eine wichtige Rolle. Die an der Ethylensignaltransduktion beteiligten Komponenten konnten in molekulargenetischen Studien in verschiedenen Arbeitsgruppen identifiziert werden. Genaue Kenntnisse über den molekularen Mechanismus der Signalwahrnehmung und -weitergabe liegen jedoch noch nicht vor.

Der Schwerpunkt unserer Arbeiten liegt in der proteinbiochemischen und strukturellen Charakterisierung der am Ethylensignalstoffwechsel beteiligten membranintegralen Rezeptorproteine. Mit ETR1 haben wir den Prototyp der Ethylenrezeptorfamilie in einem bakteriellen System exprimieren und mit Hilfe von Metallchelat- oder hydrophober Interaktionschromatographie reinigen können. Die Sequenzhomologie von ETR1 und anderen Homologen der Ethylenrezeptorfamilie zu bakteriellen und eukaryontischen Zweikomponentensystemen legt eine Signalübertragung über His-Asp Phosphotransferreaktionen nahe. Studien im Hefe-Zweihybridsystem deuten dagegen auf eine Signalweitergabe über eine typische MAP-Kinase

Kaskade hin.

Der rekombinante Rezeptor wurde von uns in verschiedenen biochemischen und spektroskopischen Studien charakterisiert. In diesen Experimenten konnten wir erstmals einen funktionellen Zusammenhang zwischen der membranintegralen Sensordomäne und der außerhalb der Membran lokalisierten Kinasedomäne des ETR1-Rezeptorproteins nachweisen und belegen, dass die Bindung von Ethylen bzw. des Ethylenagonisten Cyanid die Phosphorylierung der Kinasedomäne kontrolliert.

AG H. Haas

Neues vom Schlafen und Wachen

Haas HL., Selbach O., Sergeeva OA, Institut für Neurophysiologie

Licht synchronisiert unsere biologische Uhr und erzeugt damit Signale für Tages- und Jahresrhythmen im ganzen Organismus insbesondere auch für Schlafen und Wachen. Dieser circadiane Faktor wird durch homöostatische Schlafdruckfaktoren ergänzt. Die ausführenden Organe für das Programm der Schlaf-Wach-Regulation sind die aminergen Systeme: cholinerge, serotonerge, catecholaminerge und histaminerge Kerne, die den Vigilanz- und Aufmerksamkeitsspiegel der Hirnrinde einstellen. Ferner sind gabaerge und peptiderge Neurone involviert. Das führende Wachsystem ist der tuberomamilläre histaminerge Kern im hinteren Hypothalamus, eng assoziiert mit der Orexin (Hypocretin) enthaltenden Zellgruppe in der benachbarten perifornikalen Area. Alle diese Instrumente spielen in einem Orchester, das sich zu einem gewissen Grade selbst organisiert aber auch Dirigenten, dem Orexin-Kern und den Schlaf-aktiven gabaergen Neuronen der ventrolateralen präoptischen Gegend (VLPO) folgt. Die Hypocretin-Neurone integrieren circadiane, metabolische und nahrungsbezogene Signale und kontrollieren die Übergänge zwischen Schlaf und Wachen. Ein Verlust dieser Neurone (wohl meist als Folge einer Autoimmunattacke) erzeugt eine schwere Störung der Schlafarchitektur, die Narkolepsie mit unpassenden Übergängen zu einem REM-Schlaf ähnlichen Zustand mit Verlust des Muskeltonus, nicht des Bewusstseins (Kataplexie). Wir haben die Interaktionsmechanismen der Mitspieler und ihrer Transmitter auf zellulärer und molekularer Ebene analysiert und versuchen, das Verhalten als Resultat dieser Interaktionen zu verstehen.

AG R. Haas

Molekulare Wirk- und Resistenzmechanismen bei der Behandlung der chronischen myeloischen Leukämie mit dem selektiven Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib

Rainer Haas, Klinik für Hämatologie und Onkologie

Mehr als 80% der Patienten mit neu diagnostizierter chronischer myeloischer Leukämie (CML) können durch eine Therapie mit Imatinib eine komplette hämatologische und zytogenetische Remission und 57% der Patienten sogar ein „major molecular response“, d.h. eine Reduktion der bcr-abl Transkripte um mehr als 3 Log-Stufen erreichen. Obgleich diese Remissionen in den meisten Fällen anhalten, tritt bei 16% der Patienten mit initialem Ansprechen auf die Therapie mit dem selektiven Tyrosinkinaseinhibitor eine Resistenz auf. Im Rahmen unserer Forschungsarbeiten sollen transkriptionelle Veränderungen untersucht werden, die während der ersten Therapiewoche mit Imatinib in CD34 positiven hämatopoetischen Stamm- und Pro-

genitorzellen von Patienten mit CML induziert werden. Ziel ist hierbei, die Aufklärung der molekularen Wirkungsweise des Tyrosinkinase-Inhibitors in Philadelphia-Chromosom-positiven Stamm– und Vorläufer-zellen. Die durch Imatinib-induzierten Genexpressionsmuster innerhalb der ersten Therapiewoche werden dann mit dem Therapieansprechen (Erreichen einer „major molecular response“) bzw. mit der Resistenzentwicklung korreliert. Das Ziel ist die Identifikation von Genen und Signalwegen, die einerseits prädiktiv für ein schlechtes Ansprechen oder für die Entwicklung einer Resistenz sind und andererseits mögliche Ziele für eine Kombinationstherapie mit anderen zielgerichteten Medikamenten darstellen.

Ein weiteres Ziel des Projekts ist es, transkriptionelle Veränderungen in CD34 positiven hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen zu identifizieren, die bereits resistent gegen Imatinib sind. Hierzu werden die Genexpressionsprofile von CD34 positiven Zellen von Patienten, die eine Resistenz gegen Imatinib aufweisen, mit denen von bisher nicht behandelten Patienten verglichen. Dadurch können mögliche molekulare Ziele für die Therapie von Patienten mit Imatinib-resistenter CML identifiziert werden.

AG Hengel

Anti-Immunology: evasion of adaptive and innate immune responses by cytomegalovirus

Albert Zimmermann and Hartmut Hengel, Institute for Virology, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Germany

Cytomegaloviruses (CMVs) are widely distributed among mammals in nature. Over millions of years of co-evolution and co-speciation CMVs had to adapt to the host’s immune system. Despite the fact that CMV genome replication is very slow and produces more than 200 antigenic proteins evoking vigorous immune responses the virus persists for lifetime and establishes frequent phases of productive infection, shedding and virus transmission. To generate a “window of opportunity” allowing replication in the presence of immune responses CMV genomes are equipped with a multitude of genes that prevent immune recognition and destruction of infected cells and virus particles. To elucidate mechanisms required for sustaining virus infection *in vivo* we have implemented genetic and functional screens to identify those genes that disrupt immune surveillance and signalling pathways. Targeted deletion of immune-evasive genes of mouse CMV allows to assess how and to what extent individual genes impact virus replication in the infected host. My presentation will focus on newly identified evasive mechanisms targeting NKG2D receptor-mediated natural killer (NK) cell responses, antiviral IgG effector functions and interferon-α/β and –γ receptor signalling cascades.

AG Huston

Die neurochemischen und Verhaltenseffekte von Kokain in der Ratte

Christian P. Müller, Angelica De Souza Silva; Joseph P. Huston

Kokain ist ein Psychostimulans mit hohem Suchtpotential und zerstörerischen Folgen bei Langzeitkonsum. Akut verabreicht führt Kokain akut zu Hyperaktivität und Euphorie beim Menschen, langfristig zu Kokain-Such- und Selbstverabreichungsverhalten. Durch Lernprozesse vermittelt können auch konditionierte sensorische Stimuli Kokain-Suche und Einnahme triggern. Bisher existiert noch keine wirksame Pharmakotherapie gegen Kokain-Abhängigkeit beim Menschen, bedingt durch eine bisher nur unzureichende Kenntnis der Wirkungsmechanismen im Gehirn. Tierexperimentelle Forschung an Rodentia bietet die Möglichkeit, neurochemische Wirkungsmechanismen zu identifizieren, sie in Bezug zu den akuten und Langzeitverhaltenseffekten zu setzen und mögliche pharmakotherapeutische Interventionen zu evaluieren. Mittels in-vivo Mikrodialyse und HPLC-EC kann am frei beweglichen Tier, der zeitliche Verlauf der extrazellulären Aktivität der Neurotransmitter Serotonin (5-HT) und Dopamin (DA) parallel zur Messung der Verhaltensaktivität bestimmt werden. Bisherige Forschungen haben primär einen Anstieg der extrazellulären DA Aktivität im Ncl. accumbens und im präfrontalen Kortex für die Verhaltenseffekte von Kokain verantwortlich gemacht, eine Sichtweise die sich aber als zu starke Vereinfachung erwiesen hat. Um zu Untersuchen, wie insbesondere neutrale sensorische Stimuli mit den Verhaltenseffekten von Kokain assoziiert werden, haben wir die Effekte visueller und auditorischer Stimulation mit denen von Kokain auf die 5-HT und DA Aktivität im sekundären visuellen und auditorischen Kortex an der frei beweglichen Ratte verglichen. Die Ergebnisse zeigten, dass visuelle und auditorische Stimuli in Abhängigkeit von der Sinnesmodalität die 5-HT-, aber nicht die DA-Aktivität in beiden Arealen spezifisch beeinflussen. Kokain ahmt dosisabhängig im occipitalen Kortex die Effekte eines visuellen Stimulus auf die 5-HT Aktivität und auf das Verhalten in potenzierter und verlängerter Form nach, erhöht aber auch noch die DA-Aktivität. Die akute Potenzierung der 5-HT Aktivität im occipitalen Kortex könnte somit ein Mechanismus für die Assoziation neutraler visueller Stimuli mit den akuten Verhaltenseffekten von Kokain sein.

AG Jander

Neuroinflammation und zerebrale Ischämie

Sebastian Jander, Neurologische Klinik

Inflammatorische Prozesse scheinen beim Hirninfarkt sowohl neurotoxische als auch protektive und reparaturförderliche Effekte zu vermitteln. Unsere Arbeitsgruppe untersucht die Rolle von Entzündung in verschiedenen Modellen permanenter und transienter fokaler Ischämie bei Ratten und Mäusen. Zusätzlich wird die kortikale Spreading depression als ein beim Schlaganfall und bei der Migräne wichtiger Pathomechanismus untersucht. Die experimentellen Befunde werden am Patienten mittels neuer bildgebender Techniken, insbesondere durch den Einsatz zellspezifischer Kontrastmittel, nachvollzogen. Wir konnten die sequentielle Aktivierung residenter Mikroglia und infiltrierender Entzündungszellen nachweisen, die mit spezifischen Programmen inflammatorischer Genexpression assoziiert sind. Hierbei reagiert nicht nur der ischämische Kortex, sondern auch läsionsferne kortikale und subkortikale Areale. Die sekundäre Degeneration des ipsilateralen Thalamus ist nach kortikaler Ischämie im Tiermodell wir auch am Patienten regelhaft zu beobachten und trägt zum funktionellen Defizit nach Schlaganfall bei. Wir konnten zeigen, dass das von Makrophagen/Mikroglia gebildete Glykoprotein Osteopontin (OPN) wichtige neuroprotektive Effekte im ipsilateralen Thalamus vermittelt, die über die Hemmung der residenten Mirkoglia und der Expression der induzierbaren NO-Synthase (iNOS) vermittelt werden könnte. Laufende Untersuchungen ha-

ben die Aufklärung des molekularen Mechanismus OPN-vermittelter Neuroprotektion zum Gegenstand.

AG Knust

Untersuchungen zu molekularen und genetischen Ursachen Licht-abhängiger retinaler Degeneration bei *Drosophila melanogaster*

Elisabeth Knust, Institut für Genetik, E-mail: knust@uni-duesseldorf.de

Hereditäre retinale Dystrophien stellen die häufigste Form menschlicher visueller Behinderung mit einer Häufigkeit von ~1 in 3.500 dar. Zwei der schwersten Formen retinaler Degeneration, die autosomal rezessiven Dystrophien Retinitis pigmentosa 12 (RP12) und Leber congenital amaurosis (LCA), sind mit Mutationen in *CRB1* assoziiert. *CRB1* kodiert ein großes Transmembranprotein mit 19 EGF-ähnlichen Einheiten in der extrazellulären Domäne und einer kleinen, aus nur 37 Aminosäuren bestehenden cytoplasmatischen Domäne und wird in der Retina und im Gehirn exprimiert. Wir konnten zeigen, dass Mutationen im *Drosophila* Homolog *crumbs* (*crb*) zu Licht-abhängiger retinaler Degeneration führen. Ähnliche Phänotypen werden in Mutation in Stardust und DPATJ, zwei Komponenten des Crumbs-Komplexes, die mit der cytoplasmatischen Domäne von Crumbs assoziiert sind, beobachtet. Die strukturelle und funktionelle Konservierung von *crb/CRB1* macht das *Drosophila* Auge zu einem idealen System zur Aufklärung der genetischen und molekularen Grundlagen RP12- und LCA-abhängiger retinaler Degeneration.

AG Korth

Tricyclische Antidepressiva, Quinacrin und synthetische Chimären daraus beseitigen Prionen unter Beteiligung der Lysosomen

Ralf Klingenstein, Stefan Löber, Pekka Kujala, Peter Gmeiner, Peter J. Peters und Carsten Korth

Prionenerkrankungen sind tödliche, neurodegenerative Erkrankungen, die durch ein einzigartiges Pathogen (PrP^{Sc}) hervorgerufen werden. Dabei handelt es sich um eine fehlgefaltete Isoform des zellulären Prionproteins (PrP^{C}), die sich durch Umfaltung von PrP^{C} repliziert und in unverdaulichen Aggregaten abgelagert wird. Prionenerkrankungen können als spontane, erbliche oder infektiöse Krankheiten auftreten. Bis heute existiert, wie für alle neurodegenerativen Erkrankungen, keine kausale Therapiemöglichkeit.

Wir konnten anhand eines Zellkulturmodells für Prionen zeigen, dass etliche Antiprionwirkstoffe ihre Wirksamkeit entfalten indem sie zu einer intralysosomalen Cholesterolspeicherung führen. Diese verursacht nachfolgend eine Störung von Regionen, die für die Prionkonversion essentiell sind. Diese Ergebnisse führten auch zur Entdeckung der tricyclischen Antidepressiva als neuer antiprionwirksamer Substanzklasse.

Die Kombination dieser Stoffe mit weiteren Antiprionsubstanzen eröffnet neue Möglichkeiten zur Behandlung dieser Krankheiten.

Des Weiteren konnten wir mit chimären Molekülen aus Acridinen und tricyclischen

Antidepressiva eine neue Substanzklasse entwickeln, die sich durch eine erhöhte Antiprionwirksamkeit auszeichnet.

AG Krutmann

UV-vermittelte Signaltransduktion in der Haut

Jean Krutmann, Susanne Grether-Beck, Institut für Umweltmedizinische Forschung

Zellbiologie: Ein Schwerpunkt der Arbeiten liegt bei der Analyse der photobiologischen und molekularen Grundlagen der Induktion von Genexpression durch ultraviolette Strahlung im langwelligen UVA-Bereich. An der Genaktivierung sind reaktive Sauerstoffspezies initial beteiligt. Hierdurch kommt es zur Freisetzung von sekundären Botenstoffen. Die aus einem wesentlichen Bestandteil der Zellmembran, dem Sphingomyelin, generierten Ceramide führen dann zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren und zur Induktion einer Vielzahl von Genen. Zurzeit stehen durch oxidativen Stress hervorgerufene Veränderungen der Membranlipide und -proteine und ihre Rolle beim Raft- Signaling in Vordergrund. Insbesondere wird die Rolle von MAP- Kinasen und Nicht- Rezeptortyrosinkinasen für die UVA- Antwort in den primären Zellen, am Hautmodell und in entsprechenden Knockout-Tieren untersucht. Darüber hinaus werden Wechselwirkungen zwischen der UVA- und UVB-Antwort im Hautmodell sowie die biologische Wirkung von Infrarotstrahlung unter besonderer Berücksichtigung degenerativer Prozesse sowie eines potenziellen Krebsrisikos untersucht.

Molekulare Alternsforschung: Die Forschungsarbeiten beschäftigen sich mit der Untersuchung der Mechanismen, durch die Umweltnoxen zu einem vorzeitigen Alterungsprozess führen. Von besonderem Interesse sind hierbei die Fähigkeit von Umweltnoxen, das sogenannte „mitochondriale Altern" in menschlichen Zellen auszulösen, die Fähigkeit von Infrarot-Strahlung, eine vorzeitige Alterung der menschlichen Haut zu bewirken sowie Einflüsse von Umweltnoxen auf die Proteinoxidation und Proteindegradationsprozesse. Diese Untersuchungen werden im wesentlichen an zwei Modellorganen durchgeführt: der Haut sowie dem Nervensystem. Zudem wird untersucht, ob bestimmte Altersgruppen sich durch eine spezifische Empfindlichkeit gegenüber Umweltnoxen auszeichnen. Hierbei werden erstmals Biomarker bestimmt, die eine Aussage darüber erlauben, ob Umweltnoxen bei bestimmten Altersgruppen zu degenerativen bzw. Alterungsprozessen in menschlichen Geweben führen.

AG Martin

Neues auf dem Gebiet der anaeroben Mitochondrien

The central working hypothesis behind our projects on the anaerobic mitochondria of Euglena gracilis (Martin) and on hydrogenosomes of Trichomonas vaginalis (Henze) is twofold: i) hydrogenosomes and mitochondria share a common ancestor, and ii) their acquisition was salient to the origin of eukaryotes. Mostly, but not exclusively, through work of other groups, the first premise now seems to have been borne out sufficiently that there is no viable alternative (reviewed in 1). That does not mean that we will stop working on this question, but the thrust will now be directed more to specific biochemical details than to the larger evolutionary question, which seems to have been resolved. The second premise has recently taken a somewhat unexpected turn in that it now seems likely that the origin of the nucleus itself can be readily understood has a byproduct of mitochondrial origin, rather than as a prerequisite thereof. This has to do with introns and spliceosomes (2) and the main difference between prokaryotes and eukaryotes (3), and that will be the topic of my talk.

1. Embley TM, Martin W (2006) Eukaryote evolution: changes and challenges. Nature, 440:623-630
2. Martin W, Koonin EV (2006) Introns and the origin of nucleus-cytosol compartmentation. Nature, 440:41-45
3. Martin W, Koonin EV (2006) A positive definition of prokaryotes. Nature, 442:*** in press

AG Nürnberg

a. Funktion Gi-abhängiger Signalwege im kardiovaskulären System

Bernd Nürnberg, Roland Piekorz, Institut für Biochemie und Molekularbiologie II

Die Pertussistoxin (PTX)-sensitiven G_i-Proteine G_{i2} und G_{i3} sind wichtige Komponenten der Signalkaskade kardiovaskulär wirksamer Zelloberflächenrezeptoren wie z.B. den cholinergen oder adrenergen Rezeptoren. Zellbiologische Studien lassen einen hohen Grad an Spezifität und Selektivität von G_i-Proteinen in ihrer Interaktion mit Rezeptoren und Effektoren vermuten. Im Tier führt ihre unselektive Inaktivierung durch PTX zu Fehlregulationen, während die konstitutive Deletion singulärer $G\alpha_i$-codierender Gene relativ milde Phänotypen zur Folge hat. Dies lässt auf redundante Rollen von G_i-Isoformen schließen. Unterstützt wird diese Annahme durch unsere Beobachtung, dass die gleichzeitige konstitutive Deletion der Gene für $G\alpha_{i2}$ und $G\alpha_{i3}$ eine frühe embryonale Letalität verursacht, während Mäuse mit einem Gnai2$^{-/-}$/Gnai3$^{+/-}$-Genotyp spät-embryonal/perinatal versterben. Um die Funktion und Isoform-Spezifität von G_i-Proteinen im Kardiovaskularsystem zu analysieren, verfolgen wir die folgenden Ziele: (1) Untersuchung der embryonalen oder perinatalen Letalität von Mäusen mit einem doppelt-defizienten Gnai2$^{-/-}$/Gnai3$^{-/-}$- bzw. einem Gnai2$^{-/-}$/Gnai3$^{+/-}$-Genotyp auf mögliche kardiovaskuläre Entwicklungs- und/oder Funktionsstörungen; (2) Analyse der kardiovaskulären Rolle von G_i-Proteinen in solchen Mausstämmen, in denen das Gnai3-Gen selektiv in Kardiomyozyten bzw. glatten Muskelzellen auf einem bereits vorhandenen Gnai2-defizienten genetischen Hintergrund postnatal deletiert wird und (3) Definition von Isoform-spezifischen Funktionen von G_i-Proteinen im Herz-Kreislaufsystem mit Hilfe dominant-negativer Gnai-Mutanten. In letzten Untersuchungen konnten wir zeigen, dass $G\alpha_{i2}$-defiziente, nicht aber Gai3$^{(-/-)}$-Mäuse eine stark erhöhte Anfälligkeit für das Auftreten zerebraler Ischämien nach Carotisligatur aufweisen. Ob dieser Isoform-spezifische Phänotyp durch einen veränderten vaskulären Tonus aufgrund einer gestörten Signaltransduktion vasoaktiver Rezeptoren bedingt ist, wird in aktuellen Un-

tersuchungen geprüft. Das Projekt soll zum Verständnis der Rolle von G_i-Proteinen im Kardiovaskularsystem beitragen.

b. Funktion, Regulation und biologische Rolle der Gi-vermittelten Autophagie

Bernd Nürnberg, Antje Gohla, Institut für Biochemie und Molekularbiologie II

Die zelluläre autophagische Proteolyse stellt einen ubiquitären und strikt regulierten selbstdegradierenden Prozess dar, der von fundamentaler Bedeutung für die Entwicklung und die Gewebshomöostase ist. Dysfunktionen der autophagischen Proteolyse sind mit verschiedenen Erkrankungen und mit Alterungsprozessen in Verbindung gebracht worden. Autophagie kann durch diverse Stressoren ausgelöst werden, wobei Teile des Zytoplasmas oder auch ganze Organelle in Autophagosomen sequestriert, und nach Fusion mit Lysosomen zu einzelnen Aminosäuren abgebaut werden. Während kürzlich eine Reihe von Autophagie-Genen identifiziert werden konnten, sind viele grundlegende Fragen zu den molekularen Mechanismen und einer möglichen kausalen (patho)physiologischen Bedeutung der Autophagie noch ungelöst. So ist beispielsweise die Herkunft der sequestrierenden Membran oder der Mechanismus der Vesikelbildung weitgehend unbekannt. Auch die Signaltransduktionswege, welche extra- oder intrazelluläre Stimuli an die molekulare Maschinerie der Autophagosomenbildung weiterleiten, sind unverstanden.

Frühere Untersuchungen in Kolonkarzinom-Zelllinien haben heterotrimere G-Proteine der Pertussistoxin (PTX)-sensitiven Gαi-Familie mit der autophagischen Sequestrierung in Zusammenhang gebracht. Die Gαi-Familie besteht aus den drei Hauptisoformen Gαi1, Gαi2 und Gαi3. Die Expression von Gαi1 ist weitgehend auf das neuronale System begrenzt, wohingegen nicht-neuronale Organe wie die Leber vorherrschend die Gαi2- und Gαi3-Isoformen exprimieren.

Um die Rolle individueller Gαi-Isoformen in der Regulation der autophagischen Proteolyse in situ zu untersuchen, haben wir pulse-chase Experimente an perfundierten Mäuselebern durchgeführt. Die Insulin- oder Phenylalanin-vermittelte Inhibition der Autophagie war PTX-sensitiv, was auf eine Beteiligung von Gi-Proteinen hindeutet. Interessanterweise war die Insulin- oder Phenylalanin-abhängige Inhibition der Autophagie in Lebern von Gαi3-defizienten, nicht aber von Gαi2-defizienten Mäusen signifikant reduziert, obwohl Gαi2 das quantitativ vorherrschende PTX-Substrat in hepatischem Gewebe darstellt. Mit Hilfe eines affinitätsgereinigten, Gαi3-spezifischen Antikörpers konnten wir in subzellulären Fraktionierungsstudien sowie mittels konfokaler Mikroskopie zeigen, dass Gαi3 in isolierten Maushepatozyten nach Induktion der Autophagie an die Membranen autophagischer Vesikel relokalisiert. Desweiteren waren isolierte Hepatozyten aus Gαi3-defizienten Mäusen durch eine relativ niedrige Anzahl autophagosomaler Vesikel gekennzeichnet. Diese Ergebnisse lassen auf eine wichtige Rolle von Gαi3 in der initialen Bildung von Autophagosomen schliessen.

Zusammengenommen zeigen unsere Befunde, dass die Insulin-vermittelte Regulation der autophagischen Proteolyse in der Leber Gαi3-abhängig ist. Ziel weiterführender Untersuchungen ist es nun, die Funktion und Regulation von autophagosomal lokalisiertem Gαi3 zu analysieren. Desweiteren soll die biologische Rolle der Gαi3-vermittelten Autophagie unter verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen an Gαi3-defizienten Mäusen näher charakterisiert werden.

AG Pfeffer

Role of the IFN-gamma inducible 65kDa murine guanylate-binding proteins (mGBPs) in pathogen defence

Carolin Konermann, Daniel Degrandi, Cornelia Beuter-Gunia, Sandra Beer & Klaus Pfeffer, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene

IFN-gamma induces a number of cellular programs functional in innate and adaptive resistance to infectious pathogens. Microarray expression studies of IFN-gamma stimulated ANA-1 macrophages displayed a new family of GTPases, the 47kDa and 65kDa GBPs, whose expression is highly upregulated in stimulated cells. Human orthologs of the mouse 65kDa GBPs could be identified, whereas no proteins of the 47kDa GTPases could be detected in humans. Several studies revealed a pathogen specific protective function of members of the 47kDa family in mice. However, the role of 65kDa mGBPs during infection remains ill-defined.

Via qRT-PCR and Western Blot analyses we confirmed the microarray data and analyzed the expression levels of the 65kDa GBPs mGBP-1, -2, -3 and -5 in murine macrophage cultures stimulated with several cytokines and TLR ligands. The mGBPs were strongly upregulated upon IFN-gamma stimulation. Induction of the GTPases was STAT1 dependent, shown by the absence of GBP expression in stimulated STAT1-/- fibroblasts.

Furthermore, in vivo upregulation of these GBPs was shown in several organs of mice infected with the intracellular pathogens Listeria monocytogenes or Toxoplasma gondii. The degree of GBP induction after *Listeria* or *Toxoplasma* infection was different for each GTPase, indicating a non-redundant, pathogen specific role of these proteins. Interestingly, infection of IFN-gamma stimulated murine fibroblasts with MCMV abrogated mGBP-2 protein level, probably via a virally caused reduction of STAT1 phosphorylation.

Fusion-proteins as well as intracellular staining of endogenous GTPases displayed localization in intracellular vesicle-like structures. After stimulation with IFN-gamma and infection of murine macrophages with *Toxoplasma gondii* mGBP-1 and -2 migrated to the parasitophorous vacuole (PV) whereas mGBP-5 was not recruited to the PV.

These results demonstrate that the mGBPs belong to a novel class of GTPases specifically induced by the immunomodulatory and pro-inflammatory cytokine IFN-gamma and therefore could be effectors of immunity in the defence against intracellular pathogens.

AG Reifenberger

Molekulare Pathogenese zentralnervöser Tumoren: Von den genetischen Grundlagen zu neuen Modellen

Guido Reifenberger, Institut für Neuropathologie

Der wissenschaftliche Schwerpunkt der Arbeitsgruppe liegt im Bereich der molekularen Charakterisierung zentralnervöser Tumoren bei Erwachsenen (Gliome, Meningeome) und Kindern (Gliome, Medulloblastom). Wesentliches Ziel unserer Forschungsarbeiten ist es dabei, durch die Aufdeckung grundlegender Pathomechanismen und die Entwicklung neuer Krankheitsmodelle neue Ansätze für eine bessere Diagnostik und Therapie von Hirntumoren zu erarbeiten. Im Rahmen des Vortrages wird unser Forschungsansatz exemplarisch am Beispiel unserer Arbeiten zum Medulloblastom vorgestellt werden. Das Medulloblastom ist der häufigste bösartigste Hirntumor des Kindesalters. Trotz aggressiver multimodaler Therapie, d.h. Operation, Bestrahlung und Polychemotherapie, versterben nach wie vor die Hälfte der betroffenen Kinder und die Überlebenden zeigen oftmals schwere Therapie-assoziierte Langzeitschäden. Es ist daher dringend notwendig, die molekularen Mechanismen, die zur Entste-

hung und zum Wachstum von Medulloblastomen führen, genauer zu verstehen, um neue, besser wirksame Therapieansätze entwickeln zu können.

Wir haben uns daher zunächst in Untersuchungen an humanen Tumorproben intensiv mit der Aufdeckung von molekulargenetischen Alterationen in Medulloblastomen beschäftigt. Mit Hilfe von Kandidatengenansätzen konnten wir u.a. nachweisen, dass verschiedene Gene des Sonic hedgehog (Shh) Signalweges, darunter am häufigsten die Gene PTCH und SMOH, in Medulloblastomen mutiert sind, was zu einer konstitutionellen Aktivierung dieser Signalkaskade mit Überexpression der Shh-Zielgene GLI1 und GLI2 führt (3-5). In nachfolgenden Arbeiten haben wir humane Medulloblastome systematisch mit Hilfe der Array-CGH-Methode analysiert, was eine genomweite Bestimmung von genetischen Imbalanzen in Tumoren erlaubt. Mit diesem Ansatz gelang es uns, eine Vielzahl von neuen genetischen Veränderungen in diesen Tumoren erstmals beschreiben, darunter mit PPM1D und RPS6KB1 zwei neue amplifizierte und überexprimierte Kandidatengene auf 17q, deren Genprodukte in p53- bzw. Akt-abhängige Signalwege eingebunden sind (1-2). Weiterhin fanden wir in einem Teil der Medulloblastome eine Amplifikation und Überexpression des Proto-Onkogens CDK6, das ein Zellzyklus-regulierendes Protein kodiert, welches für den Übergang von der G1- in die S-Phase bedeutsam ist. Weitergehende Expressionsanalysen an Medulloblastomen von mehr als 180 Patienten mit Hilfe von Tissue-Microarrays ergaben, dass die Überexpression von CDK6 einen neuen unabhängigen Prognosefaktor für Medulloblastompatienten darstellt (2).

Parallel zu den genannten Untersuchungen an humanem Tumorgewebe ist es uns gelungen, durch Verkreuzung von PTCH+/- Mäusen mit anderen Knock-out Mäusen ein neues Mausmodell des Medulloblastoms zu etablieren. Aus diesen murinen Medulloblastomen haben wir inzwischen mehrere permanente Medulloblastomzelllinien mit definierten Genotypen isoliert. Mit diesen Medulloblastommäusen und den daraus abgeleiteten Zelllinien stehen uns nun hervorragende in vivo und in vitro Modelle für weitergehende molekulare und funktionelle Analysen zur Pathogenese des Medulloblastoms sowie zur präklinischen Evaluation neuer, gezielter Therapieansätze zur Verfügung.

Zitierte Literatur:

1. Ehrbrecht A, et al. Comprehensive genomic analysis of desmoplastic medulloblastomas: identification of novel amplified genes and separate evaluation of the different histological components. J Pathol. 2006;208:554-63.
2. Mendrzyk F, et al. Genomic and protein expression profiling identifies CDK6 as novel independent prognostic marker in medulloblastoma. J Clin Oncol. 2005;23:8853-62.
3. Reifenberger J, et al. Missense mutations in SMOH in sporadic basal cell carcinomas of the skin and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. Cancer Res. 1998;58(9):1798-803.
4. Wolter M, et al. Mutations in the human homologue of the Drosophila segment polarity gene patched (PTCH) in sporadic basal cell carcinomas of the skin and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. Cancer Res. 1997;57:2581-5.
5. Wolter M, et al. Absence of detectable alterations in the putative tumor suppressor gene BTRC in cerebellar medulloblastomas and cutaneous basal cell carcinomas. Acta Neuropathol (Berl). 2003;106:287-90.

AG Riesner

Towards in vivo conditions in biophysical characterization of prions

Detlev Riesner, Institut für Physikalische Biologie

Structure and structural transitions of the prion protein PrP have been studied mostly with recombinant PrP. Those studies have yielded valuable information on basic features of the infection mechanism and pathogenesis and even on applied aspects like diagnosis, decontamination and therapeutic approaches. For studies closer to *in vivo* conditions, post-translationally modified PrP^{C} and its natural contact with raft-like lipid membranes were investigated. Conversion of PrP^{C} into PrP^{Sc} was studied by seeding the conversion with infectious prion particles, and testing for fibril formation and infectivity. New diagnostic approaches were followed by counting single prion particles, and for heat inactivation complexes of prions and fats and glycerol were studied as they are generated during rendering and oleochemical processes.

AG Rose

Intrazelluläre Ionensignale in zentralen Nerven- und Gliazellen

C. R. Rose, Institut für Neurobiologie

Unser Bild von der Funktionsweise und der Signalverarbeitung in Gehirnzellen hat sich grundlegend gewandelt. Insgesamt ergibt sich ein weitaus dynamischeres Bild der Kommunikation zwischen Gehirnzellen und der Informationsverarbeitung auf zellulärer Ebene als noch vor wenigen Jahren. Hochauflösende bildgebende Methoden haben gezeigt, dass neben der klassischen elektrischen Signalgebung auch eine chemische Signalgebung in Form intrazellulärer Ionenveränderungen existiert. Insbesondere Calciumsignale wirken mit elektrischen Signalen zusammen und steuern viele Formen der synaptischen Plastizität, die als zelluläre Grundlage für Lernen und Gedächtnis angesehen werden. An dieser neuen Art der chemischen Signalgebung und Informationsverarbeitung nehmen auch Gliazellen teil. Diese antworten auf die elektrische Aktivität von Nervenzellen mit verzögerten intrazellulären Calciumveränderungen, die wiederum die Ausschüttung neuroaktiver und vasoaktiver Substanzen bedingen.
Weitere Untersuchungen zeigen, dass die Aktivität von Gehirnzellen im intakten Gehirngewebe nicht nur mit intrazellulären Calcium- sondern auch mit intrazellulären Natriumveränderungen verbunden ist. Aufgrund der primären Abhängigkeit vieler Transportprozesse vom einwärtsgerichteten Natriumgradienten haben solche Natriumveränderungen zahlreiche physiologische Konsequenzen für die Funktion des Nervensystems, wie z. B. eine Veränderung der glialen Aufnahme von Glutamat.

Viele entscheidende Fragen, die das Auftreten, die Regulation oder die physiologische Rolle aktivitätsinduzierter Ionentransienten in Nerven- und Gliazellen betreffen, sind noch offen. Das Institut für Neurobiologie wird sich der Untersuchung dieser Fragen im Hippocampus und Zerebellum von Nagetieren widmen. Dabei wird uns der Einsatz moderner elektrophysiologischer und bildgebender Methoden (whole-cell patch-clamp in Verbindung mit Calcium- und Natrium-Imaging) helfen, einen wissenschaftlichen Beitrag zu deren Klärung zu leisten.

AG Rüther

Hedgehog-Signale und Embryonalentwicklung

Ulrich Rüther, Institut für Entwicklungs- und Molekularbiologie der Tiere

Hedgehog-Signale sind für die meisten Entwicklungsvorgänge von elementarer Bedeutung. Störungen führen zu drastischen Fehlentwicklungen wie z.B. bei der Etablierung der Links-Rechts-Asymmetrie oder von Organanlagen wie Lunge oder Darm. Hedgehog-Signale sind zusätzlich auch postnatal entscheidend für die Homöostase bestimmter Organe. Hier ist die Entstehung von Tumoren Ausdruck einer Fehlfunktion innerhalb der Signalkette. Grundsätzlich werden Hedgehog-Signale über Gli-Transkriptionsfaktoren realisiert, Gli1, Gli2 und Gli3. Wir haben uns seit Jahren insbesondere mit dem Gli3 Protein beschäftigt und versucht seine Funktion während der Embryonalentwicklung zu verstehen. Gli3 kommt in zwei Proteinformen vor, dem Gli3-190 und dem Gli3-83. Verschiedene genetische Analysen legen die Interpretation nahe, Gli3-190 als Aktivator und Gli3-83 als Repressor zu verstehen. Eine eindeutige Zuordnung der jeweiligen Funktion ist jedoch schwierig, da beide Formen parallel vorkommen. Uns ist es gelungen, eine Mauslinie herzustellen, die nur noch eine Gli3-Form exprimiert, die der Gli3-83 sehr ähnlich ist. Dadurch sind wir jetzt in der einzigartigen Situation Gli3- Funktionen neu zu beschreiben. Zusätzlich haben wir weitere Gli3-Mutanten erzeugt, die andere Proteinlängen exprimieren, so dass wir eine noch bessere Struktur-Funktions-Analyse durchführen können. In einem anderen Ansatz haben wir eine Komponente des Hedgehog-Signalweges entdeckt, die bis heute noch nicht beschrieben wurde. Hier handelt es sich um ein Cilien-asozziiertes Protein, dessen Anwesenheit existentiell für die Hedgehog-Signalübertragung und damit für die Embryonalentwicklung ist.

AG Schaal

Eine experimentell gestützte bioinformatische Analyse Krankheits-assoziierter 5' Spleißstellenmutationen

Heiner Schaal, Institut für Virologie

Um die intrinsische Stärke der 5'-Spleißstellen zuverlässig beschreiben zu können, haben wir einen experimentell basierten Algorithmus entwickelt, der die Komplementarität zwischen dem 5' Ende der U1 snRNA und der 5' Spleißstelle beschreibt. Mit Hilfe von diesem Algorithmus haben wir Exons mit schwachen 5' Spleißstellen von Krankheits-assoziierten Genen aufgespürt und die Erkennung dieser Exons in Minigenen untersucht.

Minigene stellen ein weit verbreitetes experimentelles System zur Analyse humaner Spleißstellenmutationen dar. Hierbei wird die Erkennung des Exons mit der zu analysierenden Spleißstellenmutation meist als mittleres Exon in einem Zwei-Intron-Konstrukt nach Transfektion humaner Zellen mit Hilfe der RT-PCR untersucht. Allerdings ist wenig darüber bekannt, inwieweit die flankierenden Sequenzen des meist zufällig ausgesuchte Minigens die Erkennung des zu untersuchenden Exons beeinflussen können. Insbesondere bei Exons mit intrinsisch schwachen 5'-Spleißstellen, wie dem hier vorgestellten ATM exon 54 und BRCA2 exon 23 können die flankierenden Sequenzen einen entscheidenden Beitrag zur Exonerkennung liefern.

Basierend auf den bioinformatischen und experimentellen Ergebnissen entwickeln wir einen Algorithmus, der humane 5'-Spleißstellen-Mutationen auf die Wahrscheinlichkeit analysiert, mit der sie zu aberrantem Spleißen führen.

AG Scharf

Einfluss thrombozytärer Rezeptorpolymorphismen auf die arterielle Thrombogenese

Rüdiger E. Scharf, Volker R. Stoldt, Marianna Gyenes und Rainer B. Zotz, Institut für Hämostaseologie und Transfusionsmedizin

Genetisch determinierte Varianten der thrombozytären Integrine αIIbβ3 und α2β1 können die Oberflächenexpression oder Ligandenbindungsfunktion dieser Rezeptoren in einer Weise modulieren, dass eine gesteigerte Thrombogenität mit erhöhter Adhäsion und Aggregation der Blutplättchen resultiert. In klinisch-molekularepidemiologischen Studien haben wir gezeigt, dass die HPA-1b-Variante (β3 T1565C) des Fibrinogenrezeptors αIIbβ3 und die α2 807TT-Variante des Kollagenrezeptors α2β1 mit prothrombotischen Zuständen assoziiert sind und Risikodeterminanten für akute Koronarsyndrome darstellen. So haben wir kürzlich belegt, dass Träger der Genotypen HPA-1b bzw. α2 807TT unter KHK-Patienten im Median 5.2 bzw. 6.3 Jahre jünger bei Manifestation ihres Myokardinfarkts sind als Individuen mit den „wildtype" Genotypen HPA-1a bzw. α2 807CT oder α2 807CC. Zur phänotypischen Charakterisierung der thrombozytären Rezeptorvarianten führen wir Experimente im antikoagulierten Vollblut unter flussdynamischen Bedingungen an einem Modellsystem durch, das arterielle Strömungsbedingungen simuliert und Untersuchungen zur scherkraftinduzierten Plättchenadhäsion und Thrombusbildung an reaktiven Oberflächen erlaubt. Hierzu wird eine mit thrombogenen Matrices beschichtete Strömungskammer eingebracht. Plättchenadhäsion und Thrombusbildung werden in Relation zu den kritischen Rezeptorpolymorphismen unter „real time"-Bedingungen mit Epifluoreszenz-Videomikroskopie aufgezeichnet. Mit dieser Technik haben wir demonstriert, dass HPA-1b/1b-Plättchen bei Scherraten von 500 und 1.500 sec^{-1} eine um 40% höhere Adhäsionsrate an immobilisiertes Fibrinogen als HPA-1a-positive Plättchen aufweisen ($p < 0.04$) und dass die Adhäsionsaktivität der α2 807TT-Variante des α2β1-Rezeptors an Kollagen im Mittel um 60% höher ist als beim hetero- oder homozygoten α2 807C-Genotyp ($p<0.05$). Zur Quantifizierung der Thrombusbildung in vitro setzen wir ein 4D-Imaging-Verfahren ein, das eine exakte volumetrische Bestimmung von Thromben im Flusskammer-System erlaubt. Hierzu dient ein „Voxel"-basiertes Analyseverfahren, mit dem 4-dimensionale Daten, also Zeitfolgen von Volumina, ausgewertet werden. Mit Hilfe dieses Verfahrens haben wir zeigen können, dass die Volumina der Einzelthromben bei HPA-1b-Plättchen signifikant größer sind als bei HPA-1a-Plättchen ($p<0.01$). Das prothrombotische Funktionsverhalten von HPA-1b haben wir auch nach rekombinanter Überexpression der αIIbβ3-Varianten in CHO-Zellen belegen können. Unter flussdynamischen Bedingungen ist die Adhäsionsrate von HPA-1b-CHO-Zellen an Fibrinogen doppelt so hoch wie die der HPA-1a-Isoform. Dieser Befund läßt sich auch durch „Displacement"-Experimente bestätigen: Transfektierte CHO-Zellen werden bei niedriger Scherrate (50-150 sec^{-1}) zunächst zur Adhäsion an immobilisiertes Fibrinogen gebracht und dann höheren Scherraten exponiert. Hierbei zeigt sich, dass HPA-1b-CHO-Zellen eine signifikant höhere Adhäsionsstabilität gegenüber Scherraten bis 500 sec-1 aufweisen als HPA-1a-Zellen ($p<0.001$). Zur weiteren Charakterisierung der Genotyp-Phänotyp-Beziehung befassen wir uns gegenwärtig damit, die biochemische Natur des Funktionsverhaltens der prothrombotischen Rezeptorvarianten tiefergehend zu analysieren. Hierzu untersuchen wir αIIbβ3-abhängige Tyrosinkinasen (Src, Syk, Csk), die konstitutiv mit dem Integrin assoziiert sind. Unser Interesse gilt außerdem Signalmodulen, die an Talin gekoppelt sind. Dieses aktinbindende Protein nimmt als strukturelles und funktionelles Bindeglied zwischen Integrinen und Zytoskelett eine Schlüsselrolle für die Signal- und Mechanotransduktion ein. Zur weiteren Untersuchung verfolgen wir zwei Strategien: (1) Konstruktion und stabile Expression photoaktivierbarer Fluoreszenzproteine, fusioniert mit der α- und β-Untereinheit beider HPA-1-Varianten, in CHO-Zellen und (2) Generierung eines Talin-Knockdown-Modells. Aus nachfolgenden Experimenten zur Lateralmobilität des Integrins in der Zellmembran mittels Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer und dem Vergleich des Talin-Knockdown-Modells mit Kontroll-Transfektanten erwarten wir grundlegende Aufschlüsse zur Mechanotransduktion und ihrer Modulation in Relation zu den Integrin-Rezeptorvarianten.

AG Schliess

Cell hydration and mTOR-dependent signaling

[1]Freimut Schliess, [1]Lisa Richter, [2]Stephan vom Dahl, [1]Boris Görg and [1]Dieter Häussinger
[1]*Clinic for Gastroenterology, Hepatology, and Infectiology, Heinrich-Heine-University, Düsseldorf, Germany,* [2]*San Francisco Hospital, Cologne, Germany*

Changes in cell hydration are registered by osmosensing structures, which trigger signals involved in the control of metabolism and gene expression. Hepatocellular swelling stimulates anabolic pathways and proliferation and protects the liver from different kinds of stress, whereas hepatocellular shrinkage triggers catabolism and insulin resistance, and sensitizes hepatocytes to apoptotic stimuli (1-4). Signaling by the mammalian target of rapamycin (mTOR) is activated via Ptdins-3-kinase-dependend and independent pathways. Downstream targets of mTOR include the p70 ribosomal S6 protein kinase (P70S6-kinase) and the eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 4E-BP1, which are involved in transcriptional and translational regulation of gene expression (5).

Hepatocyte swelling in response to hypoosmolarity or insulin is sensed by the integrins, leading to a Src- and $p38^{MAPK}$-dependend inhibition of autophagic proteolysis. Rapamycin, a specific inhibitor of mTOR signaling, in perfused rat liver potently prevented hyper-phosphorylation of P70S6-kinase and 4E-BP1 by leucine. However, rapamycin was without effect on proteolysis inhibition by hypoosmolarity, insulin, and leucine, respectively, indicating that mTOR is not involved (6-8).

The insulin-induced expression of the MAP-kinase phosphatase (MKP)-1 in H4IIE rat hepatoma cells is antagonized by hyperosmolarity and rapamycin at the level of MKP-1 protein synthesis. Hyperosmolarity interfers with insulin-induced hyperphosphorylation of P70S6-kinase and 4E-BP1, suggesting that a hyperosmotic impairment of mTOR signaling accounts for reduced MKP-1 translation (9;10). This may impede the termination of MAP-kinase signals under hyperosmotic conditions and thereby further promote insulin resistance.

Hyperosmolarity in H4IIE cells induces dephosphorylation of 4E-BP1 already in absence of insulin. This effect was insensitive to phosphatase inhibitors and a panel of antioxidants. Only epigallocatechin gallate (EGCG), a constituent of green tea, red wine and chocolate potently prevented the hyperosmotic dephosphorylation of 4E-BP1, which, however, was not related to its antioxidative properties.

In view of recent *in vivo* studies (11) it seems well conceivable that EGCG improves insulin sensitivity under dehydrating conditions by the maintenance of mTOR-dependent signaling.

1. Häussinger, D. and Lang, F. (1992) *Trends. Pharmacol. Sci.* **13,** 371-373
2. Häussinger, D. and Schliess, F. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **255,** 551-555
3. Schliess, F. and Häussinger, D. (2003) *Int. Rev. Cytol.* **225,** 187-228
4. Schliess, F. and Häussinger, D. (2005) *Signal Transduction* **6,** 297-302
5. Harris, T. E. and Lawrence, J.-C. J. (2003) *Sci. STKE.* **2003,** re15
6. vom Dahl, S., Schliess, F., Reissmann, R., Görg, B., Weiergräber, O., Kocalkova, M., Dombrowski, F., and Häussinger, D. (2003) *J. Biol. Chem.* **278,** 27088-27095
7. Schliess, F., Reissmann, R., Reinehr, R., vom Dahl, S., and Häussinger, D. (2004) *J. Biol. Chem.* **279,** 21294-21301
8. Schliess, F., Richter, L., vom Dahl, S., and Häussinger, D. (2006) *Acta Physiol.* **187,** 123-129
9. Lornejad-Schäfer, M. R., Schäfer, C., Graf, D., Häussinger, D., and Schliess, F. (2003) *Biochem. J.* **371,** 609-619
10. Lornejad-Schäfer, M. R., Schäfer, C., Richter, L., Grune, T., Häussinger, D., and Schliess, F. (2005) *Cell. Physiol. Biochem.* **16,** 193-206
11. Grassi, D., Lippi, C., Necozione, S., Desideri, G., and Ferri, C. (2005) *Am. J. Clin. Nutr.* **81,** 611-614

AG Schmitt

ABC-transporters: From ions to large proteins.

Lutz Schmitt, Institute of Biochemistry, Membrane transport group,
Phone: 0211-81-10773, Fax: 0211-81-15310, Email: lutz.schmitt@uni-duesseldorf.de

Every cell has to communicate with the environment to survive and membrane proteins have evolved to fulfill this task. Due to their function, membrane proteins are sub-divided into receptors, channels and transporters. Transporters are furthermore classified as primary or secondary transporters or group translocators, based on the source of energy, which trigger substrate transport across biological membranes.

ABC-transporters are ubiquitous ATP-dependent channels, receptors and transporters that translocate a large variety of different substrates across biological membranes. The definition of ABC-transporters is based solely on certain diagnostic sequence motifs, the Walker A and B motifs, the C-loop or ABC-signature motif and the D-loop. Due to this rather promiscuous definition, it is not very surprising that the substrate spectrum of ABC-transporters ranges from small inorganic ions such as chloride to large proteins with a molecular weight of 900 kDa, which are transported across a membrane at the dispense of ATP-hydrolysis. Despite this enormous range of substrates, all ABC-transporters possess a common blue print; a functional transporter is composed of two nucleotide-binding domains (NBDs) and two transmembrane domains (TMDs), which can be arranged in all possible fashions. In humans, the best-known ABC-transporters are CFTR and MDR1. Mutations in CFTR are the results of the most common genetic disease among Caucasian, cystic fibrosis. Overexpression of MDR1 in cancer cells results in the known phenomena of drug resistance of tumor cells upon chemotherapie.

To understand the molecular mechanisms of substrate translocation across biological membranes governed by ABC-transporters, we have selected certain model systems: OpuA from *B. subtilis*, composed of four separate subunits (2 TMDs and 2 NBDs), provides osmoprotection; LmrA from *L. lactis*, the bacterial homologue of human MDR1 guarantees drug resistance; HlyB from *E. coli* is a central element of a Type I secretion system, NisT from *L. lactis* is involved in the secretion of the peptide-antibiotic nisin A and Pdr5p from *S. cerevisiae* is supposed to actively maintain lipid asymmetry of the yeast plasma membrane. All theses membrane proteins have been overexpressed and purified to homogeneity for functional, mechanistically and structural studies.

Here, we will summarize our recent efforts to understand these systems on a molecular level by biochemical, biophysical and structural approaches, which have already provided valuable insights into the function and structures of ABC-transporters and their domains

AG Schrader

Funktionelle Konsequenzen einer kardialen Überexpression der induzierbaren NO Synthase

Molojavyi, C. Jacoby, J. Heger, J. Schrader und A. Gödecke, Institut für Herz- und Kreislaufphysiologie

Stickstoffmonoxid wird im Herzen von Endothelzellen und Kardiomyozyten gebildet. Unter basalen Bedingungen tragen sowohl die endotheliale als auch die neuronale NO Synthase zur kardialen NO–Bildung bei. Unter pathologischen Bedingungen wird im Herzen die induzierbare NO Synthase heraufreguliert, die -einmal gebildet- große Mengen von NO freisetzt. Da NO in hohen Konzentrationen Apoptose an Kardiomyozyten auslösen kann, wurde vermutet, dass die iNOS Induktion eine Herzinsuffizienz auslösen kann. Um diese Vermutung experimentell zu untersuchen, haben wir eine transgene Maus mit Kardiomyozyten-spezifischer Überexpression der iNOS (tg-iNOS) erzeugt und die Konsequenzen einer iNOS Überexpression für Belastbarkeit sowie Hypertrophie und Herzfunktion unter basalen Bedingungen und bei chronischer Druckbelastung (Transversale Aortenkonstriktion,TAC) untersucht. Transgene Mäuse mit massiver kardialer iNOS Überexpression (tg-iNOS) zeigten in vivo eine stark eingeschränkte inotrope und chronotrope Antwort auf Katecholamin-Stimulation. In Übereinstimmung mit diesen Befunden zeigten tg-iNOS Tiere eine geringere Leistungsfähigkeit als WT Mäuse (Laufband, 20 m/min, Ermüdung nach 5±4 min vs. WT: 49±18 min). TAC (Druckgradient zwischen rechter und linker A.carotis 57±15 mmHg) führte in WT und tg-iNOS Mäusen zu einer vergleichbaren Hypertrophie (Herzgewichtsindex WT: 5.7±0.6, tg-iNOS 5.6±0.9 mg/g). Magnet-Resonanz-Imaging (MRI) und Echokardiographie zeigte, dass die TAC-induzierte Hypertrophie mit einer Dilatation des linken Vorhofs und linken Ventrikels einherging, die in beiden Gruppen gleich ausgeprägt war. Erhebung funktioneller Parameter in vivo mittels 1.4 F Millar Druck-Volumen-Katheter ergab, dass TAC in tg-iNOS Mäusen im Vergleich zu WT Tieren eine signifikant stärkere Einschränkung von dP/dtmax, dP/dtmin, HZV und Schlagarbeit induzierte. Die Zunahme des entwickelten Drucks (LVDP, enddiastolischen Druck (LVEDP) und der Relaxationskonstante tau war bei WT und tg-iNOS Mäusen nicht unterschiedlich.

Diese Daten zeigen, dass eine kardiale iNOS Überexpression in vivo allein nicht zur Entwicklung einer Herzinsuffizienz führt. Infolge eines ausgeprägten anti-adrenergen Effekts von NO kommt es allerdings bei einem gesteigerten Katecholamineinfluss zu einer funktionellen Einschränkung, die zur Entwicklung einer Herzinsuffizienz beitragen könnte.

AG Schrör

Protein Identifikation aus Multiplen Tandem Massemspektrometrie Datensätzen

Tilo Grosser[1,2], Karsten Schrör[1]
[1)] Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
[2)] Institute for Translational Medicine and Therapeutics, University of Pennsylvania, Philadelphia

Massenspektrometrische Identifizierung von Proteinen in komplexen Mischungen, die enzymatisch proteolysiert und mittels multidimensionaler Chromatographie aufgetrennt wurden ("Shotgun Proteomics"), beruht auf der statistischen Analyse mehrerer hundertausend Peptidspektra. Jedem Spektrum wird eine mögliche Peptidsequenz aus einer Sequenzdatenbank mittels gängiger Suchalgorithmen, wie Mascot, Sequest oder XTandem, zugeordnet. Die Schwierigkeit besteht in der Aggregation dieser Peptidsequenz-Identifizierungen zu Kandidaten-Proteinen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit tatsächlich in der Mischung exprimiert sind. Dabei müssen typischerweise mehrere technische Wiederholungsmessungen und/oder

biologisch unabhängige Experimente kombiniert werden, um die Sensitivität des Protein Nachweises zu maximieren.

Wir haben die erste, allgemein anwendbare statistische Methode zu Bestimmung der Expressionswahrscheinlichkeiten von Proteinen in komplexen Mischungen entwickelt, die Peptidsequenz Daten von mehreren Experimenten und/oder Suchalgorithmen integriert und die Sensitivität gegen die Rate fehlerhafter Proteinidentifizierungen abgleicht.

Zunächst wird für jede mögliche Peptidsequenz, die von einem Suchalgorithmus durch Abgleich von Spektrum und Datenbank gefunden worden ist, die Wahrscheinlichkeit berechnet, dass diese in der Tat korrekt identifiziert wurde. Diese Wahrscheinlichkeiten werden für jede Peptidsequenz über alle Experimente und Suchläufe hinweg kombiniert. Dazu wird eine Funktion verwendet, die die maximale Wahrscheinlichkeit für Konsensus-Identifizierungen berechnet, und gleichzeitig nicht übereinstimmende Identifizierungen penalisiert. Das geschieht unter der Annahme, dass sowohl korrekte wie auch inkorrekte Identifizierungen im "Raum" aller Peptidsequenzen zufällig auftreten - in Häufigkeiten, die durch die Parameter unseres statistischen Modells beschrieben werden können. Zu diesen Parametern gehören u.a. die Proteinlänge, die geschätzte Proteinmenge, die Größe der Sequenzdatenbank und die Anzahl der Peptididentifikationen im Datensatz. Für jedes Protein in der Datenbank wird die Likelihood Ratio für die Möglichkeit berechnet, dass alle identifizierten Peptidsequenzen, die zu diesem Protein passen, falsch sind. Diese Likelihood Ratios werden verwendet, um Expressionswahrscheinlichkeiten für jedes Protein zu berechnen, von denen wiederum aktualisierte Schätzungen der Modellparameterwerte abgeleitet werden. Der Vorgang wird in einem iterativen Prozess bis zur Konvergenz und Maximimierung der Likelihood Werte wiederholt. Biologische und technische Wiederholungsmessungen werden durch simultane Berechnung mehrerer Modellparametersätze integriert. Wir haben diese statistische Methode als ein analytisches Modul implementiert – Empirical Bayes Protein Identifier (EBP) - , dass in existierende Open-Source Proteomics Software (ISB Transproteomics Pipeline) integriert werden kann.

Die Methode wurde angewendet um eine Datenbank von 765 nicht-homologen Zebrafisch (Danio rerio) Proteinen anzulegen, die mit einer empirisch validierten Fehlerrate von unter 1% exprimiert sind. Die Datenbank wird als eine Resource zur Auswahl von Proteinen für gezielte massenspektrometrische Quantifizierung in genetischen und pharmakologischen "high-thruput Screenings" von Zebrafish Embryos verwendet.

AG Schulz

Veränderungen der DNA-Methylierung in urologischen Tumoren

Wolfgang A. Schulz, Andrea R. Linnemann-Florl, Forschungslabor der Urologischen Klinik, Geb. 23.12, Ebene 02, Nordflügel, wolfgang.schulz@uni-duesseldorf.de; florl@uni-duesseldorf.de

Wie bei den meisten anderen malignen Tumoren, finden sich im Harnblasenkarzinom und Prostatakarzinom zwei entgegengerichtete Veränderungen der DNA-Methylierung, nämlich eine Hypermethylierung an den CpG-Inseln bestimmter Gene sowie eine Hypomethylierung, die v.a. repetitive Sequenzen wie die LINE-1 Retrotransposone betreffen. Über diese prinzipielle Übereinstimmung hinaus haben unsere Analysen gezeigt, dass diese Veränderungen unterschiedlich verlaufen: Im Harnblasenkarzinom tritt die Hypomethylierung als früher Prozess auf, während die Hypermethylierung mit der Tumorprogression zunimmt. Im Prostatakarzinom findet man zu einem frühen Zeitpunkt der Tumorentstehung eine koordinierte Hypermethylierung bestimmter Gene; mit der Progression sind Hypermethylierung weiterer Gene und die Hypomethylierung assoziiert. Auf der Basis dieser Befunde werden DNA-Methy-

lierungstests zur Detektion und Klassifikation dieser Tumoren entwickelt (Förderung DFG).

In beiden Tumorarten besteht eine Assoziation zwischen Hypomethylierung und chromosomaler Instabilität. Den zu Grunde liegenden Mechanismus verfolgen wir im Harnblasenkarzinom am Beispiel von Deletionen auf Chromosom 9 (Förderung DFG). Im Prostatakarzinom haben wir eine Interaktion zwischen den - besonders in aggressiveren Tumoren häufigen - Veränderungen von Chromosom 8 und der LINE-1-Hypomethylierung genauer verfolgt (Förderung Deutsche Krebshilfe). Eine bioinformatische Interaktionsanalyse von Microarray-RNA-Expressionsdaten von Prostatakarzinomen, die beide, eine, oder keine dieser Veränderungen aufwiesen, ergab eine synergistische Wirkung auf mehrere definierte Funktionskreise. Die Ergebnisse deuten u.a. auf eine Suppression der initialen Immunantwort und auf bestimmte Strukturänderungen des Cytoskeletts und der extrazellulären Matrix in einer Untergruppe von Prostatakarzinomen hin.

AG Schulze-Osthoff

Identification of an unusual member of the inhibitor of NF-κB family

Gudrun Totzke, Reiner U. Jänicke, Frank Essmann, Stephan Pohlmann and Klaus Schulze-Osthoff,
Institut für Molekulare Medizin

Using a differential screening approach of apoptosis-sensitive and -resistant tumor cells, we have recently identified a novel member of the IκB family. The protein, called IκB-ζ, consists of six ankyrin repeats at its C-terminus sharing about 30% identity with other IκB members. IκB-ζ associates with both the p65 and p50 subunit of NF-κB and, interestingly, can inhibit but also activate transcription of certain target genes. IκB-ζ is localized in the nucleus where it aggregates in matrix-associated deacetylase bodies, indicating that IκB-ζ regulates nuclear NF-κB activity rather than its nuclear translocation from the cytoplasm. IκB-ζ expression itself was regulated by NF-κB, suggesting that its activity is controlled in a negative feedback loop. Unlike classical IκB proteins, IκB-ζ was not degraded upon cell stimulation. Treatment with TNF-α, IL-1β and LPS induced a strong induction of IκB-ζ transcripts. Expression of IκB-ζ was detected in different tissues including lung, liver and in leukocytes, but not in the brain. Suppression of endogenous IκB-ζ by RNA interference rendered cells more resistant to apoptosis, whereas overexpression of IκB-ζ was sufficient to induce cell death. Our results therefore suggest that IκB-ζ functions as an additional regulator of NF-κB activity and hence provides another control level for the activation of NF-κB-dependent target genes.

AG Sies

Singulettsauerstoff und Peroxynitrit: biologishe Schutzsysteme und Anwendung am Menschen

Helmut Sies, Institut für Biochemie und Molekularbiologie I

Unter den reaktiven Sauerstoffspezies von biologischer Bedeutung sind Singulettsauerstoff und Peroxynitrit neben Wasserstoffperoxid die wichtigsten nichtradikalischen Reaktanden. Biologische Quellen für den elektronisch angeregten molekularen Sauerstoff liegen in Reaktionen der Lichtanregung, aber auch in sog. Dunkelreaktionen, während für Peroxynitrit in erster Linie die sehr effiziente Reaktion von Superoxid und Stickoxid bei inflammatorischen Prozessen zu nennen ist. Die biologisch-medizinische Bedeutung liegt für Singulettsauerstoff in der Vermittlung von Ultraviolett-A (UVA)-Effekten sowie in der photodynamischen Therapie, während Peroxynitrit im Rahmen von Entzündungsreaktionen nach der Aktivierung von Makrophagen und anderen spezialisierten Zellen eine Rolle spielt. Beide Substanzen sind kurzlebig und bedürfen daher besonderer Methodik in der Untersuchung ihrer Eigenschaften

Ziel des Projektes ist die molekulare und ernährungsmedizinische Analyse der Rolle von Mikronährstoffen, insbesondere hinsichtlich kardiovaskulärer und dermatologischer Aspekte. Die Rolle von Flava-3-olen wird in den Vordergrund gestellt. (-)-Epicatechin schützt effektiv vor Proteinnitrierung durch Peroxynitrit. Die gefässerweiternde Funktion von (-)-Epicatechin wurde kürzlich nachgewiesen (1). Kakao, der einen hohen Gehalt von Flavan-3-olen besitzt, verbessert die endotheliale Funktion (Gefässerweiterung) und erhöht den Gehalt an proteingebundenem NO im Blutplasma, während Kakao mit niedrigem Flavan-3-ol-Gehalt dies nicht bewirkt. Auch die Mikrozirkulation der Haut und andere Hauteigenschaften werden verbessert, und eine photoprotektive Wirkung wurde nachgewiesen (2).

(1) Schroeter et al (2006) (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. Proc Natl Acad Sci (USA) 103, 1024-1029

(2) Heinrich et al (2006) Long-term ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in humans. J Nutr 136, 1565-1569

AG Willbold

Strukturbiologie und Ligandeninteraktion von Proteinen mittels NMR-Spektroskopie

Matthias Stoldt, Dieter Willbold

In der Abteilung "Molekulare Biophysik" (IBI-2/NMR, FZ-Jülich) werden 3D-Strukturen von Proteinen mittels NMR-Spektrsokopie bestimmt und besonders die Wechselwirkung von Proteinen mit kleinen und großen Liganden (z.B. andere Proteine) strukturell untersucht. Ein Protein, das gemeinsam mit dem IBI-1 strukturell untersucht wird, ist die cAMP-bindenden Domäne eines zyklischen-Nukleotid gesteuerten bakteriellen Ionenkanals. Ein weiteres, hochinteressantes Protein ist Nef aus dem humanen Immundefizienzvirus HIV-1. Nef ist ein so genanntes "akzessorisches" HIV-kodiertes Protein, das eine entscheidende Rolle für den Verlauf der klinischen Symptome einer HIV-Infektion spielt. Auch bei der Entstehung der bei einigen HIV-positiven Menschen beobachteten Demenz wird ihm eine wichtige Rolle zugeschrieben. Die Wechselwirkung von HIV-1 Nef mit seinen zellulären Zielproteinen ist gemeinsam ebenso ein Schwerpunkt in der Abteilung, wie das humane GABAA-Rezeptor-assoziierten Protein GABARAP. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Entwicklung einer hochspezifischen, Blut-Hirn-Schranken-gängigen Sonde für die "on line"-Messung der Amyloid-Plaque-Belastung im lebenden Gehirn durch bildgebende Verfahren gemeinsam mit dem INC und dem IME.

Die Abteilung hat Zugang zu drei Höchstfeld-NMR-Spektrometern für Untersuchung in flüssigen Medien (zweimal 600 und einmal 800 MHz). Dieses neue "Biomolekulare NMR-Zentrum" wurde am 17. Mai 2005 feierlich eingeweiht. Die Abteilung hat außerdem Zugang zu einem Festkörper-NMR-Gerät und ist somit in der Lage auch Proteine in biologischen Membranen zu untersuchen.

Zentrallaboratorien

AG Köhrer

Aufgaben und Leistungen des Molekularbiologischen Zentrallabors

Karl Köhrer, Molekularbiologisches Zentrallabor

Die Aufgabe und das Ziel der Zentrallaboratorien (ZL) sind es, die im BMFZ organisierten Arbeitsgruppen bei ihren bioanalytischen Fragestellungen zu unterstützen. Die Zentrallaboratorien sollen sowohl eigene Forschungsprojekte bearbeiten als auch neue moderne bioanalytische Verfahren etablieren, um als kompetenter Ansprechpartner mit interessierten Arbeitsgruppen an der Universität kooperieren zu können. Durch den Einsatz der im BMFZ verfügbaren Großgeräte und der in den ZL angesammelten methodischen Expertise, soll die Bearbeitung bioanalytischer Fragestellungen mit modernen Technologien ermöglicht und effizient gestaltet werden.

Der Schwerpunkt der Arbeiten im Molekularbiologischen Zentrallabor (MZL) liegt in der Nukleinsäureanalytik. In den letzten Jahren wurde dieser Bereich durch die Etablierung weiterer wichtiger Standard- und Spezialverfahren der Bioanalytik ausgebaut. So ist es heute möglich, mit Hilfe eines roboterunterstützten Systems (QIAGEN BioRobot® 3000) Nukleinsäuren im Mikrotiterplattenmaßstab (96 Proben) zu isolieren und aufzureinigen. Die anschließende Quantifizierung, bzw. Qualitätskontrolle erfolgt über ein Mikrotiterplattenphotometer (Molecular Devices SpectraMax 190). DNA-Sequenzierungsansätze werden ebenfalls im Mikrotiterplattenmaßstab durchgeführt, die bei Einzelproben zum Teil per Hand und bei Paralleluntersuchungen von einem Roboter (Beckman Biomek® 3000) pipettiert werden. Die Analyse der DNA-Sequenzreaktionen erfolgt auf einem ABI 3100 Genetic Analyzer (16 Kapillarsequenziergerät). DNA-Fragmentlängenanalysen, wie z.B. MLPA-Analysen (Multiplex ligation-dependent probe amplification) führen wir auf dem ABI 3130XL Genetic Analyzer (16 Kapillargerät) durch.

Der zweite Schwerpunkt unserer Arbeiten konzentriert sich auf den Bereich der Genexpressionsanalyse. Seit Juni 2001 betreiben wir ein DNA-Microarraylabor, in dem sämtliche Geräte zur Herstellung und Auswertung von Microarrays bereitstehen (GMS 417 und Genetix QArray2 Mikro-Array-Spotter, ASP Hybridisier- und Waschstation, Fuji FLA 8000 und GenePix 4000B Fluoreszenz-Reader, Microarray-spezifische Softwarepakete). Mit dem Nanodrop® ND-1000 Spektralphotometer und dem Agilent BioAnalyzer 2100 haben wir zwei weitere wichtige Geräte für hochsensitive RNA-Analysen integriert. Mit diesen beiden Geräten sind wir in der Lage, wenige Nanogramm an Nukleinsäure in einem Microliter Probenvolumen quantitativ und qualitativ zu erfassen. Seit Inbetriebnahme des Microarray-Labors haben wir zusammen mit Arbeitsgruppen im BMFZ (Profs. Häussinger, Hegemann, Schrader, Gödecke) mehrere subgenomische (Maus, Ratte) und genomweite, PCR-Fragment (*Chlamydia pneumoniae*) und/oder Oligonukleotid-basierte Microarrays (Maus) hergestellt und erfolgreich genutzt. Unter Anderem zur Verifizierung von Microarray Ergebnissen betreiben wir im MZL ein

Real-Time PCR-System (ABI Prism™ 7700 Sequence Detection System), das auch interessierten Nutzern zur Verfügung steht.

Neben den bisher genannten nukleinsäureanalytischen Arbeiten führen wir auch eigene Drittmittel-geförderte Forschungsprojekte durch. In einem BMBF-Projekt zur Generierung humaner Gateway® Entry Klone nutzen wir die im BMFZ vorhandene Technologieplattform zur systematischen Funktionsanalyse (NGFN-2; www.dkfz.de/smp-cell/cell.org/). In einem anderen von der DFG-geförderten Projekt (TP A6 im SFB 575; www.uni-duesseldorf.de/sfb575/) untersuchen wir gezielt die molekulare Funktion der humanen VPS4 Proteine und deren Interaktionspartner.
Mitarbeiterinnen: Dr. Sibylle Scheuring (Wissenschaftl. Mitarbeiterin ½), Sibylle Müller (BTA), Beate Weller (BTA ½).

AG Metzger

Proteine und Modifikationen

Sabine Meztger, Analytisches Zentrallabor

Nach dem Genom das Proteom.

Für viele Fragestellungen in der Biologie und Medizin ist die Möglichkeit Proteine auf dem molekularen Level identifizieren zu können von essentieller Bedeutung. Die wichtigste Technik dazu ist die Massenspektrometrie. Mit ihrer Hilfe ist es möglich nicht nur das einzelne Protein zu identifizieren, sondern auch ihre Modifikationen, Splicevarianten und den Austausch von Aminosäuren.

Die simultane Erfassung von Genaktivität ist Dank der DNS-Chips bereits Routine geworden. Die Notwendigkeit die Produkte der Gene, die Proteine zu erfassen, resultiert, zum einem aus den sehr schwankenden Verhältnissen zwischen der Zahl der Boten-RNA-Moleküle bzw. den daraus resultierenden Proteinmolekülen und zum anderem aus der zeitlichen Entkopplung von Transkriptom und Proteom. Zum Beispiel sind in den Zellen stabile Proteine aktiv, deren Gene längst herrunterreguliert sind, weil ihr Produktionssoll oder ein anderes Zell-Stadium erreicht wurde oder die Proteine wurden bereits durch Spaltung, Transport oder Recycling weiter verarbeitet. DNS-Chips würden diese Vorgänge entgehen, ihre Daten würden diese Proteine nicht verraten. Hinzu kommen die Wechselwirkungen zwischen den Proteinen und mit anderen Biomolekülen, die das Zellgeschehen ausmachen. Sie können nur durch die Analyse der beteiligten Komponenten ermittelt und untersucht werden.

Die massenspektrometrischen Methodenentwicklung ist ein vornehmliches Ziel des Analytische Zentrallabors. Getrieben wird die Methodenentwicklung durch Fragestellungen aus der Biologie oder Medizin. Dieses Wissen in Kombination mit der Chemie und Physik liefern uns die Informationen zur Verbesserung eines der wichtigsten Aspekte, die Empfindlichkeit. Sei es durch MS-kompatible Anreicherungsverfahren oder durch sensitivere Messtechniken.

Aufgrund der Individualität jedes einzelnen Proteins steht die Proteinanalytik aber vor dem Problem mehr oder weniger für jedes Protein bzw. Fragestellung Methoden entwickeln zu müssen bzw. zu adaptieren. Diese erfolgt in enger Zusammenarbeit mit den verschiedenen Arbeitsgruppen.

Über die Poteinidentifizierung hinaus stellt die Feincharakterisierung eines Proteins eine weitere Herausforderung dar. Unter der Feincharakterisierung eines Proteins verstehen wir eine tiefergehende strukturelle Analyse. Beispiele dafür sind neben der Identifizierung von Modifikationen jeglicher Art die Aufklärung, de novo Sequenzierung von Peptiden um Isoformen zu

identifizieren oder den Austausch einzelner Aminosäuren, aber auch die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur eines Proteins. Hier erfolgt die Methodenevaluierung in ganz enger Zusammenarbeit mit den interessierten Forschergruppen.

3. Expertisen

Methodische Expertisen und apparativer Ausstattung der BMFZ-Arbeitsgruppen

AG Bender

Forschungsgruppenleiter: Prof H.G. Bender , Dr. Dieter Niederacher

Institut/Klinik: Frauenklinik, Molekulargenetisches Labor

Ansprechpartner: Dr. Dieter Niederacher

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Molekulargenetische Analyse gynäkologischer Tumore
QPCR, LOH-Analysen, Mutations- und Methylierungsanalysen
Expression-Profiling
Funktionelle Genanalysen
BRCA1/BRCA2 Diagnostik

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

DHPLC (Denaturierende HPLC) für Mutationsscreening
PCR-Robotics

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

„Bildgebende“ Verfahren Zellbiologie (zB. Konvoklae Laser-Scanning Mikroskopie)

FACS

AG Boege

Forschungsgruppenleiter: Prof. F. Boege, Dr. C. Mielke, Institut für Klinische Chemie und Labordiagnostik

Institut/Klinik: Institut für Klinische Chemie und Labordiagnostik

Ansprechpartner: Prof. Boege (8118290) und Dr. Mielke (8119323)

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

• Transgene Zellinien
• Heterologe Expression biofluoreszenter Proteine
• Funktionsanalyse durch konfokale Mikroskopie (FLIP, FRAP, FRET, FLIM)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

CLSM, live-cell imaging (Core Facility b. Prof. Nürnberg)

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Proteomic (Analyse von TAP-gereinigten Komplexen)
DNA-Sequenzierung, Expressionschips
ChIP on CHIP - Assay

AG Ernst

Forschungsgruppenleiter: Prof. Joachim Ernst

Institut/Klinik: Inst. f. Mikrobiologie (Math.-Nat.)

Ansprechpartner: Joachim Ernst

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- Hefegenetik (und heterologe Genexpression)
- Hefe-Hybridsysteme für Proteininteraktionen (1-, 2-, 3-, split-ubiquitin)
- Genetik von *Candida albicans* und *Cryptococcus neoformans*
- Transkriptomanalytik

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

- Hypoxie-Werkbank
- Fluorometer, Luminometer
- Real time-PCR-Gerät
- Radionuklidlabor

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

- Infektionsmodelle mit menschlichen Zellkulturen

AG Groth

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Georg Groth

Institut/Klinik: Biochemie der Pflanzen - Abt. Biochemische Pflanzenphysiologie

Ansprechpartner: Prof. Dr. Georg Groth

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Der Schwerpunkt der Arbeiten liegt in der Strukturbestimmung verschiedener Membranproteine des Energie- und Signalstoffwechsels. Zur Realisierung dieser Vorhaben steht der Arbeitsgruppe ein umfangreiches Spektrum an proteinbiochemischen Methoden zur Verfügung. Isolation, Reinigung, 3D-Kristallisation und Strukturbestimmung der Proteine nach Röntgenstrukturanalyse erfolgen vollständig in unserem Labor. Zur funktionellen Charakterisierung der Proteine können wir außerdem auf ein breites Spektrum an molekularbiologischen und spektroskopischen Methoden zurückgreifen.

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Zur Ausstattung der Arbeitsgruppe gehören HPLC-Systeme, Pipettierrobotor, Grafik-Workstations zur Datenanalyse und Strukturinterpretation, ein komplett ausgestattetes wet lab für die Proteinkristallisation, sowie Photometer und Spektralfluorimeter.

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Massenspektrometrie
Strukturanalyse von Proteinen (NMR, X-ray)

AG R. Haas

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Rainer Hass

Institut/Klinik: Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie
Universitätsklinikum Düsseldorf

Ansprechpartner: s.o.

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Quantitative „real-time“ PCR (LightCycler, TaqMan)
Affymetrix Microarrays inklusive bioinformatische Auswertung
Durchflusszytometrie
„Laser capture“ Mikrodissektion
Kultivierung hämatopoetischer Vorläuferzellen
Herstellung dendritischer Zellen
Leukozytenmigrations-Assays
DHPLC (WAVE-System)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Durchflusszytometer (FACS Calibur)
LightCycler
NanoDrop-Photometer
WAVE-System
Fluoreszenzmikroskop

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Hightspeed FACS Sorting
Untersuchung von Signaltransduktionswegen

AG Hemmer

Forschungsgruppenleiter: Prof. Bernhard Hemmer

Institut/Klinik: Klinik für Neurologie

Ansprechpartner: Bernhard Hemmer, Sabine Cepok, Verena Grummel

---

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Basale Immunologische Techniken (ELISA, WB, Transformation von B Zellen mit EBV, Isolation von definieren Immunzellpopulationen, Immunhistochemie)
Flusszytometrie (Oberflächenfärbung, intrazelluläre Färbung)
Einzelzell rtPCR für TCR Expression von T Zellen (Gewebe, Liquor)
T Zell Kultur (CD4+, CD8+,Antigen-spezifisch, Mitogen stimuliert)
Rekombinante Expression von Proteinen (Bakterien, Hefe, Säugerzellen)
Expression von Membranproteinen mittels Lentiviraler Vektoren
Charakterisierung von Antikörpern gegen Membranproteine
Analyse MHC gebundener Peptide (Klasse I)
Sequenzierung von Liquorproteinen
Tiermodelle der Experimentellen Autoimmunen Encephalomyeltitis (C57B6, SJL Maus, Lewis

Ratte)
MRT im Mausmodell (Kooperation mit MPI Göttingen)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Flusszytometer (3 und 4 Farben)
Immunfluoreszenzmikroskop (Olympus mit FRET)
Taqman
HPLC
MACS

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Zellsortierung (zur Zeit in Wiesbaden, da vor Ort keine funktionierende Einheit)
Gensequenzierung (zur Zeit bei MWG, da billiger und besser als vor Ort im BMFZ)
Proteinsequenzierung (zur Zeit in Berlin, da zuverlässiger, schneller und letzendlich günstiger als vor Ort im BMFZ)

Transgene Tiere
Knockout Tiere

Ärgernisse:

1. Forschungsfeindliche Situation in der TVA (endlose Zeiten bis zur Korrektur und Annahme von Anträgen, Import von Knockout Mäusen nur gegen erheblichen Widerstand)
2. Core Facilities des BMBF können nicht mit dem Markt konkurrieren (zu teuer, zu unzuverlässig)
3. Wichtige Großgeräte fehlen (Zellsorter, Tier MRT, Tier Imaging Einheiten, etc.)

AG Hengel

Forschungsgruppenleiter:	Prof. Dr. Hartmut Hengel hartmut.hengel@uni-duesseldorf.de
Institut/Klinik:	Institut für Virologie
Ansprechpartner:	Dr. Albert Zimmermann albert.zimmermann@uni-duesseldorf.de

---

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- Virologische Arbeitsmethoden (z.B. Virustitration, virusbasiernde Bioassays, Neutralisationstest etc.)
- Herstellung rekombinanter Viren: Cytomegalovirus (CMV) von Mensch und Maus, Vakziniaviren
- BAC-Technologie
- EMSA-Methoden
- ^{35}S-Proteinmarkierung, Immunpräzipitation, SDS-PAGE
- virologisches Tiermodell: Cytomegalovirus der Maus (MCMV)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

BSL-2 Labor für virologische Arbeiten
BSL-3 Labor für virologische Arbeiten ab 2007

Interesse an Kooperationen bzgl. folgender Techniken / Methoden:

Proteinsequenzierung
MALDI-TOF

AG Huston

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Joseph P. Huston

Institut/Klinik: Institut für Physiologische Psychologie

Ansprechpartner: Prof. Dr. Joseph P. Huston

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Messung von Neurotransmittern (Dopamin, Serotonin, Noradrenalin, Acetylcholin) und deren Metaboliten im frei beweglichen Tier (Ratte/ Maus) in Kombination mit verschiedenen Verhaltensparadigmen

- in-vivo Mikrodialyse am frei beweglichen und anästhesierten Tier
- HPLC-EC Probenanalyse von Hirndialysaten
- HPLC-EC Analyse von post-mortem Hirngewebsproben

Verhaltensmessung in Rodentia: Spontanaktivität (inkl. Lokomotion, Putzen, Fressen, Trinken), Verstärkung, Emotionalität und Lernen

---

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

- HPLC-EC Anlagen zur Messung von Dopamin, Serotonin, Noradrenalin, Acetylcholin & Metaboliten
- mehrere Set-ups für in-vivo Mikrodialyse Messungen an a.) frei beweglichen Tieren und b.) anästhesierten Tieren
- Apparaturen zur Verhaltensmessung, incl. Arbeitsplätze zur automatisierten und teilautomatisierten Messung/ Auswertung (Offenfeld, Elevated Plus Maze; Corral Maze)

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Fortsetzung und Ausbau bestehender Kooperationen mit den Arbeitsgruppen von Prof. H.W. Müller im Bereich der Stammzellforschung, Prof. H.L. Haas im Bereicht der zellulären Langzeitpotenzierung, mit Dr. O.A. Sergeeva/ Prof. H.L. Haas im Bereich der neuronalen Genexpression und mit Prof. K. Zilles im Bereich der Rezeptorautoradiografie.

AG Jander

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. med. Sebastian Jander

Institut/Klinik: Neurologische Klinik, Heinrich-Heine-Universität

Ansprechpartner: Prof. Jander, Tel 0211-81-18978, jander@uni-duesseldorf.de

---

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- Tiermodelle der fokalen zerebralen Ischämie sowie kortikale Spreading Depression in Ratten und Mäusen
- Miniosmotische Pumpensysteme (Alzet) für intrazerebrale Infusionen
- In vivo-Makrophagenimaging mit Eisenoxid-Nanopartikeln
- Molekularbiologische und histologische Analytik (real time PCR, microarray, Doppelfluoreszenz, konfokale Mikroskopie)
- Zellkultur (Mikroglia/Astrozyten)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

- Tier-OP für Ischämiemodelle

Interesse an Kooperationen bzgl. folgender Techniken / Methoden:

- Inflammation/Immunologie, insbesondere Knock-out Modelle
- Kleintier-MRT
- Neurophysiologie (Spreading Depression und hierfür relevante Prozesse)

AG Knust

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Elisabeth Knust

Institut/Klinik: Institut für Genetik

Ansprechpartner: Fr. Prof. Knust, Dr. Olaf Bossinger

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Genetische und zellbiologische Expertise für *Drosophila* und *C. elegans*, einschließlich Erzeugung transgener Linien; konfokale Laserscanmikroskopie

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Zwei konfokale Laserscanmikroskope; Elektronenmikroskop;

AG Korth

Forschungsgruppenleiter: PD Dr. Carsten Korth, 0211-8116153, ckorth@uni-duesseldorf.de

Institut/Klinik: Institut für Neuropathologie

Ansprechpartner: PD Dr. Carsten Korth / Dr. Ralf Klingenstein

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- Proteinbiochemie
- Molekularbiologische Grundtechniken
- monoklonale Antikörper
- rekombinante Antikörper
- Zellbiologie

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

- Biosicherheitslabor für humane Prionen

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

- Organisch-synthetische, pharmazeutische Chemie
- high-throughput Massenspektrometrie
- lentivirale Transfektionen

AG Jean Krutmann

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. med. Jean Krutmann

Institut/Klinik: Institut für Umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine Universität gGmbH
Auf´m Hennekamp 50
40225 Düsseldorf

Ansprechpartner: Prof. Krutmann, Dr. Grether-Beck

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:
Klassische PCR
Taqman qPCR
Western Blot
Geldokumentationsanlage
Messung reaktiver Sauerstoffspezies (Fluoreszenzreader & FACS)
Sauerstoffverbrauch
Zell- und Gewebekultur
Isolierung dermaler Zellen aus Biopsaten
Dermale und Vollhautäquivalente
Isolierung von Mitochondrien
Klonierung
Transfektion (transient und stabil)
Bioinformatik (Clusteranalyse usw.)
Lipidanalysen (HPTLC)
UV- und Infrarot-Bestrahlungen
Aufarbeiten von Geweben für Real-Time PCR
Isolierung und Kultur von Keratinozyten und Fibroblasten aus Gewebe

---

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:
Klassische PCR
Taqman qPCR
Western Blot
Geldokumentationsanlage
Hochauflösende Dünnschichtchromatographie (CAMAG AMD 2)

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:
HPLC
Massenspektroskopie

AG Müller

Forschungsgruppenleiter: Prof. Hans Werner Müller

Institut/Klinik: Molekulare Neurobiologie, Neurologische Klinik

Ansprechpartner: PD Dr. Patrick Küry, Dr. Frank Bosse, Dr. Nicole Brazda

---

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Molekularbiologie: Gene expression profiling (Mikroarrays) und Datenanalyse,
Quantitative RT-PCR,
RNAi,
Transfektionsmethoden,
In sity-Hybridisierung

Histologie/
Immunhistologie: Gewebeaufbereitung (Gehirn und Rückenmark) für histologische Präparate (Paraffin- und Gefrierschnitte),
Immunhistologie, Immuncytologie,
Immunfluoreszenzmikroskopie,
Konfokale Laserfluoreszenz-Scanning Mikroskopie,
Axonale Tracingmethoden

Lokomotorische und sensorische Verhaltenstests: "open-field"-Test,
Gridwalk (Horizontal ladder walking) Test,
CatWalk (footprint, walking pattern) Test,
Rotary Rod-Test,
Plantar-Test

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Nucleofector (Amaxa),
Konfokales Laser Scanning Mikroskop (LSM 510 Zeiss, Ersatzbeschaffung beantragt),
Kryostat (Leica),
Geräte für mikrochirurgische und stereotaktische Gehirn- und Rückenmarkläsionen:
Kopf-Stereotaxie-Apparatur, Scouten-wire knife, NYU-Impactor,
Standardausstattung für international anerkannte lokomotorische und sensible Verhaltenstests für Nager (Gridwalk, CatWalk, Plantartest, RotaRod).

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Neurophysiologie: Patchclamping, Zweiphotonen-Mikroskopie.
Neuroimaging: Kleintier-MNR

AG Nürnberg

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Dr. B. Nürnberg / Dr. A. Gohla / Dr. R. Piekorz

Institut/Klinik: Biochemie und Molekularbiologie II, Geb. 22.03.03
Universitätsstrasse 1

Ansprechpartner: Prof. Dr. Dr. B. Nürnberg / Dr. A. Gohla / Dr. R. Piekorz

---

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Embryonale Stammzelltechnik
Phänotypisierung gendefizienter Mausmodelle
Standardzellkultur, Primärzellkultur (Hepatozyten, Astrozyten)
Molekularbiologische Verfahren, siRNA, retro- und lentivirale Expressionssysteme
Biochemische und zellbiologische Analyse der zellulären Signaltransduktion (G-Protein- und PI3K-Aktivitätsassays, Phosphataseassays)
Expression und Aufreinigung von nativen Proteinen sowie nach rekombinanter/heterologer Expression in Bakterien (E. coli) und Insektenzellen (Sf9)
Säulenchromatographische Verfahren zur Proteinaufreinigung und -charakterisierung (FPLC)
2D-PAGE, Rotophor (Liquid-IEF)
Protein-Protein-Interaktion (Y2H, FRET)
Konfokale Laserscanning-Mikroskopie, live cell imaging von Fusionsproteinen
Immunzytochemie
Ca^{2+}-Imaging an Einzelzellen

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Anlage zur Mikroinjektion von adhärenten Zellen und Suspensionszellen
Anlage zur konfokalen Laserscanning-Mikroskopie
Elutriationszentrifuge zur Zellseparation und -anreicherung
Realtime-PCR-Anlage
FACS
Kryostat
Äkta Purifier

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

TAP-tag Technologie
Massenspektrometrie
DNA-Mikroarrays

AG Pfeffer

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. med. K. Pfeffer

Institut/Klinik: Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Gebäude 22.21

Ansprechpartner: Prof. Dr. med. K. Pfeffer, Dr. Sandra Beer

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Herstellung von knock-out-Mäusen
Infektionsmodelle (Listerien, Toxoplasmen, Pneumococcen)
immunologische Phänotypanalyse
Immunhistologie
Durchflußzytometrie
Lymphozytenfunktionstest
konfokale Mikroskopie
Affymetrix-Transkriptionsprofiling
Signaltransduktion in T- und B-Zellen
Lentiviraler Gentransfer

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Injektionsmikroskop für murine embryonale Stammzellen
Durchflußzytometrie

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Proteomanalyse
Massenspektrometrie
Elektronenmikroskop

AG Reifenberger

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Guido Reifenberger

Institut/Klinik: Institut für Neuropathologie

Ansprechpartner: Prof. Guido Reifenberger
(18660, reifenberger@med.uni-duesseldorf.de)

Dr. Marietta Wolter (18652, wolter@med.uni-duesseldorf.de)

Dr. Peter Roerig (18652, peter.roerig@uni-duesseldorf.de)

Dr. Jörg Felsberg (18663, joerg.felsberg@med.uni-duesseldorf.de)

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:
- Mutationsanalysen (SSCP, Sequenzierung)
- Methylierungsanalysen (MSP, COBRA, Bisulfit-Sequenzierung)
- Deletions-/Amplifikationsanalysen (LOH, RFLP, Southern Blot, real-time-PCR)
- mRNA-Expressionsanalysen (RT-PCR, Taq-Man, Northern Blot), DNA-Klonierung
- Proteinanalysen (Western, Immunhistochemie, Immunfluoreszenz, Expression und Aufreinigung rekombinanter Proteine)
- array-CGH (in Kooperation mit dem DKFZ, Prof. P. Lichter)
- Expressionsarrays (in Kooperation mit dem DKFZ, Prof. P. Lichter, bzw. der Affymetrix-Plattform, Institut für Onkolologische Chemie, Prof. H. Bojar)
- Differential Methylation Hybridization (DMH) (in Kooperation mit Dr. A. Waha, Bonn)
- In vitro Analysen an Zelllinien und Primärkulturen (u.a. Proliferation, Invasion/Migration, Apoptose, Vitalität, siRNA, Transfektion)
- In vivo Analysen an transgenen/knock-out Mäusen (z.Z. $PTCH^{+/-}$ und $NOS2^{-/-}$ Mäuse)
- Konventionelle Histologie (Paraffin, Kryostat, Dünnschnitte), Histochemie und Elektronenmikroskopie
- FISH-Analyse (z.Z. in der Etablierung)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:
- DNA-Sequenzierer (ABI 377)
- Real-time PCR Gerät (ABI 5700)
- Hybridisierungskammer für Mikroarrays (Tecan Hs400Pro)
- PhosphoImager (Fuji BAS 1800 II)
- Genlabors S1 und S2
- Zellkulturlabor (S1)
- Isotopenlabor

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:
- FACS-Analysen / Cell sorting
- Generierung von transgenen bzw. knock-out Mausmodellen
- Bioinformatik

AG Rose

Forschungsgruppenleiter: Prof. Christine R. Rose

Institut/Klinik: Institut für Neurobiologie

Ansprechpartner**:** C. Rose

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:
Elektrophysiologische Methoden (Einzelzellableitungen mit scharfen Mirkoelektroden; Feldpotentialableitungen, Whole-cell Patch-Clamp)
Ionensensitive Mikroelektroden (Natrium, pH, Kalium/ Messung extrazellulärer Ionenkonzentrationen)
Intrazelluläre Calcium-, Natrium-, pH-….Messungen mit Camera-Imaging und hochauflösendem Imaging
Primäre Zellkultur (Neuronen, Gliazellen)
Akute Gehirnschnitte

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:
Vgl. oben (Elektrophysiologie, Imaging, Zellkultur)
2-Photonen-Imaging (ab etwa Sept. 2006)

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:
Interesse an Kooperationen bzgl. grundlegender molekularbiologischer Techniken (z. B. PCR, Transfektionen, etc.), Immunhistochem. Färbungen

AG Rüther

Forschungsgruppenleiter: U. Rüther

Institut/Klinik: Entwicklungs- und Molekularbiologie der Tiere

Ansprechpartner: s.o.

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- Mausgenetik
- Manipulation frühe Huhnembryonalentwicklung
- Expressionsanalysen, in situ auf Schnitten und im Ganzkörper

---

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Alles für die Mikromanipulation von Embryonen

Elektroporatoren
Sonoporator
div. Imaging-Systeme

AG Schaal

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Heiner Schaal

Institut/Klinik: Institut für Virologie

Ansprechpartner: Heiner Schaal

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:
Analyse von Spleißmustern nach transienter Transfektion eukaryontischer Zellen, Tethering von MS2-Fusionsproteinen an RNA in eukaryontischen Zellen, Pull-down zur Identifizierung RNA gebundener Proteine, Entwicklung von Algorithmen zur Beschreibung der Effizienz einer Spleißstelle

AG Scharf

Forschungsgruppenleiter: Rüdiger E. Scharf

Institut/Klinik: Institut für Hämostaseologie und Transfusionsmedizin, Geb. 12.49

Ansprechpartner: Rüdiger E. Scharf; Volker R. Stoldt, Rainer B. Zotz (Biometrie)

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Molekulare Epidemiologie: Polymorphismusanalytik, DNA-Analysen, Biometrie

Molekularbiologie: Klonierung, Sequenzierung und Expression diverser Gene, Antisense als virale/episomale Konstrukte in diversen Zellinien

Proteinbiochemie: ELISA, Immunpräzipitation, Western Blotting, Immunkomplex-Kinase-Assays, Immunoblot-Methoden, Densitometrie, Multi-mer-Analytik des von-Willebrand-Faktors

Zellbiologie: Zellkulturtechniken (endotheliale Progenitorzellen, EPC, Endothelzellen, HUVEC),
Plättchenaggregometrie,
intrazelluläre Durchflußzytometrie, durchflußzytometrische Multiparameteranalytik im Mehrfarbenmodus, quantitative Bestimmung von thrombozytären/leukozytären Mikropartikel und von Thrombozyten-Leukozyten-Konjugaten,
Konfokale Laserscanning Fluoreszenzmikroskopie,
Video-Epifluoreszenzmikroskopie,
Strömungskammermodelle, Blutkomponentenseparation

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Durchflußzytometer, Konfokales Laserscanning Fluoreszenzmikroskop, Epifluoreszenz-Videomikroskop, Flow-Modell (Perfusionskammer mit definierten wandnahen Scherraten)

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

- Mechanotransduktion (Wechselwirkung zwischen extrazellulären Matrixproteinen, Adhäsionsrezeptoren und Zytoskelett)
- Signaltransduktion (integrinabhängige Signalwege, bidirektionales Signaling, Talin, Tyrosin-Kinasen, MAP-Kinase, MLC-Kinase, G-Proteine)
- Fluoreszenz-Techniken
- Imaging, Optimierung von Bildgebung und -auswertung

AG Schliess

Forschungsgruppenleiter:PD Dr. Freimut Schliess

Klinik für Gatroenterologie, Hepatologie und Infektiologie
(Direktor: Prof. Dr. Dieter Häussinger)

Ansprechpartner: PD Dr. Freimut Schliess

Folgende Methoden werden in Kooperation mit den an der Klinik f. Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie angesiedelten Forschungsgruppen angewendet:

Molekular-, zellbiologische und proteinchemische Standardtechniken, real time-monitoring der Bildung reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies, siRNA Genknockdown, Nachweis von Protein-Tyrosin-Nitrierung und RNA oxidation in Zellen und Geweben, Bestimmung von MAP-kinase / PI 3-kinase-Aktivitäten und des Phosphorylierungszustandes von Proteinen des mTOR Pathways, Messung des proteasomalen Abbaus oxidierter Proteine *in vitro*, $[Ca^{2+}]_i$ Messungen auf Einzelzellniveau, konfokale Laserscanningmikroskopie, Messung der autophagischen Proteolyse

---

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Proteomics, Phospho(Nitro)proteomics, Interactionproteomics, Identification kovalenter Proteinmodifikationen mittels Massenspektrometrie,

AG Schmitt

Forschungsgruppenleiter: Prof. Lutz Schmitt

Institut: Institut für Biochemie

Ansprechpartner:Lutz Schmitt

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

(Membran)proteine:
- Überexpression und Aufreinigung
- Biochemische Charakterisierung von Proteinen *in vitro*
- Rekonstitution von Membranproteinen
- Transportassays

- Kinetische/Thermodynamische Protein-Ligand Analyse (BiaCore)
- Kristallisation
- Röntgenstrukturanalyse
- Fluoreszenzspektroskopie

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Kontinuierlicher Zellaufschluß
Proteinchromatographie
Fluoreszenz
Proteinkristallisation
Röntgengenerator

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:
Dreidimensionale Proteinstrukturbestimmung
Protein-Protein/Ligand Wechselwirkungen
Membranproteincharakterisierung

AG Schrör

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. med. Karsten Schrör
Institut/Klinik: Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie
Ansprechpartner: Dr. med. Tilo Grosser, Tilo.Grosser@uni-duesseldorf.de ; (0211) 81 10557

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- Massenspekrometrische Proteomics Methoden (LC-MS/MS, offline multidimensionsale LC-MS/MS)
- 2D Gele
- Informatik der Proteomics Methoden (Analyse komplexer MS/MS Datensätze, ISB Transproteomic Pipeline)
- Analyse von Transcriptomics Experimenten (R, Ingenuity)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Im Aufbau

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:
Massenspektrometrische Proteomics Techniken
Genexpressionsprofiling

AG Schulz

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang A. Schulz, Dipl.-Biochem.

Institut/Klinik: Forschungslabor der Urologischen Klinik

Ansprechpartner: Prof. Schulz oder Frau Dr. rer. nat. Andrea R. Linnemann-Florl

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:
Molekularbiologische Analytik von Veränderungen in menschlichen Tumoren, besonders Analysen der DNA-Methylierung
Analyse von Genexpression und -wirkung in Zellkultursystemen, besonders Primärkulturen urothelialer Epithelzellen

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:
übliche Ausstattung für molekularbiologische Analytik und Zellkultur
Besonderheit: sehr gut ausgestattetes Lasermikrodissektionsgerät (Arcturus) steht zur breiten Verfügung (nach Absprache) in den Räumen des Instituts für Onkologische Chemie

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

aktuell
FACS
Cytogenetik

in naher Zukunft
Tiermodelle (Tumor)
Chromatinimmunpräzipitation

Sonstiges:
Wir bieten Beratung, Unterstützung, Training und Kooperation bei Analysen der DNA-Methylierung (auch über Tumorforschung hinaus) an.

Wir versuchen seit geraumer Zeit ein gruppenübergreifendes Literaturseminar für Diplomanden, Doktoranden und Postdocs über Tumorbiologie in englischer Sprache zu etablieren.

AG Schulze-Osthoff

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Klaus Schulze-Osthoff

Institut/Klinik: Institut für Molekulare Medizin

Ansprechpartner: Prof. Dr. Klaus Schulze-Osthoff,
Tel. 8115894, Email: KSO@uni-duesseldorf.de

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Standardtechniken der Molekular- und Zellbiologie sowie Proteinchemie Methoden

Videoimaging und FRET-Analysen,
Generierung monoklonaler Antikörper,
Viraler Gentransfer,
Apoptose- und Zytotoxizitätsnachweise, Apoptose-Nachweise in Patientenproben,
Proteinexpression in Säugern, Baculoviren und E.coli,
Proteinreinigung,
Aktiviätstests von Transkriptionsfaktoren, Proteinkinasen, Caspasen u.a.
Ubiqutin-vermwandte Proteinmodifikation, Sumoylierung,
mRNA Splicing-Assays,
Thymozyten-Isolierung,

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

Konfokales LaserScan-Mikroskop, Live-Cell Imaging,
Luminometer,
Fluorimeter,
FACS-Calibur

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Videoimaging,
Cell Sorting,
Chromatin-Immunpräzipitation
weitere Methoden nach Absprache.

AG Sies

Forschungsgruppenleiter: Prof. Helmut Sies

Institut für Biochemie und Molekularbiologie I
Tel +49-211-811-2707
Fax +49-211-811-3029

Ansprechpartner: H. Sies, W. Stahl, Lars-Oliver Klotz

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

-HPLC-Analytik von Mikronährstoffen
-Singulettsauerstoff-Analytik
-Zell-Zell-Kommunikation (Mikroinjektion)
Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:
s.o.

Interesse an Kooperationen bzgl. folgender Techniken / Methoden:
-es laufen mehrere Kooperationen

AG Wernet

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Peter Wernet

Institut/Klinik: Institut für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutika, Geb. 14.80

Ansprechpartner: Prof. Dr. Peter Wernet, ITZ
Tel. 0211/81-19545, Fax: 0211/81-19147
peter.wernet@uni-duesseldorf.de

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Immungenetik des Menschen
Stammzellbiologie des Menschen
GMP-gerechte Produktion aller Zelltherapeutika
Zellmarkierungsverfahren in vitro und in vivo

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

GMP-Produktionsräume nach AMG

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

Proteomics
Massenspektrometrische Analysen

AG Willbold

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Dieter Willbold

Institut/Klinik: Institut für Physikalische Biologie, HHU / Institut für Neurowissenschaften und Biophysik (Biomolekulare NMR-Spektroskopie), FZ-Jülich

Ansprechpartner: Prof. D. Willbold, Junior-Prof. M. Stoldt, Dr. T. Stangler, Dr. B.König

---

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

- 3D Strukturaufklärung biologischer Makromoleküle mittels NMR-Spektroskopie
- Charakterisierung von Protein-Ligand-Wechselwirkungen mittels biophysikalischer Methoden (NMR, SPR, Fluoreszenz, CD)
- Peptidliganden-Selektion mittels Phagendisplay

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

- „state of the art“- Hochfeld-NMR-Spektrometer mit kryogenen Meßsonden
- Biacore (SPR)
- Feldflussfraktionierung und Größenausschlußchromatographie mit *online*-Lichstreudetektion und Refraktomer zur Partikelgrößenbestimmung
- CD-Spektrometer

Interesse an Kooperationen bezgl. folgender Techniken / Methoden:

- zellbiologisch arbeitende AGs (z.B. mit Interesse an HIV, SARS-Coronavirus)

Zentrallaboratorien

AG Köhrer

Forschungsgruppenleiter: Prof. Dr. Karl Köhrer

Institut/Klinik: BMFZ

Ansprechpartner: Dr. Sibylle Scheuring (Tel. 13069; scheurin@uni-duesseldorf.de),
Dr. Karl Köhrer (Tel. 13165; koehrer@uni-duesseldorf.de)

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Moderne Nukleinsäureanalytik:
- RNA/DNA-Isolierung
- Qualitative- und quantitative RNA/DNA-Analysen
- Real-Time PCR Analysen
- Markierung von cDNAs
- Herstellung von DNA-Microarrays
- Durchführung von DNA-Microarrayexperimenten
- Auslesen und Auswerten von Arrayexperimenten
- DNA-Sequenzierung (Plasmide, PCR-Produkte, BACs, P1 Klone, shRNA Konstrukte)
- Fragmentlängenanalysen (MLPA, Mikrosatelliten, ...)
- Gateway®-Klonierungen

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

- Agilent BioAnalyzer 2100
- NanoDrop™
- Beckman Biomek 3000 Pipettierroboter
- QIAGEN BioRobot® 3000 Pipettierroboter (Plasmidaufreinigung)
- ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer
- ABI PRISM™ 3100 Genetic Analyzer
- ABI 3130XL Genetic Analyzer
- Fuji FLA 3000 PhosphoImager
- Fuji FLA 8000 Microarray Reader
- GenePix 4000B Microarray Reader
- Genetix QArray^2 Microarray Spotter
- ASP Hybridisierstation für Microarrays
- ABI PRISM™ 7700 Sequence Detector (RealTime PCR)

AG Metzger

Forschungsgruppenleiter: Dr. Sabine Metzger

Institut/Klinik: BMFZ- Analytisches Zentrallabor

Ansprechpartner: Dr. Sabine Metzger

Methodische Expertise der Arbeitsgruppe:

Gel-Elektrophorese (-1D, -2D)
Kapillarelektrophorese
Chromatographie
HPLC (Analytisch, Semipräparativ, Nano)
FPLC
Peptidsynthese
Massenspektrometrie (MALDI, ESI-QTOF)

Besondere apparative Ausstattung der Arbeitsgruppe:

2D- Gelelektrophorese (Mini, Normal, Dodeca)
HPLC (Analytisch, Semipräparativ, Nano)
Kapillarelektrophorese
Peptidsyntheziser (433A)
MALDI-Massenspektrometer (ALADIM, Voyager DE-STR)
ESI-QqTOF (QSTAR XL)

4. Anfahrtsbeschreibung

Kardinal Schulte Haus, Overather Straße 51, 51429 Bergisch Gladbach
Fon: 02204-4080
Fax: 02204-408697
E-Mail: reserv@k-s-h.de

Anreise

Mit öffentlichen Verkehrsmitteln: Von Köln Hbf mit dem Schnellbus SB40 bis zur Haltestelle Bahnhof Bensberg, dann Fußweg ca. 15 Minuten oder Buslinie 227,420 oder 455. Mit der Straßenbahn 1 bis Bensberg Endstation oder mit der S-Bahn bis Bergisch Gladbach. Von Bensberg bzw. Bergisch Gladbach mit dem Bus Richtung Overath/Moitzfeld.
Haltestelle: Thomas-Morus-Akademie.
Mit dem PKW: Über A4: Bis Anschlussstelle Nr. 20 Bensberg-Moitzfeld. An der Kreuzung links auf die L 136 Richtung Bensberg. Nach ca. 700 m rechts durch den Torbau hinaus zum Kardinal Schulte Haus.

"Fahrplan SB40" "Fahrplan Linie 227"
"Fahrplan Linie 420" "Fahrplan Linie 455"
"Fahrplan Straßenbahnlinie 1"

tagungshäuser