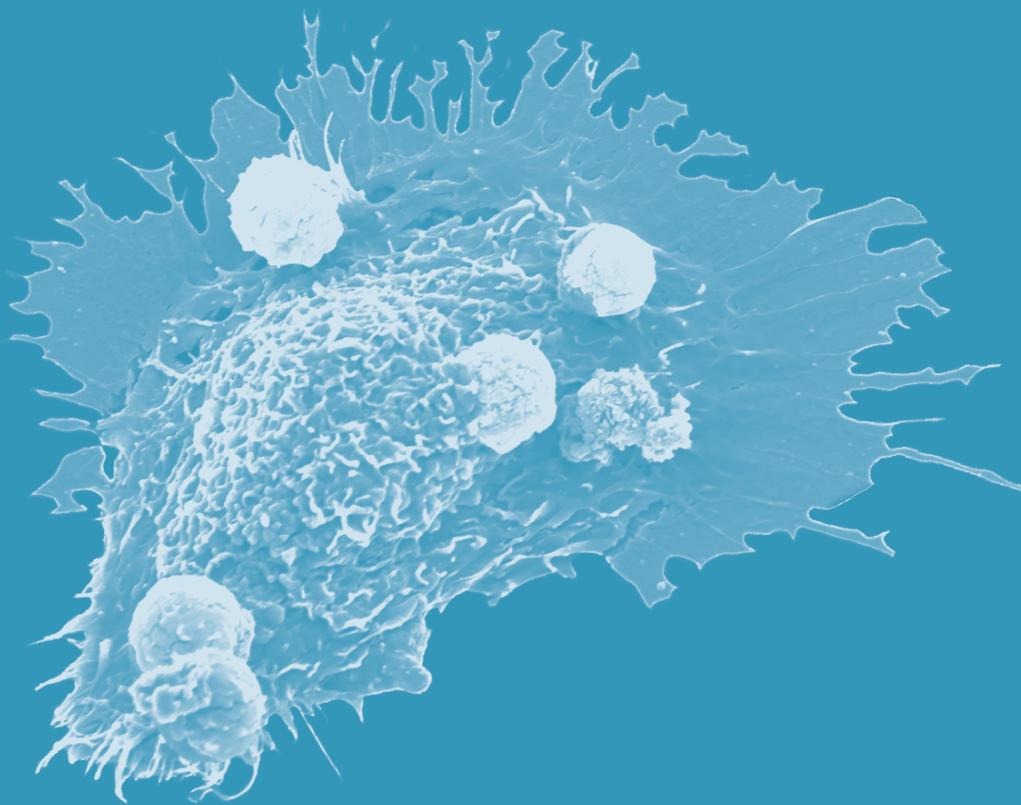
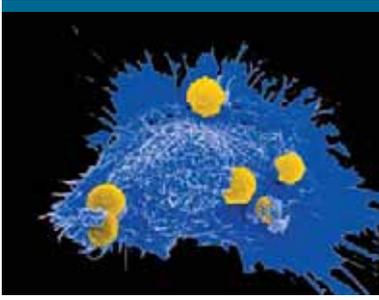


ERGEBNISBERICHT 2004/2005



Gesellschaft für
Biotechnologische Forschung
German Research Centre
for Biotechnology



Titelfoto: GBF, Dr. Rohde

Phagozytose von apoptotischen Zellen durch Makrophagen Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme zeigt einen Makrophagen (blau), der mehrere apoptotische Thymozyten (gelb) phagozytiert. Verschiedene Phasen der Phagozytose sind erkennbar. Im dargestellten Experiment wurden Makrophagen aus Phosphatidylserin-Rezeptorgen (*Ptdsr*)-Knockout-Mäusen verwendet. Zu erkennen ist, dass diese Makrophagen trotz nicht mehr vorhandenem *Ptdsr* noch apoptotische Zellen aufnehmen können.



Foto Rückseite: Radde

Ansicht des GBF-FORUMs und des Regenwasser-Biotops Das GBF-FORUM bietet Räumlichkeiten für Symposien, Seminare, Vorlesungen und Ausstellungen an. Es befindet sich im südlichen Teil des GBF-Geländes.

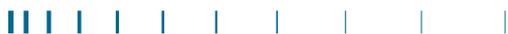
-
- Bildreihe oben auf der Titelseite, von links nach rechts: Stefanie Schiebe kontrolliert die Färbung von Zellpräparationen. | Identifizierung von Herzfehlbildungen in *Ptdsr* Knockout-Mäusen mittels magnetischer Resonanz-Abbildung (MRI). Gezeigt ist eine 3D-Rekonstruktion von MRI-Daten für einen Wildtyp der Mäuse. | Phillip Hahn analysiert das Skelett einer Mausmutante unter dem Stereoskop. | Phagozytose von apoptotischen Zellen durch Makrophagen, die aus der fötalen Leber differenziert wurden (Wildtyp). Apoptotische Thymozyten (rot) wurden mit TAMRA angefärbt und zu F4/80 gefärbten Makrophagen gegeben.

ERGEBNISBERICHT 2004/2005

GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNG



Gesellschaft für
Biotechnologische Forschung
German Research Centre
for Biotechnology



VORWORT

- 04 DIE GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNG (GBF)
- 05 VORWORT

FOKUS

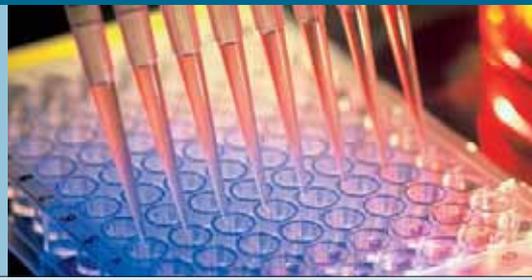
- 08 Aus dem Labor in die Klinik:
GBF und MHH gründen gemeinsam ein Translations-Zentrum
- 12 GBF-Highlights 2004/2005

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

- 22 Gestorben, aber nicht vergessen:
Apoptotische Zellen und das Immunsystem
- 31 Synthetische Peptide als Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen

WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT

- 40 PROGRAMM „INFEKTION UND IMMUNITÄT“
- 42 **Topic 01 – Mikroorganismen**
- 44 Virulenzfaktoren von Streptokokken und Pneumokokken
- 45 Identifizierung und Charakterisierung bakterieller Virulenzfaktoren
- 46 Strukturanalyse von Virulenzfaktoren
- 47 Kommunikation unter Mikroorganismen
- 48 „Small Colony Variants“ von *Pseudomonas aeruginosa*
- 49 **Topic 02 – Pathogenese**
- 50 Molekulare Mechanismen der Pathogen-Wirtszellinteraktion
- 51 Wechselwirkungen zwischen Streptokokken und Wirtszellen
- 52 Signalübertragung zum Aktinzytoskelett
- 53 Immungenetik bei Infektionen mit Streptokokken der Gruppe A
- 54 **Topic 03 – Immunbiologie**
- 55 Signalübertragung und Genregulation
- 56 Epigenetische Prinzipien der Genregulation
- 57 Zellmodelle für Infektionskrankheiten
- 58 Infektionsanfälligkeit und Makrophagenfunktionen
- 59 Entwicklung und Funktion von T-Zellen
- 60 Subpopulationen von B-Zellen
- 61 Biologie der Infektabwehr
- 62 Zelluläre Dynamik immunologischer Prozesse
- 63 **Topic 04 – Prävention und Therapie**
- 65 Synthetische kombinatorische Molekülrepertoires
- 66 Biologische Eigenschaften mikrobieller Wirkstoffe
- 67 Chemische Eigenschaften biologisch aktiver Produkte von Mikroorganismen
- 68 Antigen-Transportsysteme und Impfstoffe
- 69 Therapeutische zelluläre Vakzine
- 70 DNA-Vakzinierung und Immunmodulation



WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT

- 71 PROGRAMM „VERGLEICHENDE GENOMFORSCHUNG“
- 72 Analyse und Nutzung von DNA-Sequenzdaten
- 73 Ligand-basierte Entdeckung biologischer Zielmoleküle
- 74 Konformationelle Protein-Ligand-Interaktionen
- 75 Vergleichende Strukturanalyse von Stoffwechselwegen
- 76 Modelle und Analysen zellulärer Netzwerke

- 77 PROGRAMM „NACHHALTIGE NUTZUNG VON LANDSCHAFTEN“
- 78 Funktionelle Genomik und Nischenspezifität
- 79 Biofilm-Lebensgemeinschaften in Umwelt und Gesundheit
- 80 Stoffwechselvielfalt von Mikroorganismen
- 81 Ökologie von Krankheitserregern
- 82 Mikroorganismenvielfalt und Naturstoffe

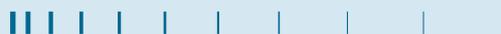
- 83 PROGRAMM „BIOVERFAHRENSTECHNIK“

- 84 TECHNOLOGIE-PLATTFORMEN
- 85 Tierexperimentelle Einheit
- 86 Genexpressionsanalyse
- 87 Instrumentelle Analytik
- 88 Peptid- und chemische Synthese

- 89 VERÖFFENTLICHUNGEN
- 89 Veröffentlichungen 2003
- 99 Veröffentlichungen 2004
- 108 Veröffentlichungen 2005

ZAHLEN UND FAKTEN

- 116 ZAHLEN UND FAKTEN



DIE GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNG (GBF)

- **Die GBF ist ein Zentrum für Infektionsforschung**

Der Schwerpunkt ihrer Arbeit liegt auf der Untersuchung von Erregern, die medizinisch relevant sind oder als Modell für die Erforschung von Infektionsmechanismen genutzt werden können. Träger der GBF sind die Bundesrepublik Deutschland (90 Prozent) und das Land Niedersachsen (10 Prozent). Die GBF beschäftigt rund 600 Mitarbeiter und verfügt über einen Jahresetat von rund 50 Millionen Euro. Sie gehört der Helmholtz-Gemeinschaft an, der größten außeruniversitären Wissenschaftsorganisation Deutschlands.

Infektionen sind für ein Drittel aller Todesfälle weltweit verantwortlich. Globale Mobilität, Ferntourismus und Migration beschleunigen die Ausbreitung von Infektionserregern. Zunehmende Antibiotika-Resistenzen, die Schwächung des Immunsystems im Alter und die Rückkehr fast vergessener Krankheitserreger machen die Entwicklung neuer Ansätze zur Prävention und Therapie von Infektionskrankheiten dringend erforderlich. Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen zudem, dass Infektionen auch an der Entstehung von Krankheiten beteiligt sein können, die man bislang nicht mit Erregern in Verbindung gebracht hat – Erkrankungen wie Krebs, Diabetes oder Allergien.

Zu den wissenschaftlichen Fragestellungen, die wir bearbeiten, gehören: Was macht Bakterien zu Krankheitserregern? Warum sind manche Menschen besonders empfindlich, andere dagegen widerstandsfähig gegenüber Infektionen? Wie können wir in Infektionsprozesse eingreifen? Das Verständnis dieser Mechanismen wird dazu beitragen, Infektionskrankheiten durch neue Medikamente und Impfstoffe zu bekämpfen.

Das menschliche Immunsystem kann erstaunlich schnell und flexibel auf neue Krankheitserreger reagieren – und bricht doch gelegentlich unter dem Angriff von Bakterien oder Viren zusammen. Wie die natürliche Erregerabwehr arbeitet und wie man ihre Strategien nutzen oder gar noch verbessern könnte, das studieren GBF-Wissenschaftler vor allem am Immunsystem von Mäusen, das dem des Menschen sehr ähnlich ist.

Die GBF arbeitet eng mit Hochschulen und mit anderen Forschungseinrichtungen im In- und Ausland zusammen und gehört dem nationalen Genomforschungsnetz an. Im Rahmen eines EU-unterstützten Programms zur Eliteförderung bildet sie – gemeinsam mit der Medizinischen Hochschule Hannover – Nachwuchswissenschaftler zu qualifizierten Infektionsforschern aus.

Die GBF verfügt über eine weit gefasste Zulassung zur Produktion von Wirkstoffen nach den arzneimittelrechtlichen Vorschriften für die Gute Herstellungspraxis (Good Manufacturing Practice oder kurz: GMP). Damit ist sie in der Lage, Substanzen für klinische Untersuchungen herzustellen – und so die Brücke zwischen Grundlagenforschung und medizinischer Anwendung zu schlagen.

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH

Mascheroder Weg 1

D-38124 Braunschweig

Tel: (+49) 5 31-61 81-0

Fax: (+49) 5 31-61 81-515

info@gbf.de | www.gbf.de



Gesellschaft für
Biotechnologische Forschung
German Research Centre
for Biotechnology



VORWORT

Prof. Dr. Rudi Balling | Wissenschaftlicher Geschäftsführer

- Ob in der Wirtschaft oder in der Wissenschaft: Internationale Akzeptanz ist das Ergebnis harter Arbeit. Die GBF ist dabei, diese Anerkennung als Infektionsforschungszentrum zu gewinnen. Die Richtung hat sie vor vier Jahren eingeschlagen. Heute publizieren die GBF-Wissenschaftler in hochrangigen, internationalen Journalen über infektionsbiologische Themen. Wir konnten neue Kooperationen zu renommierten Partnern wie beispielsweise dem Pasteur-Institut in Frankreich, dem Riken Genomic Sciences Center in Japan oder der Rockefeller University in den USA aufbauen. Zugleich haben wir uns auch mit unseren regionalen Partnern thematisch eng vernetzt. Diese Entwicklung haben alle GBF-Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter durch ihr großes Engagement möglich gemacht.

Für mich sind die vergangenen vier Jahre wie im Flug vergangen. Meine erste Amtsperiode nähert sich bereits dem Ende – und ich freue mich sehr, dass mich das Wissenschaftliche Komitee und der Aufsichtsrat der GBF für weitere fünf Jahre als Wissenschaftlicher Geschäftsführer bestätigt haben.

Um die internationale Wahrnehmung zu erhalten, bedarf es jetzt ebenso großer Anstrengung. Dafür brauchen die Wissenschaftler ein kreatives Umfeld. Die Grundlage hierfür bilden die anstehenden strategischen Entscheidungen. Sie bestehen aus den drei Säulen der experimentellen, klinisch-orientierten und theoretischen Infektionsforschung. Mit ihrer Etablierung wird es uns gelingen, dass die Ergebnisse der GBF-Grundlagenforschung in Zukunft viel besser dazu beitragen, klinische Probleme zu lösen, mit denen Ärzte täglich konfrontiert sind.

- Die experimentelle Infektionsforschung ist an der GBF gut etabliert – sie muss in den kommenden Jahren aber noch weiter ausgebaut werden.
- Für die klinisch orientierte Infektionsforschung bietet die Partnerschaft mit der Medizinischen Hochschule Hannover und die gemeinsame Gründung des Zentrums für experimentelle und klinische Infektionsforschung einen guten Ausgangspunkt.
- Mit dem Aufbau einer theoretischen Biologie kann die GBF eine Vorreiterrolle in der Infektionsforschung übernehmen: Die GBF wird damit einen Beitrag dazu leisten, dass vor dem Versuch an der „Bench“ die datenbasierte Vorhersage steht.

Diese Überlegungen wollen wir in die Gesundheitsforschung der Helmholtz-Gemeinschaft einbringen. Nur wenn wir mit den anderen Gesundheitsforschungszentren, dem DKFZ, dem MDC und der GSF, gemeinsam strategisch vorgehen, haben wir die Chance, international wettbewerbsfähig zu sein. Genauso wichtig ist es aber, den Blick frei zu haben für unsere unmittelbaren Nachbarn. Große Bedeutung kommt dabei der Technischen Universität Braunschweig (TU) zu: Um in der theoretischen Biologie konkrete Ergebnisse zu erzielen, muss es zu einem regen Austausch zwischen Biologie und Ingenieurwissenschaften kommen. In beiden Feldern ist die TU stark – wir brauchen starke Partner. Nur wenn wir eng mit ihnen zusammen arbeiten, können Strategie und Kreativität der GBF-Wissenschaftler auch in Zukunft zu wissenschaftlichem Erfolg führen.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Rudi Balling', written in a cursive style.

Rudi Balling



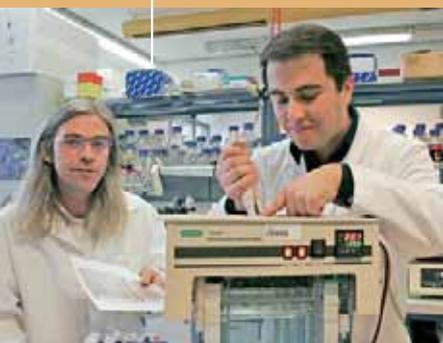
ERGEBNISBERICHT

FOKUS BERICHTE AUS DER FORSCHUNG



Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Dr. Jo Schilling (rechts) im Interview mit Prof. Dr. Rudi Balling, GBF (Mitte) und Prof. Dr. Dieter Bitter-Suermann, MHH (links). | Priv.-Doz. Dr. Dietmar Pieper, Koordinator des internationalen BIOTOOL Forschungsprojekts, diskutiert die nächsten Forschungsexperimente mit Dr. Howard Junca aus seiner Arbeitsgruppe. | Prof. Dr. Singh Chhatwal analysiert Agarplatten auf orale Streptokokken.

Fotos: GBF, Hans (li), GBF, Sierigk (mi), GBF, Ammerpohl (re)



08

AUS DEM LABOR IN DIE KLINIK:
GBF UND MHH GRÜNDEN GEMEINSAM
EIN TRANSLATIONS-ZENTRUM
*EIN INTERVIEW MIT PROF. DR. RUDI BALLING UND
PROF. DR. DIETER BITTER-SUERMAN*

12

GBF-HIGHLIGHTS 2004/2005



Aus dem Labor in die Klinik: GBF und MHH gründen gemeinsam ein Translations-Zentrum

INTERVIEW MIT | Prof. Dr. Dieter Bitter-Suermann (Präsident, MHH) und
Prof. Dr. Rudi Balling (Wissenschaftlicher Geschäftsführer, GBF)

- Die Weichen sind gestellt: Die GBF und die Medizinische Hochschule Hannover gründen ein gemeinsames Forschungszentrum. Ziel des „Zentrums für experimentelle und klinische Infektionsforschung“ ist eine Verzahnung der Forschungskompetenzen in neuer Qualität. Translation – die schnelle Übertragung von Grundlagenergebnissen in die Klinik – verspricht der Schlüssel zu einer effizienteren Medizin zu werden. Unter dem Dach des 2006 frei werdenden Gebäudes des Max-Planck-Institutes für Experimentelle Endokrinologie soll ein Schmelztiegel entstehen, der neue Konzepte für den Umgang mit Infektionen hervorbringt.

Infektionsforschung ist ein Schwerpunkt der Region Braunschweig-Hannover. GBF und MHH arbeiten gemeinsam eng an infektionsbiologischen Fragestellungen. Weshalb etablieren Sie jetzt das „Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung“?

- Dieter Bitter-Suermann:** Es ist notwendig, um zwei Forschungskulturen – zwei Richtungen – zusammen zu bringen. Reine Grundlagenforschung zum Thema Infektionskrankheiten muss einen stärkeren Bezug zur Medizin gewinnen und zur Anwendung am Patienten führen.



- Reine Grundlagenforschung zum Thema Infektionskrankheiten muss einen stärkeren Bezug zur Medizin gewinnen und zur Anwendung am Patienten führen.

Fotos: GBF, Hans

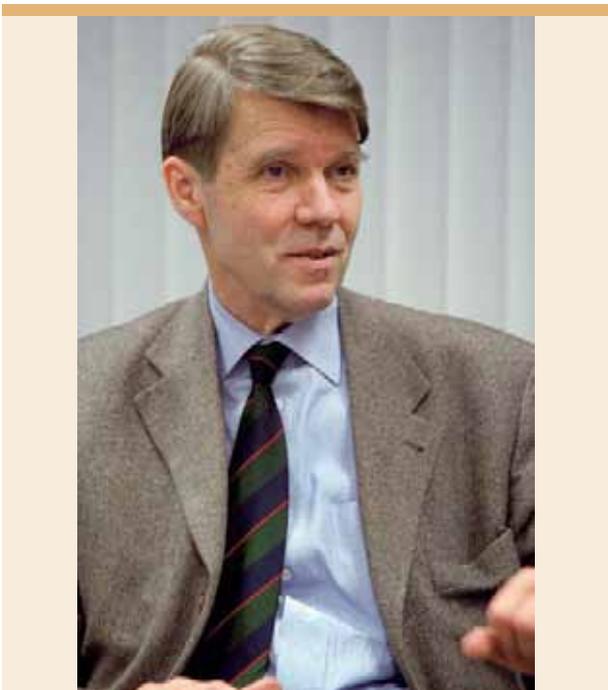
- Rudi Balling:** Diesen Prozess nennen wir Translation. Sie weist in beide Richtungen: Medizinisches Know-how und der Umgang mit Patienten werfen Fragen beim Arzt auf, die die Grundlagenforschung beantworten kann. Aber: Die Grundlagenforschung muss die Fragen kennen. Was sind die Probleme in der Medizin, die die Forschung angehen sollte? Wenn der Dialog funktioniert, dann kann Grundlagenforschung medizinische Forschung und damit medizinische Anwendung positiv beeinflussen.
- Dieter Bitter-Suermann:** Und es gibt noch eine zusätzliche Komponente. An der MHH betreiben wir klinische Forschung und Grundlagenforschung. Aber was uns an der MHH fehlt, ist das, was die Helmholtz-Zentren neben dem wissenschaftlichen Know-how zur Verfügung stellen können: Plattformtechnologien.



- Medizinisches Know-how und der Umgang mit Patienten werfen Fragen beim Arzt auf, die die Grundlagenforschung beantworten kann.

Medizinische Forschung ist erfolgreich ...

- **Dieter Bitter-Suermann:** ... aber sie könnte besser funktionieren. Durch das Translations-Zentrum werden wir einen Synergieeffekt erzielen, den wir für die Infektionsforschung brauchen. Alleine ist jede unserer Einrichtungen gut, aber zusammen werden wir Spitze sein.



- *Durch das Translations-Zentrum werden wir einen Synergieeffekt erzielen, den wir für die Infektionsforschung brauchen.*

Wann startet das „Projekt Translations-Zentrum“?

- **Dieter Bitter-Suermann:** Ein Vorläufer existiert bereits. Wir haben im Oktober 2003 das „Zentrum für Infektionsbiologie“ gegründet. Dieses Zentrum hat zwar noch keine eigenen Räume, der darin integrierte Promotionsstudiengang ist aber bereits real. In dem Moment, in dem das Max-Planck-Institut für experimentelle Endokrinologie aus seinem jetzigen Gebäude ausgezogen ist, wird das reale Zentrum dort aufgebaut. Und dann ist es nicht mehr nur das „Zentrum für Infektionsbiologie“, sondern das „Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung.“

Wenn das Translations-Zentrum Realität wird, besteht dann nicht die Gefahr, dass es nur ein dritter Ort in der Region ist, an dem Infektionen erforscht werden?

- **Rudi Balling:** Nein, wir bringen Kompetenzen, die eben räumlich getrennt sind, unter ein Dach. Das Gebäude, in dem sich im Moment noch das Max-Planck-Institut für experimentelle Endokrinologie befindet, liegt direkt neben dem Campus der MHH und ist von Braunschweig aus schnell und gut zu erreichen. Die Region wächst zusammen. Wir vollziehen diesen Schritt jetzt in der Infektionsforschung und schaffen damit einen Markennamen, etwa „Infektionsforschung aus Niedersachsen“. Im Umfeld des Zentrums haben wir schon jetzt vier gemeinsame Sonderforschungsbereiche, mehrere gemeinsam arbeitende Forschergruppen und ein europäisches Graduiertenkolleg, das auch von der Europäischen Union gefördert wird.

Und es gibt bereits etliche Wissenschaftler, die sowohl an der GBF als auch an der MHH arbeiten. Wir verbinden also die infektionsbiologische Grundlagenwissenschaft, die sowohl an der GBF als auch an der MHH etabliert ist, mit der Erfahrung der MHH in der klinischen Infektionsforschung. Grundlagenforscher und Kliniker werden im neuen Zentrum einen viel intensiveren gedanklichen Austausch haben, weil sie öfter miteinander sprechen, sei es im Labor oder in der Cafeteria. Dann fühlen sie sich auch für die Projekte gemeinsam verantwortlich. Beide Seiten, die jetzt noch in verschiedenen Welten leben, werden sich gegenseitig besser verstehen. Zusammen werden sie Projekte zum Erfolg führen, die von einer Disziplin allein nicht bewerkstelligt werden könnten.



- *Grundlagenforscher und Kliniker werden im neuen Zentrum einen viel intensiveren gedanklichen Austausch haben, weil ... beide Seiten ... sich gegenseitig besser verstehen ... werden sie Projekte zum Erfolg führen, die von einer Disziplin allein nicht bewerkstelligt werden könnten.*



Es gibt zwei ganz klar definierte Ziele in der Infektionsforschung: Die Entwicklung neuer Vakzine und Antiinfektiva. Aber diese erreichen wir nur, wenn wir die Grundlagen – die Mechanismen, die im Verlauf von Infektionen und im Rahmen einer antiinfektiven Therapie oder Vakzination, also Schutzimpfung, ablaufen – verstehen. Und das kann man eben nur gemeinsam machen.

Welche inhaltlichen Schwerpunkte setzen Sie im Translations-Zentrum?

- **Rudi Balling:** Die Themen sind natürlich durch den medizinischen Bedarf beeinflusst. Wir von der GBF zum Beispiel haben genau hingehört, wo die Transplantationsmediziner Probleme mit Infektionen haben. Solche Themen, die aus dem klinischen Alltag kommen, werden im Forschungsumfeld der MHH formuliert und durch den Dialog an uns herangebracht. Gemeinsam werden wir dann die herausuchen, von denen wir denken, dass wir zusammen einen Beitrag zur Lösung beisteuern können.



- *Themen, die aus dem klinischen Alltag kommen, werden im Forschungsumfeld der MHH formuliert Gemeinsam werden wir dann die herausuchen, von denen wir denken, dass wir zusammen einen Beitrag zur Lösung beisteuern können.*

- **Dieter Bitter-Suermann:** Wir orientieren uns an dem, was an der GBF und der MHH schon an Forschungsthemen behandelt wird und suchen nach den Lücken. Was könnte die Themen, die wir schon gut bearbeiten, ergänzen? Was fehlt uns an Know-how? Und wir haben jetzt erst einmal Themen vorgeschlagen, die in Deutschland nicht oder nur schwach vertreten sind, um die Sonderrolle dieses Zentrums zu festigen.

... und können Sie Beispiele nennen?

- **Dieter Bitter-Suermann:** Mit überdauernden, also persistenten und chronischen Infektionen beschäftigen wir uns bisher nur im Zusammenhang mit Listerien. Aber an den grundlegenden Mechanismen von Persistenz forschen wir bislang nicht. Das wäre ein Thema für das Translations-Zentrum. Ebenso wie Antibiotika-Resistenz und Multiresistenz. Oder ein anderes Thema ist die Biofilmbildung, also die Fähigkeit von pathogenen Mikroorganismen, auf körperfremden und körpereigenen Oberflächen praktisch eigene Staaten zu bilden und sich gegen Abwehrmechanismen abzugrenzen. Sie ist sowohl vom medizinischen Standpunkt, als auch aus Sicht der Grundlagen hochinteressant. Dagegen gibt es bisher kein Mittel. Zu verstehen, wie diese Signalweitergaben in den bakteriellen Lebensgemeinschaften funktionieren, das ist etwas Hochspannendes, was man intensiver angehen sollte.

Wenn solche Fragestellungen von GBF und MHH gemeinsam angegangen werden sollen ...

- **Dieter Bitter-Suermann:** ... dann ist der entscheidende Punkt, Kliniker mit den Methoden der Grundlagenforschung in Kontakt zu bringen, damit die medizinische Forschung weiterkommt.



- *...dann ist der entscheidende Punkt, Kliniker mit den Methoden der Grundlagenforschung in Kontakt zu bringen, damit die medizinische Forschung weiterkommt.*

- **Rudi Balling:** Und das geht nicht ohne Zusammenarbeit mit den Grundlagenforschern. Die Kliniker können, wenn sie ihre medizinischen Probleme lösen müssen, im neuen Zentrum schnell auf diejenigen zugehen, die die nötigen Methoden beherrschen. Gelöst werden die Probleme dann gemeinsam.

Sie haben jetzt fünf Themen vorgeschlagen, die im Zentrum bearbeitet werden können – genetische Suszeptibilität, molekulare Mykologie, Biofilme, Infektionen und Krebs, Persistenz/chronische Infektionen. Welche sind vordringlich?

- **Dieter Bitter-Suermann:** Das hängt von Personen ab. Wenn wir anfangen – das ist meine Vorstellung – nach den Köpfen für die zentralen Positionen zu suchen, dann müssen wir einfach die Wissenschaftslandschaft durchmustern und überlegen, wen wir gerne im Zentrum haben möchten. Es wird zwei konstante Abteilungen geben, alles andere werden drittmittelgeförderte Projekte sein. Nachwuchsgruppen, die für einige Jahre dort arbeiten und dann wieder gehen. Bis auf die zwei Abteilungsleiter soll niemand dort fest etabliert sein, sondern es muss wirklich ein regelmäßiger Wechsel stattfinden. Zwei feste Abteilungen müssen sein, denn wo viele Doktoranden, Graduiertenkollegs und Nachwuchsgruppen arbeiten, muss es eine Konstante geben, die organisatorische Aufgaben übernimmt und die Lehre gewährleistet. Deswegen ist angedacht, dass dort eine Abteilung für grundlagenorientierte Infektionsforschung und eine für klinisch orientierte Infektionsforschung angesiedelt sein soll. Das sind sozusagen die beiden tragenden Säulen.

Und wie wird das Zentrum finanziert?

- **Dieter Bitter-Suermann:** Die Finanzierung und der Kauf des Gebäudes werden von der GBF gemeinsam mit der Helmholtz-Gemeinschaft getragen. Die Dauerfinanzierung der laufenden Kosten werden wir, ebenso wie die Berufungen, teilen.

Wie passt so ein neues Zentrum zum Sparkurs an der MHH?

- **Dieter Bitter-Suermann:** Wenn wir nur sparen, sparen wir uns kaputt. Wir haben ein Strukturpaket geschnürt, das am Ende abbaut und erlaubt, in der Spitze zu fördern.

- **Rudi Balling:** Und die Infektionsforschung hat mit die besten Noten an der MHH bekommen ...

Und wann ist das „Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung“ betriebsbereit?

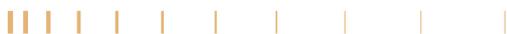
- **Rudi Balling:** Die Vorbereitungen laufen. Das Forschungsprogramm wird jetzt entwickelt, das Gebäude wird gekauft. Ende 2006 ist es bezugsfertig. Im Vorfeld, schon zu Beginn des Jahres 2006, werden wir mit den Berufungen beginnen. Anfang 2007 kommt dann Leben in das neue Zentrumsgebäude.



Foto: Max-Planck-Gesellschaft

- *Das Forschungsprogramm befindet sich derzeit in der Entwicklung und über die Übernahme des Gebäudes wird verhandelt.*

Dr. Jo Schilling schreibt als freiberufliche Wissenschaftsjournalistin für nationale und internationale Zeitungen, Magazine und Radiosender. Sie ist auf biotechnologische, medizinische und chemische Themen spezialisiert.



GBF-Highlights 2004/2005

AUTOR | Manfred Braun | Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

Internationale Elite-Doktoranden an der GBF Hoch qualifizierter Forschernachwuchs aus aller Welt erhält jetzt in Braunschweig den besonderen Schliff. Seit Herbst 2004 koordiniert die GBF das EU-Eliteförderungsprogramm „Miditrain“. Gemeinsam mit der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) bildet sie zwölf Doktoranden zu qualifizierten Infektionsforschern aus. Die Doktoranden wurden aus 250 Bewerbern ausgewählt. In den kommenden Jahren werden sie in Projekten an der GBF untersuchen, welche molekularen Waffen Krankheitserreger gegen uns richten, wie das Immunsystem sich gegen sie wehrt und wie man sie durch Impfung oder Medikamente bekämpfen kann. Die EU unterstützt „Miditrain“ – die erste Worthälfte steht für „Molecular Interactions during Infection“ – aus den Mitteln ihres wissenschaftlichen Ausbildungsprogramms „Marie Curie Actions“ mit rund zwei Millionen Euro. (Herbst 2004)



- Drei GBF-Tutoren des Miditrain-Programms: Dr. Hansjörg Hauser (li), Dr. Siegfried Weiß (mi) und Dr. Andreas Lengling.

Foto: GBF, Ammerpohl



- Prof. Dr. Hans Reichenbach (li) und Prof. Dr. Gerhard Höfle (re) wurden mit dem Karl Heinz Beckurts-Preis ausgezeichnet.

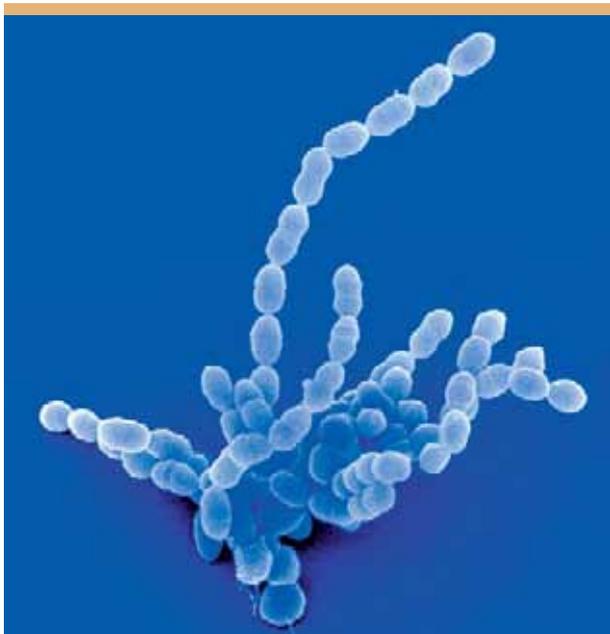
Foto: GBF, Hübner

Beckurts-Preis für Krebsmedikament Mit dem renommierten Karl Heinz Beckurts-Preis sind im Dezember zwei GBF-Wissenschaftler geehrt worden. Der Mikrobiologe Prof. Dr. Hans Reichenbach und der Chemiker Prof. Dr. Gerhard Höfle nahmen die Auszeichnung bei einem Festakt in der Münchner Residenz entgegen. Die Juroren der Karl Heinz Beckurts-Stiftung würdigten damit, wie es in einer Mitteilung der Stiftung heißt, die „exzellenten Arbeiten in der Naturstoffforschung“, die Reichenbach und Höfle in den zurückliegenden Jahrzehnten geleistet haben.

Seit den siebziger Jahren erforschen die beiden Braunschweiger Wissenschaftler die Biologie und Chemie der Myxobakterien. Diese im Boden lebenden Bakterien erregten das Interesse der Wissenschaft, weil sie eine Vielzahl besonderer chemischer Verbindungen bilden. Zahlreiche dieser Stoffe haben interessante biologische Eigenschaften – etwa das Epothilon, das sich zur Krebsbekämpfung eignet und derzeit in klinischen Studien getestet wird. (Dezember 2004)

Tödliche Karies-Erreger Bakterien vom Typ der so genannten Oralstreptokokken, die in der menschlichen Mundhöhle leben, lösen nicht nur Karies aus, sondern manchmal auch weit schlimmere Erkrankungen bis hin zur Herzklappenentzündung. Ein neues Forschungsprojekt, gefördert durch die Helmholtz-Gemeinschaft, wird diese Erreger jetzt genau unter die Lupe nehmen – und Ansätze für mögliche Gegenmaßnahmen entwickeln. An dem Vorhaben beteiligen sich die GBF, die Universität Kaiserslautern und das Klinikum der Universität Leipzig. Koordiniert wird es von Prof. Dr. Singh Chhatwal, Leiter der GBF-Abteilung für Mikrobielle Pathogenität und Impfstoffforschung.

Oralstreptokokken sind in erster Linie an der Bildung von Plaque und Karies an den Zähnen beteiligt. Wenn sie jedoch in den Kreislauf eindringen, etwa durch Verletzungen, können sie zu einer Blutvergiftung führen. Gelangen sie über die Blutbahn an andere Stellen des Körpers, verursachen die Keime Abszesse in Hals, Lunge und Leber, oder sogar lebensbedrohliche Herzklappenentzündungen. (November 2004)



● *Orale Streptokokken*

Foto: GBF, Dr. Rohde



● *Dr. Holger Ziehr, Leiter der GMP-Gruppe, mit dem GMP-Zertifikat.*

Foto: GBF, Hübner

Umfassende GMP-Erlaubnis Für die Herstellung von Arzneimittel-Wirkstoffen für klinische Tests haben die Wissenschaftler der GBF im Herbst 2004 eine sehr weit gefasste Genehmigung erhalten. Erteilt wurde diese Zulassung von Prüfern des Bundesamtes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) und der Bezirksregierung Braunschweig. Demnach darf die GBF künftig, wie es im Wortlaut des Schreibens heißt, „rekombinante Nukleinsäuren und Proteine aus Mikroorganismen und Zellkulturen“ nach dem arzneimittelrechtlich festgelegten Standard der „Good Manufacturing Practice“, kurz GMP, herstellen. Die Genehmigung umfasst einen Großteil aller Substanzen von medizinischem Interesse, die sich mit den Methoden der Biotechnologie produzieren lassen, und ist unabhängig von Anwendung und Wirkmechanismus. Bis dahin musste die GBF für jeden Wirkstoff, den sie nach den strengen GMP-Richtlinien produzieren wollte, eine neue Herstellungserlaubnis beantragen. (Herbst 2004)

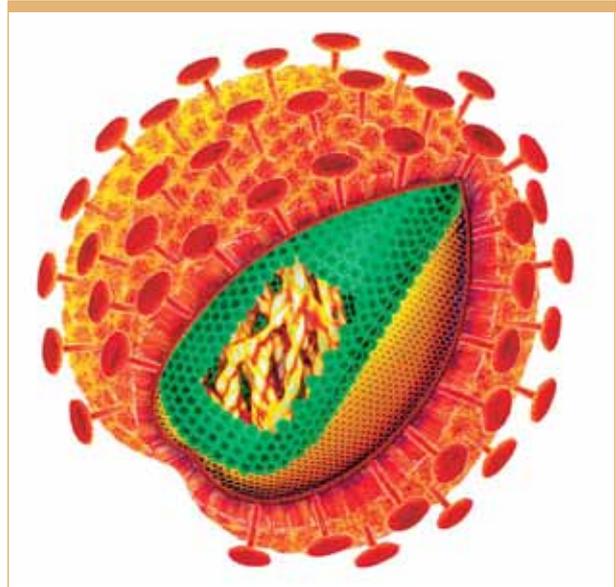
GBF erwirbt BioTec-Gründerzentrum Die GBF hat von der Stadt Braunschweig das BioTec-Gründerzentrum auf dem Campus gekauft. In einem Vertrag zwischen der Struktur-Förderung Braunschweig GmbH (SFB) und der GBF sicherten die Partner auch die zukünftige Unterstützung für Gründerfirmen: Weiterhin stehen in dem Gebäude Flächen für Biotech-Startups zur Verfügung.

Das Gründerzentrum war im September 2002 fertig gestellt worden, jedoch konnten nur wenige Flächen dauerhaft vermietet werden. Neben einer besseren Auslastung und Belebung des Campus ergeben sich auch für die GBF Vorteile: Einige ihrer Gebäude sind stark sanierungsbedürftig – durch den Erwerb des Gründerzentrums erspart sich die GBF einen teuren und zeitaufwändigen Neubau. In das Gebäude werden verschiedene GBF-Forschungsgruppen einziehen, zum Beispiel die Strukturbiologie und die Instrumentelle Analytik. (Sommer 2004)



● Das BioTec-Gründerzentrum gehört jetzt zur GBF.

Foto: GBF, Garbe



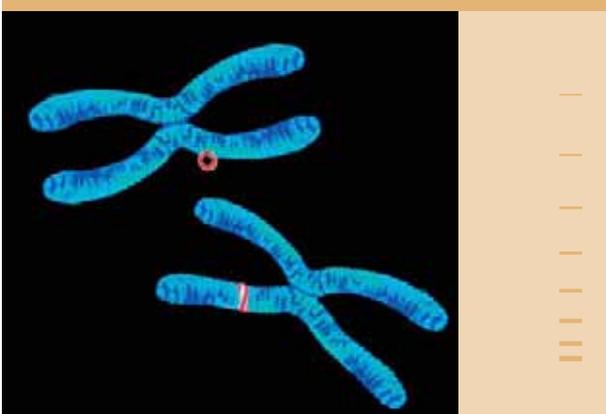
● Schematischer Aufriss eines HIV-Virus.

Grafik Design: GBF, Meyer

Mit Kombi-Impfstoffen gegen AIDS Mit neuartigen Kombinations-Impfstoffen wollen Wissenschaftler versuchen, den AIDS-Erreger zu besiegen. Forschungslabore aus sieben Ländern in Europa und Afrika – unter ihnen eine Arbeitsgruppe der GBF – haben sich mit diesem Ziel im „AIDS Vaccine Integrated Project“, kurz AVIP zusammengeschlossen. Die Europäische Union unterstützt das multinationale Projekt mit 10 Millionen Euro. Koordinatorin von AVIP ist Prof. Dr. Barbara Ensoli vom Istituto Superiore de Sanità in Italien.

Gegen den Erreger HIV wollen die AVIP-Forscher mit einem Impfstoff vorgehen, der sowohl strukturelle als auch regulatorische Virus-Bestandteile enthält – also Bausteine von HIV ebenso wie Moleküle, die seinen Vermehrungszyklus und das An- und Abschalten seiner Gene steuern. „Gegen all diese Komponenten soll der menschliche Körper dann eine Immunabwehr aufbauen“, erklärt Prof. Dr. Carlos Alberto Guzmán, Leiter der Arbeitsgruppe Impfstoffforschung an der GBF. „Eine solche Impfung könnte vorbeugend, aber auch therapeutisch wirken.“ (Juli 2004)

Gentherapie: Suche nach dem sanften Weg Angeborene Krankheiten heilen durch das Einbringen funktionsfähiger Gene in den Körper: Diesem als „Gentherapie“ bekannten Ansatz wollen Forscher aus Deutschland, England und den Niederlanden gemeinsam mit einem neuen Wirkprinzip zum Durchbruch verhelfen. Das Forscher-Netzwerk, an dem sich auch GBF-Arbeitsgruppenleiter Prof. Dr. Jürgen Bode beteiligt, wird dazu einen bestimmten Typ von DNA-Elementen, die so genannten Episomen, für die Anwendung weiterentwickeln. Die Europäische Union unterstützt das „Epi-Vektor-Programm“ mit Fördermitteln.



- Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung von 2 Chromosomen (blau). Innerhalb der Chromosomen ist die DNA dicht um Proteine gewickelt. Fremde DNA-Elemente (rot) können auf verschiedenen Wegen mit einem Chromosom kombinieren. Einige werden in gleicher Weise zu integralen Bestandteilen des Chromosoms (untere Hälfte der Abbildung). Episomen (obere Hälfte der Abbildung) verhalten sich anders, da diese ringförmigen DNA-Moleküle sich selbst an die Außenseite von bestimmten chromosomalen Transportstrukturen anheften. Der Vorteil ist dabei, dass die Gene innerhalb der Wirtschromosomen nicht beschädigt werden. Aus diesem Grund suchen Wissenschaftler nun nach neuen Wegen für den Einsatz von Episomen in der Gentherapie.

Grafik Design: GBF, Meyer

Episomen sind DNA-Elemente, die nicht in der Erbsubstanz der Wirts-DNA verankert sind. Sie heften sich nur an bestimmte Stützstrukturen des Zellkerns an. Ihre Information wird gemeinsam mit der der Chromosomen abgelesen, und gemeinsam mit den Chromosomen werden sie bei jeder Zellteilung vervielfältigt. Ob sich Episomen für eine schonendere Form der Gentherapie eignen könnten, wollen die Forscher des Epi-Vektor-Projekts jetzt herausfinden. (Sommer 2004)

Menschliches Genom vollständig entschlüsselt Der Mensch hat weniger Gene, als die Forschung ursprünglich vermutet hatte: Statt 30 000 bis 40 000 aus früheren Schätzungen, sind es nur rund 20 000 bis 25 000. Diese überraschende Erkenntnis veröffentlichten die 20 am internationalen Humangenom-Projekt beteiligten Forschungszentren in einem Artikel der Fachzeitschrift „Nature“, in dem die nahezu vollständige Sequenz des menschlichen Genoms vorgestellt wurde. Die Nature-Publikation vom Oktober 2004 bildet den Abschluss der Forschungsarbeiten des Deutschen Humangenom-Projekts, an denen auch die Abteilung Genomanalyse der GBF unter der Leitung von Dr. Helmut Blöcker maßgeblich beteiligt war. Eine erste Rohfassung der menschlichen Genomsequenz war bereits 2001 vorgestellt worden und hatte damals für erhebliches Medienecho gesorgt.

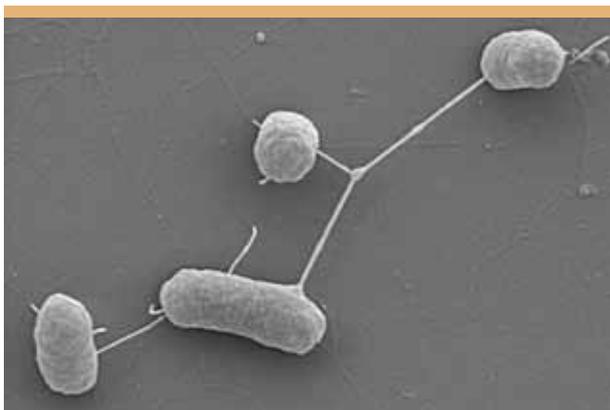
Neben der systematischen Analyse weiterer Genome wird sich Dr. Blöckers Abteilung künftig verstärkt der Untersuchung von Funktionen einzelner Gene sowie bioinformatischen Methoden zur Analyse von Genomen widmen. (Oktober 2004)

Internationale Maus-Genom Konferenz Experten der Säugetier Genomforschung aus aller Welt trafen sich im November 2003 für vier Tage in Braunschweig zur 17. Internationalen Maus-Genom Konferenz. Das Hauptthema der Konferenz, die Mausgenetik, entwickelt sich zu einem immer wichtigeren Gebiet der medizinischen Forschung, da die Maus inzwischen zu einem etablierten Modellorganismus für die Analyse von Krankheiten und Validierung von Medikamenten geworden ist. Das Treffen wurde gemeinsam von der Internationalen Gesellschaft für Säugetiergenetik (IMGS) und der GBF, dessen wissenschaftlicher Leiter, Prof. Dr. Rudi Balling, Vorgängerpräsident der IMGS war, durchgeführt. (November 2003)

EHEC-Experte ausgezeichnet Für neue Erkenntnisse über die Gefahren, die von dem Lebensmittelkeim EHEC ausgehen, ist der GBF-Wissenschaftler Dr. Andreas Matussek mit dem Promotionspreis der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) ausgezeichnet worden.

EHEC-Bakterien werden meist mit verunreinigter Nahrung aufgenommen. Nach einer Infektion erkranken insbesondere Kinder häufig. Schuld daran ist ein Zellgift, das Shiga-Toxin, das in zwei Varianten vorkommt. Die EHEC-Bakterien geben das Toxin in den Darm ab.

Mittels moderner Nachweismethoden untersuchte Matussek in seiner Doktorarbeit den Einfluss von Shiga-Toxinen auf die Genregulation in menschlichen Gefäßwandzellen. Ergebnis seiner Beobachtungen: Das Gift löst offenbar in den menschlichen Gewebezellen eine Abfolge von entzündungsähnlichen Reaktionen aus, deren Heftigkeit den Körper schwer schädigt. Matusseks Promotion wurde gemeinsam von der GBF und der MHH betreut. (April 2004)



- Elektronenmikroskopische Aufnahme des EHEC-Bakteriums vom Serotyp O157:H7.

Foto: GBF, Dr. Rohde

Biotech-Training für Forscher aus Asien 22 junge Wissenschaftler aus Südostasien nahmen im Mai 2004 an einem sechswöchigen Kurs an der GBF teil – vom Biomediziner aus Thailand über die Umweltbiologin aus Vietnam bis zum Agrarbiologen aus Laos. Die Seminarreihe mit dem Titel „Modern Industrial Biotechnology“ informierte sie ausführlich über aktuelle Forschungsmethoden. Auf dem Programm standen zahlreiche Vorlesungen, Laborbesichtigungen, Demonstrationen und Exkursionen.

Der jährlich stattfindende Kurs in Braunschweig ist fester Bestandteil eines einjährigen Trainingsprogramms und dient der Förderung von wissenschaftlichen und industriellen Kooperationen zwischen Deutschland und Südostasien.

Organisatoren sind neben der GBF die Zentralstelle für Arbeitsvermittlung (ZAV), die niedersächsische BioRegion und die Internationale Weiterbildung und Entwicklung gGmbH (InWent). (Mai 2004)



- Die 22 Teilnehmer aus fünf ASEAN-Ländern des Kurses „Einführung in die Industrielle Biotechnologie“ während eines Rundgangs durch die GBF zusammen mit dem Kurs-Koordinator, Prof. Dr. Rainer Jonas.

Foto: GBF

Büssing-Preis für B-Zell-Forscher Spezialisierte Zellen des Immunsystems halten ständig Antikörper gegen einige typische Bestandteile von Bakterien und Viren auf Vorrat – wie Pfeile im Köcher. Welche Antikörper sie vorproduzieren sollen, „lernen“ diese Abwehrzellen vermutlich in der Milz: Hinweise darauf fand der Wissenschaftler Karsten Kretschmer, der mittlerweile in den USA tätig ist, im Rahmen seiner Doktorarbeit an der GBF. Für seine Forschungsarbeit über die B1-Zellen, die „erste Verteidigungslinie“ des Immunsystems, erhielt Kretschmer den mit 4 000 Euro dotierten Heinrich-Büssing-Preis der Stiftung zur Förderung der Wissenschaften an der Technischen Universität Braunschweig. (Juni 2004)



- Dr. Karsten Kretschmer (3. von rechts) zusammen mit seinem Betreuer Dr. Siegfried Weiß (2. von rechts), nach der Übergabe des Heinrich-Büssing-Preises.

Foto: TU Braunschweig

Schnellprognose für verschmutzte Standorte Die Analyse von bakteriellen Genen und Proteinen soll künftig schnell und zuverlässig Auskunft über die Selbstreinigungsaktivität von verschmutzten Standorten geben. Die Methoden für solche Untersuchungen zu entwickeln, ist die Aufgabe von „Biotool“, einer länderübergreifenden Forschungskoooperation von neun Laboren aus Deutschland, Spanien, Tschechien, Dänemark und der Schweiz. Koordinator des Projekts ist der GBF-Wissenschaftler Priv.-Doz. Dr. Dietmar Pieper.

Mit Hilfe von molekularen Indikatoren wollen die Projektpartner frühzeitig die Frage beantworten: Werden die Bakterien imstande sein, die Schadstoffe am untersuchten Standort abzubauen? Die dabei entwickelten Schnelldiagnose-Verfahren sollen zu einem besseren Verständnis der Aktivität und Anpassungsfähigkeit bakterieller Lebensgemeinschaften führen. Die Europäische Union unterstützt das Vorhaben mit 1,8 Millionen Euro. (Herbst 2004)

Wenn Bakterien hartnäckig haften: Fachtagung „Biofilme“ Sie verursachen schwere Dauerinfektionen, setzen sich auf medizinischen Implantaten fest, verstopfen Durchflussleitungen in Fabriken: Biofilme aus Bakterien, die sich auf Oberflächen anlagern können, sind ein Phänomen, das die Forschung erst allmählich zu verstehen beginnt. Bei der Tagung „Biofilm – Prevention of Microbial Adhesion“ tauschten Experten aus dem In- und Ausland aktuelle Erkenntnisse zu diesem facettenreichen Thema aus. Der Fachkongress fand vom 31. März bis 2. April 2004 in Osnabrück statt, Veranstalter waren – neben der GBF – die Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU) und die Universität Duisburg-Essen. Eine zentrale Rolle spielte dabei auch die sehr praxisnahe Frage, wie man die Biofilm-Bildung von vorneherein verhindern kann – etwa mit Hilfe neuartiger Oberflächen-Materialien, die die Anheftung von Bakterien erschweren. (April 2004)



- Eine Veranschaulichung, wie der Schnelltest für verschmutzte Biotope nach seiner Entwicklung arbeiten könnte.

Foto und Collage: GBF, Klimek



- Vier von sieben Mitgliedern des Vorstands des neugegründeten „Verbund biowissenschaftlicher und biomedizinischer Gesellschaften e.V.“ (vbbm): Prof. Dr. Harald Labischinski, Bayer AG, Wuppertal, Beisitzer (links), Prof. Dr. Rudi Balling, GBF, Präsident (2. von links), Prof. Dr. Angelika Noegel, Institut für Biochemie I, Universität Köln, Vizepräsidentin (2. von rechts), Prof. Dr. Walter Rosenthal, Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie, Berlin-Buch, Schatzmeister (rechts).

Foto: GBF, Gazlig

Eine Lobby für die Lebenswissenschaften Dreizehn Fachgesellschaften aus der Life Science-Forschung haben sich im Frühjahr 2004 in einem deutschen Dachverband für die Lebenswissenschaften zusammengeschlossen. Der „Verbund biowissenschaftlicher und biomedizinischer Gesellschaften“ (vbbm) vertritt jetzt ihre gemeinsamen Interessen in Politik und Gesellschaft. Erster Präsident des vbbm ist GBF-Geschäftsführer Prof. Dr. Rudi Balling. Zu seinen Stellvertretern wählten die Mitgliedsgesellschaften bei ihrer Gründungsversammlung in Kassel Prof. Dr. Angelika Noegel und Prof. Dr. Ernst Rietschel. Bereits die Gründungsgesellschaften des vbbm repräsentierten rund 17 000 Biowissenschaftler, bis März 2005

war ihre Zahl auf mehr als 25 000 angewachsen. Bislang seien Biowissenschaftler und Biomediziner auf mehr als 70 einzelne Fachgesellschaften aufgesplittert gewesen, erklärt Balling – „eine effektive Lobbyarbeit für den Life Science-Forschungsstandort Deutschland war uns so nicht möglich.“ Balling verweist auf die erfolgreichen Interessenvertretungen anderer Wissenschaftsdisziplinen, etwa der Physik und Chemie: „Das Vorbild der Deutschen Physikalischen Gesellschaft zeigt uns, wie schlagkräftig ein Verband arbeiten kann.“ (März 2004)

Treffen von Mikrobiologen aus aller Welt Experten aus zahlreichen Ländern, von den USA über Japan bis hin zu Irland und Dänemark, haben sich im März 2004 in Braunschweig versammelt, um neue Erkenntnisse in der Bakterienforschung auszutauschen. Zur Jahrestagung der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM) begrüßte die Technische Universität Braunschweig rund 1000 Besucher. Im Mittelpunkt des Fachkongresses stand unter anderem der Einsatz von Computermodellen in Biotechnologie und Infektionsforschung. In der VAAM, dem führenden Mikrobiologen-Verband Deutschlands, sind rund 2 000 mikrobiologisch forschende Wissenschaftler zusammengeschlossen. Die Organisation des diesjährigen Kongresses übernahmen – neben der VAAM – fünf wissenschaftliche Einrichtungen aus Braunschweig, darunter die GBF und die DSMZ. (März 2004)

Peptid-Symposium an der GBF Mit einer besonders vielseitigen Klasse von Molekülen befasste sich im Februar/März 2005 eine Konferenz in den Räumen der GBF: Experten aus dem In- und Ausland trafen sich hier zum „7. Deutschen Peptid-Symposium“. Peptide eignen sich für zahlreiche medizinische Anwendungen, weil sie aus demselben Typ von Molekül-Bausteinen bestehen wie die in der Natur vorkommenden Proteine. Das Deutsche Peptid-Symposium findet seit 1993 alle zwei Jahre statt. Es ist ein Forum, das vor allem Nachwuchs-Forschern die Gelegenheit bietet, ihre Arbeit zu präsentieren und sich persönlich mit international anerkannten Experten auszutauschen. Das siebte Symposium, zu dem Gäste aus den USA und aus mehreren europäischen Ländern angereist waren, wurde von den GBF-Wissenschaftlern Dr. Ronald Frank und Dr. Jutta Eichler organisiert. (Februar 2005)



- Im Februar/März 2005 fand im GBF-FORUM das 7. Deutsche Peptid-Symposium statt.

Foto: GBF, Hans

Zweitausendster Kursteilnehmer im Schülerlabor

Das Biotechnologische Schülerlabor Braunschweig (BioS) konnte zu Beginn des Jahres 2004 den zweitausendsten Schüler begrüßen. Die BioS-Betreuerinnen überreichten Roland Bunte, einem Schüler des Braunschweiger Ricarda-Huch-Gymnasiums, und seinen Klassenkameraden aus diesem Anlass ein Stück Schoko-Marzipan-Gebäck, das optisch einem Elektrophorese-Gel zur DNA-Analyse nachempfunden war. Das BioS in den Räumen der GBF steht seit Frühjahr 2002 Schülern der Jahrgangsstufen 10 bis 13 offen. Es wird von den Gymnasiallehrerinnen Arntraud Meyer und Dr. Iris Eisenbeiser geleitet. Beide sind mit voller Stundenzahl freigestellt worden, um kontinuierlich Experimentalkurse für Lerngruppen mit bis zu 24 Schülern anzubieten. Im BioS können Schüler beispielsweise Lebensmittel mit biotechnologischen Methoden analysieren oder aus einer Haarprobe einen genetischen Fingerprint erstellen. (Januar 2004)



- Roland Bunte (Mitte) vom Ricarda-Huch-Gymnasium, Braunschweig, war der 2000. Kursteilnehmer im BioS Kurs-system. Die beiden Lehrerinnen, StR'in Dr. Iris Eisenbeiser und OstR'in Arntraud Meyer (beide rechts) übergaben ihm und seinen Klassenkameraden/innen eine spezielle Marzipan-schokoladentorte, während Roland Willems Glückwünsche von der Bezirksregierung überbrachte.

Foto: GBF, Ammerpohl



- Hannes Schlender (rechts), Biologe und Journalist, ist Leiter der Öffentlichkeitsarbeit der GBF. Manfred Braun, Biologe und Journalist, ist Pressesprecher der GBF und Anne Feldmann ist die Sekretärin der Öffentlichkeitsarbeit.

Foto: GBF, Hans

ERGEBNISBERICHT

FOKUS BERICHTE AUS DER FORSCHUNG



Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Raimo Franke lädt den Autosampler eines LC/MS-Geräts für die Analyse von synthetischen Peptiden. | Eine Maus des Inzuchtstammes C3H/HeN. | Phillip Hahn analysiert eine Mausmutante unter dem Stereoskop. Im Hintergrund diskutieren Ivonne Wegener (li) und Stefanie Schiebe (re) Arbeitsergebnisse. Fotos: GBF, Bierstedt



- 22 GESTORBEN, ABER NICHT VERGESSEN:
APOPTOTISCHE ZELLEN UND DAS
IMMUNSYSTEM
- 31 SYNTHETISCHE PEPTIDE ALS INHIBITOREN
VON PROTEIN-LIGAND-INTERAKTIONEN



Gestorben, aber nicht vergessen: Apoptotische Zellen und das Immunsystem

AUTOR | Dr. Andreas Lengeling | Nachwuchsgruppe Infektionsgenetik | ale@gbf.de

- Der programmierte Zelltod, auch als Apoptose bezeichnet, ist ein für die Entwicklung und Aufrechterhaltung eines vielzelligen Organismus lebenswichtiger Mechanismus. Hierunter versteht man den programmierten Selbstmord einer Zelle, der aktiv über verschiedene biologische Prozesse in Gang gesetzt werden kann, um geschädigte, funktionsuntüchtige oder alte Zellen im Körper zu entfernen. Die Apoptose stellt daher ein wichtiges Sicherheitssystem für den Organismus dar, sie findet über die gesamte Lebenszeit hinweg in fast allen Körpergeweben statt. Der letzte Schritt im Apoptoseprogramm ist die schnelle und effiziente Entfernung abgestorbener Zellen, noch bevor diese ihre Membranintegrität verlieren und sich ihr zellulärer Inhalt in das umgebende Gewebe ergießt. Die wichtigsten Zelltypen, die apoptotische Zellen aus dem Organismus beseitigen, sind Makrophagen – Fresszellen des angeborenen Immunsystems. Makrophagen beseitigen apoptotische Zellen durch einen Prozess, der als Phagozytose bezeichnet wird. Entscheidend für die Phagozytose apoptotischer Zellen ist, dass die Makrophagen bei diesem Prozess nicht immunologisch aktiviert werden und nachfolgend keine Entzündungsreaktionen im Körper auslösen können.

Deshalb ist die Beseitigung von apoptotischen Zellen durch Makrophagen mit einer Produktion und Ausschüttung starker entzündungshemmender und immunsupprimierender Botenstoffe verbunden. Kommt es zu Störungen bei der Beseitigung von apoptotischen Zellen, so kann dies schwerwiegende Konsequenzen für den Gesundheitszustand des Organismus haben. Deshalb ist es besonders wichtig, die molekularen Mechanismen der Phagozytose apoptotischer Zellen und der nachfolgenden Kontrolle von entzündlichen Reaktionen zu verstehen. Aus der Entschlüsselung zugrunde liegender Regulationsmechanismen ergeben sich neue Erkenntnisse für ein besseres Verständnis von Krankheitsprozessen bei Infektionen, Autoimmunerkrankungen, chronisch-entzündlichen Erkrankungen und Krebs. Diese Erkenntnisse können dann für die Entwicklung verbesserter Therapiemöglichkeiten für diese Erkrankungen genutzt werden.

Ein historischer Rückblick Gegen Ende des 19. Jahrhunderts entwickelte Ilja Iljitsch Metschnikow als erster das Konzept der Phagozytose. Als Entwicklungsbiologe arbeitete Metschnikow in Messina (Sizilien) mit Seesternlarven und beobachtete wie amöboide Zellen eingebrachte Rosendornen umschlossen, in das Zellinnere aufnahmen und schließlich zersetzten. Diesen Prozess bezeichnete er als Phagozytose und er erkannte schon damals, dass Phagozytose sowohl für die Beseitigung sterbender,

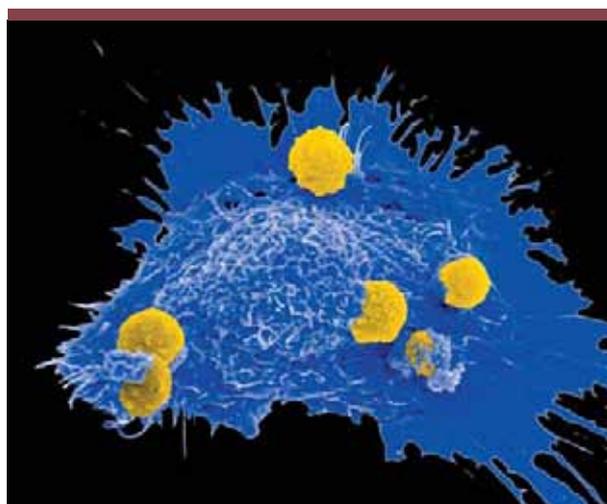
körpereigener Zellen während der Seesternentwicklung als auch für die Abwehr von körperfremden, eindringenden Stoffen wichtig ist. Mit seinen Arbeiten beschrieb er als erster die Makrophagen als wichtige Zellen der vorersten Verteidigungsfront der Wirtsabwehr und zeigte Ähnlichkeiten zwischen der Entfernung toter Zellen und der Beseitigung von eindringenden Mikroorganismen auf. Für die Entdeckung der Phagozytose erhielt Metschnikow 1908 den Nobelpreis.

PAMPs und ACAMPs In den letzten Jahren führten Untersuchungen in den Laboratorien von Jules Hoffmann an der Université Louis-Pasteur in Strasbourg und von Charles Janeway und Ruslan Medzhitow an der Yale University in New Haven zu einem molekularem Konzept der Erkennung von Pathogenen durch das angeborene Immunsystem. Basis dieser molekularen Erkennung von Pathogenen ist die Wechselwirkung von Rezeptoren auf der Zelloberfläche mit spezifischen Struktur- und Zellbestandteilen von Krankheitserregern. Die Wechselwirkungen der Wirtsrezeptoren mit zellulären Komponenten der Pathogene sind so spezifisch, dass charakteristische molekulare Muster durch Wirtsabwehrzellen erkannt werden. Folglich wurden diese charakteristischen Erkennungssignale von Erregern als „pathogen-associated molecular patterns“ (PAMPs) beschrieben und die entsprechenden Mustererkennungsrezeptoren der Wirtszellen als „PAMP“-Rezeptoren bezeichnet. Eine Bindung von PAMPs an ihre spezifischen Rezeptoren führt zu einer Aktivierung von Signaltransduktionswegen in Abwehrzellen des angeborenen Immunsystems und leitet die Beseitigung der Erreger durch Phagozytose sowie die Induktion von Entzündungsreaktionen ein, die den Körper vor den eindringenden Mikroorganismen schützen. Dieses Erkennungsprinzip ermöglicht es dem Immunsystem, zwischen infektiösen „Fremden“ und nichtinfektiösem „Selbst“ zu unterscheiden.

Verblüffenderweise offenbarte die Erforschung der molekularen Mechanismen, die für die Beseitigung apoptotischer Zellen verantwortlich sind, ein sehr ähnliches Konzept. Ebenso wie Mikroorganismen können auch apoptotische Zellen den Rezeptoren von phagozytierenden Zellen charakteristische Molekülmuster präsentieren. Diese leiten ihre Aufnahme in die Phagozyten oder „Fresszellen“ ein und werden deshalb auch als „Ess-mich-Signale“ bezeichnet – oder in Analogie zu den PAMPs der Mikroorganismen als „apoptotic-cell-associated molecular patterns“ (ACAMPs). Aber im großen Gegensatz zu den PAMPs der Mikroorganismen leiten ACAMPs entzündungshemmende statt entzündungsfördernde Reaktionen ein. Dies geschieht durch das Ausschütten starker entzündungshemmender Zytokine und Mediatoren durch die Phagozyten, die dann als Botenstoffe Entzündungsreaktionen anderer Immunzellen unterdrücken. Ein solcher immun-supprimierender Mechanismus ist für die Beseitigung apoptotischer Zellen extrem wichtig. Er stellt sicher, dass das Immunsystem nicht durch körpereigene Zellen

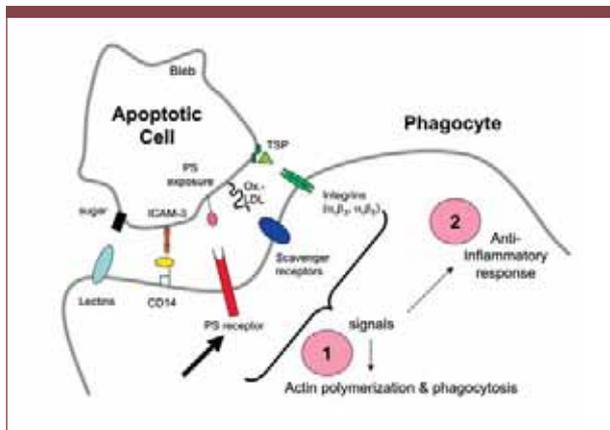
aktiviert wird, die durch programmierten Zelltod aus dem Körper entfernt werden.

Apoptotische Zellen werden in aller Stille beseitigt. Dies ist besonders wichtig angesichts der Aufgaben, die phagozytierende Zellen wie Makrophagen in jeder Minute in unserem Körper erfüllen müssen: Eine sichere Entfernung von apoptotischen Zellen. So wird Schätzungen zur Folge z. B. der Gesamtbestand an neutrophilen Granulozyten in unserem Körper zweieinhalb Mal pro Tag durch Apoptose und erneute Differenzierung aus Vorläuferzellen durch das hämatopoetische System ausgetauscht. Für die zelluläre Homöostase des Organismus ist deshalb enorm wichtig, dass der Umsatz derart vieler apoptotischer Zellen nicht von Entzündungsreaktionen begleitet wird. Zusätzlich muss die Beseitigung apoptotischer Zellen sehr schnell erfolgen, so dass sie entfernt werden, bevor sie ihre Zellintegrität verlieren und ihren möglicherweise zellschädigenden, Immunantwort-induzierenden Inhalt in das umgebende Gewebe abgeben.



- *Phagozytose von apoptotischen Zellen durch Makrophagen. Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme zeigt einen Makrophagen (blau), der mehrere apoptotische Thymozyten (gelb) phagozytiert. Verschiedene Phasen der Phagozytose sind erkennbar. Im dargestellten Experiment wurden Makrophagen aus Phosphatidylserinrezeptorgen (Ptdsr)-Knockout-Mäusen verwendet. Zu erkennen ist, dass diese Makrophagen trotz nicht mehr vorhandenem Ptdsr noch apoptotische Zellen aufnehmen können.*

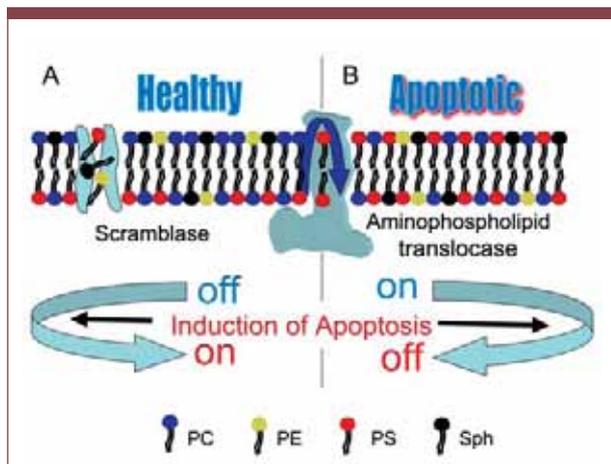
Wer spricht mit wem? In den letzten Jahren konnte man eine Reihe von Rezeptoren auf Phagozyten mit der Erkennung von „Ess-mich-Signalen“ auf apoptotischen Zellen in Verbindung bringen. Mittlerweile existiert ein sehr komplexes Bild über die molekularen Vorgänge, die sich bei der Phagozytose von apoptotischen Zellen abspielen. Analog zu den Wechselwirkungen zwischen Antigen präsentierenden Zellen und T-Zellen an der immunologischen Synapse, wurde die enge Interaktion zwischen „Ess-mich-Signalen“ auf der Oberfläche von apoptotischen Zellen und den erkennenden Rezeptoren in der Zellmembran von phagozytierenden Zellen, als „Phagozytose-Synapse“ bezeichnet.



- Schematischer Überblick über die Phagozytose-Synapse. Exemplarische Darstellung verschiedener Moleküle der Phagozytose-Synapse, die an der Erkennung von apoptotischen Zellen beteiligt sind. Zu unterscheiden sind „ACAMPs“ oder so genannte „Ess-mich-Signale“ auf apoptotischen Zellen, wie z. B. Thrombospondin-Bindungsstellen (TSP), oxidierte low-density Lipoproteine (Ox.-LDL), Phosphatidylserin (PS), ICAM-3 und nicht näher spezifizierte, modifizierte Zuckerreste, die nach Induktion von Apoptose auf die Zelloberfläche gelangen. Diese Signale werden von entsprechenden Rezeptoren der Phagozyten erkannt. Dazu gehören z. B. die Integrine, die „Scavenger“-Rezeptoren, CD14 und verschiedene Lectine. Als ein wichtiger Rezeptor für die Beseitigung von apoptotischen Zellen wurde auch der Phosphatidylserinrezeptor beschrieben (siehe Pfeil). Die Übersicht zeigt exemplarisch nur einige Moleküle, die im Zusammenhang mit der Phagozytose von apoptotischen Zellen entdeckt worden sind. Eine ausführlichere Darstellung ist im Übersichtsartikel von Devitt und Gregory (2004) zu finden.

Am synaptischen Spalt grenzen die Zellmembranen der beiden interagierenden Zellen unmittelbar aneinander und es findet ein Abtasten von spezifischen, molekularen Mustern der apoptotischen Zelle durch den Phagozyten statt. Der Phagozytoseprozess wird eingeleitet, wenn genügend Rezeptoren ihr entsprechendes „Ess-mich-Signal“ auf der apoptotischen Zelle erkannt haben. Nur durch die gleichzeitige Stimulation mehrerer Rezeptormoleküle auf der Zelloberfläche der phagozytierenden Zelle und die koordinierte Wechselwirkung vieler Moleküle an der „Phagozytose-Synapse“ erfolgt schließlich eine Aufnahme der apoptotischen Zelle in den Phagozyten. Nachweisliche Rezeptoren der Phagozytose-Synapse sind klassische PAMP-Rezeptoren wie CD36, der „Scavenger“-Rezeptor A, CD14 und Rezeptoren aus der Collectinfamilie wie CD91 und Calreticulin. Als weitere Proteine der „Phagozytose-Synapse“ wurden der Vitronectinrezeptor $\alpha_v\beta_3$, die Rezeptortyrosinkinase Mer und ein postulierter Phosphatidylserinrezeptor beschrieben. Letzterer soll – veröffentlichten Beschreibungen zufolge – das Phospholipid Phosphatidylserin auf der Oberfläche von apoptotischen Zellen spezifisch erkennen. Das Phosphatidylserin (PS), das durch Auslösen der Apoptose, von der inneren Schicht der Zytoplasmamembran in die äußere Schicht der Zellmembran gelangt, ist eines der charakteristischen Kennzeichen der beginnenden Apoptose und gilt als eines der wichtigsten Signale für das Erkennen und Entfernen apoptotischer Zellen.

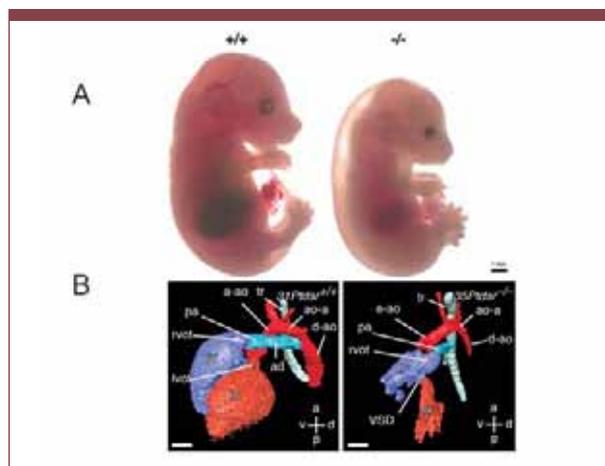
Neben dem Phosphatidylserinrezeptor hat man weitere Moleküle postuliert, die ebenfalls das PS apoptotischer Zellen binden können. Dazu gehören die Serumproteine β_2 -Glycoprotein 1, Annexin 1, Protein S, GAS-6 und ein als Milchfettglobulin E8 (MFG-E8), bezeichnetes Protein. Zurzeit nimmt man an, dass diese Moleküle eine Art Brückenfunktion haben und dazu dienen, die apoptotischen Zellen eng an die phagozytierenden Fresszellen zu binden. Ihre eigentlichen Rezeptoren auf der Oberfläche der Makrophagen wurden aber bisher noch nicht genau beschrieben. Daher ist es noch völlig unbekannt, welche genauen Funktionen diese PS-bindenden Brückenmoleküle bei der Anheftung und Phagozytose apoptotischer Zellen spielen und welche Rolle sie bei der Weiterleitung entzündungshemmender Signale erfüllen. Die Frage, warum es so viele PS-bindende Proteine gibt und wie sie durch ihr Zusammenwirken für eine zuverlässige Beseitigung der sterbenden Zellen sorgen, ist heute ein wichtiges Thema der Apoptoseforschung.



- Modell der Externalisierung von Phosphatidylserin (PS) nach Induktion von Apoptose. Gezeigt ist die Verteilung von PS in der Zytoplasmamembran einer gesunden (A) und einer apoptotischen Zelle (B). In normalen, gesunden Zellen befindet sich PS in der inneren Schicht der zweischichtigen Zellmembran. In einer gesunden Zelle transportiert das Enzym Aminophospholipidtransferase PS aktiv von der äußeren Schicht in die innere Schicht der Zytoplasmamembran zurück, wenn PS durch Diffusion zufällig in die äußere Schicht gelangt. Durch Induktion der Apoptose wird die Aminophospholipidtransferase inaktiviert und ein als Scramblase bezeichnetes Enzym aktiviert. Dies hat zur Folge, dass alle Phospholipide über beide Schichten der Zellmembran verteilt werden. Dadurch gelangt auch PS in die äußere Schicht der Zellmembran der apoptotischen Zelle und kann durch entsprechende PS-bindende Moleküle oder Rezeptoren des Phagozyten erkannt werden.

Der Phosphatidylserinrezeptor Von einem im Jahr 2000 klonierten Gen wurde auf der Basis von Zellkultur-Experimenten angenommen, es handele sich um den lang gesuchten Zellmembranrezeptor für das PS auf apoptotischen Zellen. Es wurde vermutet, dass dieser neu gefundene Phosphatidylserinrezeptor eine ganz entscheidende Funktion als Signalschalter übernimmt, wenn Makrophagen ihren ersten Kontakt mit apoptotischen Zellen aufnehmen. Die Stimulation des Phosphatidylserinrezeptor (*Ptdsr*) sollte demnach zentral die Ausschüttung der entzündungshemmenden Botenstoffe, Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1), des Blutplättchen-Aktivierungsfaktors PAF und von Prostaglandin E2 auslösen. Um die biologische Funktion des *Ptdsr* im Organismus näher zu charakterisieren, inaktivierte unsere Arbeitsgruppe, ebenso wie zwei weitere Arbeitsgruppen, das Gen für den Phosphatidylserinrezeptor in der Maus. Es stellte sich heraus, dass die Deletion des *Ptdsr* Gens mit schweren Entwicklungsstörungen während der Embryonalentwicklung der Maus

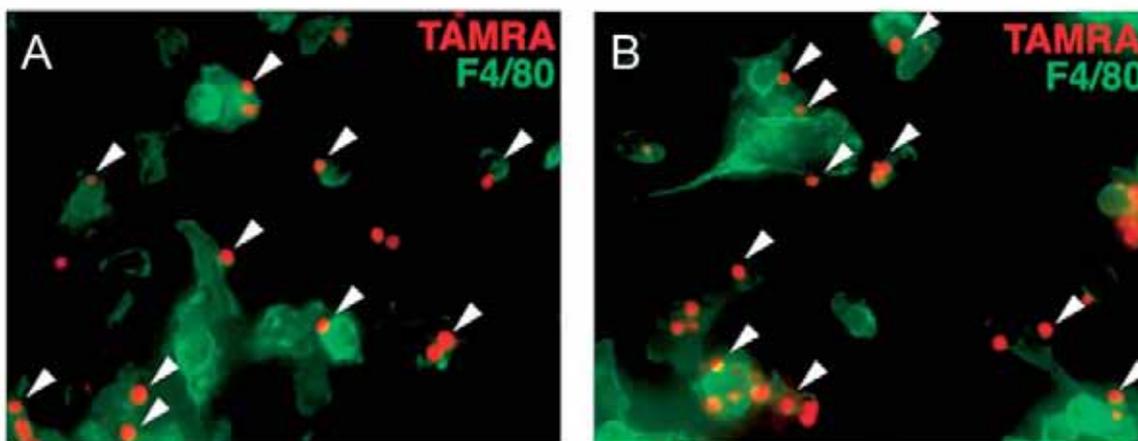
verbunden ist. Somit ist das Gen sehr wichtig für die Steuerung von Entwicklungsprozessen in der Embryonalphase. Homozygote *Ptdsr*-Knockout-Mäuse, die zwei Kopien des defekten Gens tragen, versterben sogar unmittelbar nach der Geburt. Während der Embryonalentwicklung wachsen sie verlangsamt und die Entwicklung wichtiger innerer Organe wie Nieren, Leber und Lunge verzögert sich sehr stark. Außerdem ist die Entwicklung der Augen bei *Ptdsr*-Knockout-Mäusen beeinträchtigt. Das beobachtete Spektrum reicht dabei von schwachen Defekten bei der Netzhautdifferenzierung bis zum völligen Fehlen der Augen in Verbindung mit der Ausbildung von rudimentären Augenstrukturen in der Nasenhöhle.



- *Ptdsr* ist essentiell für die Herzentwicklung.

(A) *Ptdsr*-Knockout-Embryonen zeigen häufig große, subkutane Ödeme (links: Wildtyp-Kontroll-Embryo, rechts: mutanter Embryo). Dies wird verursacht durch die Entwicklung von Herzdefekten während der Embryogenese in *Ptdsr*-Knockout-Tieren.

(B) Identifizierung von Herzdefekten in *Ptdsr*-defizienten Embryonen mit Hilfe von bildgebenden Verfahren der Kernspintomographie (MRI). Gezeigt ist eine dreidimensionale Rekonstruktion der MRI-Daten eines Wildtyp- (links) und eines *Ptdsr*-Knockout-Herz (rechts). Sichtbar ist ein reduziertes Volumen der Ventrikel im Herz der Mutante (rv = rechter ventrikel, lv = linker Ventrikel) und ein Ventrikelseptumdefekt (VSD).



- Die Phagozytose von apoptotischen Zellen ist nicht gestört in *Ptdsr*-Knockout-Mäusen. Phagozytose von apoptotischen Zellen durch Makrophagen, die aus der fötalen Leber differenziert wurden. Vergleich von Wildtyp- (A) und *Ptdsr*-defizienten Makrophagen (B). Apoptotische Thymozyten (rot) wurden mit TAMRA angefärbt und zu F4/80 gefärbten Makrophagen gegeben. Die Quantifizierung der aufgenommenen apoptotischen Zellen zeigt keinen Unterschied zwischen Wildtyp- und *Ptdsr*-Knockout-Makrophagen.

Foto: GBE, Dr. Böse

Kürzlich konnten wir in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Shuomo Bhattacharya an der Universität in Oxford auch nachweisen, dass *Ptdsr* für die Herzentwicklung erforderlich ist. Mit Hilfe von bildgebenden Verfahren der Kernspintomographie konnten wir feststellen, dass das Septum – die Herztrennwand zwischen der rechten und linken Herzkammer – bei *Ptdsr*-Knockout-Mäusen nicht ordnungsgemäß ausgebildet wird. Außerdem konnten wir in *Ptdsr*-defizienten Embryonen Störungen bei der Ausbildung des Aorta-Herzausgangs, sowie bei der Differenzierung der Lungenarterie beobachten. Wir nehmen daher an, dass diese Herzschäden das frühe Versterben der *Ptdsr*-Knockout Mäuse nach der Geburt verursachen.

Die Entwicklungsdefekte der *Ptdsr*-Mausmutanten zeigen, dass *Ptdsr* in der Embryonalentwicklung eine unentbehrliche Funktion erfüllt. Es scheint ein besonders wichtiges Gen für die Steuerung von Differenzierungsprozessen in vielen Geweben zu sein. Erstaunlicherweise fand unsere Arbeitsgruppe aber keine Hinweise für eine Beteiligung von *Ptdsr* bei der Beseitigung von apoptotischen Zellen.

Umfassende *in vivo* und *in vitro* Untersuchungen der Phagozytose apoptotischer Zellen zeigten, dass diese normal in *Ptdsr*-Knockout-Embryonen beseitigt werden bzw. auch *Ptdsr*-defiziente Makrophagen in der Lage sind, apoptotische Zellen aufzunehmen. Damit war die Hypothese, dass *Ptdsr* als zentraler Rezeptor für apoptotische Zellen fungiert, in Frage gestellt. Außerdem konnten wir und auch andere Arbeitsgruppen zeigen, dass das *Ptdsr*-Protein nicht wie angenommen als Transmembranrezeptor an der Oberfläche von Makrophagen angesiedelt ist, sondern sich im Zellkern befindet. Dieser Befund weckte ebenfalls starke Zweifel, dass *Ptdsr* als Transmembranrezeptor apoptotische Zellen erkennen könnte.

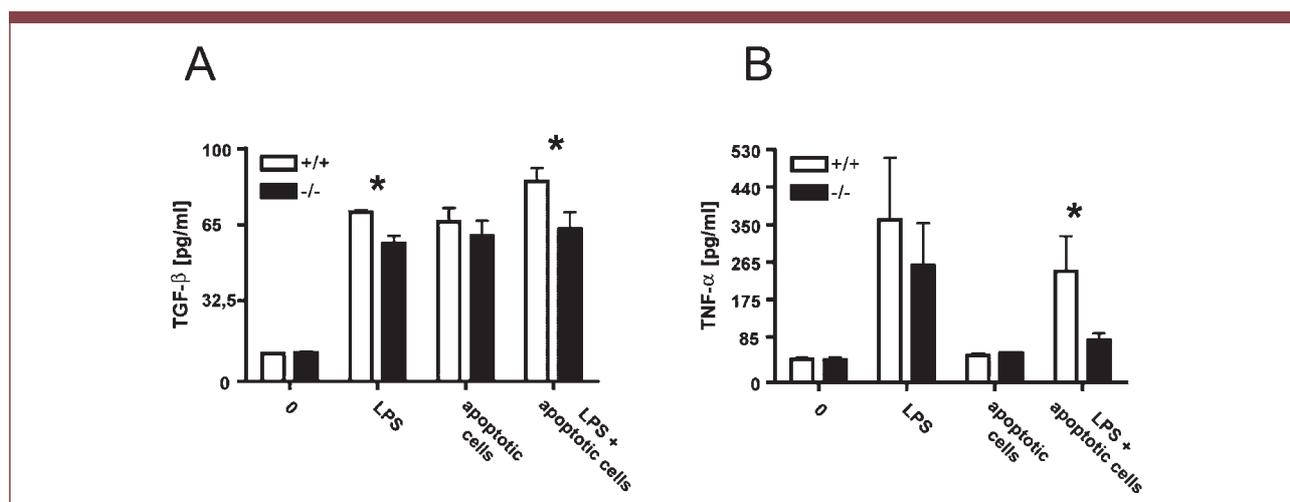
Unsere Analysen zeigten aber, dass *Ptdsr* sehr wohl eine wichtige Funktion in Makrophagen hat. Die Stimulation von *Ptdsr*-defizienten Makrophagen mit verschiedenen PAMPs (wie z. B. LPS) zeigten, dass das Protein wichtig für die Produktion oder Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen ist. Dies legt in Verbindung mit beobachteten Defekten im hämatopoetischen System die Vermutung nahe, dass *Ptdsr* durchaus für Immunfunktionen von

Bedeutung ist, auch wenn *Ptdsr* entgegen der früheren Hypothese nicht für die Beseitigung apoptotischer Zellen benötigt wird.

Autoimmunkrankheiten: neue Strategien für Therapieverfahren Der enge Zusammenhang zwischen der Phagozytose von apoptotischen Zellen und der massiven Freisetzung entzündungshemmender Botenstoffe hat eine große Relevanz für verschiedene Erkrankungen. Phagozytierte apoptotische Zellen stellen körpereigene Antigene bereit, die T-Zellen über MHC-Moleküle der Klasse I präsentiert werden können. Dies kann zu Immuntoleranz gegenüber den präsentierten Antigenen führen oder aber auch eine Immunaktivierung hervorrufen. Für die Induktion oder Unterdrückung der adaptiven Immunität ist dabei entscheidend, in welchem Zusammenhang die Selbst-Antigene präsentiert werden. Generell werden durch die Phagozytose von apoptotischen Zellen durch Makrophagen oder unreife dendritische Zellen pro-inflammatorische Antworten unterdrückt. Durch Freisetzung von anti-inflammatorischen Zytokinen wird die periphere Toleranz gegenüber körpereigenen Antigenen gefördert. Dies hemmt die Reifung dendritischer Zellen und führt dazu, dass diese weniger gut in der Lage sind, T-Zellen

zu stimulieren und zu aktivieren. Als Folge bleibt in der Regel die Toleranz gegenüber Selbst-Antigenen erhalten. Anders verhält es sich jedoch, wenn die Beseitigung apoptotischer Zellen mit Alarmsignalen für das Immunsystem verknüpft wird. Solche Signale können von Gewebeerkrankungen ausgehen, oder auch von Entzündungen oder Infektionen, die in den betroffenen Gewebereichen zur Apoptose führen und gleichzeitig die Ausschüttung entzündungsfördernder Signalstoffe in Gang setzen. Werden apoptotische Zellen in einer solchen Situation nicht schnell und wirksam beseitigt, können die verbliebenen sterbenden Zellen eine sekundäre Nekrose durchlaufen und damit für eine starke Stimulation der Antigenpräsentierenden Zellen sorgen. Dies kann dazu führen, dass fälschlicherweise Selbst-Antigene präsentiert werden, was eine Aktivierung von T-Zellen und die Entwicklung von Autoimmunreaktionen zur Folge haben kann.

Die große Bedeutung von effizienten Mechanismen für die Beseitigung von apoptotischen Zellen wird besonders deutlich in Mausmutanten, denen wichtige Moleküle für das Erkennen und die Aufnahme von apoptotischen Zellen fehlen. So entwickeln Knockout-Mäuse Autoimmunerkrankungen, die sehr oft mit der Entwicklung einer Glomerulonephritis verbunden sind, wenn ihnen das Komplementprotein C1q, der Mer-Rezeptor, die Transglutaminase 2 oder das PS-bindende Molekül MFG-E8 fehlen.



- Pro- und anti-inflammatorische Antworten sind gestört in *Ptdsr*-defizienten Makrophagen. Aus fötalen Lebern differenzierte Makrophagen von Wildtyp- und *Ptdsr*-Knockout-Embryonen wurden stimuliert mit Medium (0), Lipopolysaccharide (LPS, 10 ng/ml) und apoptotischen Zellen (im Verhältnis 1:10) oder in Kombination mit LPS und apoptotischen Zellen. (A) Die Quantifizierung der TGF- β Konzentrationen in Zellkulturüberständen zeigt, dass *Ptdsr*^{-/-} Makrophagen noch in der Lage sind dieses anti-inflammatorische Zytokin zu sekretieren, wenn auch in einem geringeren Maße als Wildtyp-Makrophagen. (B) *Ptdsr*^{-/-} Makrophagen produzieren auch signifikant weniger des pro-inflammatorischen Zytokins TNF- α im Vergleich zu Wildtyp-Makrophagen nach Stimulation mit LPS oder gleichzeitiger Stimulation mit LPS und apoptotischen Zellen.

Zwischen Defekten bei der Beseitigung von apoptotischen Zellen und der Entstehung von Autoimmunerkrankungen lassen sich auch in Patienten mit systemischem *Lupus erythematoses* (SLE) direkte Zusammenhänge herstellen. So konnte gezeigt werden, dass aus SLE-Patienten isolierte Monocyten nach Differenzierung in Makrophagen eine verminderte Fähigkeit hatten apoptotische Zellen aufzunehmen. Auch waren in manchen Patientengruppen freie apoptotische Zellen in den Lymphknoten nachweisbar. Diese Beobachtungen unterstreichen ganz deutlich, wie wichtig es ist, grundlegende Erkenntnisse über die Beseitigung von apoptotischen Zellen zu gewinnen. Schlüssel-Moleküle, die diese Prozesse steuern, könnten zukünftig wichtige „Targets“ für die Entwicklung neuartiger Therapiemöglichkeiten sein. So könnte man sich beispielsweise vorstellen, dass gezielte Eingriffe in die „Aufräumarbeiten“ der Makrophagen, das Gleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Reaktionen verschieben könnte, je nach gewünschtem Zweck. Damit könnten einerseits Therapieverfahren für entzündliche und autoimmune Erkrankungen durch eine Verstärkung von anti-inflammatorischen Antworten angestrebt werden, andererseits aber durch Verstärkung von pro-inflammatorischen Reaktionen verbesserte Impfverfahren zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten und Krebs entwickelt werden.

Strategien zum Umgehen der Immunantwort Viele bakterielle und virale Krankheitserreger können im Verlauf von Infektionen aktiv die Apoptose ihrer Wirtszellen induzieren. Sie bedienen sich dieses Mittels, um in bestimmten Phasen der Infektion der Abwehrreaktion des Wirts zu entgehen. Beispiele für solche Krankheitserreger sind intrazelluläre Erreger wie Salmonellen, Legionellen, Shigellen und Bordetella. Diese Pathogene infizieren Makrophagen und können diese über Apoptoseinduktion ausschalten. Dazu exprimieren die Erreger besondere Virulenzfaktoren, die das Überleben der Wirtszelle steuern. Damit können die Krankheitserreger darüber entscheiden, in welcher Phase der Infektion es besonders vorteilhaft für sie ist, die Makrophagen zu beseitigen und damit einen der wichtigsten Bestandteile der Pathogenabwehr des angeborenen Immunsystems auszuschalten. Makrophagen sind auch besonders wichtig, um andere Immunzellen an den Ort der Infektion zu dirigieren und diese zur Pathogenabwehr zu stimulieren. Deshalb erscheint es nur logisch, dass viele Krankheitserreger Strategien entwickelt haben, mit denen sie diese Fähigkeit der Makrophagen, eine wirksame, gegen Mikroorganismen gerichtete Immunantwort zu koordinieren, verhindern können.



Auch löst die Apoptose und die nachfolgende Beseitigung der apoptotischen Zellen die bereits schon beschriebene Ausschüttung von entzündungshemmenden Faktoren aus. Ein Apoptose-induzierender Krankheitserreger unterdrückt somit auch Immunantworten und verhindert damit letztlich, dass weitere Immuneffektorzellen an den Ort der Infektion rekrutiert und aktiviert werden. Die durch den Erreger eingeleitete Apoptose ist darum mit der Bildung eines lokalen, entzündungshemmenden Umfelds verbunden. Dies sichert dem Erreger das Überleben und erleichtert ihm die Ausbreitung in andere Gewebe des Wirtsorganismus.

Apoptose-Mimikry In jüngster Zeit wurden in Berichten über die Infektionszyklen von Parasiten sehr interessante neue Vorstellungen zu der Frage geäußert, wie die Erreger das ACAMP-Phosphatidylserin nutzen können, um die antimikrobielle Aktivität von Makrophagen zu reduzieren. Der Parasit *Leishmania major* dringt in einem bestimmten Entwicklungsstadium (Amastigotenstadium) in Makrophagen ein und benutzt dazu Phosphatidylserin, das er auf seiner Zelloberfläche exponiert. Damit induziert er nicht nur seine Phagozytose, sondern auch die Freisetzung des immunsuppressiven Zytokins TGFβ1, welches nachfolgend die Makrophagen inaktiviert. Mit diesem Mechanismus, der als „Apoptose-Mimikry“ bezeichnet wird, gibt sich der Parasit als apoptotische Zelle für den Makrophagen aus und entgeht somit seiner tödlichen Abwehr. Dadurch ist es dem Parasiten möglich, den Wirtsorganismus zu infizieren. Ähnliche Mechanismen wurden für die Parasiten *Toxoplasma gondii* und *Trypanosoma cruzi* beschrieben. Infektionen mit diesen Parasiten gehen auch einher mit einer Zelloberflächenexposition von PS (*Toxoplasma*) oder einer intensiven Apoptoseinduktion von Lymphozyten (*Trypanosoma*) und einer nachfolgenden Deaktivierung von Makrophagen durch Aufnahme apoptotischer Lymphozyten. Beide Mechanismen erlauben eine intrazelluläre Lebensweise der Parasiten durch Ausschaltung der antimikrobiellen Aktivität der Makrophagen. Ob sich auch noch andere Krankheitserreger, wie z. B. Bakterien oder Viren, dieser Form der „Apoptose-Mimikry“ bedienen, bleibt noch zu untersuchen.

Rätsel Apoptose In den letzten Jahren ist man mit den Kenntnissen über die molekularen Einzelheiten bei der Beseitigung apoptotischer Zellen und den daraus resultierenden Konsequenzen für das Immunsystem ein großes Stück vorangekommen. Schon seit der Zeit von Ilja Metchnikow ist bekannt, dass Makrophagen sowohl bei der Beseitigung toter Wirtszellen als auch bei der Phagozytose und Abtötung infektiöser Mikroorganismen eine entscheidende Rolle spielen. Aber das Zusammentreffen von Makrophagen mit apoptotischen Zellen oder mit Erregern kann ganz unterschiedliche Folgen für das Immunsystem haben. Die Beseitigung von apoptotischen Zellen ist mit entzündungshemmenden Reaktionen verbunden, die für eine Aufrechterhaltung der Zellhomöostase sorgen. Im Gegensatz dazu löst die Phagozytose von Mikroorganismen in Makrophagen entzündungsfördernde Reaktionen aus, die für die Immunabwehr von größter Bedeutung sind. Wird das Gleichgewicht zwischen diesen beiden Effektormechanismen von Makrophagen gestört, kann es zu Erkrankungen kommen. Störungen bei der Beseitigung apoptotischer Zellen können Autoimmunität verursachen, Apoptoseinduktion oder Apoptose-Mimikry durch Pathogene kann zu Ungunsten des Wirts den Infektionsausgang negativ beeinflussen. Die Exposition von PS auf der Zelloberfläche apoptotischer Zellen ist eines der wichtigsten Charakteristika für die Einleitung der Apoptose und eines der bedeutsamsten Signale für die entzündungshemmende Beseitigung apoptotischer Zellen. Allerdings steht eine Beschreibung des korrespondierenden PS-Rezeptors auf Makrophagen und anderen phagozytierenden Zellen noch aus. Diesen könnte es geben; er hat sich bisher leider nur einer Identifizierung und Charakterisierung entzogen. Es wäre aber ebenso möglich, dass es einen Phosphatidylserinrezeptor gar nicht gibt und die Funktion der PS-vermittelten Phagozytose von apoptotischen Zellen nur durch PS-bindende Brückenmoleküle und ihre zugehörigen Rezeptoren erfolgt. Die Beantwortung der entscheidenden Fragen nach Apoptose-assoziierten Molekülen und nach Mechanismen der Entfernung von apoptotischen Zellen bleibt für die kommenden Jahre eine wichtige Aufgabe. Es ist zu erwarten, dass die Lösung einiger dieser Rätsel große Auswirkungen auf die Entwicklung zukünftiger Therapiestrategien haben wird, so dass Krankheiten, die mit Störungen bei der Beseitigung von apoptotischen Zellen einhergehen, wirksamer behandelt werden können.



● Das ING-Team (von links nach rechts): Bastian Pasche, Phillip Hahn, Andreas Lengeling, Laura Helming, Jens Böse, Ivonne Wegener, Stefanie Schiebe.

Foto: GBF, Bierstedt

Andreas Lengeling geboren 1965, Biologiestudium (Universität Bielefeld). Diplom 1993, Promotion in Biologie am Institut für Entwicklungsbiologie und Molekulare Pathologie (1997, Universität Bielefeld). Postdoktorand (1997–2000, University of Pennsylvania, Medical School, Department of Psychiatry and Genetics, Philadelphia, USA). Wissenschaftlicher Mitarbeiter (2000–2001, Institut für Säugetiergenetik am Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, GSF, München). Seit 2001 Leiter einer Nachwuchsforschergruppe an der GBF.

LITERATUR Aufgeführt sind eigene Publikationen sowie ausgewählte Artikel anderer Arbeitsgruppen.

- Böse, J., Gruber, A. D., Helming, L., Schiebe, S., Wegener, I., Hafner, M., Beales, M., Köntgen, F., Lengeling, A. (2004). Essential functions of the phosphatidylserine receptor during embryogenesis, distinct from apoptotic cell removal. *J. Biol.* 3 (4): 15.
- Schneider, J. E., Böse, J., Bamforth, S. D., Gruber, A. D., Broadbent, C., Clarke, K., Neubauer, S., Lengeling, A., Bhattacharya, S. (2004). Identification of cardiac malformations in mice lacking Ptdsr using a novel high-throughput magnetic resonance imaging technique. *BMC Developmental Biology* 4:16
- De Freitas Balanco, J. M., Costa Moreira, M. E., Bonomo, A., Torres Bozza, P., Amarante-Mendes, G., Pirmez, C., Barcinski, M. A. (2001). Apoptotic mimicry by an obligate intracellular parasite downregulates macrophage microbicidal activity. *Curr. Biol.* 11: 1870-1873.
- Freire-de-Lima, C. G., Nascimento, D. O., Soares, M. B. P., Bozza, P. T., Gastro-Faria-Neto, H. C., de Mello, F. G., DosReis, G. A., Lopes, M. F. (2000). Uptake of apoptotic cells drives growth of a pathogenic trypanosome in macrophages. *Nature* 403: 199-203.
- Fadok, V. A., Savill, J. S., Haslett, C., Bratton, D. L., Doherty, D. E., Campbell, P. A., Henson, P. M. (2000). A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* 405: 85-90.
- Franc, N. C., White, K., Ezekowitz, A. B. (1999). Phagocytosis and development: back to the future. *Curr. Opin. Immunol.* 11: 47-52.
- Gregory, C. D., Devitt, A. (2004). The macrophage and the apoptotic cell: an innate immune reaction viewed simplistically? *Immunology* 113: 1-14.
- Hoffmann, J. A. (2003). The immune response of *Drosophila*. *Nature* 426: 33-38.
- Janeway, C. A., Medzhitov, R. (2002). Innate immune recognition. *Ann. Rev. Immunol.* 20: 197-216.
- Kunisaki, Y., Masuko, S., Noda, M., Inayoshi, A., Sanui, T., Harada, M., Sasazuki, T., Fukui, Y. (2003). Defective fetal liver erythropoiesis and T lymphopoiesis in mice lacking the phosphatidylserine receptor. *Blood* 103: 3362-3364.
- Li, M. O., Sarkisian, M. R., Mehal, W. Z., Rakic, P., Flavell, R. A. (2003). Phosphatidylserine receptor is required for clearance of apoptotic cells. *Science* 302: 1560-1563.
- Seabra, S. H., de Souza, W., DaMatta, R. A. (2004). *Toxoplasma gondii* exposes phosphatidylserine inducing a TGFβ1 autocrine effect orchestrating macrophage evasion. *BBRC* 324: 744-752.
- Williamson, P., Schlegel, R. A. (2004). Hide and seek: the secret identity of the phosphatidylserine receptor. *J. Biol.* 3: 14.
- Weitzman, J. B. (2004). The curious world of apoptotic cell clearance. *J. Biol.* 3: 13.



Synthetische Peptide als Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen

AUTOR | Priv.-Doz. Dr. Jutta Eichler | Nachwuchsgruppe Konformationelle Protein-Ligand-Interaktionen | jei@gbf.de

- Die meisten biologischen Prozesse basieren auf spezifischen molekularen Erkennungsmechanismen zwischen Biomakromolekülen – vorwiegend Proteinen – und ihren Liganden. Die Inhibition dieser Wechselwirkungen zwischen Rezeptoren, Enzymen oder Antikörpern einerseits und Rezeptorliganden, Enzymsubstraten bzw. -inhibitoren oder Antigenen andererseits ist eine oft verfolgte Strategie, mit der in die resultierenden biologischen Funktionen, etwa bei der Prävention oder Therapie pathologischer Prozesse, eingegriffen wird.

Das Design und die Herstellung von Molekülen, die durch ihre molekulare Architektur in der Lage sind, Proteinbindungsstellen nachzuahmen, ist ein viel versprechender Ansatz zur Inhibition von Protein-Ligand-Interaktionen. Solche Proteinmimetika sind Kandidaten für vielfältige präventive und/oder therapeutische Strategien, z.B. bei der Hemmung von Pathogen-Wirtszell-Wechselwirkungen, dem ersten Schritt im Infektionsprozess.

Ziel unserer Arbeiten ist die Etablierung eines Methodenspektrums für das Design und die Herstellung von Proteinmimetika durch Nachahmung konformationell definierter Proteinbindungsstellen. Damit wollen wir Inhibitoren biomedizinisch relevanter Protein-Ligand-Interaktionen entwickeln. Eines unserer Projekte hat das Ziel, den Eintritt von Bakterien in ihre Wirtszellen durch Peptide zu verhindern, die die Bindungsstelle eines Wirtszellrezeptor für einen bakteriellen Virulenzfaktor nachahmen. In einem anderen Projekt wollen wir die Bindungsstelle eines viralen Hüllproteins für seinen Wirtszellrezeptor chemisch nachgestalten.



Synthetische Peptide als Proteinmimetika Proteine sind räumlich gefaltete Polypeptidketten, deren Eigenschaften sowohl von der Aufeinanderfolge der Aminosäuren innerhalb der Kette (Primärstruktur) als auch von der dreidimensionalen Anordnung der Polypeptidkette (Sekundär- und Tertiärstruktur) bestimmt werden. Die Kontaktstellen von Proteinen für ihre Liganden – häufig selbst Proteine – sind in relativ kleinen, abgegrenzten Bereichen der Moleküle lokalisiert. Sie werden Bindungsstellen oder Epitope genannt. Diese können durch chemisch synthetisierte Peptide – kurze Aminosäureketten – leicht dargestellt werden.

Moderne Syntheseapparaturen können mehrere hundert Peptide gleichzeitig und automatisch herstellen. Da sie sowohl als exakte Kopien von Proteinfragmenten als auch in vielfältigen chemischen Modifikationen hergestellt werden können, eignen sie sich hervorragend zur Mimikry von Proteinbindungsstellen und sind damit viel versprechende Kandidaten für die Inhibition von Protein-Ligand-Interaktionen. Zudem können peptidchemische Verfahren zur Auffindung von Proteinbindungsstellen in der Proteinsequenz eingesetzt werden. In diesem, als „peptide scanning“ bezeichneten Prozess wird die gesamte Proteinsequenz aus vielen einzelnen, miteinander überlappenden Peptiden synthetisiert. Die Testung jedes dieser Peptide auf Bindung an den entsprechenden Liganden liefert Informationen über die Position der Bindungsstelle innerhalb der Proteinsequenz.

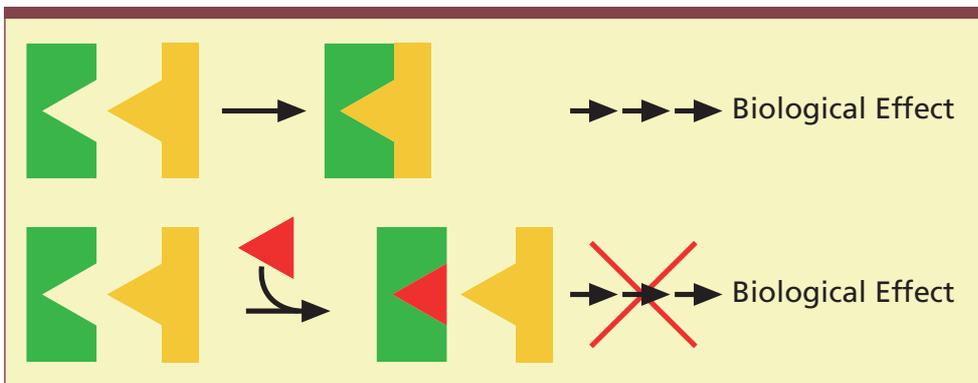
Chemische Abwandlungen Ebenso wie Proteine sind die aus den 20 natürlichen L-Aminosäuren aufgebauten synthetischen Peptide im Magen-Darm-Trakt nicht stabil und werden dort durch proteolytische Enzyme schnell abgebaut. Dies sowie die schlechte Resorption von Peptiden aus dem Verdauungstrakt in den Blutkreislauf, steht der Verwendung synthetischer Peptide als Medikamente oft im Wege.

Anders als in den Ribosomen kann der Bausteinsatz für die chemische Peptidsynthese jedoch auf D-Isomere der proteinogenen Aminosäuren sowie ein breites Spektrum weiterer Aminosäuren erweitert werden. Dadurch werden chemische Strukturelemente in synthetische Peptide einbracht, die in der Natur nicht existieren. So lässt sich nicht nur ihre chemische Vielfalt, sondern auch ihre Stabilität in biologischen Flüssigkeiten erhöhen, da diese nicht proteinogenen Aminosäuren von proteolytischen Enzymen nicht erkannt werden.

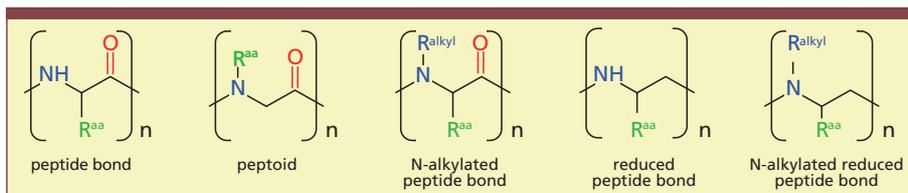
Auch das Amid-Rückgrat synthetischer Peptide kann durch unterschiedliche Reaktionen chemisch modifiziert werden, was sowohl die physiko-chemischen Eigenschaften der Peptide verändert als auch ihre metabolische Stabilität erhöht. Dabei bleibt die chemische Vielfalt der Aminosäureseitenketten erhalten. Beispiele für solche chemischen Modifikationen sind die N-Alkylierung und/oder Reduktion der Amidbindung im Peptidrückgrat oder der Einsatz von N-Alkylglycin-Derivaten, in denen sich die Aminosäureseitenketten nicht am C α -Atom, sondern am Amidstickstoff der Aminosäuren befinden.

Rationales Design oder Suche nach der Nadel im Heuhaufen? Synthetische Mimetika von Proteinbindungsstellen können auf zweierlei Art und Weise hergestellt werden. Beim strukturbasierten Design werden Moleküle entworfen und hergestellt, die die Konformation der Bindungsstelle innerhalb der Proteinstruktur möglichst genau nachgestalten sollen – basierend auf der bekannten Raumstruktur des Proteins im Komplex mit seinem Liganden. Alternativ können Liganden in Bindungstests selbst die passendsten Proteinmimetika aus großen Molekülpopulationen aussuchen, etwa aus kombinatorischen Verbindungsbibliotheken.

Die erste Strategie bringt mit größerer Wahrscheinlichkeit echte Mimetika der Proteinbindungsstelle hervor; sie



- Die Unterdrückung eines biologischen Effektes durch Inhibition der zugrundeliegenden Wechselwirkung zwischen einem Protein (gelb) und einem Liganden (grün) wird durch ein Mimetikum der Proteinbindungsstelle (rot) vermittelt, das mit dem Protein um Bindung an den Liganden konkurriert.



- Chemische Veränderung des Amid-Rückgrats erhöht die metabolische Stabilität synthetischer Peptide.

erfordert jedoch detaillierte Informationen über die dreidimensionale Struktur des Protein-Ligand-Komplexes, die in der Regel durch NMR- oder Röntgenkristallstruktur-Analyse gewonnen werden. Solche Strukturinformationen stehen aber, insbesondere bei neu entdeckten Proteinen, nicht immer zur Verfügung.

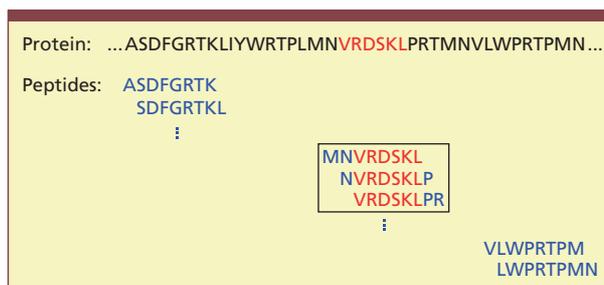
Die zweite Strategie kommt ohne Information über die Proteinstruktur aus und ist ein Zufallsverfahren zur *de novo* Entwicklung von Molekülen. Diese Moleküle binden zwar wie das Protein an den entsprechenden Liganden, müssen dem Protein aber strukturell nicht zwangsläufig ähnlich sein. Die zur Auffindung solcher Moleküle eingesetzten kombinatorischen Bibliotheken sind auch ausgezeichnete Hilfsmittel bei der Untersuchung unbekannter Protein-Ligand-Interaktionen, an denen neu entdeckte, biomedizinisch potenziell wichtige Proteine beteiligt sind.

Typen von Proteinbindungsstellen Hinsichtlich ihrer Struktur kann man Proteinbindungsstellen in drei Kategorien einteilen.

Kontinuierliche, flexible Bindungsstellen, die durch „*peptide scanning*“ aufgefunden werden können, sind kurze Abschnitte der Proteinsequenz, die oft an der Oberfläche des Moleküls liegen. Diese Bindungsstellen können in der Regel durch einfache, lineare Peptide nachgestaltet werden, die diesen Sequenzabschnitt kopieren.

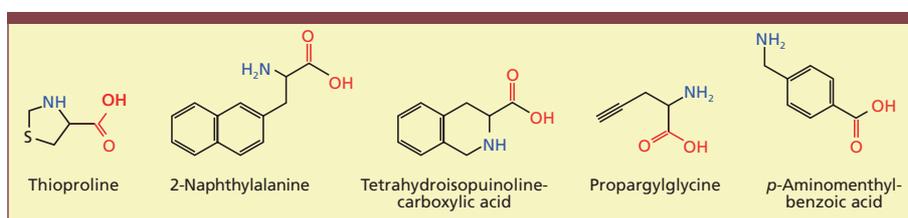
Die Bindungsstellen des zweiten Typs sind ebenfalls sequenziell kontinuierlich, aber in ihrer Flexibilität eingeschränkt, entweder durch Disulfidbrücken zwischen Cysteinresten oder durch definierte Sekundärstrukturen wie α -Helices oder β -Faltblattstrukturen. Sie bilden häufig Schleifenstrukturen, die durch cyclische Peptide nachgeahmt werden können.

Der dritte und komplizierteste Typ von Bindungsstellen ist sequenziell diskontinuierlich und besteht aus zwei oder mehr Proteinabschnitten, die in der Primärsequenz weit auseinander liegen und erst durch Proteinfaltung in räumliche Nähe gebracht werden. Obwohl viele Proteine solche diskontinuierlichen Bindungsstellen haben, entstehen derzeit erst solche systematischen Methoden zur Auffindung und chemischen Mimikry, wie sie für kontinuierliche Proteinbindungsstellen seit langem verfügbar sind.



- „*Peptide scanning*“ zur Auffindung von Proteinbindungsstellen (rot). Eingerahmte Peptidsequenzen binden an den entsprechenden Protein-Liganden.

Mimikry diskontinuierlicher Bindungsstellen Die Fragmente eines Proteins, die seine diskontinuierliche Proteinbindungsstelle ausmachen, sollten auch in einem synthetischen Mimetikum sequenziell diskontinuierlich und konformationell eingeschränkt präsentiert werden, um die strukturelle Ähnlichkeit mit dem Protein zu erhöhen. Diese Überlegung war Ausgangspunkt für das Konzept gerüstgestützter Peptide, in denen unterschiedliche Proteinfragmente über ein molekulares Gerüst präsentiert werden. Dabei ist die Struktur des Gerüstmoleküls ein Schlüsselement, da es die räumliche Anordnung der vom Protein abgeleiteten Fragmente bestimmt.



- Ausgewählte nicht proteinogene Aminosäuren als Bausteine für die chemische Peptidsynthese.



Ein wichtiger Aspekt beim Design dieser Gerüstmoleküle ist die Möglichkeit, unterschiedliche Peptidfragmente selektiv an definierte Stellen des Gerüsts anknüpfen zu können. Als solche Anknüpfungsstellen für Peptidfragmente eignen sich besonders Aminogruppen, da sie durch sogenannte orthogonale Schutzgruppen reversibel und selektiv geschützt und freigelegt werden können.

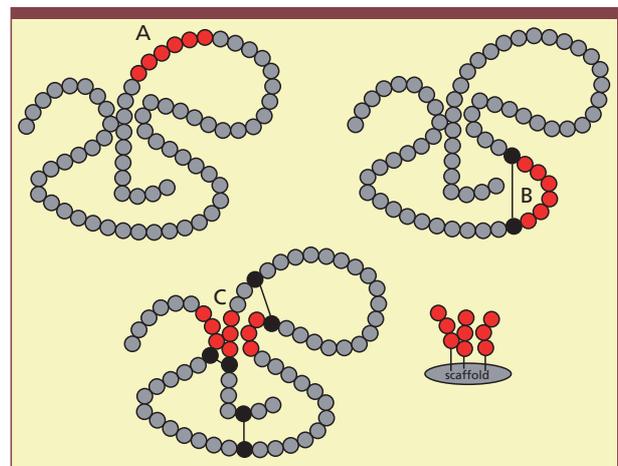
Wir haben vielseitige und robuste Syntheseverfahren für die Herstellung eines breiten Spektrums strukturell unterschiedlicher Gerüstmoleküle entwickelt. Da sich Gerüste in variabler Größe und Gestalt, und damit unterschiedlicher konformationeller Flexibilität, herstellen lassen, kann dieses Verfahren auf verschiedene Proteine mit strukturell unterschiedlichen Bindungsstellen angewendet werden.

Die CD4-Bindungsstelle des HIV-1-Proteins gp120

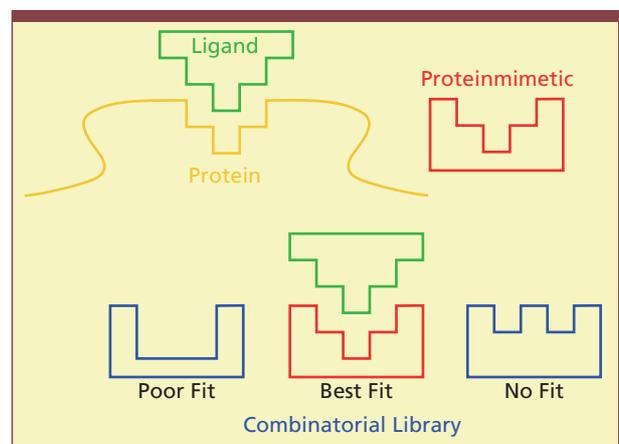
Das Protein gp120 ist Teil des glykosylierten Hüllproteins des humanen Immunschwächevirus HIV-1. Die Interaktion von gp120 mit dem T-Zellen-Rezeptorprotein CD4 ist der erste Schritt einer Kaskade, die schließlich den Eintritt des Virus in die T-Zelle ermöglicht. Die meisten derzeit verfügbaren anti-HIV-1-Antikörper erkennen nur stark veränderliche Regionen im gp120 und können das Virus daher nur sehr eingeschränkt neutralisieren. Dem gegenüber ist die sequenziell diskontinuierliche CD4-Bindungsstelle von gp120 stark konserviert und damit in vielen Virusstämmen identisch. Außerdem wird diese Bindungsstelle auch als Epitop eines Antikörpers postuliert, der eine Vielzahl von HIV-Stämmen neutralisiert. Damit sind synthetische Mimetika der CD4-Bindungsstelle des gp120 viel versprechende Immunogen-Kandidaten für breit neutralisierende anti-HIV-1-Antikörper.

Unsere Design-Grundlage für solche Moleküle war die Röntgenkristallstruktur von gp120 im Komplex mit der extrazellulären, gp120-bindenden Domäne von CD4. Wir haben eine Reihe Peptid-Gerüst gestützter gp120-Mimetika hergestellt, die drei gp120-Fragmente präsentieren. Sie enthalten die primären Kontaktstellen dieses Proteins für seine Interaktion mit CD4. Die Affinität einiger dieser Peptide für CD4 war mehr als 200 mal höher als die der

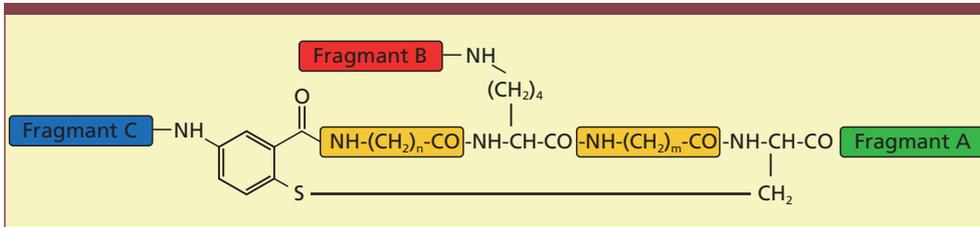
drei Einzelfragmente, was auf einen synergistischen Effekt der drei Fragmente innerhalb eines Moleküls hindeutet. Im weiteren werden nun Antikörper gegen ausgewählte gp120-Mimetika erzeugt, und diese werden wir dann daraufhin untersuchen, ob sie gp120 erkennen und HIV-1 neutralisieren können.



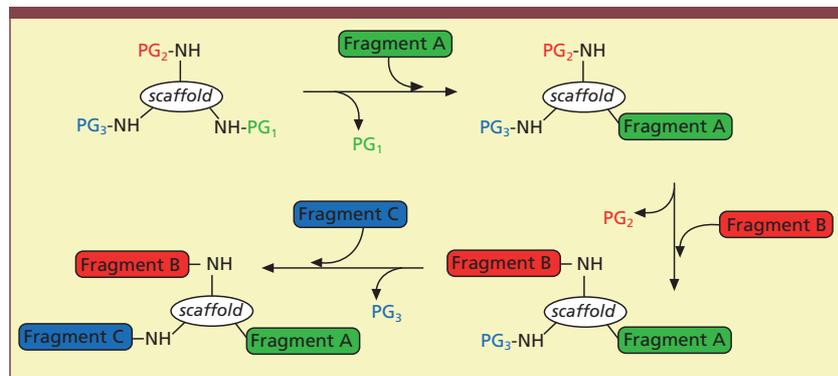
- Strukturell unterschiedliche Typen von Proteinbindungsstellen (rot). A: Sequenziell kontinuierlich, konformationell flexibel, B: Sequenziell kontinuierlich, konformationell eingeschränkt, C: Sequenziell diskontinuierlich, D: Gerüstgestütztes Peptid als Mimetikum einer diskontinuierlichen Proteinbindungsstelle.



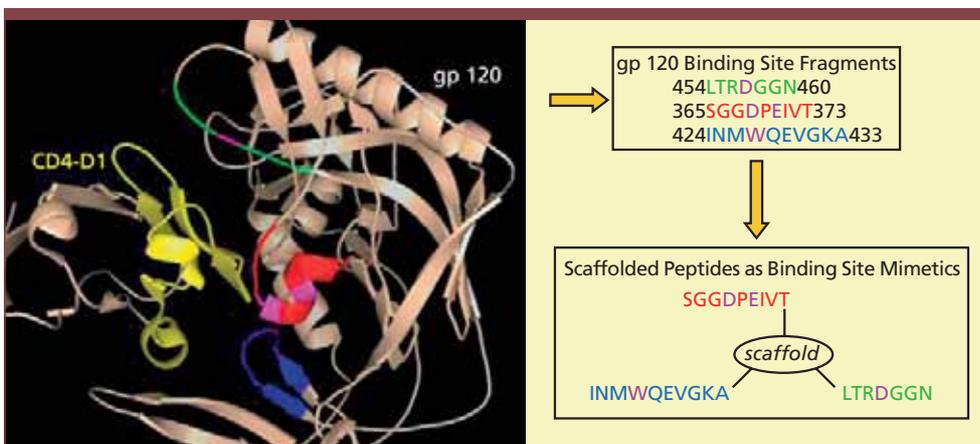
- Strukturbasierte (oben) und kombinatorische (unten) Strategien für das Design von Proteinmimetika als Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen.



- Gerüstmoleküle für die Präsentation von Peptiden (Proteinfragmente A, B und C). Der Einbau spezieller Aminosäuren (orange) mit unterschiedlicher Rückgratlänge ($n, m = 1-5$) ermöglicht eine Variation der konformationellen Flexibilität der molekularen Gerüste.



- Ortspezifische Anknüpfung von Proteinfragmenten an ein Gerüstmolekül. Der Einsatz selektiv entfernbarer „orthogonaler“ Schutzgruppen (PG) ermöglicht selektive Reaktionen an den unterschiedlichen Anknüpfungspunkten (Aminogruppen) des Gerüstmoleküls.



- Design von gp120-Mimetika auf der Grundlage der Kristallstruktur eines gp120-CD4-Komplexes (links). Peptide, die die Bindungsstellen-Fragmente (grün, rot, blau) nachbilden und die wesentlichen Kontakt-Aminosäurereste (lila) für die Interaktion mit CD4 enthalten, werden von einem molekularen Gerüst präsentiert (rechts).



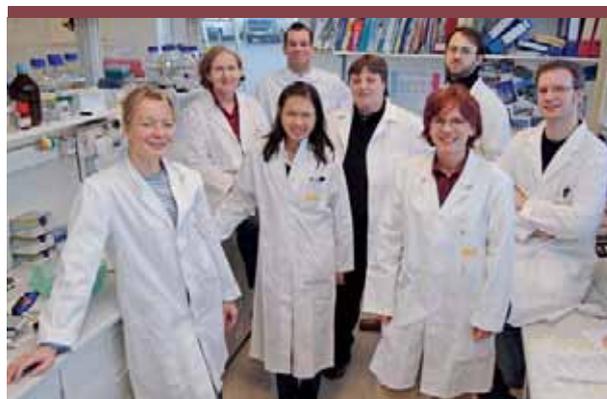
- Numan Akyol während der Kontrolle des Peptid-Synthesizer für die automatische Parallelsynthese von bis zu 192 Peptiden.

Photo: GBF, Bierstedt

Ausblick Der hohe technische Standard der Peptidchemie, der sich in den letzten dreißig Jahren entwickelt hat, ermöglicht die Untersuchung von Proteinen und ihren Wechselwirkungen mit anderen Molekülen auf der Ebene einzelner Aminosäuren. Mit den heute verfügbaren Peptidsyntheseverfahren können sequenziell kontinuierliche Proteinbindungsstellen kartiert, charakterisiert, optimiert und als Leitstrukturen für Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen verwendet werden. Synthetische und rekombinante Verfahren zur Mimikry diskontinuierlicher Bindungsstellen entstehen jedoch erst jetzt. Durch die Entwicklung und Verfeinerung dieser Methoden und ihre Anwendung auf biomedizinisch relevante Proteine werden sich unsere Kenntnisse über die molekularen Mechanismen von Protein-Ligand-Interaktionen erheblich erweitern. Damit eröffnen sich neue Möglichkeiten für das Design und die Herstellung von Wirkstoffen, die diese Interaktionen beeinflussen.



Jutta Eichler geboren 1961, Studium der Pharmazie an der Universität Greifswald. Promotion in Bioorganischer Chemie (1991, Humboldt-Universität Berlin). Postdoktorandin, Wirtschaftliche Mitarbeiterin und „Assistant Member“ (1991–1998, Torrey Pines Institute for Molecular Studies, San Diego, USA). Direktorin für kombinatorische Chemie (1998–1999, Graffinity Pharmaceutical Design GmbH, Heidelberg). Seit 2000 an der GBF, seit 2001 Leiterin einer Nachwuchs-Forschergruppe (gefördert vom BioFuture-Programm des BMBF). Habilitation in Bioorganischer Chemie (2004, Technische Universität Braunschweig).



- Das KPLI-Team. Hintere Reihe von links nach rechts: Tatjana Hirsch, Ulf Strijowski, Cornelia Hunke, Numan Akyol, Raimo Franke. Vordere Reihe von links nach rechts: Heike Overwin, Enge Sudarman, Jutta Eichler

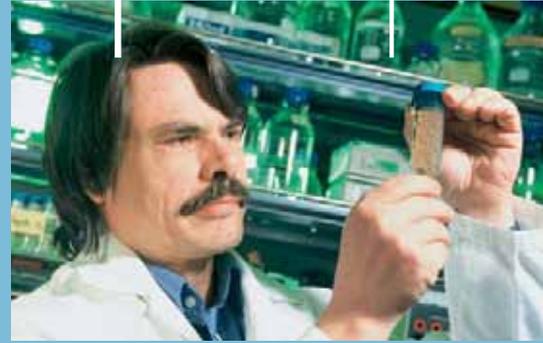
Foto: GBF, Bierstedt

LITERATUR Ausgewählte Publikationen über Konzepte und Methoden der synthetischen Nachahmung von Proteinbindungsstellen sowie über die Struktur des gp120 von HIV-1 als Grundlage für die Entwicklung einer synthetischen Vakzine.

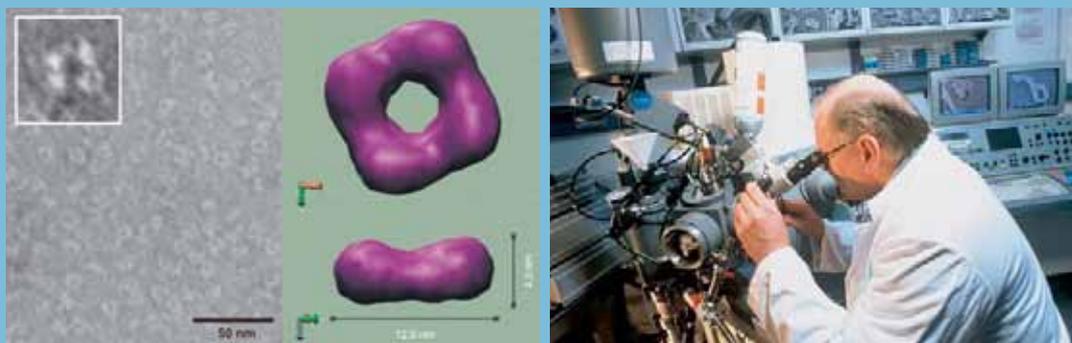
- Eichler, J. (2004). *Rational and Random Strategies for the Mimicry of Discontinuous Protein Binding Sites*. *Protein Peptide Lett.* 11(4): 281-290.
- Franke, R., Doll, C., Wray V., Eichler, J. (2004). *Loops on Loops: Generation of Complex Scaffolded Peptides Presenting Multiple Cyclic Fragments*. *Org.Biomol.Chem.* 2: 2847-2851.
- Eichler, J. (2005). *Synthetic Peptide Arrays and Peptide Combinatorial Libraries for the Exploration of Protein-Protein Interactions and the Design of Protein Inhibitors*. *Comb.Chem.High Throughput Screen.* 8(2): 135-143.
- Kwong, P. D., Wyatt, R., Robinson, J., Sweet, R. W., Sodorski, J., Hendrickson, W. A. (1998). *Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody*. *Nature* 393: 648-659.
- Burton, D. R., Desrosiers, R. C., Doms, R. W., Koff, W. C., Kwong, P. D., Moore, J. P., Nabel, G. J., Sodorski, J., Wilson, I. A., Wyatt, R. T. (2004). *HIV vaccine design and the neutralizing antibody problem*. *Nature Immunol.* 5: 233-236.

ERGEBNISBERICHT

FOKUS BERICHTE AUS DER FORSCHUNG



Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Ein natürlich gewachsener Biofilm aus einem See wurde in situ fixiert und steht nun für vergleichende Untersuchungen im Labor zur Verfügung. Nach dem Transport ins Labor untersucht Dr. Wolf-Rainer Abraham den Biofilm auf Beschädigungen. | Eine 3D-Rekonstruktion eines negativ-gefärbten FeS-Oxygenase Komplexes: (linker Teil der Abbildung) Mit Uranylacetat negativ-gefärbte Enzympartikel werden für die 3D-Rekonstruktionsanalyse verwendet. Im kleinen Nebenbild ist eine detaillierte Ansicht der individuellen Partikel in der Aufsichtprojektion zu sehen. (rechter Teil der Abbildung) 3D-Modell, einmal von oben (oben) und von der Seite (unten) gesehen. | Dr. Manfred Rohde bei der Arbeit am Elektronenmikroskop. Fotos: GBF, Bierstedt (li), GBF, Dr. Lünsdorf (mi), GBF, Bierstedt (re)



- 40 INFEKTION UND IMMUNITÄT
- 71 VERGLEICHENDE GENOMFORSCHUNG
- 77 NACHHALTIGE NUTZUNG VON LANDSCHAFTEN
- 84 TECHNOLOGIE – PLATTFORMEN
- 89 VERÖFFENTLICHUNGEN



Programm „Infektion und Immunität“

PROGRAMMSPRECHER | Prof. Dr. Jürgen Wehland | Abteilung für Zellbiologie | jwe@gbf.de

- Infektionen sind weltweit für ein Drittel aller krankheitsbedingten Todesfälle verantwortlich. In den letzten Jahrzehnten haben verbesserte Hygiene sowie allgemein verfügbare Antibiotika und Impfstoffe zu einem stetigen Rückgang derartiger Krankheiten geführt. Heute müssen wir uns jedoch mit der Tatsache auseinandersetzen, dass viele bakterielle Infektionskrankheiten nicht nur erneut auf dem Vormarsch sind, sondern auch, dass die Erreger immer häufiger resistent gegenüber Medikamenten sind. Der weltweite Reise- und Güterverkehr hat Epidemien zur Folge, die früher entweder – wie SARS und AIDS – völlig unbekannt waren oder – wie die Tuberkulose – bereits als besiegt galten.

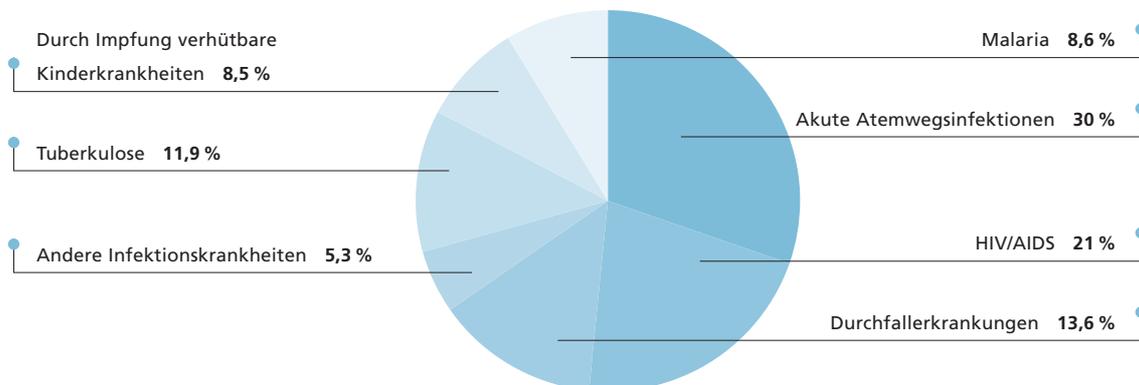
In den westlichen Industriestaaten entfalten Infektionskrankheiten erst durch moderne medizinische Methoden eine neue, heimtückische Wirkung: Patienten nach einer Organtransplantation oder auf Intensivstationen sind wegen immunsupprimierender Medikamente äußerst anfällig für opportunistische Erreger. Obwohl die Kliniken generell ein gutes Antibiotika-Management haben, entstehen weiterhin neue Resistenzen, und die Aussichten, nicht nur akute Krankheiten, sondern auch chronische oder dauerhafte Infektionen zu heilen, gehen stark zurück.

Diese Entwicklungen machen deutlich, dass dringend neue Strategien für die Diagnose, Vorbeugung und Therapie von Infektionskrankheiten gebraucht werden. Es ist deshalb unabdingbar, dass man sich in der Grundlagenforschung auf jene Mechanismen konzentriert, die das Wechselspiel zwischen Krankheitserreger und Wirtsorganismus während einer Infektion begleiten. Um neuartige Impfstoffe entwickeln zu können, müssen wir untersuchen, wie das Immunsystem des Wirtsorganismus auf eindringende Krankheitserreger reagiert und wie die Immunantwort ausgelöst wird. Nicht zuletzt muss auch herausgefunden werden, welchen Einfluss die Umwelt – etwa die Ernährung und Pathogenreservoirs – auf den Verlauf einer Infektion und die körpereigene Abwehr hat. Opportunistische Erreger stellen nicht nur für immunsupprimierte Patienten sondern auch für die alternde Bevölkerung ein schwer wiegendes Problem dar.

Trotz solcher beunruhigender Entwicklungen sind die Aussichten auf neue Diagnoseverfahren und wirksame Therapiestrategien heute sehr gut. Die systematische Genomanalyse liefert Informationen über potentielle Ansatzpunkte für Medikamente und erleichtert damit die Entwicklung neuer Antibiotika. Verbesserte Kenntnisse über die Funktion einzelner Gene in Verbindung mit dem Wissen über die Wechselbeziehungen zwischen Mikroorganismen und Wirtszellen bilden eine ausgezeichnete Grundlage für die systematische Planung chemotherapeutischer Strategien gegen pathogene Mikroorganismen. Außerdem liefert die funktionelle Genomanalyse neue Erkenntnisse über die molekularen Grundlagen der Immunantwort und die genetisch bedingte Anfälligkeit für Infektionskrankheiten.



Todesfälle durch infektiöse Krankheiten, 2002



Quelle: WHO-Report 2004

Unsere wachsenden Kenntnisse über die molekularen und zellulären Bestandteile des Immunsystems haben neue Möglichkeiten für klinische Maßnahmen eröffnet, mit denen die Immuntherapie über die Krankheitsvorbeugung hinausgeht und auch zur Heilung eingesetzt werden kann. Unser heutiges Wissen über die Immunität reicht weit über ihre schützende Rolle gegen Infektionskrankheiten hinaus. Das Immunsystem schützt bekanntermaßen nicht nur einen Wirtsorganismus vor pathogenen Mikroorganismen, sondern es ist auch auf Überwachung spezialisiert, spürt veränderte Zellantigene auf und beseitigt auf diese Weise schädliche Veränderungen in den Geweben und Organen des Organismus. Aber über die Einzelheiten der Mechanismen, mit denen bestimmte Mikroorganismen das Immunsystem schwächen und auf diese Weise latente oder chronische Infektionen hervorrufen, wissen wir bisher noch sehr wenig.

Das GBF-Programm „Infektion und Immunität“ umfasst Grundlagenforschung auf dem Gebiet von Infektionskrankheiten und der Immunantwort. An der Schnittstelle dieser beiden Gebiete liegt nach unserer Meinung das größte Potenzial für die Entwicklung neuer Medikamente und Strategien zur Krankheitsvorbeugung und -behandlung. Das Hauptziel des Programms besteht in der Aufklärung der grundlegenden Mechanismen, die hinter der Entstehung von Infektionskrankheiten stehen. Dazu gehört die Grundlagenforschung an Modell-Mikroorganismen und ihrer pathogenen Wirkung sowie eine eingehende Analyse der Immunmechanismen. Gegenstand der Untersuchungen sind die einzelnen molekularen und zellulären Schritte, die sich im Verlauf einer Infektion abspielen, die Mechanismen, mit denen einzelne Mikroorganismen eine Krankheit verursachen, und die grundlegenden Vorgänge bei den Abwehrmechanismen, mit denen der Wirtsorganismus eine Infektion bekämpft und unter Kontrolle bringt. Mithilfe dieser Kenntnisse sollen neue Strategien und Wirkstoffe entwickelt werden, mit denen Infektionskrankheiten verhütet und behandelt werden können.

Themen des Forschungsprogramms

- Mikroorganismen
- Pathogenese
- Immunbiologie
- Prävention und Therapie



Topic 01 – Mikroorganismen

TOPICSPRECHER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Abteilung für Mikrobielle Pathogenität und Impfstoffforschung | gsc@gbf.de

- Mikrobielle Infektionen sind nach wie vor eine sehr ernste Bedrohung für die menschliche Gesundheit. Eine Voraussetzung für die Entwicklung neuer Strategien zu ihrer Bekämpfung sind umfassende Kenntnisse über die Vorgänge, durch die Pathogene Krankheiten verursachen. Die Ziele dieses Topics sind, bakterielle Virulenzfaktoren zu identifizieren und zu charakterisieren, die Beziehung zwischen Struktur und Funktion dieser Faktoren aufzuklären, zelluläre Netzwerke und deren Kommunikationsstrukturen zu analysieren sowie die Mechanismen der Antibiotikaresistenz zu verstehen.

In diesem Topic werden verschiedene genetische und molekularbiologische Verfahren auf eine Reihe medizinisch hoch relevanter oder als Modell geeigneter Organismen angewandt. Pneumokokken, *Listeria monocytogenes* und *Pseudomonas aeruginosa* dienen uns als Modellorganismen für ganz bestimmte biologische Eigenschaften. Streptokokken der Gruppe A verursachen bei Menschen ein breites Spektrum von Krankheiten, darunter invasive Leiden und Folgeerscheinungen wie rheumatisches Fieber. Pneumokokken sind für lebensbedrohliche Erkrankungen wie Lungenentzündung und Meningitis verantwortlich. *Listeria monocytogenes* ist das bestuntersuchte pathogene Bakterium und stellt ein hervorragendes System dar, um die an der Krankheitsentstehung beteiligten Bausteine der Bakterien zu identifizieren. *Pseudomonas aeruginosa* hat in den letzten Jahren, genau wie die oralen Streptokokken, im Gesundheitswesen erheblich an Bedeutung gewonnen.

Mittlerweile sind die vollständigen Sequenzen der Genome vieler Mikroorganismen bekannt und über vergleichende Sequenzanalysen können Hinweise zu den Gen-Funktionen der ausgewählten Modell-Bakterienarten erhalten werden. Durch zusätzliche Sequenzvergleiche mit nicht, schwach und stark pathogenen Varianten oder verwandten Arten wird es gelingen, potenzielle Virulenzfaktoren zu identifizieren.

Diese Analysen werden zudem dazu beitragen, die normale Funktion bakterieller Virulenzfaktoren außerhalb einer infizierten Wirtszelle aufzuklären. Das wird zu einem besseren Verständnis darüber führen, wieso manche Bakterienstämme eine Krankheit verursachen, während andere, sehr eng verwandte Stämme, es nicht tun. Sind die genetischen Abläufe bekannt, die beispielsweise an lebenswichtigen Stoffwechselwegen beteiligt sind, können außerdem molekulare Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer antimikrobieller Wirkstoffe identifiziert werden.



Um diese Ziele zu erreichen, verfolgt der Themenbereich sechs Projekte:

Identifizierung und Charakterisierung von Virulenzfaktoren bei Streptokokken der Gruppe A, C und G, *Listeria monocytogenes* und *Pseudomonas aeruginosa*. Dazu werden hoch auflösende 2-D-Gelelektrophorese, automatisierte Nano-HPLC-Q-TOF-Massenspektrometrie und DNA-Virulenzassays eingesetzt. Außerdem werden mit DNA-Arrays an zahlreichen klinischen Proben molekularepidemiologische Untersuchungen durchgeführt.

Um die entscheidenden Ansatzpunkte für eine rational begründete Wirkstoffentwicklung zu finden, wird die dreidimensionale Struktur der nachgewiesenen potentiellen Virulenzfaktoren allein oder im Komplex mit spezifischen Liganden aufgeklärt.

Eine wichtige Aufgabe wird in den kommenden Jahren darin bestehen, die genetischen Grundlagen der Antibiotikaresistenz aufzuklären. Bei Mikroorganismen haben sich zahlreiche Abwehrmechanismen entwickelt, die ihre Wirkung entweder auf der Ebene des Individuums oder in einer Population entfalten. Durch Analyse ganzer Genome und Expressionsprofile wollen wir die beteiligten Mechanismen aufklären und wirksamere Arzneimittel entwerfen. Insgesamt werden die Arbeiten dazu führen, dass wir besser verstehen, wie pathogene Bakterien untereinander und mit ihren Wirtszellen kommunizieren und so eine Krankheit hervorrufen können. Die daran beteiligten, nachgewiesenen Faktoren sind viel versprechende Zielpunkte für die Entwicklung von Impfstoffen und therapeutischen Medikamenten.



- Professor Dr. Chhatwal bei der Vorbereitung mikroskopischer Untersuchungen



01.1 Virulenzfaktoren von Streptokokken und Pneumokokken

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Abteilung für Mikrobielle Pathogenität und Impfstoffforschung | gsc@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Maike Bolm | Dr. Katrin Dinkla | Dr. Antonia Godehardt | Dr. Manfred Rohde | Inka Sastalla | Patricia Wegmeyer

Streptokokken und Pneumokokken sind nach wie vor eine ernste Gefahr für die menschliche Gesundheit. Auch mit dem Einsatz von Antibiotika ist es nicht gelungen, die von ihnen verursachten Krankheiten einzudämmen. Ihre genetische Diversität und die komplizierten Pathogenesemechanismen haben bisher alle Bemühungen, geeignete Bekämpfungsmethoden zu entwickeln, behindert. Das Hauptziel dieses Projekts besteht in der Identifizierung und Charakterisierung von Faktoren, die zur Virulenz dieser Erreger beitragen. Diese Erkenntnisse werden zur Aufklärung der Krankheitsmechanismen und der Identifikation neuer vielversprechender Zielstrukturen für die Entwicklung von Impfstoffen und Therapeutika führen.

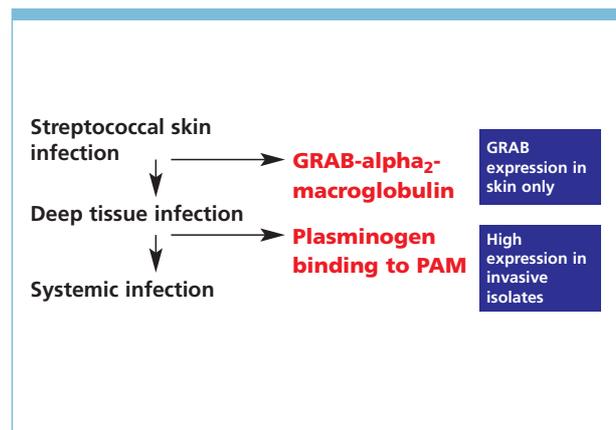
Wechselwirkungen zwischen Streptokokken und Wirtsproteinen Wir untersuchten die Zusammenhänge zwischen der Fähigkeit von Gruppe A Streptokokken, Plasminogen zu binden, dem Genotyp des Plasminogen-bindenden Proteins PAM und den invasiven Eigenschaften der Streptokokken-Isolate. Die Untersuchungen zeigten, dass invasive Isolate in Gegenwart von Fibrinogen und Streptokinase mehr Plasminogen binden als Isolate aus nicht-invasiven Infektionen.

Die biologische Funktion der Wechselwirkungen zwischen dem Oberflächenprotein GRAB der Gruppe-A-Streptokokken und dem α_2 -Makroglobulin der Wirtszellen wurde aufgeklärt. Wir konnten nachweisen, dass zwei Motive in der Delta-A-Region des GRAB-Proteins für die Bindung des α_2 -Makroglobulins an GRAB verantwortlich sind. Eine Streptokokkenmutante ohne GRAB an der Oberfläche war in einem Maus-Infektionsmodell der Haut nur schwach infektiös.

Zudem konnten wir zeigen, dass die Bindung von Gruppe A Streptokokken an Kollagen die Ursache des rheumatischen Fiebers ist, einer von Streptokokken ausgelösten Autoimmunkrankheit. Das wurde durch die Beobachtung bestätigt, dass Rheuma-verursachende Streptokokken der Gruppen C und G aus den „Northern Territory“ in Australien unmittelbar Kollagen binden können. Bei Streptokokken der Gruppe G wurde ein Fibronectin-bindendes Protein identifiziert, das als GfbA bezeichnet wurde. GfbA weist einige einzigartige Eigenschaften auf, die derzeit genauer untersucht werden.

Neue Virulenzfaktoren Wasserstoffperoxid wurde als wichtiger Virulenzfaktor der Streptokokken identifiziert. Mit *C. elegans* als Infektionsmodell konnten wir zeigen, dass die Wasserstoffperoxid-vermittelte Tötung ein gemeinsames Merkmal verschiedener Streptokokkenarten ist. Das Streptokokkenprotein SpsA interagiert mit dem menschlichen polymeren Ig-Rezeptor und sorgt so für die Anheftung und die anschließende Aufnahme der Bakterien in die Epithelzellen. Mit Hilfe von hybriden Mensch-Maus-Rezeptoren konnte gezeigt werden, dass diese Wechselwirkung sehr spezifisch über den menschlichen Ig-Rezeptor vermittelt wird. Weiterhin konnten wir zeigen, dass die extrazellulären Domänen 3 und 4 des menschlichen polymeren Ig-Rezeptors an den Wechselwirkungen und am Eindringen der Pneumokokken in die Zellen beteiligt sind.

Die weitere Charakterisierung der bereits bekannten Virulenzfaktoren und die Identifizierung neuer Virulenzfaktoren werden die komplizierten molekularen Abläufe weiter aufklären, die dazu beitragen, dass Streptokokken oder Pneumokokken Krankheiten verursachen können.



- Biologische Folgen einer Hautinfektion mit Streptokokken: Interaktionen der Streptokokken-Proteine GRAB und PAM mit α_2 -Makroglobulin bzw. Plasminogen.



01.2 Identifizierung und Charakterisierung bakterieller Virulenzfaktoren

PROJEKTLEITER | Dr. Lothar Jänsch | Abteilung für Zellbiologie | lja@gbf.de

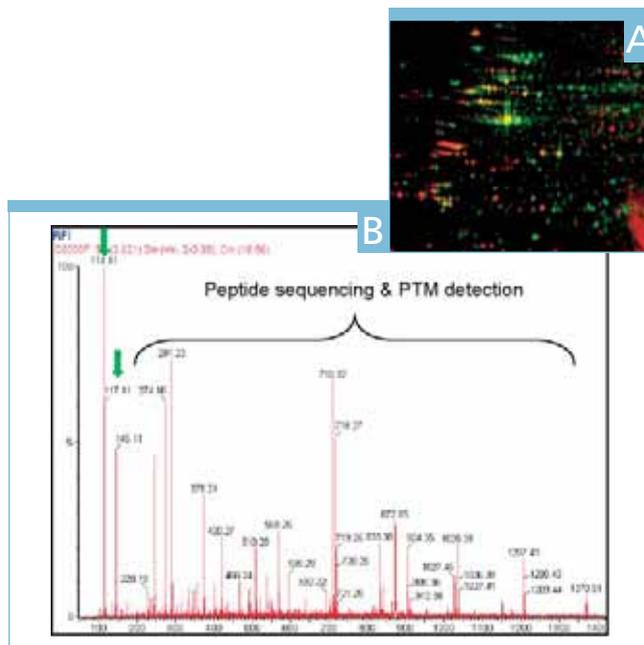
PROJEKTMITARBEITER | Maja Baumgärtner | Roman Fischer | Dr. Uwe Kärst | Tobias Reinl | Kathrin Thedieck | Matthias Trost | Prof. Dr. Jürgen Wehland | Dr. Dirk Wehmhöhner

Listeria monocytogenes ist ein Krankheitserreger, der besonders bei immungeschwächten Patienten Lebensmittelinfektionen wie Meningoenzephalitis, Meningitis sowie vorgeburtliche Infektionen auslöst. Mit einem Modellsystem werden in einem interdisziplinären Ansatz über Proteomforschung, Genomik und bioinformatische Methoden die Wechselbeziehungen zwischen bakteriellen Krankheitserregern und ihren Wirtszellen auf molekularer Ebene untersucht. Dazu gehört die Analyse der Virulenzfaktoren mit ihren Proteinwechselwirkungen und -signalen, aber auch bisher nicht charakterisierter Proteine, die unmittelbar am Infektionszyklus beteiligt sind.

Neue Virulenzfaktoren Da die Wechselwirkungen zwischen Krankheitserreger und Wirtszelle über deren Zellwand- und Membranproteine verlaufen, haben wir Methoden entwickelt, mit denen wir alle bekannten bakteriellen Zelloberflächenproteine untersuchen können. Eine umfassende, vergleichende Proteomanalyse verschiedener Mutanten der pathogenen Bakterienart *L. monocytogenes* und der nicht-pathogenen Spezies *L. innocua* mit hoch auflösender 2-D-Gelelektrophorese und automatisierter Nano-HPLC-Q-TOF-Massenspektrometrie identifizierte rund 1300 verschiedenen Proteine. Zur systematischen Erfassung wurden gemeinsam mit der Abteilung für Strukturbiochemie bioinformatische Verfahren entwickelt. Die neu eingerichtete Korrelationsdatenbank LEGER enthält Informationen über die voraussichtliche subzelluläre Lokalisierung und Regulation aller Proteine, die verwendeten biochemischen Methoden und die experimentellen Bedingungen. Damit unterstützt LEGER das Erstellen von Proteinexpressionsprofilen, die mit der pathogenen Wirkung der untersuchten Bakterienarten und genetischen Varianten im Zusammenhang stehen. Andere bioinformatische Verfahren konzentrieren sich auf die Zusammenführung und visuelle Umsetzung der Daten und erleichtern das Erstellen neuer Hypothesen über die Proteinfunktionen.

Funktionelle Charakterisierung der Virulenzfaktoren

Die anfängliche Wechselwirkung zwischen Wirtszelle und Erreger stellt wohl den entscheidenden Schritt des pathogenen Ablaufes dar. Um die Funktionen bekannter Virulenzfaktoren zu analysieren und neue Virulenzfaktoren zu identifizieren, konzentrieren wir uns auf die Untersuchung von Protein-Protein-Wechselwirkungen und die Identifizierung der beteiligten Proteine. Zur vergleichenden



- Vergleichende Proteomanalysen können gelbasiert und gelfrei durchgeführt werden. (A) Wirtszellantwort infolge der Infektion durch *Listeria monocytogenes*. Gesamtzellextrakte von infizierten HeLa Zellen wurden durch 2-D-Elektrophorese aufgetrennt. Die Expression der Proteine wird durch einen Fluoreszenzfarbstoff (SYPRO Ruby, grün), ihr Phosphorylierungsstatus durch die Verwendung eines spezifischen Farbstoffes für Phosphoproteine (Pro-Q Diamond, rot) dargestellt. (B) Automatisierte Auftrennung und Fragmentierung von Peptiden durch Kombination von Nano-HPLC und ESI-Q-TOF-Massenspektrometrie. Das Fragmentierungsspektrum liefert Informationen über die Aminosäuresequenz, posttranslationale Modifizierungen sowie das relative Mengenverhältnis eines Peptides in zwei gemischten Proben (iTRAQ-Markierung unter Verwendung der 114Da und 117Da Reporter-Reagenzien, grüne Pfeile).

Phosphoproteomanalyse infizierter Wirtszellen wurden verschiedene Verfahren etabliert. Gelelektrophorese-unabhängige Methoden ermöglichen die systematische Charakterisierung von Phosphorylierungsstellen – ergänzt durch Markierungsverfahren, die differentiell regulierte Kinaseaktivitäten nachweisen. Durch diese Untersuchungen – sie sollen den Ablauf der Signalübertragung klären, während *Listeria* in die Wirtszelle eindringt – wurden in den Wirten ca. 200 verschiedene Phosphorylierungsstellen nachgewiesen. Viele haben eine bisher unbekannte, aufsteigende Kinaseaktivität.



01.3 Strukturanalyse von Virulenzfaktoren

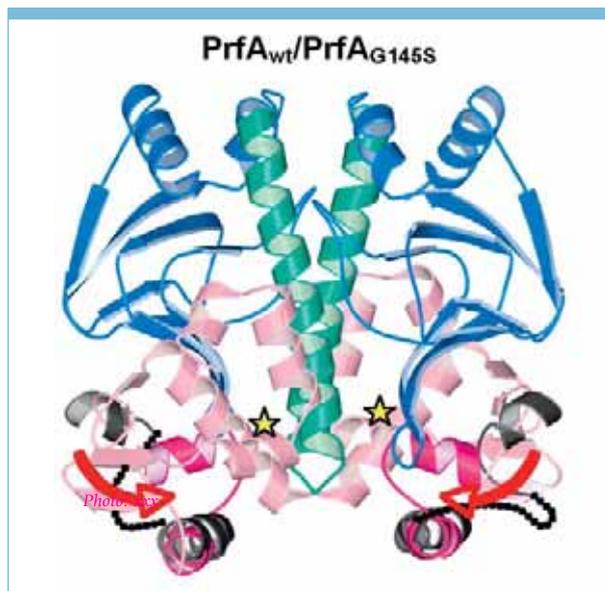
PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dirk Heinz | Bereich Strukturbioogie | dih@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Maïke Bublitz | Carina Büttner | Marina Eiting | Davide Ferraris | Susanne Freese
| Gregor Hagelüken | Dr. Hans-Jürgen Hecht | Dr. Joop van den Heuvel | Dr. Birgit Hofmann |
Dr. Hartmut Niemann | Dr. Wolf-Dieter Schubert | Thomas Wollert | Dr. Victor Wray

Bakterien, Viren und andere Krankheitserreger treten über spezielle Oberflächenmoleküle mit potenziellen Wirtszellen in Wechselwirkung. Im Rahmen dieses Projekts wollen wir die Einzelheiten des atomaren Aufbaus von bakteriellen und viralen Virulenzproteinen analysieren und so die Mechanismen aufklären, durch die krankheitserregende Mikroorganismen menschliche Wirtszellen befallen können.

Expressionsregulation von Virulenzfaktoren Das Bakterium *Listeria monocytogenes* ruft die Listeriose hervor, die unter anderem Meningitis und Fehlgeburten verursachen kann. Die Mechanismen, mit denen *L. monocytogenes* die Abwehr der Wirtszellen überwindet und sich auf Nachbarzellen und -gewebe ausbreitet, wurden in den letzten Jahren intensiv erforscht. Stets sind daran einzelne vom Bakterium produzierte Proteine beteiligt, die die Grundfunktionen der Wirtszelle ausnutzen. Der wichtigste Transkriptionsregulator für die Virulenzfaktoren von *L. monocytogenes* ist PrfA, ein DNA-bindender Effektor, der unter geeigneten Umweltbedingungen die Produktion der Virulenzfaktoren aktiviert.

Wir haben die Kristallstruktur des Transkriptionsfaktors PrfA und einer konstitutiv aktiven mutierten Form namens PrfA_{G145S} aufgeklärt. Bei dieser Mutante befindet sich anstelle des Glycinrests in Position 145 ein Serin. PrfA ist ein symmetrisches Dimer aus zwei Monomeren. Jedes Monomer enthält drei Domänen (siehe Abb.): eine N-terminale Domäne (blau), eine zentrale α -Helix (grün) – die das Dimer bildet – und eine C-terminale, DNA-bindende Domäne (rosa). Die C-terminale Domäne enthält ein Helix-Turn-Helix-Motiv (HTH), das die DNA spezifisch bindet. Die Mutation G145S (gelb), die sich in der C-terminalen Domäne befindet, verursacht eine Umorientierung im HTH-Motiv. Im Wildtypprotein (schwarze Helices) ist die Schleife zwischen den beiden α -Helices des HTH-Motivs ungeordnet. Im mutierten Protein dagegen (rote Helices) ist die Schleife geordnet und gut zu erkennen, ein Hinweis, dass die Mutation eine Stabilisierung des Motivs zur Folge hat.



• Struktur des transkriptionalen Regulators PrfA aus *Listeria monocytogenes*.

Außerdem erfährt die erste α -Helix des HTH-Motivs durch die Mutation eine auffällige Lageveränderung (rote Pfeile) und nimmt eine für DNA-bindende Proteine typische Position ein. Die Stabilisierung der Konformation durch den Ersatz von Gly145 durch Serin erklärt, weshalb Bakterienstämme mit dieser Mutation die Virulenzfaktoren unabhängig von Signalen aus der Umwelt produzieren. Zudem zeigt die Kristallstruktur in der Nähe der mutierten Stelle einen Tunnel, an den vermutlich ein bisher unbekannter Signalfaktor der Wirtszelle bindet.

Virulenzfaktoren von *Mycobacterium tuberculosis*

Ungefähr ein Drittel der Weltbevölkerung ist mit *M. tuberculosis*, dem Verursacher der Tuberkulose, infiziert. Im Rahmen eines EU-finanzierten Projekts zur Untersuchung von Enzymen, die an der Entstehung von chronischer Tuberkulose beteiligt sind, wurde die Struktur der Thiolperoxidase Tpx von *M. tuberculosis* aufgeklärt. Wir fanden heraus, dass Tpx ein atypisches Peroxiredoxin ist: Es ist am Antioxidantien-Abwehrsystem des Erregers beteiligt, das als virulenzbestimmender Mechanismus bei Isoniazid-resistenten KatG(-)-Stämmen aktiv ist, wobei im aktiven Zentrum der inaktiven Variante C60S ein Acetat gebunden ist.

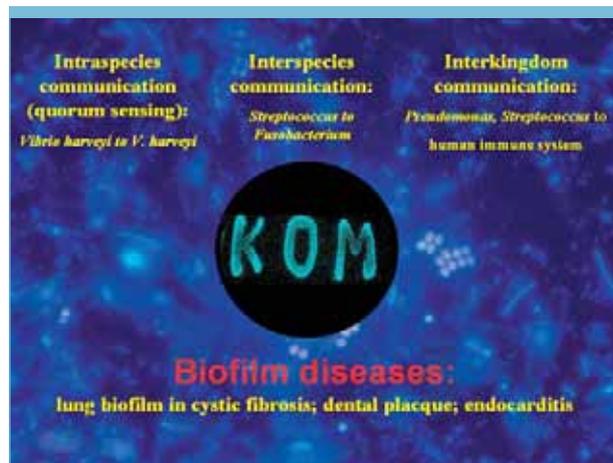


01.4 Kommunikation unter Mikroorganismen

PROJEKTLEITERIN | Priv.-Doz. Dr. Irene Wagner-Döbler | Arbeitsgruppe Mikrobielle Kommunikation | iwd@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Hanno Biebl | Agnes Bodor | Dr. Ingrid Brümmer | Bettina Elxnat | Birte Engelhardt
| Dr. Brigitte Kunze | Dr. Helena Sztajer | Dr. Roland Weller

Bakterien produzieren kleine, diffusionsfähige Signalmoleküle – so genannte Autoinduktoren. Sie regulieren in Abhängigkeit ihrer Konzentration die Expression grundlegender physiologischer Abläufe. *Vibrio*-Zellen etwa beginnen zu lumineszieren und Toxine zu produzieren, wenn ihre Zahl einen bestimmten, als Quorum bezeichneten Wert übersteigt. Diese Form der Kommunikation – das Quorum-sensing – steuert viele wichtige Eigenschaften, unter anderem die Expression von Virulenzfaktoren, die Antibiotikaproduktion und die Bildung von Biofilmen. Mit dem Verständnis für die Kommunikation der Mikroorganismen und der Möglichkeit einzugreifen, eröffnen sich neue Wege zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten und zur Entwicklung potenzieller Antibiotika-Alternativen.



- Die Abkürzung „KOM“ (von „Kommunikation“) ist hier mit einer Kultur des leuchtenden Bakteriums *Vibrio harveyi* auf eine Agarplatte geschrieben worden. Wir verwenden Mutanten von *V. harveyi* als Biosensorstämme, um das universelle Signalmolekül Autoinducer 2 zu detektieren. Zell-Zell-Kommunikation findet auf drei Ebenen statt: (1) innerhalb der Population einer einzigen Art, um in Abhängigkeit von der Zelldichte die Eigenschaften der Bakterien zu steuern; (2) zwischen Populationen verschiedener Arten, wobei universelle Signalmoleküle eingesetzt werden (z. B. Autoinducer-2); (3) zwischen Bakterien und ihrem eukaryotischen Wirt. Im Hintergrund sieht man einen komplexen aquatischen Biofilm. Im menschlichen Körper sind Biofilme für Krankheiten verantwortlich, die sich mit Antibiotika nicht behandeln lassen.

Neue Kommunikationssignale bei Meeresbakterien

Mit Reporterstämmen, deren Transkription des Quorum-Sensing-Regulators luxR mit der Transkription des grün fluoreszierenden Proteins gfp gekoppelt ist, haben wir in Kulturüberständen nach Signalmolekülen gesucht. Die untersuchten Bakterien gehörten vorwiegend in die systematische Kategorie *Roseobacter* und wurden aus Dinoflagellaten isoliert – Meeresalgen, die im Meer giftige Algenblüten auslösen – aber ebenso aus offenem Gewässer oder Meeressedimenten. In über 50 Prozent der untersuchten Stämme entdeckten wir vielfältige acylierte Homoserinlacton-(AHL-)Signalmoleküle. Offenbar ist diese Form der Genregulation weiter verbreitet, als zuvor angenommen. Häufig wurden im selben Organismus ganze Sammlungen von AHLs mit unterschiedlich langen Molekülketten gefunden, und teilweise fanden wir die gleichen AHLs in nur weitläufig verwandten Bakterien. Offensichtlich existieren sowohl komplizierte Signalübertragungskaskaden als auch ein Informationsaustausch zwischen verschiedenen Gattungen. Welche phänotypischen Eigenschaften diese Verbindungen in den Bakterien steuern und wie sie sich möglicherweise auf die eukaryotische Wirtszelle auswirken, ist bisher nicht bekannt.

Das universelle Signal AI-2 bei *Streptococcus mutans*

Die meisten bakteriellen Signalmoleküle sind artspezifisch, ein bestimmter Autoinduktor ist jedoch sowohl bei grampositiven als auch bei gramnegativen Bakterien weit verbreitet und hat damit das Potenzial, als universelles Signalmolekül zu agieren. Es handelt sich um einen Furanosyl-Borat-Diester, der als Nebenprodukt entsteht, wenn SAM (S-Adenosylmethionin) von dem Enzym luxS entgiftet wird. Das Molekül wurde als Autoinduktor 2 (AI-2) bezeichnet und beeinflusst die Expression von Virulenzfaktoren sowie die Bildung von Biofilmen, wobei es häufig mit anderen Quorum-sensing-Signalen zusammenwirkt. Mit dem Reporterstamm von *Vibrio harveyi* untersuchten wir die AI-2-Produktion bei *S. mutans*, einem Bestandteil dentaler Biofilme. *S. mutans* ist eine der wichtigsten Ursachen für Karies und kann Auslöser einer infektiösen Endokarditis sein. Wir konnten nachweisen, dass die Produktion von AI-2 bei *S. mutans* stark von den Kulturbedingungen abhängt, einschließlich der Wachstumsphase und der Zusammensetzung des Kulturmediums, aber auch von der Wachstumsform (Plankton oder Biofilm). Solche Faktoren müssen berücksichtigt werden, soll bei *S. mutans* die Regulation der Transkription durch AI-2 analysiert werden.



01.5 „Small Colony Variants“ von *Pseudomonas aeruginosa*

PROJEKTLEITERIN | Dr. Susanne Häußler | Arbeitsgruppe Chronische *Pseudomonas* Infektionen | sus@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Florian Bredenbruch | Andree Meissner | Caroline Zaoui

Bakterien-Subpopulationen, die nur langsam wachsen, wurden schon vor über 80 Jahren beschrieben. Doch seit etwa zehn Jahren erregen diese morphologischen Varianten, die auf Nähr-Agar besonders kleine Kolonien bilden, größere Aufmerksamkeit. Seither werden diese sogenannten „small colony variants“ (SCVs) verschiedener Bakterienarten mit persistierenden oder wiederkehrenden Infektionen in Verbindung gebracht.

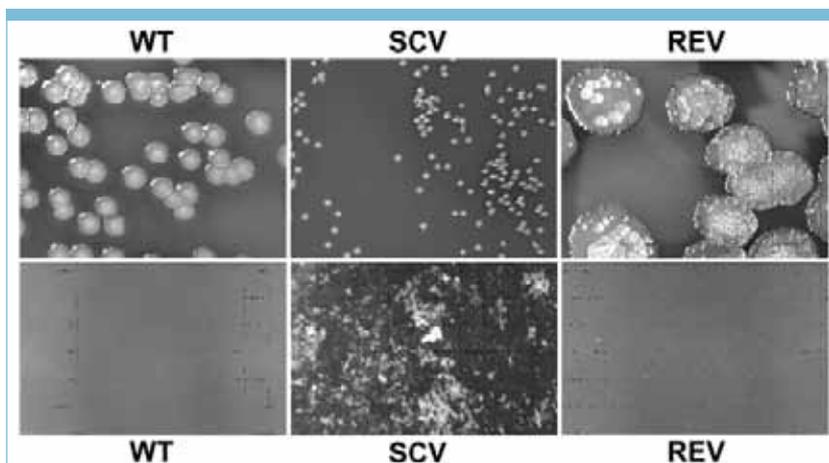
Pseudomonas aeruginosa ist ein wichtiger humaner opportunistischer Erreger, der in vielen Fällen lebensbedrohliche Nosokomialinfektionen hervorruft. Er ist auch das dominante bakterielle Pathogen, das aus der chronisch infizierten Lunge von Patienten mit Mukoviszidose isoliert werden kann. Trotz der Immunantwort des Wirtsorganismus und trotz einer antimikrobiellen Therapie in der chronisch infizierten Lunge überlebt *P. aeruginosa*.

Es hat sich gezeigt, dass seine Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen nicht nur durch geeignete Regulationsprozesse erleichtert wird, sondern auch durch die Entstehung verschiedener bakterieller Subpopulationen erfolgt. Bringt man den ursprünglichen *Pseudomonas* Genotyp in einen strukturierten Mikrokosmos, diversifiziert er schnell und bringt eine Reihe morphologisch unterschiedlicher Genotypen hervor, die in ihrer jeweiligen Nische einen Funktionsvorteil aufweisen und durch Selektion erhalten bleiben. Die Evolution von *P. aeruginosa*-SCVs im vielgestaltigen Lebensraum einer chronisch infizierten Mukoviszidose-Lunge dürfte entscheidend zur Entstehung der Bakterienpersistenz beitragen, denn sie passen sich etwa durch eine verbesserte Fähigkeit zur Biofilm-Bildung gezielt an ihre jeweilige Umgebung an.

Wechsel zu einem Biofilm-Phänotyp bei *P. aeruginosa*

Mittels Transposon-Mutagenese klinisch bedeutsamer Stämme von *P. aeruginosa* konnten wir mehrere Gene identifizieren, die an der Umwandlung eines *P. aeruginosa*-Wildtyps in einen Biofilm-bildenden SCV-Phänotyp und umgekehrt beteiligt sind. Durch Analyse des globalen Expressionsmusters, „Western Blot“-Expressionsstudien von *P. aeruginosa*-Fimbrien und elektronenmikroskopische Untersuchungen ausgewählter Mutanten zeigte sich, dass die Expression der Gengruppe *cupA* („Chaperon-Usher-Pathway“) mit einem selbstaggregierenden, Biofilm-bildenden SCV-Phänotyp einhergeht. Diese Gengruppe sorgt für die Ausbildung von Fimbrienstrukturen an der Bakterienoberfläche. Von *cupA* codierte Fimbrien auf der Zelloberfläche von *P. aeruginosa* wurden bisher nicht beschrieben.

Vieles deutet darauf hin, dass intrazelluläres zyklisches di-GMP – ein kürzlich identifiziertes Signalmolekül – die Fimbrien-vermittelte Anheftung verschiedener Bakterien an Oberflächen reguliert. Wir analysieren derzeit die molekularen Regulations-Mechanismen der *cupA*-Gene und konnten zeigen, dass die Überexpression der EAL-Domäne mit dem „phenotypic variant regulator“ (Pvrr) und Knockout verschiedener GGDEF-haltiger Membranproteine dazu führt, dass eine selbstaggregierende SCV den Phänotyp des Wildtyps annimmt. Derzeitiger Gegenstand unserer Forschungsarbeiten ist die Regulation des intrazellulären zyklischen di-GMP Spiegels, der offenbar für den Wechsel vom „frei schwimmenden“ oder planktonischen Wachstum zur Biofilmbildung eine entscheidende Rolle spielt.



- Wildtyp, SCV und in vitro generierte Revertante kultiviert auf Columbia Agar Platten (oben) und in Flüssigkultur (unten).



Topic 02 – Pathogenese

TOPICSPRECHER | Prof. Dr. Jürgen Wehland | Abteilung für Zellbiologie | jwe@gbf.de



- Für die Entwicklung neuer diagnostischer und therapeutischer Strategien sind detaillierte Kenntnisse der einzelnen Schritte im Infektionsprozess und in der Krankheitsentwicklung essenziell. Die Projekte dieses Themenbereichs sollen Pathogenitätsmechanismen analysieren und aufklären – sowohl von der Seite des Erregers als auch der des Wirtssystems. Wirt-Pathogen-Wechselwirkungen stehen im Vordergrund der Forschung, vor allem die Adhäsions- und Invasionsmechanismen von Streptokokken, Listerien und pathogenen *E. coli*. Eine ebenso wichtige Rolle für die Immunabwehr spielen die Wirtsreaktionen im Verlauf der Infektion, denn Pathogene haben raffinierte Virulenzmechanismen entwickelt, die es ihnen ermöglichen, das Abwehrsystem des Wirts zu umgehen. Ein weiteres wichtiges Werkzeug für die Analyse der Pathogenitätsmechanismen ist die Etablierung von Tierinfektionsmodellen.



- Überimpfen von Bakterienkolonien von einer Agarplatte.

Foto: GBF, Bierstedt



02.1 Molekulare Mechanismen der Pathogen-Wirtszellinteraktion

PROJEKTLEITER | Dr. Klemens Rottner | Arbeitsgruppe Zytoskelett Dynamik | kro@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Tanja Bosse | Julia Ehinger | Anke Fabian | Dr. Frank P. Lai | Dr. Silvia Lommel

Das Projekt befasst sich mit der Charakterisierung von Signalwegen, die eine Umstrukturierung des Aktinzytoskeletts bei Pathogen-Wirtszellinteraktionen regulieren. Ausgangspunkt war die Beobachtung, dass bestimmte bakterielle Pathogene wie *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* oder *Burkholderia pseudomallei* Teile der zellulären Aktinpolymerisationsmaschinerie umfunktionieren. Sie können sich dadurch im Zytoplasma von Wirtszellen fortbewegen und sich auf Nachbarzellen ausbreiten. Bestimmte Aktinregulatoren der Wirtszelle, wie beispielsweise N-WASP, haben sich als besonders wichtig für diese Prozesse herausgestellt.

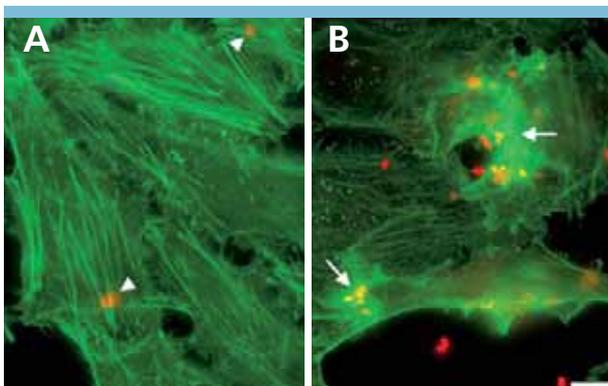
N-WASP und Pathogen-Wirtszell Interaktion Das ubiquitär exprimierte N-WASP Protein ist mit dem hämatopoietischen Wiskott-Aldrich-Syndrom Protein (WASP) verwandt, dem Auslöser einer vererbten Immunschwäche. Die Herstellung und Charakterisierung N-WASP-defekter Zelllinien hat erheblich zum Verständnis der

Aktinreorganisation bei verschiedenen Pathogen-Wirtszellinteraktionen beigetragen. Als prominentes Beispiel gilt nicht zuletzt die durch pathogene *E. coli* (wie EPEC und EHEC) induzierte Anheftung und Bewegung dieser Bakterien auf der Oberfläche von Darmepithelzellen. Daher fokussieren wir unter anderem auf die molekularen Mechanismen der N-WASP-Rekrutierung und -Aktivierung bei der Wechselwirkung von EPEC oder EHEC mit ihren Wirtszellen.

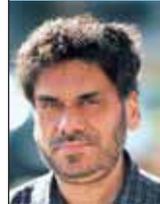
Zudem beschäftigen wir uns mit den molekularen Mechanismen der N-WASP-Aktivierung an der Shigellenoberfläche. Bei diesen Experimenten werden N-WASP-defiziente Zellen mit diversen funktionellen und bekannten N-WASP-Modulen rekonstituiert. Diese Module haben – nach Infektion dieser Zellen mit Shigellen – unmittelbaren Einfluss auf die Bewegungsgeschwindigkeit und somit Virulenz dieser Erreger.

Die physiologische Funktion von N-WASP Kürzlich konnten wir zudem neue Erkenntnisse über die zellulären Funktionen des N-WASP-Proteins gewinnen, die unser Verständnis der herausragenden Bedeutung dieses Proteins für Pathogen-Wirtszellinteraktionen verbessern. Wir konnten zeigen, dass N-WASP durch die Aktivierung des Arp2/3-Komplexes die Effizienz der Aktinpolymerisation bei der Clathrin-vermittelten Endozytose erhöht, die mit einer erhöhten Internalisierungsrate etwa von Wachstumsfaktor-Rezeptoren korreliert. N-WASP ist also ein zellulärer Schlüsselfaktor von räumlich und zeitlich regulierter Arp2/3-Aktivierung an der Plasmamembran. Dies legt nahe, warum das N-WASP Protein von so unterschiedlichen Pathogenen wie EPEC und EHEC, *S. flexneri* oder Vaccinia-Virus benutzt wird.

Reorganisationen des Aktinzytoskeletts während der Pathogenaufnahme Seit kurzem beschäftigen wir uns zudem mit der molekularen Regulation von Prozessen, die den ersten Schritt der Infektion mit Erregern wie *L. monocytogenes* oder *S. flexneri* einleiten, nämlich der Aktin-abhängigen Invasion dieser Bakterien in Wirtszellen. Hierfür kommen Zelllinien zum Einsatz, in denen durch genetische Inaktivierung oder RNA-Interferenz die Expression von Schlüsselfaktoren zellulärer Aktinreorganisation (wie beispielsweise von kleinen GTPasen der Rho-Familie) unterbunden wurde. Mit Hilfe dieser Untersuchungen sollen die Signalkaskaden aufgeklärt werden, die die induzierte Aufnahme von gram-positiven Listerien, von gram-negativen Shigellen oder den mit letzteren verwandten Salmonellen steuern.



- Aktinreorganisationen bei Wirtszellinvasion von Salmonellen: Indirekte Immunfluoreszenz von Kulturzellen während der Infektion mit Wildtyp-Salmonellen (*Salmonella typhimurium* Stamm SL1344) (B) oder mit einer invasionsdefizienten Mutante (zur Verfügung gestellt von D. Bumann, MHH) (A). Phalloidin-gefärbte Aktinfilamente sind in grün dargestellt, die Salmonellen in rot. Aufgrund der fehlenden Translokation von Effektoren in der nicht-invasiven Mutante (B) sind die typischen, nach Invasion mit dem Wildtyp-Stamm induzierten Aktinreorganisationen (Pfeilspitzen in A) abwesend (Pfeile in B). Die für die Bildung dieser Aktinstrukturen (A) verantwortlichen Wirtszellfaktoren sind noch weitgehend unbekannt. Der Balken entspricht 10 µm.



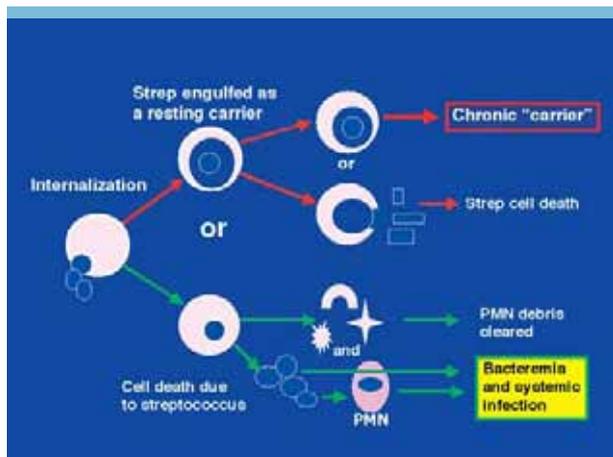
02.2 Wechselwirkungen zwischen Streptokokken und Wirtszellen

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Abteilung für Mikrobielle Pathogenität und Impfstoffforschung | gsc@gbf.de |

PROJEKTMITARBEITER | Prof. Dr. Edward Kaplan | Andreas Nerlich | Dr. Manfred Rohde



Der grundlegende Infektionsmechanismus vieler pathogener Mikroorganismen besteht in der Anheftung und dem anschließenden Eindringen in die Wirtszelle. Gruppe A Streptokokken nutzen Bestandteile der extrazellulären Matrix ihres Wirtes, beispielsweise Kollagen und Fibronectin, um sich anzuheften und in die Zellen einzudringen. Dort setzen sie sich fest und können überleben. Im Rahmen unseres Projektes untersuchen wir diese Wechselwirkungen zwischen Streptokokken und Wirtszellen auf molekularer Ebene. Außer mit der Anheftung, dem Eindringen und dem Überleben im Zellinneren, beschäftigt sich das Projekt mit den Signalübertragungsvorgängen während der Streptokokkeninfektion und mit der Beseitigung persistenter Streptokokken.



- Die biologische Bedeutung des Verbleibens von Streptokokken in Humanzellen.

Bedeutung von Fibronektin und Kollagen Bereits früher konnten wir zeigen, dass Kollagen und Fibronectin beim Anheften und Eindringen der Streptokokken eine wichtige Rolle spielen. Ein entscheidender Pathogenitätsfaktor bei Gruppe A Streptokokken ist das Fibronectin-bindende Protein SfbI. Dieses SfbI-Protein ist auch an der Caveolen-abhängigen Aufnahme der Streptokokken in die Zellen und an ihrem Überleben im Zellinneren beteiligt. Da SfbI eine so wichtige biologische Funktion erfüllt, suchten wir bei anderen Streptokokkenarten nach homologen Proteinen, und wir konnten bei den Gruppe G Streptokokken das Protein GfbA identifizieren. Unsere Arbeiten zeigten, dass die Virulenzfaktor-Gene *sfbi* und *gfbA* über Artgrenzen hinweg ausgetauscht werden. Offensichtlich kommt es zwischen diesen Arten zur homologen Rekombination, denn die nachgewiesenen *gfbA*-Typen von Gruppe G Streptokokken enthalten DNA-Kassetten, die auch bei mehreren Gruppe A Streptokokkenstämmen nachweisbar sind.

Außerdem konnten wir zeigen, dass die Aufnahme in die Zellen nicht nur von SfbI abhängig ist, sondern auch von *rac1*. In weiteren Untersuchungen stellte sich heraus, dass die Src-Kinase für die Aufnahme von Streptokokken des Serotyps M3 in Endothelzellen verantwortlich ist. Die Wechselwirkungen mit Kollagen tragen zur rheumatogenen Wirkung der Streptokokken bei. Als Kollagen-bindende Faktoren der Streptokokken wurden bisher das Protein M3 und das Kapselprotein M18 identifiziert. Kollagen ist also bei dem von Streptokokken ausgelösten rheumatischen Fieber ein wichtiger Autoantigen.

Latente Streptokokkeninfektionen Persistente Streptokokken haben vielfach wichtige medizinische Auswirkungen. Es kann zur Weiterverbreitung oder zu einer latenten Infektion kommen. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass Streptokokken im Zellinneren der Wirkung von Penicillin entgehen können, dem am häufigsten eingesetzten Medikament für die Behandlung von Streptokokkeninfektionen. Unseren experimentellen Befunden zufolge werden Streptokokken im Inneren der Zellen nur von solchen Antibiotika abgetötet, die in eukaryontische Zellen eindringen können.

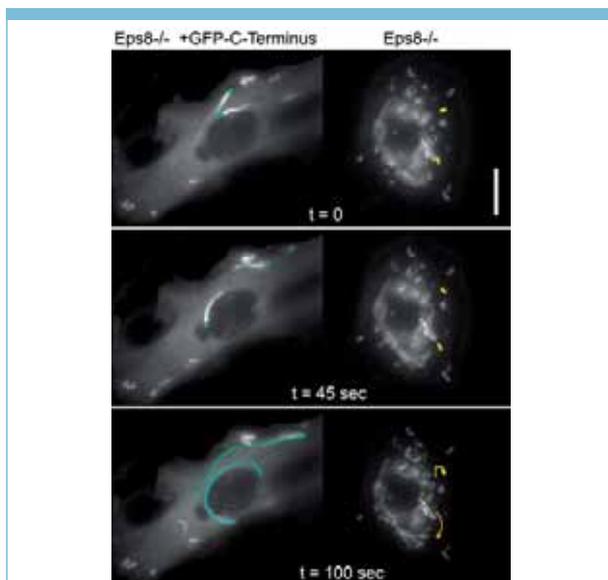


02.3 Signalübertragung zum Aktinzytoskelett

PROJEKTLEITERIN | Dr. Theresia Stradal | Arbeitsgruppe Signaltransduktion und Motilität | ths@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Andrea Jenzora | Kai Städing | Anika Steffen | Stefanie Weiss

Zahlreiche Prozesse in Zellen hängen von dynamischen Veränderungen des Aktinzytoskeletts ab: Die Zellwanderung während der Embryonalentwicklung, chemotaktische Bewegungen von Immunzellen und das Einwandern von Fibroblasten bei der Wundheilung. Zahlreiche Aktinbindende Proteine sorgen für den dynamischen Umbau des Aktinzytoskeletts. Ein wichtiger Faktor der Neubildung (Nukleation) von Aktinfilamenten, ist der durch „nucleation promoting factors“ (NPFs) aktivierte Arp 2/3-Komplex. Die exakten Signalübertragungswege und Steuerungsmechanismen der Aktin-Polymerisation sind aber längst nicht vollständig aufgeklärt. Die Entdeckung, dass dynamische Veränderungen des Aktin-Zyoskeletts für die Wechselwirkungen zwischen bakteriellen Pathogenen und Wirtszellen entscheidend sind, hat das Forschungsgebiet stark beeinflusst.



- Eps8-„Knockout“-Fibroblasten wurden mit einem Kontrollvektor (rechts) oder mit einem an GFP-fusionierten Eps8-Fragment, welches die „Capping“-Aktivität vermittelt (GFP-C-terminus) (links), transfiziert und mit *Listeria monocytogenes* infiziert. Nach erfolgter Invasion (3–4 Stunden) wurde die aktinabhängige intrazelluläre Bewegung einzelner Listerien mittels Videomikroskopie analysiert und vermessen. Repräsentative Bakterien (blau und grün für Eps8-C-Terminus sowie gelb und orange für Kontrolle) sind mit Falschfarben markiert, die in der dargestellten Zeit zurückgelegte Wegstrecke ist im letzten Zeitpunkt zusammengefasst. Die Expression der Eps8-Effektordomäne vervielfacht die Geschwindigkeit der intrazellulären Listerienbewegung. Der Balken entspricht 15 μm .

Foto: GBF

WAVE Die WAVE-Proteine sind wichtige Mitglieder der NPF-Familie innerhalb der WASP/Scar-Proteine und sind bedeutend für die Rac-vermittelte Bildung von Lamellipodien. Der Mechanismus der Aktivierung von WAVE über die kleine GTPase Rac war lange ungeklärt, da Rac nicht direkt an WAVE binden kann – Anlass für uns, nach dem fehlenden Bindeglied zu suchen: Die zwei neuen Proteine – das Nck-assoziierte Protein 1 (Nap1) und das spezifisch mit Rac assoziierte Protein 1 (Sra-1) – stellen die molekulare Verbindung zwischen Rac und WAVE über die Abi-Proteine her.

Durch RNAi konnten wir zeigen, dass Sra-1 und Nap1 tatsächlich essentiell für die Bildung von Lamellipodien sind. Ob Nap1 und Sra-1 auch für andere Strukturen bedeutsam sind, wird untersucht.

Eps8 Um mehr über die Signalwege zu erfahren, die zur Aktin-Reorganisation führen, analysierten wir die Rolle des EGF-Rezeptor-Substrats 8 (Eps8). Eps8 ist ein SH3-Domänen-tragendes Protein, das mit den Abi-Proteinen interagiert. Eps8 spielt eine Rolle bei der rezeptorvermittelten Aktivierung von Rac, aber auch unmittelbar bei der Aktinreorganisation über seine C-terminale Effektor-domäne. Dem molekularen Mechanismus dieser Funktion liegt eine neue „Capping“-Aktivität zugrunde, die eine effiziente Aktinpolymerisation begünstigt. Sie wurde mit Hilfe der Rho-GTPase-unabhängigen intrazellulären Bewegung von *L. monocytogenes* quantifiziert und konnte so erstmals von anderen Aktivitäten isoliert und vermessen werden.

PREL1/RIAM Ena/VASP-Proteine sind wichtige Modulatoren der Aktin-vermittelten Zellmotilität. Zudem werden sie von dem bakteriellen Oberflächenprotein ActA von *Listeria monocytogenes* rekrutiert. Dort steigern sie die intrazelluläre Aktin-basierte Motilität der Bakterien. Die N-terminale EVH1-Domäne der Ena/VASP-Proteine bindet an prolinreiche Liganden, wie ActA und zelluläre Kontaktproteine wie Zyxin und Vinculin. Der molekulare Mechanismus, über den sie die Zellmotilität regulieren, war jedoch unbekannt. Bei der Suche nach neuen, prolinreichen EVH1-Liganden stießen wir auf ein Protein, dem wir den vorläufigen Namen PREL1 (Prolinreicher EVH1-Ligand 1) gaben. Seine Charakterisierung ergab, dass es nicht nur mit den Proteinen der Ena/VASP-Familie wechselwirkt, sondern auch Membran-abhängig an aktivierte Ras-GTPasen bindet. PREL1 stellt somit ein mögliches Bindeglied zwischen Ras-Signalübertragung und Aktin-Dynamik dar.



02.4 Immungenetik bei Infektionen mit Streptokokken der Gruppe A

PROJEKTLEITERIN | Dr. Eva Medina | Arbeitsgruppe Infektionsimmunologie | eme@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Oliver Goldmann | Jeannette Siegert



Gruppe A-Streptokokken sind weit verbreitete menschliche Krankheitserreger, die sowohl leichte Erkrankungen – wie Rachen- und Mandelentzündung, Hautausschläge – als auch sehr schweren Leiden mit hoher Sterblichkeit – wie nekrotisierende Faziitis und toxisches Schocksyndrom – auslösen. Die molekularen Mechanismen der verschiedenen klinischen Ausprägungsformen der Infektionen mit Gruppe A-Streptokokken sind zwar noch nicht aufgeklärt, Indizien legen jedoch die Vermutung nahe, dass Menschen genetisch in ihrer Anfälligkeit für Infektionen mit Gruppe A-Streptokokken variieren.

Reaktion H2-kongener BALB-Mäuse auf Infektionen mit Streptokokken der Gruppe A Aktuelle Studien haben gezeigt, dass Allelvariationen der Klasse-II-Haupt-Histokompatibilitätskomplex-Antigene (MHC-Region) zur Anfälligkeit oder zur Resistenz gegen schwere Streptokokkeninfektionen beitragen, indem sie die Menge der ausgeschütteten inflammatorischen Zytokine beeinflussen. Für den Nachweis, dass genetische Faktoren sich auf die Anfälligkeit oder Widerstandsfähigkeit gegen Infektionen mit Gruppe A-Streptokokken auswirken, sind Mausmodelle besonders wichtig. Um exakteren Einblick in die Auswirkungen der Klasse-II-MHC-Moleküle auf die Anfälligkeit gegenüber dem Krankheitserreger zu bekommen, untersuchten wir die Reaktion kongener BALB-Mäuse mit den Haplotypen H-2^b (BALB/b), H-2^c (BALB/c), und H-2^k (BALB/k) auf eine bakterielle Infektion. Nach der Infektion mit Gruppe A-Streptokokken waren deutliche Unterschiede zwischen diesen Stämmen zu beobachten. Während BALB/k-Mäuse an der Infektion starben, erkrankten BALB/b und BALB/c-Mäuse weit weniger schwer und überlebten die Infektion, wobei sie das bakterielle Wachstum sehr wirksam kontrollieren konnten. Ähnlich wie beim Menschen produzierte der anfällige H-2-Haplotyp (H-2^k) die inflammatorischen Cytokine als Reaktion auf die Streptokokken-Superantigene in größerer Menge als die resistenteren Haplotypen H-2^b und H-2^d. Unsere Befunde entsprechen also denen an Menschen, wonach Allel- und Haplotypvariationen der Klasse-II-MHC die Schwere einer bereits vorhandenen invasiven Streptokokkeninfektion beeinflussen können.

Zwei mögliche Szenarien für die genetische Disposition des Wirtsorganismus Mit Variationen in den Klasse-II-MHC-Molekülen lässt sich aber nicht erklären, weshalb Krankheiten wie nekrotisierende Faszitis oder Bakteriämie entstehen, bei denen der Wirtsorganismus die Vermehrung und Verbreitung der Bakterien nicht mehr eindämmen kann. Zwei Szenarien sind möglich: Erstens könnte die Fähigkeit des angeborenen Immunsystems, das Bakterienwachstum im Anfangsstadium der Infektion einzudämmen, entscheidend darüber bestimmen, ob die Infektion begrenzt bleibt oder sich zu einer invasiven Erkrankung weiterentwickelt. Und zweitens könnten bei Patienten mit invasiven Infektionen Ausmaß und Qualität der weiteren entzündlichen Reaktion – die durch die Stärke der Wechselwirkungen zwischen Streptokokken-Superantigenen und der MHC-Region definiert werden – darüber entscheiden, ob der weitere Verlauf zum toxischen Schocksyndrom führt oder nicht. Demnach wäre es denkbar, dass Polymorphismen in anderen Immunsystem-gekoppelten Genen der MHC-Region für die unterschiedliche Anfälligkeit gegenüber Streptokokkeninfektionen verantwortlich sind. Aus der Identifizierung dieser Gene würden sich für Diagnose und Therapie wichtige Schlussfolgerungen ergeben.



• Dr. Eva Medina bei der Aufarbeitung von Gewebeproben.

Foto: GBF, Bierstedt



Topic 03 – Immunbiologie

TOPICSPRECHER | Dr. Werner Müller | Abteilung für Experimentelle Immunologie | wmu@gbf.de

- Immunbiologie beschäftigt sich mit der Entwicklung und Funktion des Immunsystems. Das Immunsystem schützt uns vor Infektionen und ist daher lebensnotwendig. Wird das Immunsystem gestört, so werden wir anfällig für eine Vielzahl von Erkrankungen wie Infektionen und Krebs. Fehlfunktionen des Immunsystems führen zu Autoimmunerkrankungen und Allergien.

Der Forschungsschwerpunkt der GBF im Forschungsgebiet Immunbiologie liegt in der Untersuchung von Infektionsprozessen. Wir betrachten insbesondere die Interaktion von bakteriellen Erregern mit dem Wirt und haben hierzu eine in Deutschland einmalige Forschungsplattform geschaffen, die uns erlaubt, die Infektion von Mäusen mit unterschiedlichen bakteriellen Erregern unter genau definierten Bedingungen zu untersuchen.

Durch genetische Methoden verändern wir gezielt Gene der bakteriellen Erreger und des Wirtes und entschlüsseln so die an der Infektabwehr beteiligten Mechanismen. Das komplexe Geschehen einer bakteriellen Infektabwehr reproduzieren wir in Teilaspekten in der Zellkultur. Daran untersuchen wir mit Hilfe von molekularbiologischen und zellbiologischen Methoden die bei der Infektabwehr beteiligten Signalwege und die Abwehrmechanismen – jeweils isoliert für die verschiedenen an der Infektabwehr beteiligten Zelltypen des Immunsystems.

Ein weiterer Schwerpunkt liegt in der Analyse der Interaktion verschiedener Zelltypen des Immunsystems vor, während und nach einer erfolgreichen Infektabwehr. Ziel der Experimente ist es, durch das Verständnis der Interaktion zwischen Bakterien und Wirt neue Strategien für die Bekämpfung von Infektionskrankheiten zu entwickeln. Diese werden uns helfen, auch neue Infektionserkrankungen in der Zukunft schneller und besser zu bekämpfen.



- *Ein Blick in die S2-Infektionseinheit des Maushauses. Auf der rechten Seite befinden sich die Käfige, die für die Umsetzung von Mäusen benutzt werden.*



03.1 Signalübertragung und Genregulation

PROJEKTLEITER | Dr. Hansjörg Hauser | Abteilung für Genregulation und Differenzierung | hha@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Thomas Böldicke | Thomas Frahm | Natali Froese | Dr. Gerhard Gross |

Dr. Andrea Hoffmann | Katjana Klages | Dr. Mario Köster | Dr. Andrea Kröger | Sandra Shahab | Anja Wiese |

Andreas Winkel

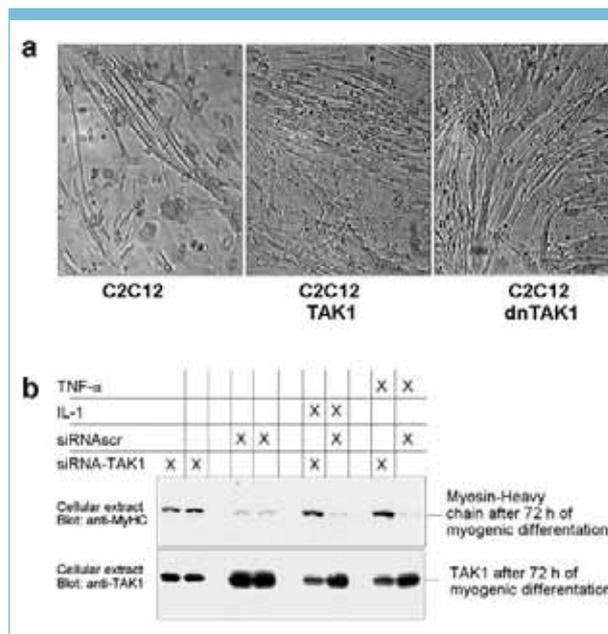
Der Angriff eines Krankheitserregers induziert viele Aktivitäten in der Wirtszelle einschließlich der angeborenen Immunantwort und Entzündungsreaktionen. Unsere Untersuchungen beschäftigen sich mit der Entzündung von Geweben. Sie ist nicht nur ein wirksamer Abwehrmechanismus, sondern fördert letztlich auch die Geweberegeneration. Ein entscheidender Signalüberträger hierbei ist die Serin/Threoninkinase TAK1: Sie wird von proinflammatorischen Zytokinen, Bakterienbestandteilen und Virusbausteinen aktiviert, koordiniert aber auch Faktoren der Mesenchym-Differenzierung. Wie wirkt eine Blockade des TAK1-Signalübertragungsweges entzündlichen Erkrankungen entgegen und fördert gleichzeitig die Geweberegeneration? Die Untersuchungen könnten zu neuen Therapieansätzen führen.

Blockierung von TAK1 TAK1 gehört zu den mitogenaktivierten Proteinkinasen. Wegen ihrer zentralen Stellung als Signalüberträger charakterisieren wir ihre Wechselbeziehungen mit verschiedenen anderen Signalübertragungswegen, darunter diejenigen von STATs, Wnts und NF- κ B. Ziel ist, das Netzwerk der Wechselwirkungen von Signalüberträgermolekülen weiter aufzuklären. TAK1 beeinträchtigt die Zellkerntranslokation der Smad-Signalmoleküle, und das hat schwer wiegende biologische Auswirkungen: Offenbar wird die BMP-abhängige Geweberegeneration während der Entzündung durch das aktivierte TAK1 vollständig unterbunden. Zudem ist die Gewebedifferenzierung und -regeneration, die von allgegenwärtigen bHLH-Transkriptionsfaktoren wie E12 reguliert wird, durch deren TAK1-vermittelten schnellen Abbau beeinträchtigt. Und wir stellten fest, dass TAK1 die Geweberegeneration über spezifische bHLH-Transkriptionsfaktoren wie MyoD blockiert. Dessen Aktivität zerstört die TAK1-vermittelte Phosphorylierung eines Serinrestes in Position 200. Das beeinflusst die Lokalisierung von MyoD im Zellkern und die Myogenese in Muskel-Vorläuferzellen.

Drei neu entdeckte Faktoren Wir haben weiterhin drei bisher unbekannte Faktoren isoliert, die mit TAK1 wechselwirken. Zwei tragen zur Aktivierung von TAK1 bei. Der dritte Faktor ist der Tyrosinkinase-Rezeptor ROR2. Er ist an den humanen Skeletterkrankungen Robinow-Syndrom und Brachydaktylie B beteiligt. TAK1 phosphoryliert ein p38-MAPK-ähnliches TGY-Motiv von ROR2.

Diese Wechselwirkung verhindert die Präsentation von ROR2 an der Zelloberfläche. Die Bindung von TAK1 an ROR2 ist von der Art des Wnt-Liganden abhängig. Wnts, lösen den kanonischen Übertragungsweg aus. Sie verdrängen TAK1 von ROR2; solche, die den nicht-kanonischen Signalweg auslösen, tun dies nicht.

Wir gehen der Frage nach, welche Rolle TAK1 in verschiedenen Entzündungs-Modellsystemen spielt, etwa in einem Modell der TNF-alpha/IL-1-abhängigen Arthritis. Außerdem planen wir, die Mitwirkung dieses Signalmoleküls an entzündlichen Erkrankungen wie der Colitis genauer zu untersuchen.



- TAK1 bestimmt den Grad der Muskeldifferenzierung in myogenen C2C12 Vorläufern. a. Dominant-negatives TAK1 (dnTAK1) stimuliert die myogene Differenzierung in C2C12. Aktives TAK1 hingegen interferiert mit der Bildung von Myotuben. b. Das endogene Expressionsniveau von TAK1 bestimmt das Ausmaß der myogenen Differenzierung in C2C12. Der „Knock-Down“ des endogenen TAK1 erfolgte mit Hilfe von siRNA (siRNA-TAK1) im Vergleich zu einer Kontrolle (siRNAsc). Das Ausmaß der myogenen Differenzierung in der Gegenwart oder Abwesenheit proinflammatorischer Zytokine (IL-1, TNF- α) ist anhand der Expression eines myogenen Markergens dokumentiert: Myosin Heavy Chain (MyHC).



03.2 Epigenetische Prinzipien der Genregulation

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jürgen Bode | Arbeitsgruppe Epigenetische Regulationsmechanismen | jbo@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Kristina Nehlsen | Martin Klar | Dr. André Oumard | Junhua Qiao | Eric Stellamans | Silke Winkelmann | Dr. Manfred Wirth

Die Schlüsselrolle der epigenetischen Kontrolle für Genexpression und DNA-Replikation wird immer deutlicher: Wir beschäftigen uns daher mit der Struktur und Funktion von Chromatindomänen an Typ-I-Interferon-Gengruppen (IFN) von Menschen und Mäusen. Wir haben den SIDD-Algorithmus für die Vorhersage von Domänengrenzen und Regulationsstellen adaptiert und neuartige Verfahren für die Untersuchung von Isolatoren im Genom entwickelt und verfeinert. Die Aufklärung der Funktionen von S/MAR-Elementen führte zur Entwicklung nichtviraler Episomen mit verschiedenen neuen Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten.

SIDD In der DNA aktiver eukaryontischer Chromatindomänen führt negative superhelikale Spannung zu einer „Stress-induzierten Duplex-Destabilisierung“ (SIDD) und damit zur Trennung des Doppelstranges. Betroffene Stellen werden DNase I zugänglich und haben häufig regulatorisches Potenzial. Wir konnten drei solche Stellen – HS1 bis HS3 – lokalisieren und die dort bindenden Faktoren identifizieren. Diese Untersuchungen ergaben ein ausgeprägtes, bisher unbekanntes regulatorisches Potenzial für das antagonistisch wirkende Transkriptionsfaktor-Paar YY1 und YY2.

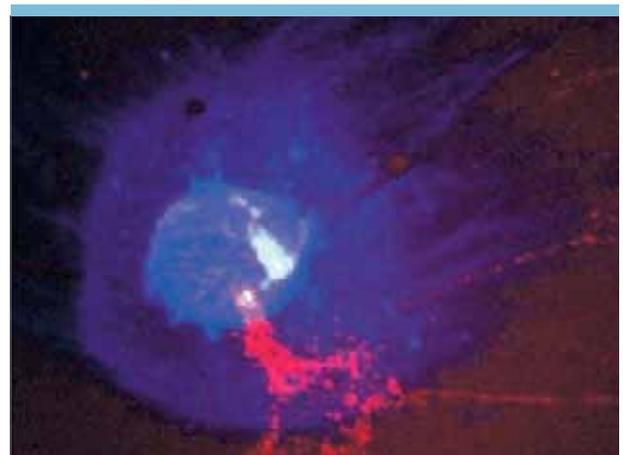
Halo-FISH Unsere Modifikation des FISH-Verfahrens („Halo-FISH“) zeigte, dass die Schleifenstruktur des IFN-Locus zellspezifisch ist und von seiner Exprimierbarkeit abhängt. So konnten wir einzelne Domänen der Gengruppen für Typ 1-Interferon sichtbar machen und die Suppression mehrerer Transgen-Kopien in Tandem-Anordnung erklären.

Der Integrationsmechanismus von Retroviren wird mit den Transkriptionseigenschaften der Proviren in Zusammenhang gebracht. Eine FISH-Analyse der Integrationsorte erklärt die kürzlich bekannt gewordenen Rückschläge gentherapeutischer Verfahren, die auf Retroviren basieren: Funktionsfähige, menschliche, endogene Retroviren (HERVs) sind an der Kernmatrix lokalisiert, während funktionsunfähige HERVs in Halobereichen anzutreffen sind. Derzeit untersuchen wir die Persistenz von Lentiviren und die Anfälligkeit für Lentivirusinfektionen. Untersuchungen der Genexpressionsmuster akut und chronisch SIV-infizierter T-Zellen zeigen Unterschiede in der Regulation der Histongene, in den Ubiquitinylierungs- und Glycosylierungswegen und in der Aktivierung der Zytokin/Zytokinrezeptor-Gene.

RMCE Flp-Rekombinase-vermittelter Kassettenaustausch (RMCE) ist eine Schlüsseltechnologie für die Herstellung von Produktionszelllinien und die Identifizierung stummer, aktivierbarer Genloci, die sich für induzierbare Expressionssysteme eignen.

Das besondere Potenzial steckt in der gezielten Abwandlung von ES-Zellen. Ein solcher Ansatz wurde in jüngster Zeit realisiert. In einer Kooperation wurde der Elk-1-Locus so markiert, dass anschließend ein mehrfacher Austausch gegen mutierte Gene möglich wurde. In der Untersuchung entstanden lebensfähige Mäusenachkommen, womit der Weg für eine neue, effiziente Variante des klassischen „tag-and-exchange“-Verfahrens frei wird.

Nichtvirale Episomen Wir haben den Prototyp eines Episomenvektors entwickelt, der ohne Selektionsdruck und unabhängig von Virus-Aktivatorproteinen im extrachromosomalen Zustand verbleibt. Seine nicht-essenziellen Teile wurden durch sequenzspezifische Rekombinationsverfahren entfernt. Die dabei entstehenden Miniringe von 4 kb sind neuartige Vektoren, die einheitlich und über lange Zeit hinweg eine stabile Expression ermöglichen.



- Integration von 100 Kopien eines Interferon- β -Transgens in eine Mauszelle. Die Halo-FISH-Aufnahme zeigt, dass nur wenige Kopien (rote Signale) mit der Kernmatrix (innere, hellblaue Region) assoziiert und damit transkribierbar sind. Die Mehrheit der Kopien befindet sich außerhalb der Matrix in der sog. „DNA-Halo“ (peripherer, dunkelblauer Bereich). Im Vergleich hierzu sind die Interferongene der Mauszelle selbst (weiße Signale) ausschließlich mit der Kernmatrix assoziiert.



03.3 Zellmodelle für Infektionskrankheiten

PROJEKTLEITER | Dr. Hansjörg Hauser | Abteilung für Genregulation und Differenzierung | hha@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Tobias May | Priv.-Doz. Dr. Peter Müller | Roland Schucht | Dr. Herbert Weich |

Dr. Dagmar Wirth

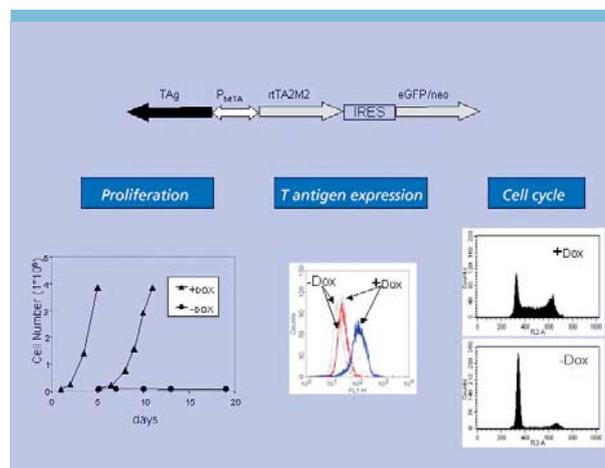


Um verstehen zu können, welche Reaktionen im Wirtorganismus bei einer Infektion ablaufen, ist es erforderlich, experimentelle Untersuchungen sowohl an ganzen Lebewesen als auch an einzelnen Zelltypen vorzunehmen. Wir haben Standardmethoden etabliert, um Zellen transgener Mäuse zu analysieren und die dafür erforderlichen Zellzahlen zu generieren. Mit ihnen können wir Fibroblasten und Endothelzellen aus ES-Zellen sowie embryonalem oder adultem Gewebe mutierter Mäuse immortalisieren. Unsere Arbeit bildet die Grundlage für weitergehende Ansätze, die auch Zellen anderer Differenzierung, insbesondere solche aus dem hämatopoetischen System, einschließen.

Immortalisierung von Zellen Etablierte Zelllinien unterscheiden sich von primären Zellen durch die Expression immortalisierender Gene. Dies hat eine Fülle von Veränderungen im Genexpressionsmuster der Zellen zur Folge. Um solche Einflüsse möglichst gering zu halten, entwickeln wir Methoden zur reversiblen Immortalisierung der Zellen. Mit diesen Verfahren lassen sich bestimmte Zellpopulationen so stark vermehren, dass für Untersuchungen eine ausreichende Zahl gleichartiger Zellen zur Verfügung steht. Nach der Wachstumsphase wird die Expression des immortalisierenden Gens abgeschaltet, und die Zellen kehren in einen Ruhezustand zurück, der dem Zustand primärer Zellen in den Geweben ähnelt. Solche reversibel immortalisierten Zellen kann man genetisch verändern und am Ende wieder in Versuchstiere bringen, um dann *in vivo* ihr weiteres Schicksal und ihre Funktion zu verfolgen.

Ein-Schritt-Transfektion Um die konditionale Immortalisierung herbeizuführen, wird das immortalisierende Gen von einem selbstregulierten Vektor exprimiert, den man in einem einzigen Schritt transfizieren kann. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Immortalisierung primärer Zellen, da diese nur eine geringe Transduktionseffizienz besitzen.

Dass die Methode wie vorausgesagt funktioniert, wurde an primären Mausfibroblasten demonstriert. Sie weisen das große T-Antigen von SV40 (TA_G) auf, das von einem Doxycyclin-abhängigen (Dox) Promotor exprimiert wird. Die so entstandenen Zellklone zeigten eine streng Doxycyclin-abhängige Vermehrung. Sie verharren einheitlich in der G₀/G₁-Phase des Zellzyklus, nahmen aber die Zellteilung wieder auf, wenn man der Kultur Doxycyclin zugesetzte. Bei der Untersuchung der Genexpressionsprofile stellte sich heraus, dass die Produktion von TA_G zur differentiellen Expression von 10% aller untersuchten Gene führte.



- Nach Transfer der konditionalen Expressionskassette (oben) in primäre Mausfibroblasten wurden immortalisierte Zellen etabliert. In diesen Zelllinien ist das immortalisierende Gen (TA_G) nur in Anwesenheit von Dox exprimiert (unten Mitte), was zu einem strikt Dox-abhängigen Wachstum führt (unten links). Dies spiegelt sich auch im Zellzyklus wieder (unten rechts): in Anwesenheit von Dox zeigen die Zellen eine Verteilung die typisch für proliferierende Zellen ist, während die Zellen in Abwesenheit von Dox in G₀/G₁ arretiert sind (unten rechts).



03.4 Infektionsanfälligkeit und Makrophagenfunktionen

PROJEKTLEITER | Dr. Andreas Lengeling | Nachwuchsgruppe Infektionsgenetik | ale@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Jens Böse | Lovet Eyongeta | Phillip Hahn | Laura Helming | Dr. Bastian Pasche

Unsere Arbeitsgruppe entwickelt neue Mausmodelle für humane Infektionskrankheiten. Das Ziel ist, mit genetischen Methoden in der Maus Gene zu identifizieren, die mit der Anfälligkeit oder Resistenz gegenüber verschiedenen Krankheitserregern wie Streptokokken, Filarien oder Listerien in Zusammenhang stehen. Wir setzen verschiedene Inzucht- und Mutantenstämme Krankheitserregern aus und analysieren anschließend deren Immunstatus und Infektionsanfälligkeit. In einem zweiten Projekt haben wir uns zum Ziel gesetzt, Faktoren zu finden, die sich auf die Effektorfunktionen der Makrophagen auswirken und demnach für die angeborene Immunantwort von Bedeutung sind.

Beseitigung von apoptotischen Zellen Makrophagen sind von großer Bedeutung für die Beseitigung von Zellen, die den programmierten Zelltod durchlaufen haben. Die Entfernung solcher apoptotischer Zellen ist mit einer stark entzündungshemmenden und immunsuppressiven Reaktion verbunden. Viele pathogene Bakterien und Viren induzieren in bestimmten Phasen des Infektionsprozesses die Apoptose ihrer Wirtszellen. Sie bedienen sich dieses Mechanismus, um dem Immunsystem des Wirtes wirksam zu entgehen. In jüngster Zeit haben wir eine Maus-Knockout-Mutante für das Gen des Phosphatidylserinrezeptors hergestellt und charakterisiert. Die Beseitigung apoptotischer Zellen wurde mit dem Abschalten dieses Moleküls in Verbindung gebracht. Wir konnten zeigen, dass dieses Molekül nicht essenziell für die Entfernung von apoptotischen Zellen ist, wohl aber für die Steuerung wichtiger Differenzierungsvorgänge während der Entwicklung. Wir konnten zudem zeigen, dass der Phosphatidylserinrezeptor in Makrophagen für die Regulation von Zytokinreaktionen notwendig ist.

Vitamin D Neuere Indizien deuten darauf hin, dass das Hormon Vitamin D wichtige Aufgaben im Immunsystem erfüllt. Vitamin D3 wirkt immunsuppressiv auf dendritische- und T-Helfer-Zellen und reguliert damit die adaptive Immunantwort. Seine Aufgabe bei der Makrophagen-Steuerung war jedoch weitgehend unbekannt. Wir stellen fest, dass es sehr wirksam die Interferon- γ -vermittelte

Makrophagenaktivierung unterdrückt. Dies geschieht durch spezifisches Herabregulieren von Interferon- γ induzierten Genen. Daraus ergeben sich wichtige Konsequenzen für die Effektorfunktionen der Makrophagen, beispielsweise für ihre Fähigkeit, Bakterien zu töten und Entzündungsreaktionen zu regulieren.

Wirtsfaktoren zur Steuerung der Infektionsanfälligkeit Dass geschlechtsabhängige Faktoren die Infektionsanfälligkeit beeinflussen, ist gut belegt – in den meisten Mausmodellen zeigen die Weibchen eine höhere Krankheitsresistenz. Überraschenderweise konnten wir jedoch bei Infektion von Mäusen mit dem intrazellulären Bakterium *Listeria monocytogenes* den umgekehrten Effekt feststellen: Mausweibchen sind für eine *Listeria*-Infektion wesentlich anfälliger als Männchen. Dies korreliert mit einer höheren Konzentration des immunsuppressiven Zytokins Interleukin-10 im Serum. Unsere Befunde liefern wichtige neue Aufschlüsse über die grundlegenden Mechanismen der geschlechtsabhängigen Infektionsanfälligkeit, denn ähnliche Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber intrazellulären Krankheitserregern wurden auch beim Menschen beobachtet.



- Phillip Hahn untersucht eine Mausmutante unter dem Stereoskop während Stefanie Schiebe die Färbung von Zellpräparationen kontrolliert.

Foto: GBF, Bierstedt



03.5 Entwicklung und Funktion von T-Zellen

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jan Buer | Arbeitsgruppe Mucosale Immunität | jab@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Dunja Bruder | Dr. Robert Geffers | Marcus Gereke | Ulrike Goelden |

Dr. Lothar Gröbe | Dr. Wiebke Hansen | Susanne Pförtner | Simone Reinwald | Sya Ukena | Dr. Astrid Westendorf

Das Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung neuer Therapieverfahren für Patienten, die an Immunerkrankheiten leiden. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf Schleimhaut-assoziierten Krankheiten, wie etwa entzündlichen Darmerkrankungen und Asthma oder organspezifischer Autoimmunität wie bei Diabetes.

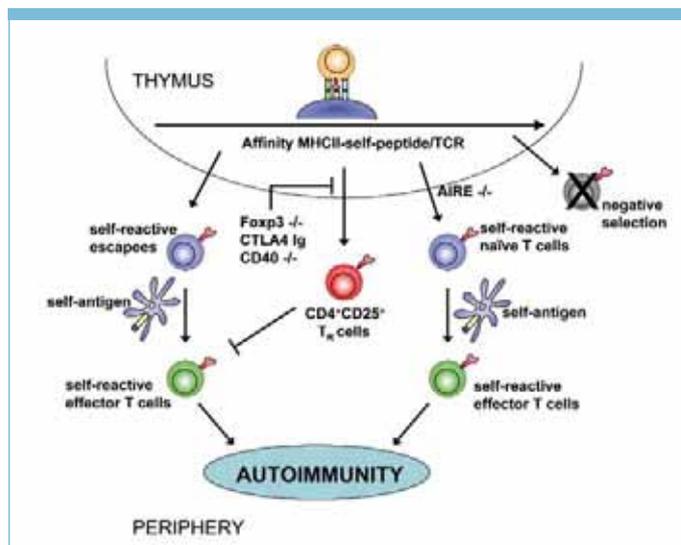
T-Zell-Toleranz Gemeinsam mit der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) konnten wir zeigen, dass es in CD-4-T-Zellen zur Induktion von GATA-3 kommt, wenn Stammzellen aus dem peripheren Blut normaler Spender mit G-CSF stimuliert werden. Zeitgleich kam es in den CD-4-T-Zellen zu einer Th-2-Verschiebung. Mit Einzel-Zell-RT-PCR konnten wir zudem deutlich machen, dass die CD-4-T-Zellen den G-CSF-Rezeptor exprimieren – man kann ihre Funktion *in vivo* direkt mit G-CSF beeinflussen. Zusammen mit dem Pasteur-Institut konnten wir einige neue Aspekte der Wirkung von GATA-3 während der Lymphozytenentwicklung aufklären. Kürzlich haben wir mit der MHH und dem Deutschen Rheumaforschungszentrum, zwei neue potenzielle Marker regulatorischer T-Zellen identifiziert und charakterisiert – ein wichtiges Werkzeug bei der Untersuchung der Rolle derartiger Zellen bei Entzündungsvorgängen. Derzeit konzentrieren wir uns auf die Entstehung der Autoimmunität. Die Expression der MHC-Klasse-II-Moleküle in den Beta-Zellen des Pankreas wird im Verlauf der Krankheit heraufreguliert. Dieser Befund – zusammen mit dem Bostoner Dana Farber Institut gewonnen – ist das fehlende Bindeglied bei der Fragestellung, wie ein infektiöser Erreger Autoimmunität auslösen kann.

Mucosale Immunität und entzündliche Erkrankungen Die Hauptaufgabe des mucosalen Immunsystems besteht darin, die immunologische Toleranz gegenüber Antigenen aus der Umwelt zu etablieren und zu erhalten. Deshalb wurde ein transgenes TCR-Mausmodell entwickelt, mit dem sich Fehlregulationen der Darmschleimhaut analysieren lassen. In dem Modell wird ein Antigen selektiv im Verdauungstrakt exprimiert. Auf diese Weise können die genetischen Grundlagen und die mechanischen Aspekte von Darmentzündungen und Immunregulation genauer untersucht werden.

In jüngster Zeit wurde ein weiteres Mausmodell entwickelt, an dem sich Störungen im schleimhautassoziierten Immunsystem der Lunge untersuchen lassen. In Zusammenarbeit mit der Yale University konnten wir belegen,

dass regulatorische T-Zellen an entzündeten Stellen in der Lunge induziert werden und dann dem Fortschreiten der Krankheit entgegenwirken können.

Ein weiterer Schwerpunkt ist die molekulare Charakterisierung des komplexen Wechselspiels zwischen Pathogen und Wirtszellen. Hier konnten wir durch eine genomweite Suche in menschlichen Nabelschnurblutzellen einige grundlegende Mechanismen der EHEC-Krankheit aufklären. Weiterhin interessieren wir uns für die Wirkung probiotischer Bakterien auf die Mucosa. Wir stellten rekombinante Bakterien des Typs *E. coli* NISSLE 1917 her und nutzten ihre therapeutische Wirkung *in vitro* wie auch *in vivo*. Und schließlich untersuchten wir die grundlegenden Regenerationsmechanismen von Leberzellen, die eines der wichtigsten Angriffsziele für Viruskrankheiten darstellen.



- Immunologische Toleranz. Natürlich vorkommende CD4+CD25+ regulatorische-T-Zellen entwickeln sich im Thymus und wandern anschließend in die Peripherie, um Immunantworten zu regulieren und somit Toleranz gegenüber Selbstantigenen aufrecht zu erhalten. Selbst-reaktives T-Zell-Klone die eine hohe Avidität für Selbstantigene zeigen, werden normalerweise im Thymus negativ selektiert. Dieser Prozess ist jedoch unvollständig. Regulatorische T-Zellen sind wesentlich daran beteiligt, diese Zellen zu kontrollieren: Deletion von Molekülen wie Foxp3, CTLA4 oder CD40 blockieren die Entwicklung regulatorischer T-Zellen. Dies führt zu Autoimmunerkrankungen. Das Molekül AIRE ist anscheinend an der Präsentation von gewebespezifischen Antigenen in medullären Thymusepithelzellen beteiligt. Mutationen oder Deletionen im AIRE-Gen führen zu Autoimmunität beim Menschen (APECED-Syndrom).



03.6 Subpopulationen von B-Zellen

PROJEKTLEITER | Dr. Siegfried Weiss | Arbeitsgruppe Molekulare Immunologie | siw@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Sandra Düber | Dr. Karsten Kretschmer | Bishnudeo Roy | Britta Störmann

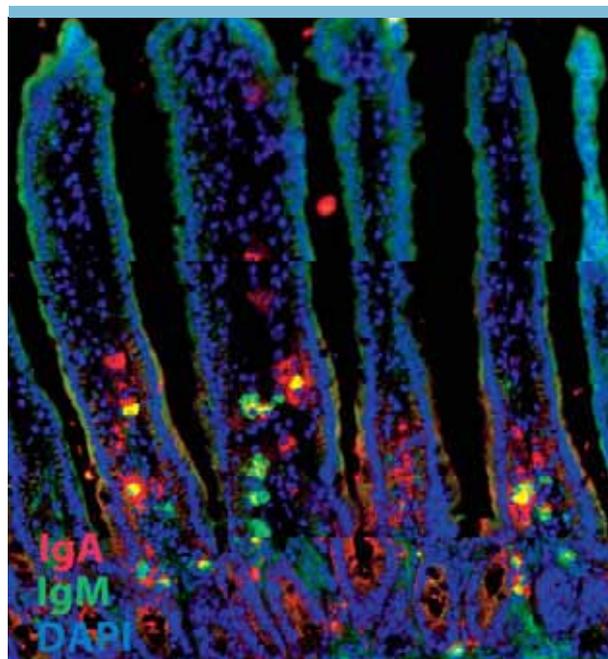
Bei Antikörper produzierenden B-Zellen lassen sich drei Subpopulationen unterscheiden. Die größte besteht aus so genannten B2-Zellen mit besonders hoher Spezifität. Die beiden anderen werden als B1-Zellen und Marginalzonen-B-Zellen bezeichnet. Erstere herrschen in den Körperhöhlen vor, sind aber auch in der Milz zu finden. Marginalzonen-B-Zellen sind rund um die Lymphfollikel der Milz anzutreffen. Beide reagieren schnell auf eine Infektion. Zudem sind B1-Zellen die Quelle der natürlichen Antikörper, also der Antikörper, die selbst bei keim- oder antigenfreien Mäusen zu finden sind. Wir haben uns auf die Physiologie der B1-Zellen konzentriert.

B1-Zellen in Milz und Bauchhöhle Transgene Mäuse, die in ihren B-Zellen große Mengen der transgenen $\lambda 2$ -leichten Kette (L) exprimieren, haben aus unbekanntem Gründen in Milz und Bauchhöhle keinerlei B2-Zellen. Mit Einzelzell-RT-PCR wurde das Antikörperrepertoire ihrer B1-Zellen analysiert. Es zeigte sich, dass in der Bauchhöhle drei Sequenzen vorherrschen, die jedoch in den B1-Zellen aus der Milz nur selten zu beobachten waren. Die B1-Zellen aus Bauchhöhle und Milz stellen also unterschiedliche Populationen, die im Immunsystem unterschiedliche Aufgaben erfüllen. Ergebnisse von Expressionsarrays, wiesen ebenfalls darauf hin, dass beide Gruppen aus unabhängigen Vorläuferzellen hervorgehen. Interessanterweise ist aber die Milz für den Erhalt der Bauchhöhlen-Subpopulationen der B1-Zellen nötig. Entfernt man die Milz, findet man die ansonsten vorherrschenden Sequenzen in der Bauchhöhle nicht mehr. In der Milz wird somit ein Faktor – möglicherweise ein Autoantigen – produziert, der bestimmten Klonen der B1-Zellen in der Bauchhöhle das Überleben ermöglicht.

Ob die B1-Zellen an der darmassoziierten humoralen Immunität beteiligt sind, ist umstritten. Wir haben mit transgenen Mäusen nach B-Zellen im Darm gesucht. In der *Lamina propria* findet man neben den erwarteten IgA-produzierenden Plasmazellen auch IgM herstellende. In den Peyer-Plaques dagegen exprimiert ein Großteil der B-Zellen nicht mehr die transgene λ -Kette, sondern eine endogene λ -Kette – eventuell die Folge einer besonderen Selektionierung der entsprechenden B-Zellen in diesem Organ. Alternativ könnte sogenanntes Rezeptor-Editing vorliegen, mit der Folge, dass sich der B1-Phänotyp in einen B2-Phänotyp umwandelt. Ein weiterer Hinweis darauf: Dieses Phänomen tritt weder bei keimfreien transgenen Mäusen noch bei Hybriden aus der λ -transgenen

Maus und einer Maus ohne funktionsfähigen λ -Locus auf. Im ersten Fall würde der antigene Druck verloren gehen, im zweiten wäre die Möglichkeit, den B-Zell-Rezeptor durch „Editing“ zu verändern, drastisch vermindert.

Ein neues Mausmodell Um die Herkunft der B1-Zellen näher zu untersuchen – die ausschließlich fötalen und neonatalen Ursprungs sein sollten – haben wir eine neue rekombinante Maus hergestellt, deren B-Zell-Ontogenie nach der Geburt eingeschaltet werden kann. Dies wurde durch inverses „Floxing“ des Rag1-Gens erreicht, das für das Rearrangement der Immunglobulingene essentiell ist. Die Mäuse werden derzeit mit Tieren gekreuzt, die ein induzierbares cre-Gen enthalten. Zudem sollen Injektionen des rekombinanten cre-Proteins vorgenommen werden. Mit diesen Experimenten wollen wir klären, ob adultes Knochenmark noch in der Lage ist, B1-Zellen hervorzubringen – eine Frage, die bisher noch nicht abschließend beantwortet werden konnte.



- Immunhistologie der Lamina propria von transgenen L2-Mäusen. IgM- und IgA-produzierende Plasma-Zellen können unterschieden werden. Dies steht im Gegensatz zu normalen Kontrollmäusen, wo hauptsächlich IgA-produzierende Plasma-Zellen gefunden werden. Die Histologie wurde in Zusammenarbeit mit Dr. O. Pabst, Hannover durchgeführt.

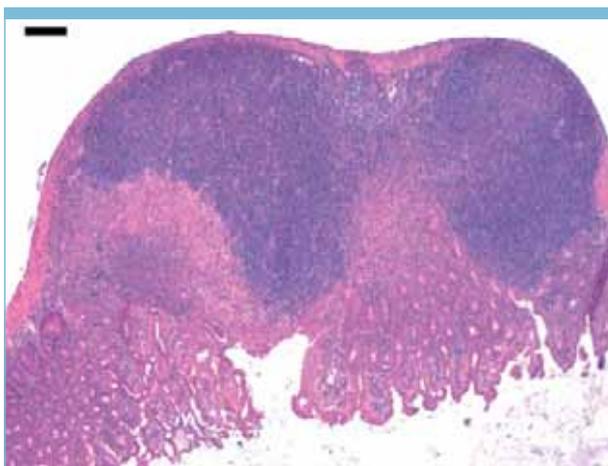


03.7 Biologie der Infektabwehr

PROJEKTLEITER | Dr. Werner Müller | Abteilung für Experimentelle Immunologie | wmu@gbf.de

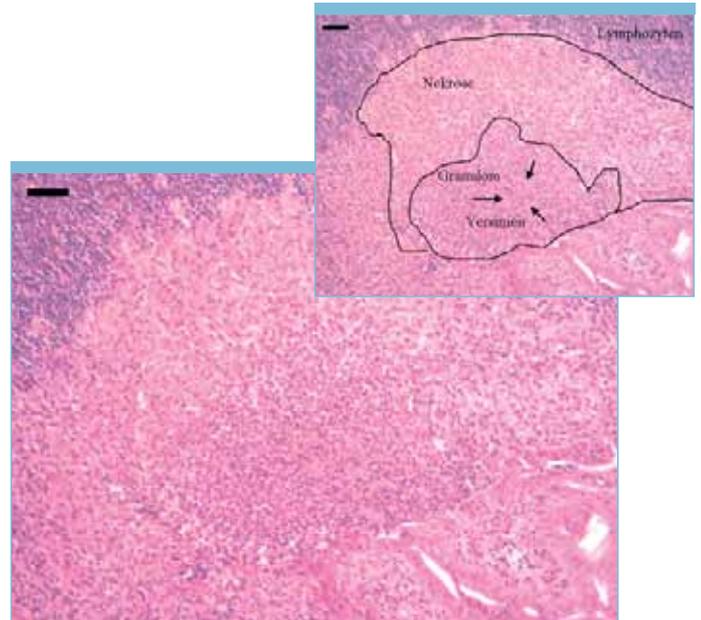
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Mariela R. Bollati Fogolin | Nicolas Fasnacht | Anne Fleige | Dr. Ursula Frischmann | Marina Greweling | Dr. Martin Hafner | Annika Kochut | Karina Nawrath | Dr. Stephan Paxian | Ida Retter | Gudrun Schatt | Dr. Angela Schippers

Das Immunsystem des Menschen hat vielfältige Aufgaben, insbesondere schützt es uns sehr effizient vor Infektionen. Es ist äußerst komplex aufgebaut und kann auf Grund dieser Komplexität nur in Teilaspekten in Zellkulturen bearbeitet werden. Das Immunsystem der Maus ist in seinem Aufbau dem Immunsystem des Menschen sehr ähnlich und für seine Funktionen sind ähnliche Gene verantwortlich. So können wir in der Maus durch gezielte Genveränderung die Funktion von Genen für den Aufbau und die Funktion des Immunsystems untersuchen. Wir betrachten insbesondere Gene, die für Bestandteile von Zytokinnetzwerken verantwortlich sind sowie Gene, die den Aufbau lymphatischer Strukturen bestimmen. Der größte Teil des menschlichen Immunsystems ist eng mit dem Darm verbunden. Im Darm leben zahlreiche Bakterien, die uns bei der Nahrungsaufnahme helfen. Auf der anderen Seite muss der Körper verhindern, dass die Bakterien vom Darm in das Innere des Körpers gelangen. Das Immunsystem hat daher eine Vielzahl von Mechanismen entwickelt, die Darmbakterien in Schach zu halten und uns vor einer Infektion zu schützen. Wenn dieses System außer Kontrolle gerät, entwickeln sich



- Das Bild zeigt eine Peyer'sche Platte einer Maus, die mit Yersinien (dunkle Region auf der linken Seite des Bildes) befallen ist. Peyer'sche Platten sind spezielle lymphatische Organe, die sich am Darm befinden und Infektionen durch Darmbakterien verhindern helfen. Der eigentliche Yersinien-Befall ist auf diesem Bild nur sehr schwer zu erkennen. Die betroffene Region ist im zweiten Bild genauer gezeigt.

Foto: Prof. Dr. Gruber, TiHo Hannover



- Das Bild zeigt die von Yersinien betroffene Region der Peyer'schen Platte. Die Yersinienkolonien sind als leicht rosa angefärbte Flächen im Bild zu erkennen (markiert mit Pfeilen). Um die Yersinia-Kolonien herum befindet sich Granulationsgewebe (Granulom), das die Aufgabe hat, die Yersinien-Kolonien vom Rest des Körpers abzuschotten. Am Rande des Granulationsgewebes sind Gewebereiche zu erkennen, die auf Grund der Bakterieninfektion abgestorben sind (Nekrose). Um die gesamte befallene Region sind Lymphozyten zu sehen.

Foto: Prof. Dr. Gruber, TiHo Hannover

chronische Darmentzündungen, wie *Morbus Crohn* und *Colitis ulcerosa*.

In unserer Forschungsabteilung entwickeln und analysieren wir Mausmodelle, die es uns ermöglichen, die Funktion des darmassoziierten Immunsystems zu untersuchen. Hierzu setzen wir die konditionale Mutagenese ein, die uns in die Lage versetzt, in einzelnen Zelltypen gezielt Gene aus- oder einzuschalten. Mit dieser Methode konnten wir zeigen, dass ein Zytokin, das Interleukin-10, von T-Lymphozyten produziert werden muss, um die Entwicklung einer chronischen Darmentzündung zu verhindern. Mit Hilfe humanpathogener Erreger, wie *Yersinia enterocolitica*, überprüfen wir, ob die von uns eingebrachten genetischen Veränderungen auch zu einer gestörten Infektabwehr führen können.



03.8 Zelluläre Dynamik immunologischer Prozesse

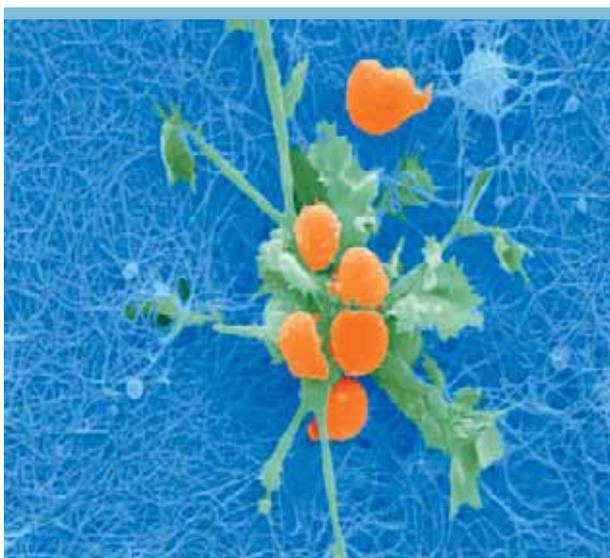
PROJEKTLEITER | Dr. Matthias Gunzer | Nachwuchsgruppe Immunodynamik | mgu@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Bastian Dornbach | Mike Hasenberg | Anja Hillmer | Priyanka Narang |

Dr. Peter Reichardt | Sarah Schröter

Das Immunsystem lässt sich grob in zwei Äste unterteilen: Für die humorale Immunität sind lösliche Faktoren wie Antikörper oder Komplementproteine verantwortlich, an der zellulären Immunität sind Zellen, wie B- und T-Lymphozyten oder dendritische Zellen (DC) beteiligt. Während die humorale Immunität nur indirekt zu beobachten ist, lassen sich Zellen unmittelbar „bei der Arbeit“ beobachten. Am Anfang jeder neuen zellulären Immunantwort stehen Antigen-präsentierende Zellen (APC). Sie sind in der Körperperipherie angesiedelt, nehmen dort eingedrungene Krankheitserreger auf und transportieren sie zu den Lymphknoten, wo sie den T-Zellen Peptidfragmente – Antigene – des Erregers präsentieren.

Beobachtung von Immunzellen Obwohl dieser Transportprozess ein zentraler Bestandteil der zellulären Immunität ist, wurde er bisher kaum unmittelbar beobachtet, so dass nicht viel über seine Dynamik *in vivo* bekannt ist. In vielen Fällen lassen sich Defekte in der Entstehung der Immunantwort mit einer gestörten Wanderung der DC erklären. Bei der Immuntherapie von Krebs wird versucht, DC als Träger für Tumorantigene zu verwenden. Das bislang ungelöste Problem besteht darin,



- Eine dendritische Zelle (grün) in engem Kontakt mit 5 naiven T Zellen (orange), die sie gerade durch Präsentation eines passenden Antigens aktiviert. Eine sechste T Zelle ist soeben im Anmarsch. Die „Spaghetti“-Strukturen sind Fasern eines 3-D Bindegewebes, das aus Kollagen besteht.

Foto: GBF, Dr. Rohde



zu wissen, wie sich DC im Patienten optimal anwenden lassen, ohne ihre eigene Wanderungsfähigkeit zu beeinträchtigen. Methoden, mit denen die normale und gestörte DC-Wanderung *in vivo* sichtbar gemacht werden kann, sind hierbei ein wichtiges Hilfsmittel: Es können neue Aufschlüsse über diesen grundlegenden Prozess gewonnen, Impfvorgänge optimiert und Krankheitsprozesse besser verstanden werden. Ein weiterer intensiv untersuchter Aspekt der zellulären Immunität sind die physikalischen Wechselwirkungen der T-Zellen mit den APC während der Antigenpräsentation. Die aktuellen Hypothesen zu ihren Wechselwirkungen beruhen auf *in vitro*-Untersuchungen. Erst kürzlich konnte man mit bildgebenden Verfahren an explantiertem Lymphgewebe und Lymphknoten *in vivo* auch Erkenntnisse über die sehr dynamischen Wanderungsvorgänge im lymphatischen Gewebe gewinnen. Solche Untersuchungen dürften zu ganz neuen Vorstellungen über die *in vivo*-Aktivierung der T-Zellen und die gestörten Abläufe bei Infektionen mit tödlichem Ausgang führen.

Hoch auflösende Bilder Mit neuesten mikroskopischen Techniken machen wir zelluläre Immunität in ihrem natürlichen Umfeld sichtbar und verschaffen uns damit einen Einblick in die biophysikalische Dynamik dieser Prozesse. Ein wichtiges Hilfsmittel zur Überprüfung unserer Arbeitshypothesen ist die Analyse der Zelldynamik in künstlichen extrazellulären Matrizen. Parallel hierzu haben wir die Bildgebung in explantierten Lymphknoten und an Lymphknoten in lebenden Mäusen entwickelt. Zu diesem Zweck setzen wir Zeitraster-Konfokalmikroskopie und Zwei-Photonen-Mikroskopie ein. Mit letzterer lassen sich hoch auflösende Bilder tief aus dem Inneren von lebendem Gewebe gewinnen. Um ein umfassendes Bild zu erhalten, müssen die Aufnahmeverfahren sowohl für die Immuninduktion, als auch die Immunintervention durchgeführt werden. Dazu untersuchen wir seit kurzem in einem DFG-Projekt die Immunantwort gegen eine Infektion mit dem pathogenen Pilz *Aspergillus fumigatus* in der Lunge lebender Tiere. Hiervon versprechen wir uns tiefere Kenntnisse über die Entwicklung von Immunprozessen, wie diese ihre Funktion erfolgreich durchführen und wann oder warum sie versagen.



Topic 04 – Prävention und Therapie

TOPICSPRECHER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Arbeitsgruppe Impfstoffforschung | cag@gbf.de

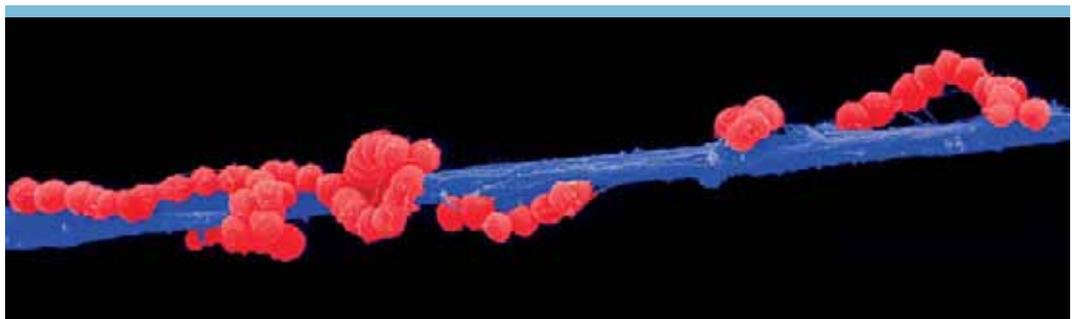
- Ein Drittel aller weltweiten Todesfälle werden von infektiösen Erregern verursacht. Zudem sind Mikroorganismen für mindestens 15 Prozent aller neuen Krebsfälle verantwortlich, und sie tragen zur Entstehung vieler chronischer, nichtinfektiöser Krankheiten bei. Noch dramatischer werden die Probleme durch die weltweit auftretenden Mehrfachresistenzen gegenüber Antibiotika. Deshalb ist es unabdingbar, neue Verfahren zur Bekämpfung mikrobieller Pathogene zu entwickeln. Unser Hauptziel ist die Entwicklung neuer Therapeutika und Strategien, mit denen sich Infektionskrankheiten verhindern und behandeln lassen.

Im Mittelpunkt des Projekts „Biologische Eigenschaften mikrobieller Wirkstoffe“ steht die Identifizierung und Struktur- und Funktionsanalyse aktiver Wirkstoffe sowie die Aufklärung ihrer Wirkmechanismen. Wir suchen in Extrakten von Mikroorganismen und kombinatorischen chemischen Bibliotheken nach kleinen Molekülen mit antimikrobieller Wirkung. Bei Tubulysin, Spirangien, Cruentaren und Elansolid wurden Struktur und stereochemische Eigenschaften genauer untersucht – so ist das fungizid wirkende Stoffwechselprodukt Cruentaren A ein bisher unbekanntes Mitglied der Salicylhalamid-/Apicularen-Familie. Auf Basis der Struktur des neuen Polyketids Elansolin B werden wir Bibliotheken mit analogen Molekülen herstellen. Ebenso wurden zwei Trifluordiazirino-substituierte Epothilone synthetisiert, die ihre Wirkung auf die Tubulinpolymerisation beibehielten. Darüber hinaus wurde ein neuartiges Verfahren für die Herstellung von Peptid-Mikroarrays entwickelt, das die Synthese mehrerer Millionen gleichartiger Kopien in einem einzigen Experiment ermöglicht.

In dem Projekt „Antigentransportsysteme und Impfstoffe“ werden Werkzeuge zur Verabreichung von Antigenen oder DNA-Impfstoffen erforscht. Wie sich herausstellte, ist MALP-2, ein synthetischer Agonist des „Toll-like“ Rezeptordimers 2/6, ein optimales mukosales Adjuvans für HIV-Antigene. Weitere Untersuchungen zeigten, dass MALP-2 die Aktivierung und Reifung dendritischer Zellen (DC) begünstigt und damit ihre Stimulationswirkung auf naive und antigenspezifische T-Zellen steigert. Außerdem haben wir herausgefunden, dass bakterielle „Ghosts“ ein viel versprechendes Transportmittel sind, um DNA-Impfstoffe zu Antigenpräsentierenden Zellen zu dirigieren. Darüber hinaus gelang es uns, in Mäusen, deren B-Zellen der TGF- β -Rezeptor fehlte, nachzuweisen, dass die TGF-Signalübertragung nach einer mukosalen Impfung eine entscheidende Rolle für die Stimulation der IgA-Sekretion spielt.



Das Projekt „Therapeutische zelluläre Impfstoffe“ zielt auf die Entwicklung DC-basierter Impfstoffe zur Behandlung chronischer Erkrankungen und Tumore. Um bei chronischen Krankheiten die Mechanismen zur Überwindung der Immunantwort zu durchbrechen, konstruieren wir Adenoviren, die für tumorassoziierte Antigene und immunmodulierende Moleküle kodieren. Nach einer Impfung mit Adenovirus-modifizierten DC, die HPV-E7 und co-stimulatorische Moleküle aus der TNF/TNF-Rezeptor-Familie exprimierten, zeigte sich eine verstärkte tumorspezifische Immunantwort. Weiterhin stellte sich heraus, dass 60 % der Gene, die in verschiedenen Tumorzelllinien von der onkogenen Transformation betroffen sind, nach einer Infektion mit IRF-1-exprimierenden Adenoviren in den Normalzustand zurückkehren. Und schließlich wurde für Adenovirusvektoren und modifizierte DC ein cGMP-konformes Produktionsverfahren mit integriertem Beutel und sterilem Anschlusssystem entwickelt.



● Elektronenmikroskopische Darstellung der Bindungsinteraktion von Streptokokken an Kollagenfasern.

Foto: GBF, Dr. Rohde



04.1 Synthetische kombinatorische Molekülrepertoires

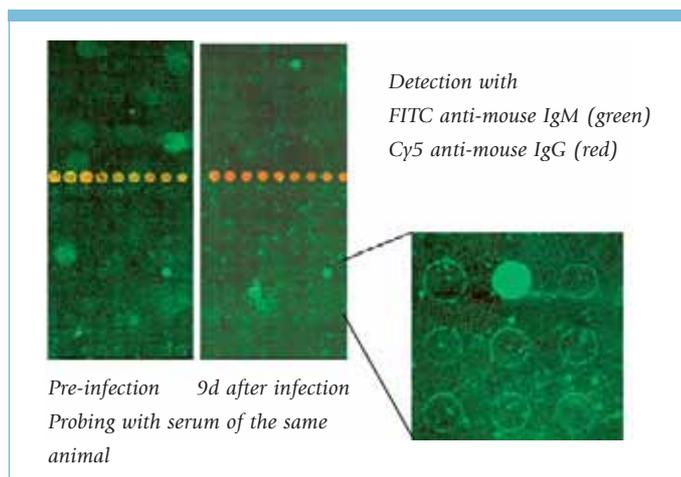
PROJEKTLEITER | Dr. Ronald Frank | Abteilung für Chemische Biologie | rfr@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Ulrike Beutling | Dr. Antonius Dikmans | Prof. Dr. Gerhard Höfle | Dr. Michael Morr |
Dr. Jutta Niggemann | Dr. René Rübenhagen | Manuela Schürgerl | Dr. Werner Tegge | Valentina Wächter

In diesem Projekt wird ein empirisches Suchprogramm nach biologisch aktiven Substanzen unter Nutzung multipler und paralleler chemischer Synthese ausgeführt – als Ergänzung zu dem klassisch orientierten Naturstoffprogramm der GBF. Kombinatorische Synthese und „Screening“-Technologien für Peptide und kleinen Molekülbibliotheken werden weiterhin eingesetzt, um Protein-Protein-Wechselwirkungen in infektiösen Prozessen systematisch zu analysieren und gezielt zu hemmen. Ziel ist, nach neuen Verbindungsklassen zu suchen, die antibiotische, chemotherapeutische und immunmodulatorische Eigenschaften haben.

Chemische Microarrays Eine unserer technologischen Grundlagen ist die miniaturisierte, hochparallele SPOT-Synthese auf Membranträgern. Mit dieser Methode lassen sich sehr schnell Arrays aus Peptiden und anderen synthetischen Verbindungen herstellen. Sie dienen *in situ* als immobilisiertes Array von Sonden, um nach selektiv bindenden biologischen Zielstrukturen zu suchen. Bisher haben sie die Größe einer Mikrotiterplatte mit etwa 10 ml Inkubationsmedium und 0,1 ml Probenvolumen. Mehrfachverwendung ist umständlich, die Entfernung gebundener Proteine eventuell nicht vollständig. Dieser Nachteil ist nun beseitigt: Der Ausweg aus dem Problem ist eine neue Membran, die sich nach den Syntheseschritten auflösen lässt.

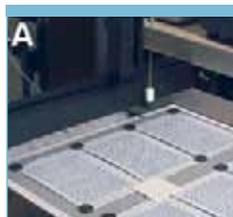
Die Lösung der chemischen Verbindungen, die noch an Zellulosepolymeren konjugiert sind, können mit einem kommerziell erhältlichen Gerät (MicroGrid III) gedruckt werden – etwa auf einen Glas-Objektträger mit 10 000 Verbindungs-Spots auf einer Fläche von 2 x 5 cm. Für diesen Druckprozess sind nur Nanolitermengen erforderlich. So können wir von einem Zellulose-Makroarray mehrere Millionen identischer Mikro-Kopien herstellen. Die Untersuchung solcher Mikroarrays erfordert zudem um den Faktor 100 weniger Probenvolumen.



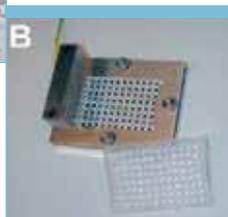
- Einsatz von Peptid-Mikroarrays für serologische Untersuchungen: Zusammen mit der Abteilung Experimentelle Immunologie wird das Immunprofil von Mäusen bei Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* ermittelt. Nur Mikroliter-Mengen von Blut sind für die Untersuchungen erforderlich. Die Abbildung zeigt einen Ausschnitt aus dem ca. 1000 15mer-Peptide umfassenden Array, der alle wichtigen Pathogenitätsfaktoren des Erregers abdeckt. Das Epitop-Peptid für den rot-markierten monoklonalen Mausantikörper 1D3 dient als Kontrolle.

Fotos: GBF

Synthese von Verbindungen auf einem Zelluloseträger z. B. nach der SPOT-Methode.



Separierung der Syntheseorte und Verteilung in die Näpfe von Mikrotiterplatten; Auflösung der zellulosegebundenen Verbindungen in einem geeigneten Lösungsmittel.



Drucken von vielen Mikroarray-Kopien mit den Lösungen der zellulose-konjugierten Verbindungen.





04.2 Biologische Eigenschaften mikrobieller Wirkstoffe

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Gerhard Höfle | Abteilung für Naturstoffbiologie | gho@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Prof. Dr. Ursula Bilitewski | Ulrike Demuth | Dr. Yasser A. Elnakady | Dr. Meike Genrich | Dr. Klaus Gerth | Dr. Herbert Irschik | Sabine Kadow | Dr. Brigitte Kunze | Frank Lorenz | Bianca Lüderitz | Dr. Florenz Sasse | Dr. Jens Schumacher | Janine Wendler | Dr. Manfred Rohde

Die Suche nach neuen Naturstoffen mit biologischer Aktivität gegen Bakterien, Pilze und Säugerzellen in unserer Sammlung von Myxobakterien und anderen gleitenden Bakterien wurde fortgesetzt. Dabei haben wir in einem gleitenden Bakterium eine neue Verbindungsklasse der Elansolide entdeckt.

Eine ständig an Bedeutung gewinnende Substanz-Gruppe aus Myxobakterien, sind Verbindungen, die die Tubulinpolymerisation beeinträchtigen. Ihr Wirkungsmechanismus wurde genauer untersucht. Gemeinsam mit Industriepartnern wurde die vorklinische Entwicklung von Tubulylin und Disorazol vorangetrieben und die von Bristol Myers-Squibb begonnene Phase III der klinischen Prüfung des halbsynthetischen Epothilon-B-Lactams fortgesetzt.

Struktur der Epothilon-induzierten Tubulinpolymere

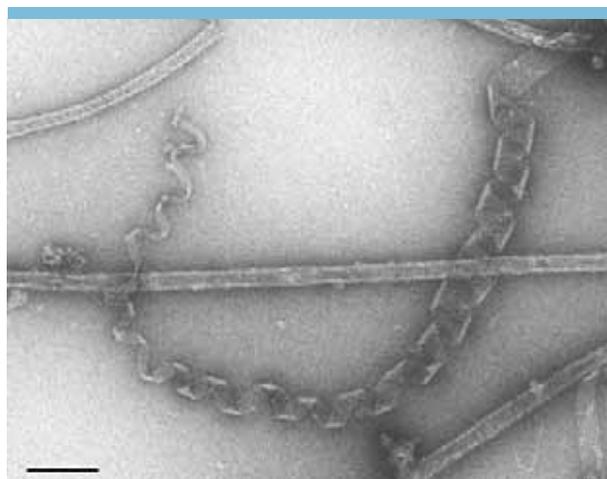
Epothilon greift auf ganz ähnliche Weise wie Paclitaxel in die Polymerisation des Tubulins bei höheren Zellen ein. Beide Wirkstoffe sorgen während der Mitose für die Ausbildung mehrfacher Asteren anstelle der normalen bipolaren Mitosespindel, und bei höherer Konzentration bilden sich Mikrotubulibündel in Interphasezellen. *In vitro* induzieren oder beschleunigen Epothilon B und Paclitaxel in ähnlichen Konzentrationen die Polymerisation gereinigten Tubulins, in Zellkulturen ist Epothilon B jedoch um den Faktor 100 stärker cytotoxisch. Wie elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten, induziert Epothilon, das einer Tubulinpräparation zusetzt wird, die Bildung kurzer, flächiger Polymere. Wenn wir Epothilon B zu einer im Gleichgewicht befindlichen Mischung aus Tubulin und Mikrotubuli zugeben, beobachten wir die Ausbildung von Mikrotubuli, die sich an einem Ende in langen Bändern mit parallel verlaufenden Protofilamenten fortsetzen. Die Enden der Bänder bilden jeweils eine



- Übergang eines Mikrotubulus zu einem fortlaufenden Band mit 11 parallelen Protofilamenten.

Foto: GBF

linksgängige Helix, während die Zahl der Protofilamente allmählich bis auf drei zurückgeht. Solche spiraligen Bänder waren ausschließlich mit Epothilon B zu beobachten, nicht aber mit Paclitaxel.



- Die Enden der Epothilon-induzierten Bänder bilden Schlaufen, die Zahl der Protofilamente nimmt ab. Messstrich: 100 nm.

Foto: GBF

Untersuchungen der polymeren Tubulinstrukturen innerhalb der Zellen mit goldmarkierten anti- α -Tubulin-Antikörpern zeigten, dass auch Zellen unter dem Einfluss von Epothilon B breite, flächige Tubulinpolymere enthalten. Diese sind aber nicht gewunden, sondern verlaufen gerade.



- In Epothilon-behandelten Zellen konnten wir normal entwickelte Mikrotubuli beobachten, die durch Goldpartikel markiert wurden (oben). Aber wir fanden auch breitere Tubulin-Filamente (unten), die eine Bandstruktur aufzuweisen scheinen. Messstrich: 100 nm.

Foto: GBF



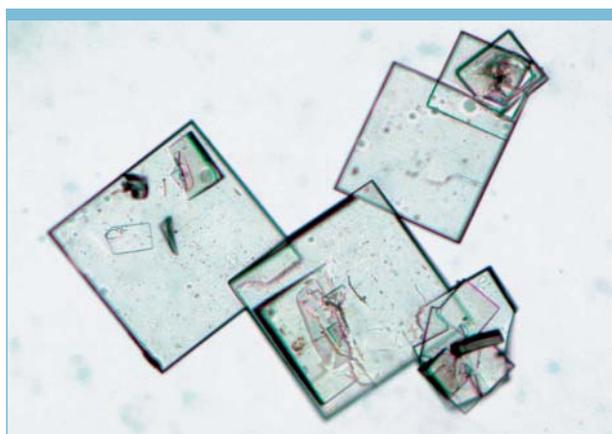
04.3 Chemische Eigenschaften biologisch aktiver Produkte von Mikroorganismen

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Gerhard Höfle | Abteilung für Naturstoffchemie | gho@gbf.de

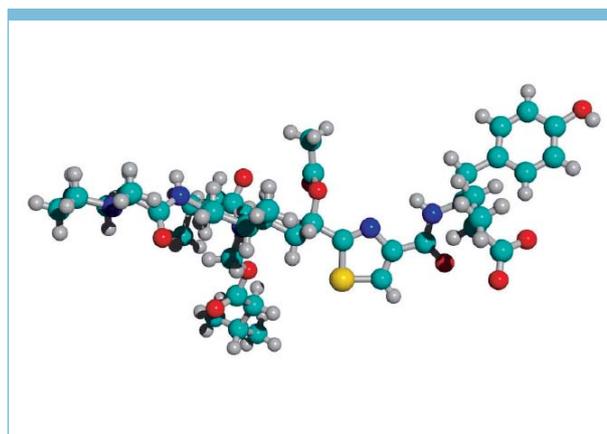
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Nicole Glaser | Dr. Rolf Jansen | Dr. Dimitry Kashin | Dr. Jutta Niggemann |
Heinrich Steinmetz | Dr. Larissa Vollbrecht | Dr. Peter Washausen

In dieser Berichtsperiode konzentrierten sich die Arbeiten auf unsere Sammlung von Stoffwechselprodukten aus Mykobakterien, die im Laufe der letzten 25 Jahre isoliert wurden. Untersucht wurden die Struktur und stereochemische Einzelheiten von Tubulysin, Spirangien und zwei neuen Stoffwechselprodukten namens Cruentaren und Elansolid. Synthetisiert wurden zwei Trifluordiazirino-substituierte Epothilone, die ihre Wirkung, die Tubulinpolymerisation auszulösen, beibehielten. Der MALDI-MS zufolge markieren sie das Tubulin kovalent bei Bestrahlung mit 366 nm.

Tubulysin Nachdem die Struktur und absolute Konfiguration dieses stark cytotoxischen Tubulininhibitors chemisch aufgeklärt waren, wurden erstmals Kristalle der Verbindung hergestellt und die früheren Befunde durch Röntgenstrukturanalyse bestätigt. Die NMR-Konformationsanalyse zeigte, dass die Konformation des gelösten Tubulysin A stark der im Kristall ähnelt.



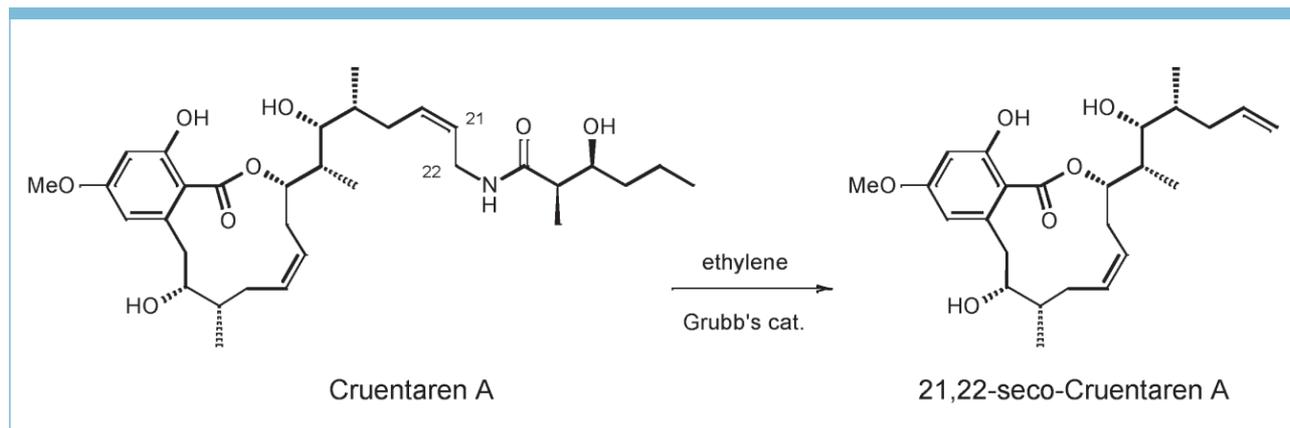
• Kristalle von Tubulysin A.



• Kristallstruktur von Tubulysin A (E. Herdtweck, TU München).

Cruentaren A Dieses stark cytotoxische, pilzhemmende Stoffwechselprodukt von *Byssophaga cruenta* erwies sich als neues Mitglied der Salicylhamid/Apicularen-Familie mit den charakteristischen Merkmalen einer zwölfgliedrigen Lactongruppe und einer *N*-Acylallylamin-Seitenkette. Die absolute Konfiguration wurde durch chemischen

Abbau und stereoselektive Synthese von Vergleichsbausteinen aufgeklärt. Durch Olefin-Kreuzmetathese mit Ethylen wurde die Doppelbindung in der Seitenkette glatt gespalten, und es entstand kristallisierendes 21,22-seco-Cruentaren A. Die Röntgenstrukturanalyse bestätigte die zuvor bereits aufgeklärte absolute Konfiguration.





04.4 Antigen-Transportsysteme und Impfstoffe

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Arbeitsgruppe Impfstoffforschung | cag@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Pablo D. Becker | Dr. Stefan Borsutzky | Dr. Dunja Bruder | Prof. Dr. Jan Buer |
Silvia I. Cazorla | Dr. Thomas Ebensen | Sandra Felk | Dr. Claudia Link | Dr. Faiza Rharbaoui | Dr. Kai Schulze |
Dr. Astrid M. Westendorf | Beata Zygmunt

Impfstoffe stellen die effektivste Methode zur Prophylaxe infektiöser Krankheiten dar. Ziel ist daher die Entwicklung von Substanzen und Methoden, die den Transport von Antigenen oder eukaryontischen Expressionsvektoren optimieren. Da mukosale Oberflächen die wichtigste Pforte für infektiöse Erreger sind, ist die Optimierung von Impfstoffformen, die über die Schleimhäute wirken, ein wesentlicher Schwerpunkt unserer Forschung.

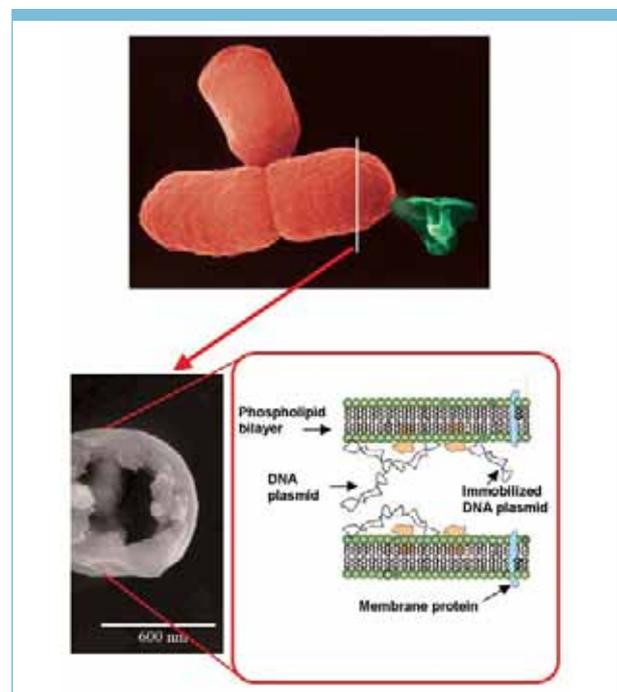
Effiziente Darreichung des Tat-Proteins von HIV-1

Ein wichtiges Ziel der HIV/AIDS-Forschung ist die Entwicklung eines mukosalen Impfstoffes, der sowohl die humorale als auch die zell-vermittelte Immunität stimuliert. Der Impfstoff würde die Virusvermehrung schon an der Eintrittsstelle blockieren. In unserem Impfstoffprototyp fungiert das HIV-Tat-Protein als Antigen und ein synthetisches Derivat des Makrophagen aktivierenden Lipopeptids MALP-2 als Adjuvans. Bei Mäusen kam es nach intranasaler Verabreichung zu einer starken humoralen und zellvermittelten Immunantwort gegen das Tat-Antigen. Damit scheint MALP-2 ein optimales Schleimhaut-Adjuvans für HIV-Impfstoffe zu sein. Und es stimuliert die Aktivierung und Reifung dendritischer Zellen (DC), so dass sich ihre Wirkung gegenüber den T-Zellen verstärkte.

Signalübertragung über den TGF- β -Rezeptor Wir untersuchten die adaptive Immunantwort nach mukosaler Immunisierung an Mäusen, in denen der TGF- β -Rezeptor in B-Zellen fehlt (T β RII-B). Als Adjuvantien wurden die B-Untereinheit des Cholera-toxins und MALP-2 verwendet. Wildtyp und T β RII-B-Mäuse zeigten eine starke, antigenspezifische zelluläre und humorale Immunantwort. Bei den T β RII-B-Mäusen wurde aber eine deutliche Verminderung des antigenspezifischen IgG2b und ein erhöhter IgG3-Spiegel beobachtet. Zellen, die antigenspezifisches IgA sezernierten, sowie Serum-IgA und sekretorisches IgA waren nicht nachweisbar. Dies belegt die entscheidende Rolle der TGF-Signalübertragung für die antigenabhängige Stimulation von sekretorischem IgA und für den IgG-Klassenwechsel.

Bakterielle „Ghosts“ Bakterielle „Ghosts“ erweisen sich als vielversprechende Transportsysteme für DNA-Impfstoffe. „Ghosts“ sind nicht-vermehrungsfähige Vektoren, die durch die konditionale Expression des letalen Gens E aus dem Bakteriophagen PhiX174 in Gram-negativen

Bakterien hergestellt werden können. Dabei bildet sich ein Tunnel in der Bakterienhülle aus, durch den der Zytoplasmahalt austritt. Die entstehenden „Ghosts“ sind mit Plasmiden beladenen und können isoliert werden. Sie werden effizient von Makrophagen und DC aufgenommen, sodass eine Transfektionsrate von bis zu 60 Prozent erreicht wird. Auf diese Weise dirigieren sie den DNA-Impfstoff zu den Antigen-präsentierenden Zellen und lösen ein starkes Entzündungssignal aus, so dass sie als natürliches Adjuvans wirken. Immunisierungsstudien zeigten, dass über „Ghosts“ verabreichte DNA-Impfstoffe eine stärkere Immunantwort in Gang setzen als DNA alleine. Auch die Impfung mit DC – *ex vivo* mit plasmidgefüllten „Ghosts“ beladen – führte zu einer starken Produktion von Antikörpern und CD8⁺-T-Zellen. „Ghosts“ sind also eine effiziente Technologieplattform für die Entwicklung von DNA-Impfstoffen.



- Anlieferung von DNA-Impfstoffen mittels bakterielle „Ghosts“, so genannten nicht-lebenden Bakterien. Darstellung von bakteriellen „Ghosts“, die durch die konditionierte Expression des Gens E, generiert wurden (elektronenmikroskopische Aufnahme). Der Querschnitt zeigt den Hüllkomplex von bakteriellen „Ghosts“, an dem die DNA-Plasmide gebunden vorliegen (Schichtaufnahme).



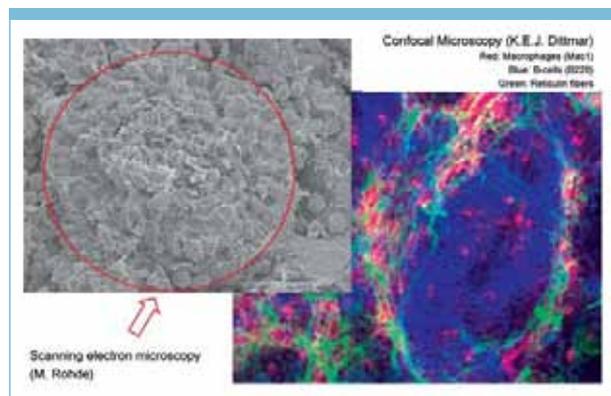
04.5 Therapeutische zelluläre Vakzine

PROJEKTLEITER | Dr. Werner Lindenmaier | Abteilung für Genregulation und Differenzierung | wli@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Bin Ma | Dr. Kurt E. J. Dittmar | Dr. Andrea Kröger | Lars Macke | Wilhelm Meyring |
Dr. Ute Pägelow | Carsten Wieth

Bei Krebs und vielen persistierenden Infektionen ist eine wirksame, antigenspezifische T-Zell-Antwort von großer Bedeutung. Eine Immuntherapie solcher Erkrankungen ist jedoch grundsätzlich problematisch: Trotz einer Immunantwort ist eine therapeutische Wirkung nur schwer zu erreichen, da im Zielorganismus Toleranzen und eine Abschaltung der Immunantwort („Anergy“) erfolgen. Ziel unserer Arbeiten ist es daher, die immunstimulierenden Funktionen dendritischer Zellen genauer zu untersuchen und zu verbessern sowie ihre Wechselwirkungen mit Effektorzellen und die Auswirkungen der genetischen Abwandlung Antigen-präsentierender Zellen auf ihre Funktion zu studieren.

Wechselwirkungen sichtbar gemacht Mit speziellen Bildgebungsverfahren wurden im lymphatischen Gewebe die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen immunrelevanten Zelltypen untersucht. Die Elektronenmikroskopie lieferte detaillierte Strukturinformationen, und mit Hilfe der Konfokalmikroskopie wurden die Zellwanderung sowie die dynamischen Wechselwirkungen *in vitro* untersucht. Außerdem wurde in Zusammenarbeit mit anderen Gruppen an der GBF der Einfluss von Infektionen und genetischen Veränderungen auf die Wechselwirkungen der Zellen in lymphatischen Organen sichtbar gemacht.



- Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (links) und Immunfärbung eines retroauriculären Lymphknoten der Maus (rechts).

Der Lymphknoten wurde explantiert und gefärbt auf Makrophagen (rot: CD11b), B-Lymphozyten (Blau: B220) und Retikulinfasern (grün).

Modulation der Immunantwort Zur Modulation der Immunantwort konstruierten wir Adenovirusvektoren, die tumorassoziierte Antigene, immunmodulierende Moleküle und Reportergene kodieren. Sie erlauben eine effiziente Genübertragung in primäre Zellen und eine regulierte Expression mehrerer Gene. Die Analyse mehrerer Faktoren aus modifizierten humanen dendritischen Zellen bestätigte, dass der Adenovirus-vermittelte Gentransfer keine nennenswerten unspezifischen Effekte verursacht. Dieser Transfer immunmodulierender Gene ermöglicht jedoch eine spezifische Veränderung der Eigenschaften dendritischer Zellen. Ihre Funktionseigenschaften wurden mit Mausmodellensystemen untersucht: Analysiert wurde dabei die Immunantwort auf ein Tumorantigen, das in einem menschlichen Papillomavirus (E7) kodiert war. Nach der Impfung mit Adenovirus-modifizierten dendritischen Zellen konnten wir eine Verstärkung der E7-spezifischen Immunantwort nachweisen.

Ein Mausmodell für Tumore Im Modell eines transplantierbaren Lebertumors führt die Aktivierung des Transkriptionsaktivators IRF-1 zur Hemmung des Tumorstwachstums und zur Induktion einer spezifischen Immunantwort. Für Untersuchungen in anderen Tumorsystemen konstruierten wir ein IRF-1 exprimierendes Adenovirus. Nach der Infektion verschiedener Tumorzelllinien stellten sich die typischen IRF-1-vermittelten Phänotypen ein: Gehemmte Zellvermehrung, verstärkte Expression von MHC-I-Molekülen, Ausschüttung von IFN- β und Reversion des transformierten Phänotyps. 60% der Gene, die bei der onkogenen Transformation verändert waren, kehrten in den Normalzustand zurück.

GMP für rekombinante Adenovirusvektoren und dendritische Zellen Mit Adenoviren modifizierte dendritische Zellen sind viel versprechende Agentien für die Immuntherapie bei Krebs und persistierenden Infektionen. Zur Umsetzung der Grundlagenforschung in klinische Prüfungen und therapeutische Anwendungen müssen cGMP-konforme Produktionsverfahren entwickelt werden. Zur reproduzierbaren cGMP-konformen Produktion genetisch modifizierter dendritischer Zellen befindet sich derzeit ein integriertes Beutel-System in der Entwicklung.



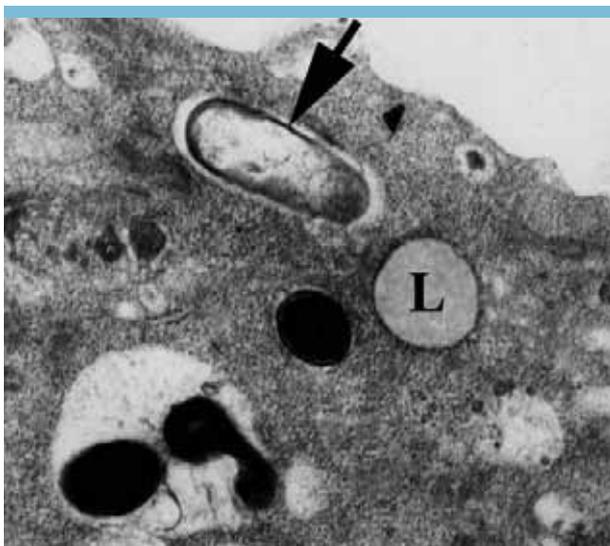
04.6 DNA-Vakzinierung und Immunmodulation

PROJEKTLEITER | Dr. Siegfried Weiss | Arbeitsgruppe Molekulare Immunologie | siw@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Heike Bauer | Christian Becker | Anne Endmann | Jadwiga Jablonska | Stefan Lienenklaus | Holger Loessner | Christofer Samuelsson | Katrin Westfal | Andrea Zellmer

Bakterien als Träger eukaryontischer Expressionsplasmide zur Transfektion von Säugerzellen zu verwenden, ist allgemein anerkannt. Wir haben zwei Arten für derartige Transfers eingesetzt: *Salmonella typhimurium* diente dazu, DNA-Impfstoffe oral zu verabreichen. *L. monocytogenes* wurde als Vektor für die Gentherapie erprobt.

S. typhimurium Das Impfverfahren mit *S. typhimurium* war früher häufig problematisch, da das ursprünglich in vielen Kopien in den Transformanten vorliegende Plasmid in Kulturen und Mäusen verloren ging. Wir tauschten deshalb die „Replikationsorigins“ gegen solche aus, die nur wenige Kopien bedingen. Dies führte *in vitro* und *in vivo* zu einer vollständigen Stabilisierung der *Salmonella*-Transformanten. Noch wichtiger: Die Immunantwort nach oraler Applikation in Mäusen verbesserte sich damit deutlich. Die neu entwickelten Plasmide werden als Ausgangspunkte für weitere Optimierungen des oralen DNA-Impfsystems dienen.



- Elektronenmikrographie einer Wirtszelle mit Plasmid-tragenden *L. monocytogenes*, die nach der Infektion mit Ampicillin behandelt wurden, um den DNA-Transfer einzuleiten. Nach 24 Stunden sind die meisten Bakterien lysiert und nur noch als leere Hüllen vorhanden (Pfeil) oder die Bakterien entleeren gerade ihren Inhalt in das Zytosol der Wirtszelle. Einige der Bakterien sind noch von Membranen umgeben (Pfeil), obwohl die Listerien normalerweise bereits nach 4 Stunden aus der phagozytischen Vakuole entwichen sind. Lysosomen (L) fusionieren mit Bakterien-enthaltenden Vakuolen. N (Zellkern).

L. monocytogenes Eine nennenswerte Transferrate ist nur mit einer großen Zahl von *L. monocytogenes* Bakterien zu erreichen. Elektronenmikroskopisch ließ sich zwar eine schnelle Lyse der Bakterien und die Freisetzung ihres Inhaltes nachweisen, aber offenbar werden dabei nur sehr wenige Plasmide in den Zellkern übertragen. Aus den Wirtszellen konnte nach der DNA-Übertragung eine große Zahl von Plasmiden gewonnen werden, aber diese waren mit hochmolekularen Bestandteilen der Trägerbakterien oder der Wirtszellen assoziiert. Weitere detaillierte Analysen dieser Komplexe sollen die Möglichkeit eröffnen, den DNA-Transfer mit Listerien als Überträger zu verbessern.

Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Wirt

Um die Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Wirt zu analysieren, untersuchten wir in Mäusen die Frühphase einer Infektion mit *L. monocytogenes*. Hier konnten wir nachweisen, dass das inflammatorische Chemokin CCL2 in dieser Phase die Hauptrolle spielt. Die Entfernung von CCL2 führte zu einer verminderten Bakterienbelastung. Immunhistologische Untersuchungen zeigten eine veränderte Anordnung der Zellen in der Milz. Die Zusammensetzung der Makrophagencluster hatte sich verändert, so dass nun auch Granulozyten in die Cluster eindringen konnten. Die Induktion von CCL2 ist offenbar ein Mechanismus, mit dem *L. monocytogenes* der Immunabwehr entgeht.

IFN β : ein Immunregulator Ebenso untersuchten wir die biologischen Eigenschaften von IFN β . Mit rekombinanten Mäusen, die kein IFN β produzieren, konnten wir eine wichtige Funktion dieses Zytokins in der Immunabwehr nachweisen. Nach nasaler Infektion mit Gruppe A Streptokokken war bei IFN β -defizienten Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren eine höhere Bakterienbelastung nachzuweisen. Wurde bei den mutierten Mäusen jedoch mit Dextransulfat eine Colitis ausgelöst, bildete sich diese deutlich schwächer aus. Der IFN β -Mangel mildert die Krankheit ab. Dies verdeutlicht die unterschiedlichen Effekte, die dieses Zytokin auslösen kann. Für die Zukunft verfolgen wir mit den Untersuchungen das Ziel, die Zellen zu definieren, die für die Produktion von IFN β verantwortlich sind. Zu diesem Zweck wurde eine neue genetisch veränderte Mauslinie erzeugt, die eine „Knock-out“-Mutation enthält und die Identifizierung der IFN β -produzierenden Zellen erleichtern soll.



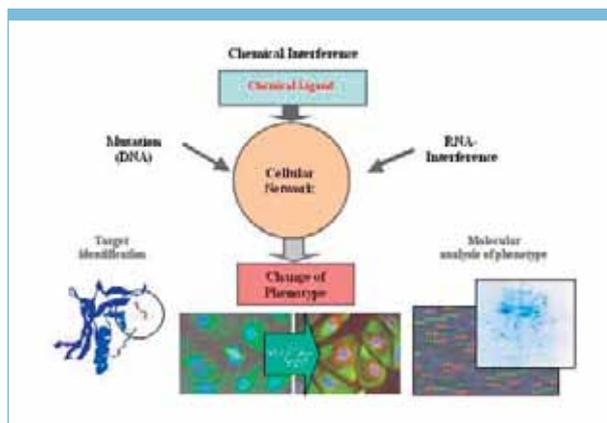
Programm „Vergleichende Genomforschung“

PROGRAMMSPRECHER | Dr. Helmut Blöcker | Abteilung für Genomanalyse | hbl@gbf.de

- Krankheiten entstehen durch komplizierte Wechselbeziehungen zwischen genotypischen und phänotypischen Eigenschaften wie genetisch bedingten Defekten oder Anlagen, aber auch durch umweltbedingte Faktoren wie Alter, Lebensweise, Wechselwirkungen zwischen Krankheitserreger und Wirt sowie Umweltbelastungen. Die vergleichende Analyse von Genominformationen ist ein unverzichtbares Element, wenn man zu prognostischen und diagnostischen Zwecken der Gesundheitsvorsorge die Beziehungen zwischen Genotyp und Phänotyp verstehen möchte. Dabei ist die Funktion einzelner Gene in den Zellen, ihre Wechselwirkungen in Zellverbänden und Netzwerken und ihre epigenetische Regulation sowie ihre Regulation auf der Ebene der Translation aufzuklären. In der vergleichenden Genomforschung verbindet man modellgestützte experimentelle Verfahren mit informationsgestützten Computerverfahren und theoriebasierten Dateninterpretationen. Dieses Forschungsprogramm stellt somit eine Kombination aus der experimentellen Charakterisierung von Genomfunktionen und umfassender genomgestützter Bioinformatik dar.



- Neue Medikamente und Impfstoffe zur Tuberkulose-Bekämpfung: Genomische Charakterisierung der PE-GRS Genfamilie von Mycobacterium tuberculosis.



- Drei komplementäre systematische Ansätze zur funktionellen Genomanalyse.

Collage: GBF, Klimek



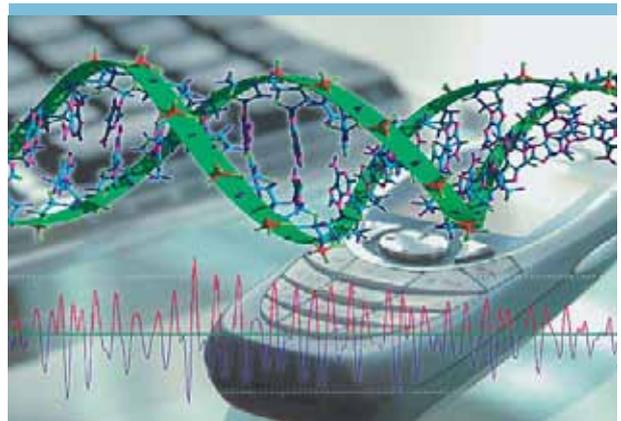
01 Analyse und Nutzung von DNA-Sequenzdaten

PROJEKTLEITER | Dr. Helmut Blöcker | Abteilung für Genomanalyse | hbl@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Michael Böcher | Igor Deyneko | Frank Gößling | Michael Jarek | Yulia Kalybeava | Dr. Rosa Martínez | Bernard Neelen | Dr. Gabriele Nordsiek | Rosalila Peneido | Maren Scharfe | Dr. Oliver Schön | Prof. Dr. Mahavir Singh | Dr. Matthias Stehr | Harold Stiege | Dr. Maoyuang Yang

Im Mittelpunkt dieses Projektes steht die genomweite Untersuchung und eingehende Analyse genetischer Informationen. Dies umfasst die Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierung und die Annotation der Genfunktionen auf der Ebene der Stoffwechsel- und Regulationswege. Über 50 Prozent unserer Arbeiten sind bioinformatischer Natur. In Zukunft werden wir zudem die vergleichende Sequenzanalyse ausgewählter Gene von Krankheitserregern und Patientengruppen sowie die Aufklärung der Methylierungsprofile ausgewählter Genomabschnitte durchführen. Als Ergänzung zu diesen Tätigkeiten werden wir neue technologische Entwicklungen vorantreiben.

Sequenzanalyse-Projekte Die DNA-Sequenzierung stellt eine Schlüsseltechnologie für die moderne biologische Forschung und ihre Anwendung dar. Steht ein Genom als Referenz zur Verfügung, ist eine vergleichende Sequenzierung die Methode der Wahl. Entsprechend wird unsere zukünftige Arbeit die vergleichende Sequenzanalyse klinischer Isolate von Krankheitserregern wie etwa *M. tuberculosis* umfassen – mit dem Schwerpunkt auf Genen, die an der Virulenz, Persistenz, Antibiotikaresistenz und Wirtspräferenz beteiligt sind. Zudem werden wir Sequenzpolymorphismen in Wirtsgenen sowie die Methylierungsmuster ausgewählter Genomabschnitte in Patientengruppen aufklären und ihre Kopplung mit Krankheitsanfälligkeit oder -resistenz und ihre pathogenen Eigenschaften untersuchen. Kürzlich haben wir die Sequenz des Schimpansenchromosoms 22 publiziert. Als nächstes werden wir uns der Sequenzierung und Funktionsanalyse des X-Chromosoms von Schimpansen zuwenden. Ebenso werden wir vermeintliche krankheitsassoziierte Genomabschnitte von Pferden, Schweinen und Rindern analysieren. Und wir untersuchen derzeit Bakteriengesellschaften im Mäusedarm. In einem Pilotprojekt werden wir die Infrastruktur für eine Aufklärung der Methylierungsmuster ganzer Chromosomen und ihre vergleichende Analyse schaffen. Nach dem Abschluss der Sequenzierung der Genome von *Sorangium cellulosum*, *Bordetella pertussis* und *E. coli* Nissle 1917, beteiligen wir uns jetzt an der ausführlichen Anno-



- Künstlerische Darstellung zum Einsatz von Prinzipien der Spracherkennung für die DNA-Sequenzanalyse.

Foto and Collage: GBF, Klimek

tion. Im Jahr 2004 wurde das neue Tätigkeitsgebiet „Mycogenomes“ ins Leben gerufen, mit dem Ziel, die Genome pathogener Mycobakterien zu vergleichen, die bei Menschen und Tieren Krankheiten wie Tuberkulose, Paratuberkulose und Lepra hervorrufen. Ziel ist es, bei Mycobakterien die Virulenzfaktoren und Zielpunkte für Arzneistoffe zu identifizieren und zu charakterisieren.

Neue Technologien Eine von uns entwickelte neue Methode der Sequenzanalyse bietet den Vorteil, sich nicht auf Ähnlichkeiten oder Häufigkeiten von Buchstaben zu stützen, sondern physikochemische oder theoretische Signal-Eigenschaften einzubeziehen. Derzeit laufen Experimente zu einer Neuklassifizierung der Promotorsequenzen aus *E. coli* und anderen Lebewesen, die zu neuen Erkenntnissen über Kategorien von Genaktivitäten führen können. Die Umsetzung erfolgt ausschließlich mit kostengünstiger Hardware. Wir werden diese Technologie weiterentwickeln und auf die vergleichende Protein- und DNA-Analyse anwenden. Darüber hinaus soll die Methode auch auf die Mustererkennung komplexer Bilder und – langfristig – auf die modellhafte Darstellung von Infektionsprozessen in Echtzeit angewendet werden.





02 Ligand-basierte Entdeckung biologischer Zielmoleküle

PROJEKTLEITER | Dr. Ronald Frank | Abteilung für Chemische Biologie | rfr@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Ulrike Beutling | Dr. Antonius Dikmans | Varsha Gupte | Dr. Jutta Niggemann |

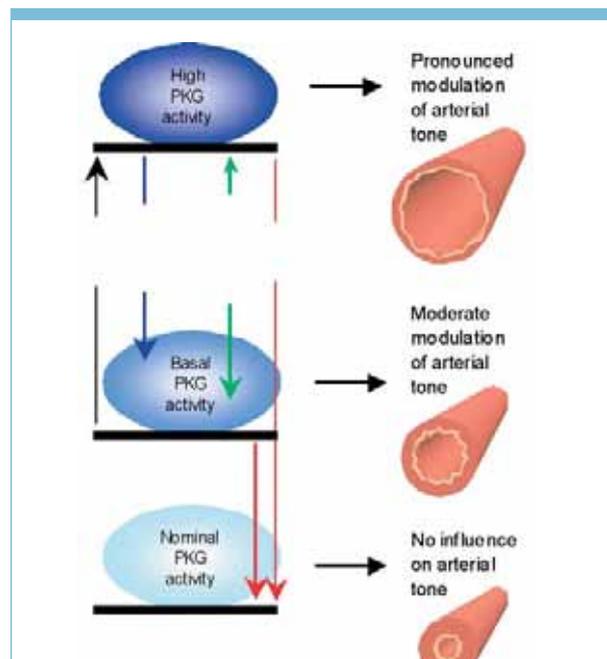
Dr. Rene Rübenhagen | Andrzej Swistowski | Dr. Werner Tegge

Zufällige und gezielte Mutagenese sowie Inaktivierung von mRNA durch Antisense- und RNAi-Methoden sind die Ansätze der klassischen und reversen Genetik, mit denen die Funktion von Genen auf Nukleinsäureebene gestört und über die phänotypischen Auswirkungen der Störung analysiert wird. Hierzu hat sich in den letzten Jahren ein attraktiver komplementärer Ansatz entwickelt. Mit chemischen Verbindungen werden die Genprodukte – im wesentlichen Proteine – direkt in ihrer Funktion beeinflusst, also durch Ligandenbindung aktiviert oder inhibiert. Ein solches chemisches Interferenzkonzept ist mit entsprechend kompetenten und vielseitig konstruierten Molekülbibliotheken ebenso global-genomisch und systematisch angelegt, wie das Mutanten- oder Antisense/RNAi-Screening der molekularen Genetik.

Substanzbibliotheken Die von uns verwendeten Sammlungen chemischer Verbindungen entstammen vorwiegend unserer kombinatorischen chemischen Synthese und enthalten Peptide, Peptidomimetika sowie kleine organische Moleküle. Solche Sammlungen werden für interne Screeningprojekte aufbereitet. Im Rahmen des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) werden die Sammlungen auch für Verbundprojekte verwendet, so für die „Systematische Methodische Plattform (SMP) Funktionelle und Chemische Proteomik“ und die „Antibody Factory“ sowie für die krankheitsorientierten Genomforschungsnetzwerke. Auf Initiative der GBF betreiben wir eine zentrale chemische Syntheseinheit als Plattform für die chemische Proteomforschung des NGFN.

Membrängängige spezifische Inhibitoren der cGMP-abhängigen Proteinkinase Durch Screening von Peptidbibliotheken, die auf SPOT-Membranen erzeugt wurden, konnte ein Inhibitor für die cGMP-abhängige Proteinkinase I α (PKG I α) hergestellt werden. Durch Fusion dieses Peptids mit membrängängigen Aminosäuresequenzen entstanden sehr selektive Wirkstoffe, die in Zellen eindringen. Die Sequenz „DT-2“ wurde in nativer und Fluorescein-markierter Form in Experimenten eingesetzt, mit denen die physiologischen Funktionen der PKG I α bei der Tonusregulation der glatten Muskulatur aufgeklärt werden sollten. Im Gegensatz zu anderen bekannten PKG-Inhibitoren ist DT-2 in der Lage, den

relaxierenden Effekt des Enzyms auf die glatte Muskulatur noch unter das Grundniveau abzusenken. Mit DT-2 kann man also zum ersten Mal die physiologische Bedeutung dieses Grundniveaus untersuchen und somit bessere Kenntnisse über die Tonusregulation in der glatten Muskulatur gewinnen. Derzeit soll in Untersuchungen an Mäusen bestätigt werden, dass man mit solchen Inhibitoren einen zu niedrigen Blutdruck bekämpfen kann – einem wichtigen Aspekt bei der Behandlung des systemischen Schocks.



- Ein Modell der PKG-Aktivität in glatten Muskelzellen und ihr Einfluss auf den Gefäßtonus. Die basale PKG-Aktivität bewirkt eine kontinuierliche Modulation des Gefäßtonus sogar bei minimalen cGMP-Konzentrationen. Erhöhte cGMP-Konzentrationen stimulieren die Kinase weiter („High PKG Activity“), wodurch der modulatorische Einfluss erhöht wird. Bekannte Inhibitoren (KT-5823, Rp-cGMPS Derivate) vermindern die cGMP-stimulierte PKG-Aktivität in unterschiedlichem Maß, aber maximal bis auf den basalen Wert. DT-2 (roter Pfeil) andererseits inhibiert nicht nur die cGMP-stimulierte PKG-Aktivität, sondern auch die basale PKG-Aktivität, wodurch die Kinase-bedingte Vasoregulation völlig ausgeschaltet wird.

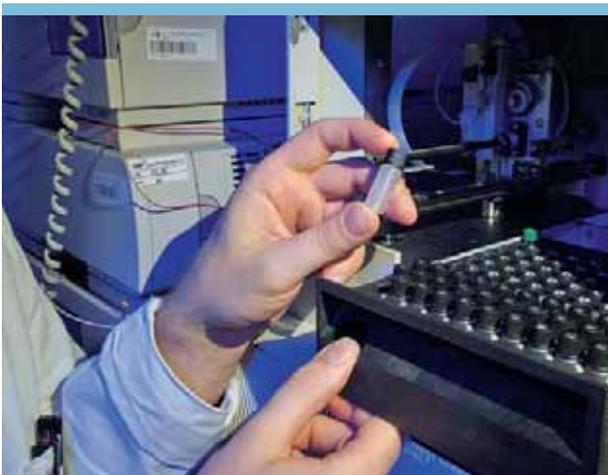


03 Konformationelle Protein-Ligand-Interaktionen

PROJEKTLEITERIN | Priv.-Doz. Dr. Jutta Eichler | Arbeitsgruppe Konformationelle Protein-Ligand-Interaktionen | jei@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Numan Akyol | Dr. Christian Doll | Raimo Franke | Cornelia Hunke | Dr. Ulf Strijowski | Enge Sudarman

Die Wechselwirkungen von Proteinen untereinander oder mit anderen Ligand-Molekülen sind die molekulare Grundlage aller durch Proteine vermittelten biologischen Prozesse. Das Design und die Herstellung synthetischer Moleküle, um diejenigen Bereiche von Proteinen nachzuahmen, die für die Interaktion mit ihren Liganden verantwortlich sind, ist eine viel versprechende Strategie zur Beeinflussung von Proteinfunktionen. Es ermöglicht ein gezieltes Eingreifen in die zugrunde liegenden molekularen Wechselwirkungen.



- Laden eines Autosamplers eines LC/MS-Geräts für die Analyse von synthetischen Peptiden.

Foto: GBF, Bierstedt

Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen Die Design-Grundlage für solche Inhibitoren ist die bekannte Struktur der Proteinbindungsstelle innerhalb der Raumstruktur des Protein-Ligand-Komplexes. Das Synthesekonzept für die Mimikry von sequenziell diskontinuierlichen Proteinbindungsstellen ist auf zusammengesetzte oder Gerüst-gestützte Peptide ausgerichtet. In ihnen werden die vom Protein abgeleiteten Peptidfragmente, die seine Bindungsstelle ausmachen, nichtlinear und diskontinuierlich von einem molekularen Gerüst präsentiert. Unser bisher entwickeltes Spektrum an Synthesemethoden ermöglicht die Herstellung strukturell vielfältiger Gerüstmoleküle für solche gerüstgestützten Peptide.



Mit Hilfe dieser Syntheseverfahren konnten wir Mimetika der Bindungsstellen unterschiedlicher Proteine entwerfen und herstellen. Unser Ziel ist dabei die Entwicklung von Molekülen, die die Wechselwirkungen zwischen den Proteinen und ihren Liganden beeinflussen. Wir konnten zeigen, dass sowohl synthetische Mimetika der Bindungsstellen der Mena-EVH1-Domäne für prolinreichen Peptidliganden als auch die des Hüllproteins gp120 von HIV-1 für den T-Zell-Rezeptor CD4 die Wechselwirkungen dieser Proteine mit ihren Liganden unterdrücken. Im Mittelpunkt weiterer Projekte stehen die Hemmung der Wechselwirkungen von E-Cadherin auf Epithelzellen mit dem Internalin A von *L. monocytogenes* sowie die Interaktion von viralem Interleukin-6 mit dem Rezeptor gp130.



- Kolorimetrischer Bindungsassay in Mikrotiterplatten. Synthetische Peptide werden auf ihre Fähigkeit getestet, Protein-Ligand-Interaktionen zu hemmen.

Foto: GBF, Bierstedt



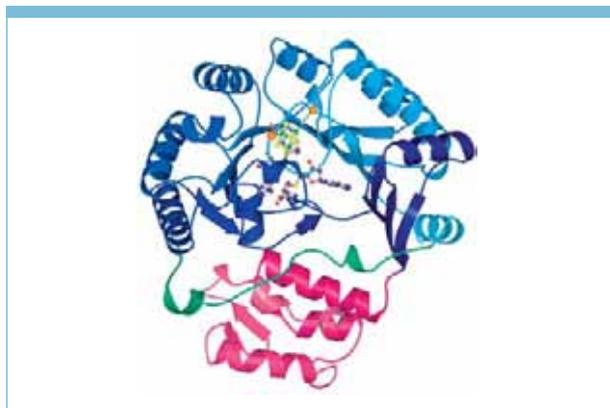
04 Vergleichende Strukturanalyse von Stoffwechselwegen

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dirk Heinz | Bereich Strukturbiologie | dih@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Isabel Astner | Dr. Hans-Jürgen Hecht | Dr. Wolf-Dieter Schubert | Jörg Schulze

Die starken Ähnlichkeiten zwischen menschlichem und bakteriellem Stoffwechsel stützen die darwinistische Hypothese, wonach alle Lebensformen einen gemeinsamen Ursprung haben. Biochemische Untersuchungen an Bakterien zeigen meist eine vereinfachte Form der komplizierteren menschlichen Stoffwechselwege. Und spezifische Unterschiede bieten häufig einzigartige Gelegenheiten, die besondere Empfindlichkeit von Bakterien auszunutzen und Antibiotika zu entwickeln, die für den Patienten unter Umständen nur sehr geringe Nebenwirkungen haben.

Enzyme der Häm-Biosynthese Häm und andere Tetrapyrrole, wie (Bakterien-)Chlorophylle und Vitamin B₁₂, sind in lebenden Zellen unentbehrlich. Sie sind Kofaktoren für zahlreiche Enzyme und bei der Photosynthese und Zellatmung an Energie- und Elektronenübertragungsprozessen beteiligt. Einzigartig an der Funktion des Häm ist die Koordination und der Transport von Sauerstoff und Kohlendioxid im Blut der Wirbeltiere.

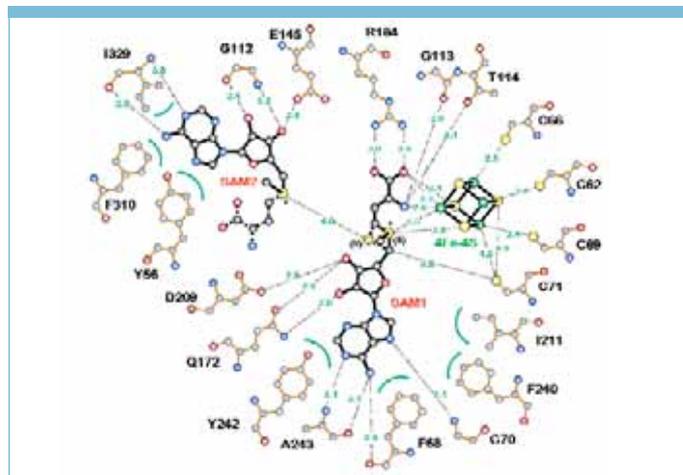


- Die Struktur von HemN von *E. coli*. Die erste Struktur eines radikalischen SAM-Enzyms.

Zusammen mit der TU Braunschweig haben wir die Struktur der sauerstoffunabhängigen Coproporphyrinogen-III-Oxidase (HämN) aufgeklärt, eines bakteriellen Enzyms für die anaerobe Häm-Biosynthese. Es katalysiert den vorletzten Schritt der Häm-Biosynthese. HämN und andere Verwandte bringen eine 4Fe-4S-Gruppe unmittelbar neben ein S-Adenosylmethioninmolekül (SAM), so dass das Schwefelatom des SAM eine koordinative Bindung zu dem vierten Eisenatom der Gruppe eingeht. Es bindet an zwei SAM-Moleküle. Eine ähnliche Anordnung der beteiligten Kofaktoren hatte man zuvor noch

nicht beobachtet. Wird die Gruppe reduziert, überträgt sie ein Elektron auf das SAM, so dass dieses in ein Methionin und ein 5'-Adenosylradikal zerfällt. Das Radikal abstrahiert ein Wasserstoffatom vom Substrat Coproporphyrinogen-III und verwandelt es durch den Verlust einer CO₂-Gruppe und eines Elektrons in das Produkt Protoporphyrinogen IX.

Enzyme der Molybdopterin-Biosynthese Molybdän-Enzyme sind für vielfältige Stoffwechselvorgänge von Bedeutung: Bei Säugetieren für die Schwefelentgiftung und den Purinstoffwechsel, bei Pflanzen für die Stickstoffassimilation und die Synthese der Phytohormone. Eine defekte Biosynthese von Molybdän-Kofaktoren führt beim Menschen zu neurologischen Anomalien und bereits in früher Kindheit zum Tode. Gemeinsam mit der TU Braunschweig haben wir die Struktur der G-Domäne in dem pflanzlichen Molybdopterin-Biosyntheseprotein Cnx1G untersucht. Die Kristallstruktur-Analyse zeigte die Bindung des adenylierten Molybdopterin an ein mechanisch beeinträchtigt mutiertes Protein. Damit war das adenylierte Molybdopterin als Reaktionsprodukt von Cnx1G identifiziert. Die aminoterminal E-Domäne von Cnx1G verarbeitet diese Substanz später in einer magnesiumabhängigen Reaktion zum aktiven Molybdän-Cofaktor. Mit der beobachteten Hemmung der Cnx1G-Aktivität durch Kupfer – es bindet an die Schwefelatome des Molybdopterdithiolats – war damit eine molekulare Verbindung zwischen dem Molybdän- und Kupferstoffwechsel hergestellt.



- Die Interaktionen im Aktivitätszentrum von HemN zeigen die Bindung des Kofaktors an das Protein.



05 Modelle und Analysen zellulärer Netzwerke

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. An-Ping Zeng | Abteilung für Genomanalyse | aze@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Eun-Jin Kim | Bharani Kumar | Dr. Hongwu Ma | Marcio Rosa da Silva |

Dr. Jibin Sun | Ping Zheng

Der Forschungsschwerpunkt dieses Projektes liegt in der Rekonstruktion, Analyse und Modellierung der Stoffwechsel- und Regulationsnetzwerke in ausgewählten biologischen Systemen. Wir untersuchen diese biologischen Systeme, indem wir den Einsatz verschiedener genomischer und funktionell-genomischer Daten, bioinformatische Werkzeuge und mathematische Modelle miteinander kombinieren. Zu diesem Zweck entwickeln wir neue Algorithmen und Methoden zur Rekonstruktion und Analyse von Stoffwechsel- und Regulationsnetzwerken.

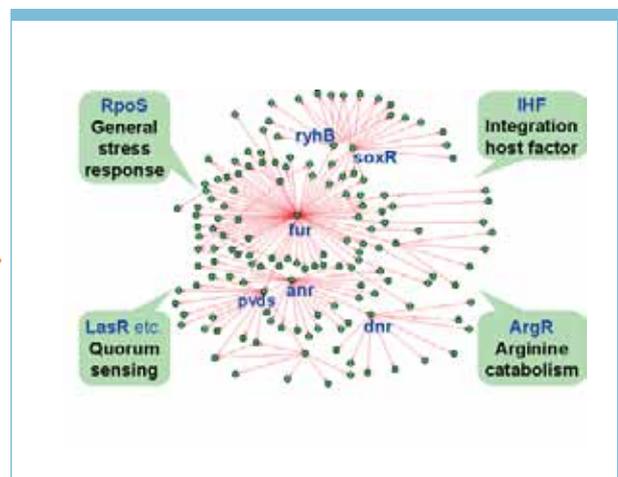
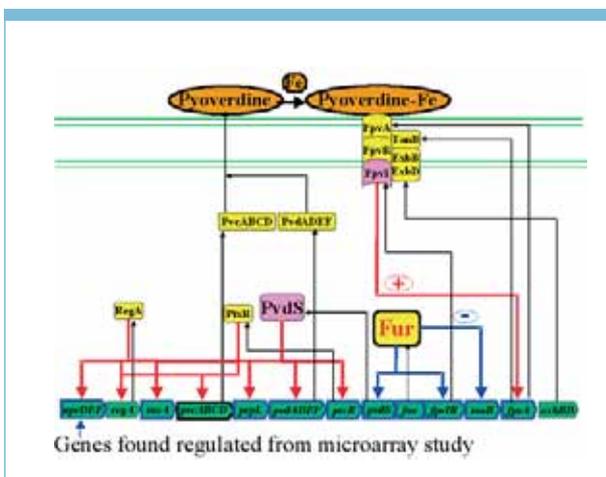
E. coli Mit Hilfe des Algorithmus IdentiCS, den unsere Arbeitsgruppe im letzten Jahr entwickelte, wurden aus den Rohsequenzen des probiotischen *E. coli*-Stammes Nissle 1917 (O6:K5:H1) die kodierenden Sequenzen (CDSs) identifiziert und das zugehörige potenzielle Stoffwechselnetzwerk rekonstruiert. Die für *E. coli* Nissle 1917 vorausgesagten codierenden Sequenzen wurden mit denen der fünf anderen bisher publizierten, sequenzierten *E. coli*-Stämme verglichen. Dies führte zur Identifizierung von 108 codierenden Sequenzen, die ausschließlich in diesem Isolat vorhanden waren.

In den Netzwerken der Transkriptionsregulation von *E. coli* und Hefe konnten wir Motive und Funktionsbausteine mit einer neu entwickelten Methode identifizieren. Die von uns gefundene hierarchische Modulstruktur ist von großem Nutzen, wenn globale Regulatoren und die Befunde von Mikroarrays analysiert werden, insbesondere

wenn es darum geht, aus Expressionsprofilen Rückschlüsse auf die Regulationsmechanismen zu ziehen.

Kommunikationssignal Wir haben von 138 vollständigen Genomen eine vergleichende, phylogenetische Analyse erstellt, die sich auf die Synthese und den Signalübertragungswegen des Autoinduktors-2 bezog. Er ist den Literaturangaben zufolge ein universelles Signal für die Kommunikation zwischen verschiedenen Arten. Es stellte sich heraus, dass das Enzym LuxS, das für die Synthese von AI-2 benötigt wird, bei Bakterien weit verbreitet ist, das periplasmatische Bindungsprotein LuxP dagegen nur bei Stämmen von *Vibrio* vorkommt.

„Intergenomics“ Im Rahmen des BMBF-Projekts „Intergenomics“ haben wir das Stoffwechsel- und Regulationsnetzwerk untersucht, das an der Bildung von Virulenzfaktoren und an der Stressantwort von *Pseudomonas aeruginosa* während einer Lungeninfektion beteiligt ist. Dabei haben wir uns auf die Verfügbarkeit von Eisen und Sauerstoff konzentriert sowie auf ihre Bedeutung für die Entstehung der Virulenzfaktoren. Experimentelle Methoden, wie die Pathophysiologie, genetische Störungen und genomische Analysen, wurden mit bioinformatischen Werkzeugen kombiniert, um die beteiligten Regulationswege und das zugehörige Netzwerk zu rekonstruieren, so dass die komplexen Wechselwirkungen aufgeklärt werden konnten.



- Von Stoffwechselwegen zum Gennetzwerk: Die Regulierung des Eisenstoffwechsels und Antworten auf Stresssituationen in *Pseudomonas aeruginosa*.



Programm „Nachhaltige Nutzung von Landschaften“

PROGRAMMSPRECHER | Prof. Dr. Kenneth N. Timmis | Abteilung für Umweltmikrobiologie | kti@gbf.de



- Mikroorganismen sind allgegenwärtig, und da sie weitaus extremere Umweltbedingungen vertragen als höhere Organismen, definieren ihre Lebensräume die Biosphäre. Mit ihrer Aktivität haben die Mikroorganismen großen Einfluss auf weltweite Prozesse wie Kohlenstoffkreislauf und globale Erwärmung, aber auch auf lokale Vorgänge wie Pflanzen- und Tierkrankheiten. Außerdem liefern sie unentbehrliche Nährstoffe für Pflanzen und Tiere. Mikroorganismen wirken sich vielfältig, positiv und negativ, auf die Menschen und ihre Tätigkeiten aus: Sie sind für die Mehrzahl aller Krankheiten und Todesfälle verantwortlich, andere liefern Antibiotika zur Behandlung von Krankheiten, und wieder andere tragen entscheidend dazu bei, die Umwelt von organischen Abfallstoffen zu befreien. Die Biotechnologie bedient sich in weiten Bereichen der Mikroorganismen und ihrer Produkte. Damit wir die Tätigkeit von Mikroorganismen beeinflussen können, um von den positiven Aspekten stärker zu profitieren und die negativen Auswirkungen so gering wie möglich zu halten, müssen wir genau wissen, wie sie in ihren Lebensräumen existieren und funktionieren, und wie ihre Tätigkeiten gesteuert werden.

In der klassischen Mikrobiologie untersucht man Reinkulturen, die unter Laborbedingungen wachsen. In der Natur vermehren sich die Mikroorganismen jedoch in komplizierten, vielgestaltigen, dynamischen Lebensgemeinschaften, deren Mitglieder untereinander in Wechselbeziehung treten und die verfügbaren Ressourcen auf komplexen Wegen unter sich aufteilen. Diese Wechselwirkungen und die Interaktionen mit anderen belebten und unbelebten Bestandteilen der Umwelt bestimmen über die Aktivität einer Lebensgemeinschaft. Allgemeine Kenntnisse über solche Wechselbeziehungen besitzen wir bisher nicht.

Mit dem Forschungsprogramm verfolgen wir das Ziel, Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen als Funktionseinheiten zu verstehen, die entscheidenden Wechselwirkungen bei der Steuerung ihrer Aktivität aufzuklären und Eingriffsmöglichkeiten zu entwickeln und zu validieren, die zu einer Verstärkung biotechnologisch relevanter Abläufe führen. Und durch Erkundung der Formenvielfalt neue Produkte und Stoffwechselprozesse der Mikroorganismen zu entdecken. Charakterisiert wird das Forschungsprogramm durch Arbeiten auf verschiedenen Ebenen – Gen, Organismus, Lebensgemeinschaft; Reagenzglas, Chemostat, natürlicher Lebensraum – und fachübergreifende Tätigkeiten wie mikrobiologische Ökologie, Physiologie, Stammesgeschichte, Biochemie, analytische Chemie, Genetik/Genomforschung, Bioinformatik und Modellbildung. Die dabei gewonnenen Ergebnisse werden sich zwar prinzipiell auf einen großen Teil aller Mikroorganismen-Gemeinschaften anwenden lassen, unsere Forschung konzentriert sich aber auf solche Lebensgemeinschaften, die entweder beim Menschen Krankheiten auslösen können oder Umweltgifte verstoffwechseln. Ein wichtiges Ziel des Programms besteht darin, Beiträge zur nachhaltigen Entwicklung unserer Gesellschaft zu leisten.



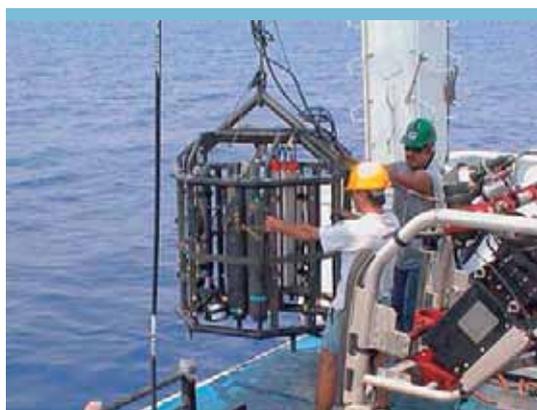
01 Funktionelle Genomik und Nischenspezifität

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Kenneth N. Timmis | Abteilung für Umweltmikrobiologie | kti@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Angelika Arnscheidt | Dr. T. Chernikova | Christoph Gertler | Dr. Peter N. Golyshin | Olga Golyshina | Dr. Oleg R. Kotsyurbenko | Taras Nechitaylo | Julia Sabirova

Möchte man die Vielfalt der Mikroorganismen verstehen und ihre Nutzung der unterschiedlichsten, vielfach durch widrige Bedingungen gekennzeichneten ökologischen Nischen, lautet die entscheidende Frage: Wie sehen die ökophysiologischen Mechanismen der Lebensraumspezifität aus, und worauf beruht die Vielfalt ihres Stoffwechsels?

Erkundung extremophiler Genome Untersucht wurden die Genome extremophiler Mikroorganismen: aus hypersalinen, sauerstofffreien Tiefseebecken (DHABs) im Mittelmeer und aus Rinderpansen. Die isolierte, extreme Umwelt der DHABs beherbergt bisher nicht charakterisierte Formen der biologischen Welt. Einer von fünf daraus isolierten Enzymtypen zeigt keinerlei Homologie mit Sequenzen aus Datenbanken. Es ist ein neues, bifunktionales Enzym mit mehreren aktiven Zentren. Es verträgt unterschiedlichste Salzgehalte, hydrostatische Drucke, polare Lösungsmittel und reduzierende Milieus. Auch die Enzyme aus Pansen sind bekannten Enzymklassen kaum ähnlich. Sie besitzen mehrere bisher nicht beschriebene Eigenschaften wie Lösungsmittelresistenz, Substratspezifität, hohe spezifische Aktivität bei einer Reihe von Substraten und in manchen Fällen eine hohe Enantiomer-/Regionenspezifität.



● Probenahme in den Tiefen des Mittelmeeres.

Foto: GBF

Ein wichtiger Überlebensfaktor für Bakterien Für die Expression hitzeempfindlicher, rekombinanter Proteine in *E. coli* bei etwa 4 °C wurde experimentell ein neues Verfahren evaluiert. Grundlage war die gleichzeitige Expression des gewünschten Proteins mit Chaperonen (Cpn60 und Cpn10) aus dem psychophilen Bakterium *Oleispira antarctica* RB8T, das auch *E. coli* bei 4 °C ein schnelles Wachstum ermöglicht. Die Expression einer temperaturempfindlichen Esterase in diesem Wirt bei 4 bis 10 °C führte zu einer 200fach erhöhten Enzymaktivität gegenüber einem bei 37 °C gezogenen *E. coli*-Stamm, der kein Chaperon produzierte. Die höhere Aktivität ist auf die geringere Wachstumstemperatur zurückzuführen, die der Proteinfaltung zugute kommt.

Anomalie der pH-Optima Ein breites Spektrum acidophiler Mikroorganismen wächst am besten bei pH 0 bis 3. Ihr Zellinneres ist allerdings nahezu neutral oder nur leicht sauer. Extrazelluläre Enzymaktivitäten sind an den niedrigen pH der Umgebung angepasst, die Enzyme des Zellinneren dagegen erreichen ihre größte Aktivität bei dem fast neutralen pH des Cytoplasmas. Intrazelluläre Enzyme aus *Ferroplasma acidiphilum* arbeiten jedoch optimal bei einem pH von 1,7 bis 4,0, sind in diesem Bereich stabil und haben ein pH-Optimum, das bis zu drei Einheiten unter dem pH 5,6 des Zellinneren liegt. Diese „Anomalie“ lässt darauf schließen, dass im Cytoplasma bislang unbekannt Selektionskräfte wirken.

Funktionelle Genomik bei *Alcanivorax* Mit einer *in silico*-Analyse des Genoms von *Alcanivorax* wurde die Reaktion dieses Organismus auf einschlägige Umweltfaktoren untersucht. Mehrere Gengruppen für Alkanoxidation, mehrere Aufnahmesysteme für Ammoniumgruppen, natriumabhängige Transporter, kompatible Gruppen für die Biosynthese gelöster Substanzen, eine geringe Zahl von Genen für Signalübertragungssysteme und das Fehlen von Stoffwechselwegen für die Stickstofffixierung stehen im Einklang mit einer oligotrophen Lebensweise im Meer. Gleichzeitig sind sie eine Erklärung für die Fähigkeit zum Abbau von Kohlenwasserstoffen und die effiziente Aufnahme von Nährstoffen, die man bei *Alcanivorax* beobachtet.



02 Biofilm-Lebensgemeinschaften in Umwelt und Gesundheit

PROJEKTLEITER | Dr. Wolf-Rainer Abraham | Arbeitsgruppe Chemische Mikrobiologie | wab@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Elke Hase | Daniela Kobbe | Dr. Heinrich Lünsdorf | Alexandre Macedo |

Sonja Pawelczyk | Jennifer Skerra | Esther Surges



- Ein in einem sauren Bergwerkssee in Lusatia gewachsener Biofilm. Man beachte, dass die Mineralien, die sich im Biofilm befinden, als dunkelbraune Flecken zu erkennen sind.

Foto: GBF

Dieses Projekt verfolgt das Ziel, Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen als Funktionseinheiten besser verstehen zu lernen und durch Erkundung der Artenvielfalt von Mikroben neue Stoffwechselwege zu finden. Mit unseren Forschungsarbeiten konzentrieren wir uns auf Lebensgemeinschaften, die unter extremen Bedingungen leben.

Vielfältige Biofilm-Lebensgemeinschaften auf PCB

Untersucht wurde die Fähigkeit von Mikroorganismen-Gemeinschaften aus nicht verschmutzten Lebensräumen, xenobiotische Substanzen zu verarbeiten. An mehreren Stellen in Deutschland wurden Bodenproben entnommen. Diese dienten als Impfproben für die Zucht von Biofilmen auf polychlorierten Biphenylen (PCBs). Wie wir feststellen konnten, waren die Mikroorganismen aus allen getesteten Bodenproben in der Lage, einen Biofilm zu bilden und PCB-Verbindungen abzubauen. Die chemische Analyse der verbliebenen PCBs ergab geringfügige Unterschiede in der Vorliebe der Biofilme für die einzelnen PCB-Typen. Überraschenderweise wurden auf dem PCB-Öl sehr vielfältige Biofilm-Lebensgemeinschaften gefunden, die eine hohe Zahl von Mitgliedern hatten und sich stark von den Biofilmen auf den Bodenproben unter-



schieden. Die Befunde zeigten, dass auch Mikroorganismen von nicht verschmutzten Stellen das Potenzial besitzen, das stark hydrophobe Substrat PCB zu nutzen. Die Fähigkeit, dieses Substrat zu verwerten, ist in der Welt der Bakterien weit verbreitet; dies führt zu sehr unterschiedlichen Biofilm-Lebensgemeinschaften, die als Grundlage für verbesserte biologische Abbauprozesse dienen können.

Biofilme aus sauren Bergbauseen Im Tagebau freigelegte Sulfide oxidieren, und die dabei entstehenden Sulfate werden mit dem Wasser in offene Gruben geschwemmt und bilden saure Bergbauseen. Diese haben einen pH von 2,5 und enthalten außerdem häufig hohe Schwermetallkonzentrationen. Damit sind sie für alle Lebewesen außer Bakterien und Pilzen sehr unwirtlich. Um zu beurteilen, inwieweit Gemeinschaften von Mikroorganismen das Potenzial zur Neutralisierung solcher sauren Gewässer besitzen, wurde die Bildung von Biofilmen auf verschiedenen Substraten in einem solchen See untersucht. Als Unterlage für die Mikroorganismen-Gemeinschaften dienten Weizenstroh und Substrate wie Glas oder der Kunststoff Permanox™. Diese wurden mehrere Monate lang den Bedingungen in dem See ausgesetzt. Die dabei entstandenen Biofilm-Gemeinschaften wurden mit aus demselben See isolierten Biofilmen auf Schilf und Birkenblättern verglichen. Auf den nährstoffhaltigen Substraten – Weizenstroh und Schilf – waren vielgestaltige Biofilme aus Bakterien und Pilzen zu beobachten. Sie waren wesentlich dichter und ließen eine stärkere Mineralienbildung erkennen als diejenigen auf den nährstofffreien Substraten Glas und Permanox™. Der Abbau der Weizen- und Schilffasern erforderte offenbar die Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Pilzen, denn in diesen Biofilmen kommen beide Gruppen vor. Demnach kommt sowohl den Pilzen als auch den Bakterien für die biologische Klärung solcher Seen eine entscheidende Bedeutung zu.



03 Stoffwechsellvielfalt von Mikroorganismen

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Dietmar Pieper | Arbeitsgruppe Biodegradation | dpi@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Hamdy Ali | Beatriz Camara | Carlos Cuel | Dr. Heike Gabriel-Jürgens |
Dr. Bernd Hofer | Dr. Howard Junca | Anna-Maria Kicinska | Nguyen Ba Huu | Dr. Peter Rapp |
Jens Schneider | Carsten Strömpl | Sabine Wittrock

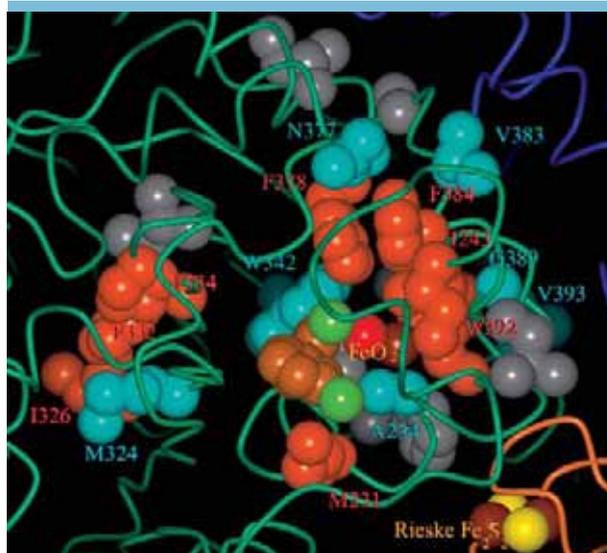
Das Projekt verfolgt das Ziel, biologische Abbauvorgänge in der Umwelt quantitativ zu erfassen, vorauszusagen und zu beeinflussen. Um ein Verständnis über die Aktivität und Anpassungsfähigkeit von Bakterien-Lebensgemeinschaften *in situ* zu erlangen, analysieren wir Reinkulturen und Modell-Lebensgemeinschaften und entwickeln Methoden, die Analysen in komplexen Systemen ermöglichen.

Neue Biokatalysatoren Der biologische Abbau von Schadstoffen in der Umwelt durch zugeführte spezialisierte Bakterien ist selten erfolgreich, da diese Biokatalysatoren nur wenig aktiv sind, oder weil die Giftstoffe schlecht biologisch verfügbar sind. Das psychrophile Bakterium *Rhodococcus* sp. MS11 kann nicht nur ein überraschend breites Spektrum chlorierter und nichtchlorierter Kohlenwasserstoffe abbauen, sondern scheidet beim Wachstum auf n-Alkanen auch Biotenside aus. Damit dürfte es sich gut für die biologische Reinigung von mit Tetra-, Tri- und Dichlorbenzolen oder Alkanen verseuchten Böden und Sedimenten eignen.

Werkzeuge zur Analyse der Funktionen in Lebensgemeinschaften Kenntnis der katabolischen Genstruktur in Umweltproben wird unser Wissen über die potentiellen Fähigkeiten mikrobieller Lebensgemeinschaften erweitern.

Die Gene für die Catechol-2,3-dioxygenase (C23O) haben eine Schlüsselstellung beim Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe inne. Ihre Diversität wurde durch Analyse von Einzelstrang-Konformationspolymorphismen amplifizierter Fragmente dieser Genfamilie genauer untersucht. Unterschiedlich kontaminierte Standorte zeigten innerhalb der Genvielfalt zeitliche und kontaminationsabhängige Veränderungen. Eine Restriktionsanalyse ermöglichte eine schnelle Einschätzung der Vielfalt funktionsfähiger Gene, ihrer Stammesgeschichte und die Identifizierung des vorherrschenden DNA-Polymorphismus in Umweltproben.

Für C23O wurden zwei Sequenzen identifiziert, die sich nur in einer einzigen Aminosäure unterscheiden. Trotz fehlender Hinweise auf einen funktionellen Einfluss dieser Aminosäure, unterscheiden sich die katalytischen Eigenschaften der Proteine deutlich. Offenbar können Aminosäuren auch dann für die Enzymfunktion wichtig sein, wenn sie sich nicht unmittelbar auf die Struktur des aktiven Zentrums auswirken. Und es beweist, wie nützlich es ist, Polymorphismen aufzudecken.



- Strukturmodell eines Enzym-Substrat-Komplexes der Biphenyl Dioxygenase des Stammes LB400 in der Umgebung des katalytischen Zentrums. Ein Substratmolekül, 2,3'-Dichlorbiphenyl, wurde in die katalytische Tasche platziert. Der Verlauf der Proetinkette ist als Drahtmodell dargestellt. α -Untereinheit A, grün; α -Untereinheit B, braun; β -Untereinheit A, blau. Das Substratmolekül, das Rieske-Cluster, der Eisen-Sauerstoff-Komplex und die Seitenketten ausgetauschter Aminosäuren sind raumfüllend dargestellt. Seitenketten wurden entsprechend ihrer Effekte auf die Dioxygenierung gefärbt dargestellt; (sehr) stark, orange; moderat, cyan; schwach, grau. Substrat-Kohlenstoff, hellbraun; Substrat-Chlorid, grün; Schwefel, gelb; Eisen, dunkelbraun; Sauerstoff, rot.

Schlüsselenzyme im Stoffwechsel Drei Abschnitte der Biphenyl Dioxygenase von *Burkholderia xenovorans* LB400 beeinflussen die Wechselwirkungen zwischen Enzym und Substrat. Um diese Regionen genauer zu charakterisieren, untersuchten wir die Auswirkungen von 23 einzeln ausgetauschten Aminosäuren. Nur acht von ihnen beeinflussen die Struktur des katalytischen Zentrums.

Ein dreidimensionales Strukturmodell sollte das aktive Zentrum einer Glycosyltransferase charakterisieren. Durch biochemische Untersuchungen von Mutanten wurden die Teile des Enzyms identifiziert, die für Bindung und Umsatz des Substrats notwendig sind. Die hieraus gewonnene Information wurde zur Entwicklung einer Zufallsmutagenese genutzt, mit der Varianten mit veränderter Spezifität für den Glycosyldonor gewonnen werden sollen.



04 Ökologie von Krankheitserregern

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Manfred Höfle | Abteilung für Umweltmikrobiologie | mho@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Ingrid Brettar | Dr. Stefan Eichler | Dr. Matthias Labrenz



Die Ökologie von Krankheitserregern ist ein relativ neues Forschungsthema innerhalb der mikrobiellen Ökologie. Im Mittelpunkt stehen einerseits mikrobielle Krankheitserreger aus der Umwelt und andererseits die ökologischen Vorgänge, die das Vorkommen dieser Krankheitserreger kontrollieren. Ökologische Wechselwirkungen bestimmen über Populationsgröße und Virulenz infektiöser Bakterienkulturen. Dafür spricht, dass manche besonders wirksamen Maßnahmen zur Eindämmung von Infektionskrankheiten nicht medizinischer, sondern ökologischer Natur sind. Ein wichtiges Beispiel ist der Rückgang der wasserassoziierten Krankheiten seit Abwässer aufbereitet werden und Trinkwasser desinfiziert wird. Mit dem Projekt „Ökologie von Krankheitserregern“ verfolgen wir langfristig das Ziel, die Verteilung, Aktivität, Pathogenität und Reservoirgröße wichtiger bakterieller Krankheitserreger in der Umwelt zu ermitteln und zu verstehen. Das würde ermöglichen, eine Bedrohung der allgemeinen Gesundheit durch diese Erreger vorherzusehen und entsprechende Maßnahmen zu ergreifen.



- Die Eckertalsperre im Harz dient als Trinkwasser-Reservoir.

Das Foto wurde von Dr. Lange, mit freundlicher Genehmigung der Harzwasserwerke, Goslar, zur Verfügung gestellt.

DNA-basierter Nachweis Dass wir bisher so wenig über die Ökologie bakterieller Krankheitserreger wissen, liegt vor allem an unzuverlässigen Nachweismethoden. Nahezu alle Überwachungsmethoden die derzeit im öffentlichen Gesundheitswesen angewandt werden, basieren auf konventionellen Verfahren. Die meisten pathogenen Bakterien in der Umwelt befinden sich jedoch in einem zwar infektiösen, aber so genannten lebens-, aber nicht kulturfähigen Zustand – und in diesem sind sie mit konventionellen Methoden nicht nachweisbar. Seit etwa zehn Jahren lässt sich diese Beschränkung durch unmittelbare Analyse der DNA aus natürlichem Probenmaterial umgehen und Bakterien mit molekularbiologischen Methoden ohne vorherige Anzucht nachweisen. Genomik- und DNA-Chip-Technologie bringen diese DNA-basierten Nachweisverfahren wesentlich voran, da sie ermöglichen, Aktivität und Virulenz gezielt ausgewählter Bakterien aus der Umwelt aufzuklären.

Krankheitserreger aus dem Wasser Eine wichtige gesundheitliche Bedrohung geht von Trink- und Badewasser aus, das mit menschlichen oder tierischen Exkrementen verunreinigt ist. In einem ersten Forschungsschwerpunkt wurde die Mikroflora eines ganzen Trinkwasserversorgungssystems mit molekularen Fingerabdrücken von der Quelle bis zum Wasserhahn untersucht. Das analysierte System liefert – aus zwei großen Trinkwassertalsperren im Harz – den größten Teil des Trinkwassers für die Stadt Braunschweig. Da die beiden Stauseen sich in ihrer Süßwasserökologie deutlich unterscheiden, waren auch Struktur und Zusammensetzung ihrer bakteriellen Mikroflora sehr unterschiedlich. Durch die ersten Aufbereitungsschritte mit Flockung und Sandfiltern veränderte sich die Zusammensetzung der Mikroflora nicht. Größere Veränderungen traten erwartungsgemäß erst nach dem Zusatz von Chlor ein. Das Trinkwasser aus beiden Stauseen wird in einem großen Lagerbehälter gemischt und über ein rund 40 km langes Leitungssystem nach Braunschweig geliefert. Auf diesem Transportweg waren keine nennenswerten Veränderungen der Mikroflora im Trinkwasser zu beobachten. Im Leitungswasser am Ende der Versorgungsleitungen war eine recht stabile Bakterienbesiedelung anzutreffen. Dieser neue, molekularbiologische Blick auf unser Trinkwasser wird dazu beitragen, die Wasseraufbereitung aus Rohwasser zu optimieren und den hohen Hygienestandard zu erhalten.



05 Mikroorganismenvielfalt und Naturstoffe

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Kenneth N. Timmis | Abteilung für Umweltmikrobiologie | kti@gbf.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Rolf Jansen | Dr. Gabriella Molinari | Magally Romero-Tabarez

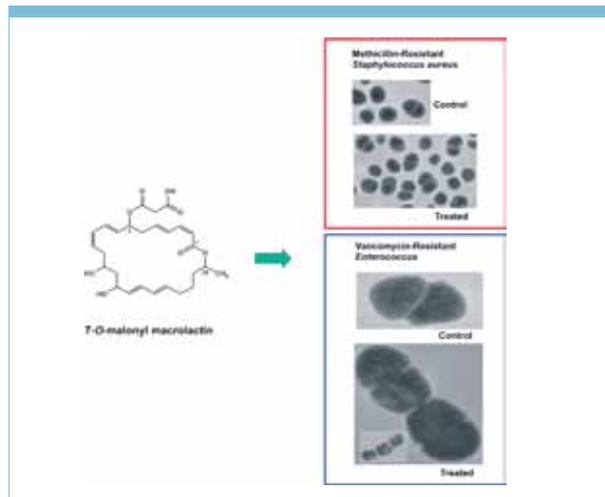
Mehrfachresistente Mikroorganismen stellen weltweit eine Bedrohung dar, weil sie die medizinische Behandlung von Patienten mit Infektionskrankheiten zunehmend erschweren. Das Hauptziel unseres Projektes ist es, durch Entdeckung neuer Arzneiwirkstoffe mit neuartigen Wirkungsmechanismen zur Lösung dieses Problems beizutragen. Zu diesem Zweck bedienen wir uns der gewaltigen, bisher weitgehend unbekanntem Vielfalt der Mikroorganismen. In Proben aus Gebieten mit extremen Umweltbedingungen suchen wir nach Organismen, die biologisch aktive Substanzen produzieren.

Ein neues Antibiotikum gegen mehrfach resistente Bakterien

Ein in Indonesien isolierter Stamm von *B. subtilis* produziert mindestens zehn Substanzen mit mikrobenehmender Aktivität, darunter drei Makrolactine: Das bereits früher charakterisierte Makrolactin A, das 7-O-Succinyl-Makrolactin A und ein neues Derivat, das 7-O-Malonyl-Makrolactin A. Die C-7-substituierten Makrolactine zeigen eine stärkere mikrobenehmende Wirkung und geringere Toxizität für Säugerzellen als das Makrolactin A. Das neue 7-O-Malonyl-Makrolactin A besitzt eine hohe antibakterielle Aktivität gegen mehrfach resistente, grampositive Isolate, insbesondere gegen Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* und Vancomycin-resistente Enterokokken. Interessanterweise hemmt es auch langsam wachsende Varianten mit kleinen Kolonien (SCV) von *Burkholderia cepacia*, die aus Patienten mit Cystischer Fibrose isoliert wurden.

Neue Erkenntnisse über Arzneimittelwirkungen

7-O-Malonyl-Makrolactin A wirkt nicht bakterizid, aber stark bakteriostatisch. Außer der Hemmung des Bakterienwachstums hat es auch eine starke antibiotische Nachwirkung, ein Indiz dafür, dass es die behandelten Bakterien



● 7-O-Macrolactin A und seine Wirkung auf die Zellteilung.

schwer schädigt. Bei der transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung behandelter Methicillin-resistenter *S. aureus* und Vancomycin-resistenter *Enterococcus faecium* zeigten sich mehrere Ausgangspunkte für die Septumbildung und eine fehlende Trennung der Tochterzellen. Das erlaubt den Schluss, dass 7-O-Malonyl-Makrolactin A die Zellteilung hemmt. Bei behandelten SCV-Varianten von *B. cepacia* waren anormale Knospen an den Stellen der Zellteilung und eine kleinere, abgerundete Morphologie zu beobachten. Die Aufklärung der Wirkungsmechanismen von 7-O-Malonyl-Makrolactin A wird voraussichtlich neue Erkenntnisse über Medikamentenwirkungen und über neue Ansatzpunkte für die Therapie liefern.

Neues Screening Parallel dazu wurden neue Screening-Prozeduren etabliert. Das Ziel war die Identifizierung neuer sekundärer Stoffwechselprodukte, die entscheidende Schritte der Krankheitsentstehung hemmen können, beispielsweise die Anheftung der Bakterien und ihre Fähigkeit zur Bildung von Biofilmen. Substanzen, die dabei identifiziert wurden, sind derzeit Gegenstand genauerer Untersuchungen.





Programm „Bioverfahrenstechnik“

PROGRAMMSPRECHER | Dr. Holger Ziehr | Bereich Bioverfahrenstechnik | hzi@gbf.de

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER | Jörg Becker | Dr. Jochen Berlin | Christin Dangel | Andreas Düvel |

Dr. Sevim Duvar | Thomas Gäbel | Joachim Hammer | Dr. Volker Hecht | Dr. Helmut Hustedt |

Dr. Volker Jäger | Wolfgang Kessler | Stefan Kluger | Karl-Heinz Kroner | Reinhard Krützfeld |

Holger Leptien | Dr. Ulrich Menge | Dr. Bernd G. Müller | Jürgen Nothnagel | Ramón Nuppenau |

Dr. Neophytos Papamichael | Dr. Jens Ingwer Paulsen | Dr. Anton Roß | Matthias Patrick Weide

In den Jahren 2003 bis 2005 arbeitete der Bereich Bioverfahrenstechnik der GBF weiter als Technologiedienstleister für Klienten innerhalb und außerhalb der Helmholtz-Gemeinschaft. Die Dienstleistungen umfassten die Entwicklung und Umsetzung von Kultivierungsverfahren für Mikroorganismen und tierischen Zellen im technischen Maßstab. Zudem entwickelt der Arbeitsbereich im Anschluss Produktisolationsverfahren, mit denen Proteine, Nukleinsäuren/Plasmide, Antikörper und andere Biomoleküle aus Zellmasse und Überständen aufgereinigt werden können.

Zu diesem Zweck stehen an der GBF fünf biotechnische Pilotanlagen zur Verfügung, die eine Vielzahl von Bioreaktoren, Zentrifugen, Chromatographie- und Filterapparaten umfassen. Einige der Anlagen sind seit 1997 für die Produktion von GMP-Material nach dem Arzneimittelgesetz (AMG) zugelassen und wurden dementsprechend für die GMP-gerechte Herstellung von bisher ca. zehn neuen pharmazeutischen Wirkstoffen genutzt, die anschließend in klinische Prüfungen eingesetzt wurden.

Um den steigenden Anforderungen an Qualität und zunehmenden Bedarf an Kapazität gerecht zu werden, wurde 2003 eine neue GMP-Anlage in Betrieb genommen. Der Bereich Bioverfahrenstechnik wurde regelmäßig von der Gewerbeaufsicht der Bezirksregierung Braunschweig und dem Bundesamt für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) inspiziert. Die letzte Inspektion im Sommer 2004 war so erfolgreich, dass der GBF als erster deutschen Einrichtung eine allgemeine, nicht produkt-spezifische Herstellungserlaubnis erteilt wurde. Im Laufe des Jahres 2003 wurden ca. 250 Kultivierungen von Mikroorganismen und Säugerzellen durchgeführt, davon waren 30 % für externe Klienten. Von diesen wiederum kamen 15 aus Hochschulinstituten und 60 aus der Industrie.



- *Stefan Kluger bei der Kontrolle eines Fermenters.*

Foto: GBF, Bierstedt

Technologie-Plattformen

- Für die wissenschaftlichen Projekte der GBF wird eine Reihe von technologischen Plattformen zur Verfügung gestellt, die für die Durchführung der Forschungsaktivitäten essenziell sind. Darüber hinaus unterstützen diese Plattformen im Rahmen von nationalen und internationalen Forschungsprogrammen die Kooperationen der GBF mit anderen Helmholtz-Forschungszentren, Universitäten, außeruniversitären Forschungseinrichtungen und der Industrie. Die wichtigsten Plattformen sind im Folgenden näher beschrieben.



- *Dr. Stefan Matysiak (rechts), Dr. Norbert Zander (Mitte) und Andrea Abrahamik (links) während einer Diskussion zur Entwicklung von Schutzgruppen für die Peptid-Synthese.*

Foto: GBF, Bierstedt





01 Tierexperimentelle Einheit

LEITER | Dr. David Monner | Arbeitsgruppe Tierexperimentelle Einheit | dmo@gbf.de

WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | Dr. Werner Müller

Die zentrale Aufgabe der Arbeitsgruppe ist die Haltung und Bereitstellung von Versuchstieren – ausschließlich Mäusen – für die Wissenschaftler der GBF unter Beachtung geltender Tierschutzbestimmungen. Sämtliche Tiere werden unter modernsten Bedingungen in einzeln belüfteten Käfigen gehalten. Die Tierhaltung besteht aus einem zweckbestimmten Hauptgebäude für die Zucht der Mäuse unter spezifisch pathogenfreien (SPF) Bedingungen, einer Quarantänestation und einer Einheit für S2-Infektionsversuche unter SPF-Bedingungen. Die Arbeiten für die Erhaltungszuchten umfassen Rückkreuzungen und experimentelle Verpaarungen zur Generierung von neuen Mauslinien, Hygieneüberwachung, Stammsanierungen durch Embryotransfer, die Aufrechterhaltung von Kernzuchten und die Archivierung von Mauslinien durch Kryokonservierung von Embryonen. Eine weitere Aufgabe ist die Zucht und Bereitstellung von Spendertieren und Ammen für die Generierung neuer genetisch-modifizierter Mauslinien durch Blastozysteninjektion von ES-Zellen.



- Eine Tierpflegerin beim Umsetzen von Mäusen in neue Käfige.

Foto: GBF, Bierstedt

Serviceangebote Im Laufe des Jahres 2004 ist die Zahl der belegten Käfige im Tierhaus um 30% auf ca. 3 600 gestiegen. Über 150 verschiedene Mauslinien werden zur Zeit betreut. Neben der üblichen Versorgung und Umsetzung der Mäuse führen die Tierpfleger sämtliche Zuchten und experimentelle Verpaarungen durch. Sie betreuen ebenso die Datenbankführung und Serviceangebote wie Biopsien, Blutentnahmen, Immunisierungen und andere Applikationen. Die etablierten Techniken der Mikro-manipulation von Mausembryonen erstrecken sich von Stammsanierungen über Embryo-Kryokonservierung bis hin zur *in vitro*-Fertilisation. Im Jahr 2004 wurden 30 Linien archiviert. Das Ausbildungsprogramm für Tierpfleger und Tierpflegerinnen wurde weiter ausgebaut. Zur Zeit befinden sich fünf Personen in der Ausbildung, davon eine im dritten und somit letzten Jahr, sowie jeweils zwei im zweiten und im ersten Jahr der Ausbildung. Im Jahr 2005 sollen fünf neue Auszubildende aufgenommen werden.

Ausbau der Infektionsplattform Unter der Leitung der Arbeitsgruppe wurde im November 2003 eine zweckbestimmte Infektionstierhaltung der Sicherheitsstufe 2 in Betrieb genommen. Ende 2004 war bereits die überwiegende Anzahl dieser insgesamt 1 728 Käfige belegt. Die Arbeiten umfassen Hygieneüberwachung der Erhaltungszuchten sowie die Zucht und Bereitstellung von Mäusen und die Betreuung der Tiere im Versuch. Sämtliche Aktivitäten in der Einheit, inklusive von Infektionsversuchen, werden ausschließlich mit SPF-zertifizierten Mäusen unter Einhaltung entsprechender Hygienebedingungen durchgeführt.





02 Genexpressionsanalyse

LEITER | Dr. Robert Geffers | Arbeitsgruppe Mucosale Immunität | rog@gbf.de

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITERIN | Susanne Pfortner

Die Array Facility bietet als zentrale Serviceeinrichtung an der GBF Mikroarray-basierte Gen-Expressionsanalysen an. In Kombination mit modernen Hochdurchsatzverfahren liegt ein Schwerpunkt in der Automatisierung der Probenverarbeitung sowie in der Herstellung und Entwicklung selbst konfigurierbarer Mikroarrays. Damit können Messungen auf der Basis eines ausgewählten Genesatzes durchgeführt werden. Komplementär zu diesem selbstkonfigurierbaren Mikroarraysystem zur Expressionsanalyse werden standardisierte GeneChips der Firma Affymetrix eingesetzt. Der GeneChip Mikroarray ermöglicht die Genom-weite Expressionsanalyse von ca. 40 000 Genen auf einem Chip. Solche Chips sind verfügbar für einige Säugetierarten, aber auch für prokaryotische Pathogene wie z. B. *Pseudomonas aeruginosa* oder *E. coli*.

Services Wir bieten einen Expressionsanalyse-Service für Forschergruppen an der GBF sowie für deren Kooperationspartner an. Insgesamt 500 Expressionsanalysen wurden 2005 durchgeführt, davon allein 400 auf dem Affymetrix GeneChip-System. Die Hälfte dieser Analysen wurden von GBF-Forschergruppen angefordert. Etwa 100 Experimente wurden auf selbstkonfigurierbaren Mikroarrays vorgenommen, die auch als „Themenchips“ bezeichnet werden.

Bei der Entwicklung und Herstellung der Themenarrays beraten wir hinsichtlich der Auswahl geeigneter Chemikalien und Versandoptionen. Die Herstellung der Arrays wird unter Verwendung von Qualitätsstandards und optimierten Protokollen sichergestellt.

Zusätzlich zur Arrayherstellung und Probenverarbeitung bieten wir bei Bedarf Datenanalyse, Datenaufbewahrung und Dateninterpretation an. Standardisierte Ergebnisberichte wurden in über 80% der durchgeführten Experimente angefertigt.

Forschung... Im Rahmen zahlreicher interner und externer Kooperationen wurden Analysen in den Bereichen Tumorentwicklung und -typisierung, Pathogen-Wirt Interaktionen – EHEC, Listeria, Yersinia, Pseudomonaden und Mycobakterien – und Immunreaktionen durchgeführt. Ein Schwerpunkt bei der Betrachtung von Immunreaktionen war das Studium regulatorischer Mechanismen, die zu einer peripheren T-Zell-Toleranz führen. Forschergruppen an der GBF, dem Deutschen Rheuma-Forschungszentrum in Berlin und der MHH in Hannover interessierte eine besondere CD4⁺ T-Zellpopulation, die den Ausbruch



• Gerätschaften der „Array Facility“.

von Autoimmunerkrankungen, wie *Diabetes mellitus*, *Morbus Crohn* und rheumatoide Arthritis verhindert. Durch die Genexpressionsanalyse gelang es, Markergene zu identifizieren, die eine bessere Isolierung dieser „regulatorischen T-Zellen“ (Treg) ermöglicht. Untersuchungen in Mausmodellen für Autoimmunerkrankungen zeigten, dass Treg-Zellen die Ausbildung einer Autoimmunität verhindern können. Expressionsstudien an humanen regulatorischen T-Zelllinien in Verbindung mit bioinformatischen Ansätzen sollten zu einem besseren Verständnis der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen führen. Deshalb wurde zusammen mit dem Bioinformatikunternehmen BIOBASE, der MHH und der GBF ein Projekt initiiert, um regulatorische Netzwerke durch bioinformatische Methoden zu identifizieren. Basierend auf unserem derzeitigen Wissen über die spezifische Genexpression in regulatorischen T-Zellen, wurde ein neuer Microarray entwickelt. Dieser ermöglicht die intensive Genexpressionsanalyse mit dem Ziel, das spezifische Expressionsprofil höher aufzulösen und die Kosten zu senken.

... und Entwicklung Im Laufe der Entwicklung und Verbesserung selbst konfigurierbarer Mikroarrays wurden mit Forschergruppen der GBF drei Themenchips entwickelt. Weitere Arrayentwicklungen sind für 2005 geplant.



03 Instrumentelle Analytik

LEITER | Dr. Victor Wray | Arbeitsgruppe Biophysikalische Analytik | vwr@gbf.de

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER | Dr. Heinrich Lünsdorf | Dr. Manfred Nimtz | Dr. Manfred Rohde

Aufgabe der Instrumentellen Analytik ist es, die dreidimensionale Struktur aller Arten von Naturstoffen aufzuklären. Das umfasst Massenspektrometrie (MS), Kernresonanzspektroskopie (NMR), Röntgenstrukturanalyse, Proteinsequenzierung, Elektronenmikroskopie und konfokale Laser-Mikroskopie. Die vollständige Struktur der Mehrzahl kleinerer Naturstoffe wird durch eine Kombination von MS und NMR aufgeklärt. Routinemäßig wird die direkte Analyse großer intakter Biomoleküle wie Proteine, Oligonukleotide und komplexe Kohlenhydrate mit MALDI- und/oder ESI-MS angeboten. Ein wesentlicher Vorteil der Massenspektrometrie ist die Möglichkeit, auch kleinste Mengen komplexer Gemische bearbeiten zu können. Die Sekundär- und Tertiärstruktur von Peptiden und Proteinen in Lösung wird durch multidimensionale NMR-Spektroskopie untersucht. Voraussetzung ist allerdings ein mit stabilen Isotopen (^{15}N and ^{13}C) angereichertes Probenmaterial.

Ein weiterer Schwerpunkt auf dem makromolekularen Arbeitsgebiet stellt die massenspektrometrische Strukturauflösung von Glykoproteinen dar, insbesondere die Charakterisierung der ans Protein gebundenen Oligosaccharidketten mittels MALDI- und ESI-MS/MS-Techniken

und hydrolytischer Mikroderivatisierungsmethoden.

Große Anstrengungen wurden für eine Automatisierung von massenspektrometrischen Mikromethoden zur Identifizierung und Charakterisierung von Proteinen aus zweidimensionalen Gelen aufgewandt. Neben der klassischen Identifizierung anhand des tryptischen Peptid-Fingerprints wurden auch die automatische Aufnahme und Identifizierung von Proteingemischen mit HPLC ESI-MS/MS-Spektren etabliert.

Röntgenstrukturanalyse Der Schwerpunkt der Röntgenstrukturanalyse liegt auf der Strukturanalyse von Proteinen auf atomarer Ebene. Ein Pipettier-Roboter und eine moderne Röntgenquelle mit Drehanode und Flächendetektor stehen für Kristallisationsversuche und Datenaufnahme zur Verfügung. Zudem hat die Abteilung Strukturbioologie privilegierten Zugang zur Synchrotron-Strahlung am DESY in Hamburg und kann dort hochauflösende Daten aufnehmen und Phasenbestimmung mittels anomaler Dispersion durchführen.

Edman-Abbau N-terminale Proteinsequenzierung wird mittels automatischem Edman-Abbau durchgeführt. Anwendungen dieser Technik bestehen in der Sequenzaufklärung neuer Proteine, der Identifizierung von bekannten Proteinen durch Ansequenzieren als auch der Reinheitskontrolle rekombinanter Proteine. Sowohl gelöste als auch an PDF-Membran gebundene Proteine und Peptide können im niederen picomolaren Bereich analysiert werden.

FESEM-Techniken Durch Elektronenmikroskopie wird das Anheften und die Invasion einer großen Vielzahl von Pathogenen in Wirtszellen sichtbar gemacht. Spezielle Probenpräparationsprotokolle wurden entwickelt, die den Einsatz der Hochauflösungsfeldemissions-Raster-Elektronenmikroskopie (FESEM) für die Charakterisierung der verschiedenen Invasionswege von Pathogenen in Wirtszellen erlauben. Weiterhin wurden FESEM-Techniken entwickelt, um Pathogenitätsfaktoren durch an Antikörpergebundene kolloidale Goldpartikel sichtbar zu machen. Und zwar nicht nur auf der bakteriellen Zelloberfläche oder der Berührungsoberfläche zwischen bakterieller und Wirtszellmembran, sondern auch innerhalb der Wirtszelle.



- Feldemissionsrasterelektronenmikroskopische Darstellung des „cross-talk“ zwischen einem Serotyp M1 Streptococcus pyogenes (rot eingefärbt) und einer humanen Epithelzelle (HEp-2), der die Bildung von Membranausstülpungen, die zur Invasion der Streptokokken beitragen, zur Folge hat.



04 Peptid- und chemische Synthese

LEITER | Dr. Werner Tegge | Abteilung für Chemische Biologie | wte@gbf.de

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER | Dr. Ronald Frank | Dr. Michael Morr

Aufgabe der Plattform ist die Erzeugung synthetischer Peptide sowohl in löslicher Form als auch immobilisiert, in Form von Arrays. Außerdem werden spezielle, kommerziell nicht erhältliche Substanzen in enger Kooperation mit den Anwendern hergestellt. Für die Synthesen werden moderne Instrumente und Methoden eingesetzt. Lösliche Peptide werden routinemäßig durch HPLC und MALDI-Massenspektrometrie charakterisiert. Falls erforderlich werden weitere Charakterisierungen durch Aminosäureanalyse, Proteinsequenzierung, spezielle massenspektrometrische Verfahren und NMR in der Abteilung Strukturbiologie der GBF durchgeführt. In Abhängigkeit von der geplanten Verwendung und der benötigten Qualität der Produkte werden standardmäßige Reinigungen durch präparative HPLC durchgeführt. Für spezielle Fragestellungen bietet die Plattform darüber hinaus die folgenden Peptidmodifikationen an: Phosphorylierungen, Biotinylierungen, Fettsäurekonjugationen, verzweigte Peptide und Zyklisierungen.



- Peptid-Synthesizer für die automatische Parallelsynthese von bis zu 192 Peptiden.



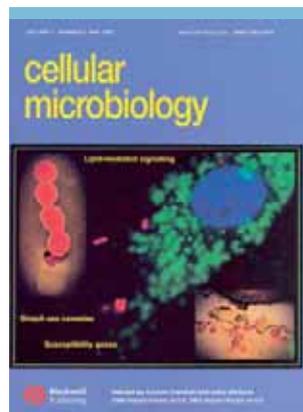
Spot-Arrays In der Plattform werden Peptid-Arrays für die systematische und empirische Suche nach Peptidliganden hergestellt. Für das erfolgreiche Design solcher Arrays ist eine gute Erfassung der biologischen Fragestellung essenziell, was durch eine enge Zusammenarbeit mit den Anwendern erreicht wird. Die SPOT-Arrays werden zur Zeit halbautomatisch auf speziellem Papier oder polymeren Trägern erzeugt. In der nächsten Zukunft wird die Herstellung vollautomatisch durch neu entwickelte Syntheseroboter erfolgen. Pro Jahr werden ca. 15 000 Peptide und Peptidmischungen im Arrayformat erzeugt und in Untersuchungen zu Protein-Protein Wechselwirkungen und Enzym-Substrat Erkennungsprozessen eingesetzt.

Chemische Synthese In einer 20-stufigen Synthese wurde Galactosylceramid synthetisiert und an ein synthetisches Peptid gekoppelt. Weiterhin wurden in komplexen Synthesen ein Makrophagen-aktivierendes Lipopeptid (MALP) und davon wiederum ein Polyethylenglycol-Derivat hergestellt. Diese Verbindungsklassen werden in der Arbeitsgruppe Impfstoffentwicklung der GBF zur Entwicklung mukosaler Impfstoffe eingesetzt. Außerdem wurden weitere spezielle Verbindungen hergestellt, z. B. Chinolon-Derivate, cyclo-Di-GMP und cyclo-Di-AMP und Benzamido-Adenin-Dinukleotid (BAD).

Veröffentlichungen 2003

Infektion und Immunität – 2003

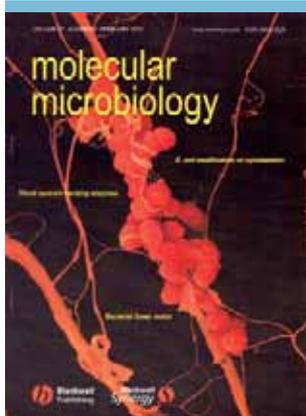
- Alter-Koltunoff, M.; Ehrlich, S.; Dror, N.; Azriel, A.; Eilers, M.; Hauser, H.; Bowen, H.; Barton, C.-H.; Tamura, T.; Ozato, K., and Levi, B.-Z. Nramp 1 mediated innate resistance to intraphagosomal pathogens is regulated by IRF-8, PU.1 and Miz-1. **Journal of Biological Chemistry**. 2003; **278**:44025-44032.
- Balling, R. Die Maus als Modellsystem für Säugetierentwicklung. In: *Lehrbuch der Genetik* (W. Seyffert, ed.) 2. Auflage Heidelberg – Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 2003; pp. 669-679.
- Balling, R. Maus. In: *Lehrbuch der Genetik* (W. Seyffert ed.) 2. Auflage Heidelberg – Berlin: Spektrum Adakemischer Verlag; 2003; pp. 1011-1025.
- Barthel, M.; Hapfelmeier, S.; Quintanilla-Martinez, L.; Kremer, L.; Rohde, M.; Hogardt, M.; Pfeffer, K.; Rüssmann, H., and Hardt, W.-D. Pretreatment of mice with streptomycin provides a Salmonella enterica serovar Typhimurium colitis model that allows analysis of both pathogen and host. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:2839-2858.
- Barthold, M.; Fargali, S.; Majore, I.; Zghoul, N.; Stahl, F.; Rohde, M.; Mayer, H., and Jäger, V. Proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on calcium phosphate scaffolds in fixex bed bioreactors. **Tissue Engineering**. 2003; **9**:848.
- Baumann, S.; Hess, J.; Eichhorst, S. T.; Krueger, A.; Angel, P.; Krammer, P. H., and Kirchhoff, S. An unexpected role for FosB in activation-induced cell death of T cells. **Oncogene**. 2003; **22**:1333-1339.
- Beer, C.; Buhr, P.; Hahn, H.; Laubner, D., and Wirth, M. Gene expression analysis of murine cells producing amphotropic mouse leukemia virus at a cultivation temperature of 32 and 37° C. **Journal of General Virology**. 2003; **84**:1677-1686.
- Beer, C.; Meyer, A.; Müller, K., and Wirth, M. The temperature stability of mouse retroviruses depends on the cholesterol levels of viral lipid shell and cellular plasma membrane. **Virology**. 2003; **308**:137-146.
- Bergmann, S.; Wild, D.; Diekmann, O.; Frank, R.; Bracht, D., and Hammerschmidt, S. Binding of human plasmin(ogen) to surface displayed -enolase is mediated via two binding sites in Eno of Streptococcus pneumoniae. **Molecular Microbiology**. 2003; **49**(2):411-423.
- Bilitewski, U.; Genrich, M.; Mersal, G., and Kadow, S. Biochemical analysis in microfluidic systems. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 2003; **377**(3):556-569.
- Bode, H. B.; Irschik, H.; Wenzel, S. C.; Reichenbach, H.; Müller, R., and Höfle, G. The leupyrrins: a structurally unique family of secondary metabolites from the Myxobacterium Sorangium cellulosum. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:1203-1206.
- Bode, H. B. and Müller, R. Possibility of bacterial recruitment of plant genes associated with the biosynthesis of secondary metabolites. **Plant Physiology**. 2003; **132**:1153-1161.
- Bode, H. B.; Zeggel, B.; Silakowski, B.; Wenzel, S. C.; Reichenbach, H., and Müller, R. Steroid biosynthesis in procaryotes: identification of myxobacterial steroids and cloning of the first bacterial 2,3(s)-oxidosqualen cyclase from the myxobacterium Stigmatella aurantiaca. **Molecular Microbiology**. 2003; **47**:471-481.
- Bode, J.; Goetze, S.; Heng, H.; Krawetz, S. A., and Benham, C. From DNA structure to gene expression: Mediators of nuclear compartmentalization and -dynamics. **Chromosome Research**. 2003; **11**(5):435-445.
- Bode, J.; Götz, S.; Ernst, E.; Hüsemann, Y.; Baer, A.; Seibler, J., and Mielke, C. Architecture and utilization of highly-expressed genomic sites. (Makrides, S., editor). In: *New Comprehensive Biochemistry 38 – Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells*: Elsevier; 2003; Chapter 20 pp. 551-572.
- Borsutzky, S.; Fiorelli, V.; Ebensen, T.; Tripiciano, A.; Rharbaoui, F.; Scoglio, A.; Link, C.; Nappi, E.; Morr, M.; Buttó, S.; Cafaro, A.; Mühlradt, P. F.; Ensoli, B., and Guzmán, C. A. Efficient mucosal delivery of the HIV-1 Tat protein using the synthetic lipopeptide MALP-2 as adjuvant. **European Journal of Immunology**. 2003; **33**:1548-1556.
- Breitbach, K.; Rottner, K.; Klocke, S.; Rohde, M.; Jenzora, A.; Wehland, J., and Steinmetz, I. Actin-based motility of Burkholderia pseudomallei involves the Arp2/3 complex, but not N-WASP and Ena/VASP proteins. **Cellular Microbiology**. 2003; **5**(6):385-393.
- Bruns, K.; Fossen, T.; Wray, V.; Henklein, P.; Tessmer, U., and Schubert, U. Structural characterization of the HIV-1 Vpr N-terminus: Evidence of cis/trans proline isomerism. **Journal of Biological Chemistry**. 2003; **278**:43188-43201.
- Buchrieser, C.; Rusniok, C.; Kunst, F.; Cossart, P.; Glaser, P.; The European Listeria Genome Consortium (GBF: H. Blöcker; P. Brandt; U. Kärst; G. Nordsiek, and J. Wehland). Comparison of the genome sequences of Listeria monocytogenes and Listeria innocua: clues for evolution and pathogenicity. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**. 2003; **35**:207-213.
- Budde, H.; Flohé, L.; Hecht, H.-J.; Hofmann, B.; Stehr, M.; Wissing, J., and Lünsdorf, H. Kinetics and redox-sensitive oligomerisation reveal negative cooperativity in trypanodioxin peroxidase of Trypanosoma brucei brucei. **Biological Chemistry**. 2003; **384**:619-633.
- Budde, H. Flohé L.; Hofmann, B., and Nimtz, M. Verification of the interaction of a trypanodioxin peroxidase with trypanodioxin by ESI-MS/MS. **Biological Chemistry**. 2003; **384**:1305-1309.
- Buer, J. and Balling, R. Mice, microbes and models of infection. **Nature Reviews Genetics**. 2003; **4**:195-205.
- Buttó, S.; Fiorelli, V.; Tripiciano, A.; Ruiz-Alvarez, M. J.; Scoglio, A.; Ensoli, F.; Ciccozzi, M.; Collacchi, B.; Sabbatucci, M.; Cafaro, A.; Guzmán, C. A.; Borsetti, A.; Caputo, A.; Vardas, E.; Colvin, M.; Lukwija, M.; Rezza, G.; Ensoli, B., and the Tat Multicentric Study Group. Sequence conservation and antibody cross-recognition of the Clade B HIV-1 Tat protein vaccine candidate in HIV-1-infected Italian, Ugandan and South African individuals. **Journal of Infectious Diseases**. 2003; **188**:1171-1180.



- Titelbild der Zeitschrift Cellular Microbiology, Vol. 5 (5), 2003 anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes Rohde, M.; Müller, E.; Chhatwal, G. S., and Talay, S. R. Host cell caveolae act as an entry-port for Group A streptococci. **Cellular Microbiology**. 2003; **5**:323-342. Mit freundlicher Genehmigung des Blackwell Publishing Verlags

- Clauss, M.; Pipp, F.; Issbrücker, K.; Weich, H.; Heil, M., and Schaper, W. Dissection of monocyte and endothelial activities by using VEGF-receptor specific ligands. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2003; **522**:75-82.
- Deckert, M.; Lutjen, S.; Leuker, C. E.; Kwok, L.-Y.; Strack, A.; Müller, W.; Wagner, N., and Schlüter, D. Mice with neonatally induced inactivation of the vascular cell adhesion molecule-1 fail to control the parasite in Toxoplasma encephalitis. **European Journal of Immunology**. 2003; **33**(5):1418-1428.
- Deiters, U.; Gumenschneider, M.; Galanos, C., and Mühlrad, P. F. TLR2/6-mediated stimulation by the lipopeptide MALP-2 induces LPS-cross tolerance in mice, resulting in protection from TNF- α but in only partial protection from lethal LPS doses. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:4456-4462.
- Dietrich, G.; Spreng, S.; Favre, D.; Viret, J.-F., and Guzmán, C. A. Delivery of cancer DNA vaccines by live attenuated bacteria. **Enhancer-Immunotherapy of Cancer**. 2003; **1**:16-18.
- Dietrich, G.; Spreng, S.; Favre, D.; Viret, J.-F., and Guzmán, C. A. Live attenuated bacteria as vectors to deliver plasmid DNA vaccines. **Current Opinion in Molecular Therapeutics**. 2003; **5**:10-19.
- Dietz-Pfeilstetter, A.; Arndt, N.; Kay, V., and Bode, J. Molecular structure and regulatory potential of a T-DNA integration site in petunia. **Transgenic Research**. 2003; **12**:83-99.
- Ding, H.; Griesel, C.; Nimtz, M.; Conradt, H. S.; Weich, H. A., and Jäger, V. Molecular cloning, expression, purification, and characterization of soluble full-length, human interleukin-3 with a baculovirus-insect cell expression system. **Protein Expression and Purification**. 2003; **31**:34-41.
- Dinkla, K.; Rohde, M.; Jansen, W. T. M.; Carapetis, J. R.; Chhatwal, G. S., and Talay, S. R. Streptococcus pyogenes recruits collagen via surface bound fibronectin: a novel colonisation and immune evasion mechanism. **Molecular Microbiology**. 2003; **47**:861-869.
- Dinkla, K.; Rohde, M.; Jansen, W. T. M.; Kaplan, E. L.; Chhatwal, G. S., and Talay, S. R. Rheumatic fever associated Streptococcus pyogenes isolates aggregate collagen. **Journal of Clinical Investigation**. 2003; **113**(12):1905-1912.
- Duvar, S.; Berlin, J.; Ziehr, H., and Conradt, H. S. Modulation of the glycosylation repertoire of recombinant human EPO expressing model cell lines under different culture conditions. In: Proceedings of the 18th ESACT-Meeting-Granada. Granada; 2003.
- Düber, S.; Engel, H.; Rolink, A.; Kretschmer, K., and Weiss, S. Germline transcripts of immunoglobulin light chain variable regions are structurally diverse and differentially expressed. **Molecular Immunology**. 2003; **40**(8):509-516.
- Ebensen, T.; Link, C., and Guzmán, C. A. Classical bacterial vaccines. (Kaufman, S. H. E., editor). In: Novel Vaccination Strategies. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2003; Chapter 11 pp. 221-242.
- Eberhardt, M. O.; Frank, R.; Kratje, R., and Etcheverrigaray, M. Identification of two potential receptor-binding sites for hGM-CSF. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. 2003; **20**:15-20.
- Erck, C.; McLeod, R., and Wehland, J. Cloning and genomic organisation of the TTL gene on mouse chromosome 2 and human chromosome 2q13. **Cytogenetic and Genome Research**. 2003; **101**:47-53.
- Eubel, H.; Jänsch, L., and Braun, H. P. New insights into the respiratory chain of plant mitochondria: supercomplexes and a unique composition of complex II. **Plant Physiology**. 2003; **133**(1):274-286.
- Fingerle-Rowson, G.; Petrenko, O.; Metz, C. N.; Forsthuber, T. G.; Mitchell, R.; Huss, R.; Moll, U.; Müller, W., and Bucala, R. The p53-dependent effects of macrophage migration inhibitory factor revealed by gene targeting. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**. 2003; **100**:9354-9359.
- Focke, M.; Gieringer, E.; Schwan, S.; Jänsch, L.; Binder, S., and Braun, H. P. Fatty acid biosynthesis in mitochondria of grasses: malonyl-CoA is integrated by a mitochondrial-localized acetyl-CoA carboxylase. **Plant Physiology**. 2003; **133**(2):875-884.
- Franke, D.; Lorbach, V.; Esser, S.; Dose, C.; Sprenger, G. A.; Halfar, M.; Thömmes, J.; Müller, R.; Takors, R., and Müller, M. (S,S)-2,3-Dihydroxy-2,3-dihydrobenzoic acid: Microbial access with engineered cells of Escherichia coli and applicability as starting material in natural-product synthesis. **Chemistry – A European Journal**. 2003; **9**:4188-4196.
- Franzke, A.; Piao, W.; Lauber, J.; Gatzlaff, P.; Könecke, C.; Hansen W.; Schmitt-Thomsen, A.; Herstenstein, B.; Buer, J., and Ganser, A. G-CSF as immune regulator in T-cells expressing the G-CSF receptor: implications for transplantation and autoimmune diseases. **Blood**. 2003; **102**:734-739.
- Gardan, R.; Cossart, P.; Labadie, J.; The European Listeria Genome Consortium (GBF: H. Blöcker; P. Brandt; U. Kärst; G. Nordsiek, and J. Wehland). Identification of Listeria monocytogenes genes involved in salt and alkaline-pH tolerance. **Applied and Environmental Microbiology**. 2003; **69**:3137-3143.
- Gardan, R.; Duché, O.; Leroy-Setrin, S.; Labadie, J.; The European Listeria Genome Consortium (GBF: H. Blöcker; P. Brandt; U. Kärst; G. Nordsiek, and J. Wehland). Role of ctc from Listeria monocytogenes in osmotolerance. **Applied and Environmental Microbiology**. 2003; **69**:154-161.
- Gerth, K.; Pradella, S.; Perlova, O.; Beyer, S., and Müller, R. Myxobacteria: Proficient producers of novel natural products with various biological activities past and future biotechnological aspects with the focus on the genus Sorangium. **Journal of Biotechnology**. 2003; **106**:233-253.
- Goldmann, O.; Chhatwal, G. S., and Medina, E. Immune mechanisms underlying host susceptibility to group A streptococcal infections. **Journal of Infectious Diseases**. 2003; **187**:854-861.
- Grenklo, S.; Geese, M.; Lindberg, U.; Wehland, J.; Karlsson, R., and Sechi, A. S. Critical role for profilin: actin in the intracellular motility of Listeria monocytogenes. **EMBO Reports**. 2003; **4**:1-7.
- Götze, S.; Gluch, A.; Benham, C., and Bode, J. Computational and in vitro analysis of destabilized DNA regions in the interferon gene cluster: the potential of predicting functional gene domains. **Biochemistry**. 2003; **42**:154-166.
- Götze, S.; Huesemann, Y.; Baer, A., and Bode, J. Functional characterization of transgene integration patterns by halo fluorescence in situ hybridization: electroporation versus retroviral infection. **Biochemistry**. 2003; **42**(23):7035-7043.
- Heesemann, J.; Heinz, D. W.; Rüssmann, H.; Wehland, J.; Goebel, W., and Kuhn, M. Lektionen aus der Bakterienwelt: Ausnutzung von Wirtszellprozessen durch pathogene Mikroben. **BioSpektrum**. 2003; **9**:486-489.
- Heilmann, C.; Thumm, G.; Chhatwal, G. S.; Hartleib, J.; Uekotter, A., and Peters, G. Identification and characterization of a novel autolysin (Aae) with adhesive properties from Staphylococcus epidermidis. **Microbiology-SGM**. 2003; **149**:2769-2778.
- Helloin, E.; Jänsch, L., and Phan-Thanh, L. Carbon starvation survival of Listeria monocytogenes in planktonic state and in biofilm: a proteomic study. **Proteomics**. 2003; **3**(10):2052-2064.
- Hollister, J.; Conradt, H. S., and Jarvis, D. L. Evidence for a sialic acid salvaging pathway in lepidopteran insect cells. **Glycobiology**. 2003; **13**(6):487-495.
- Häußler, S. Chronic infections by small colony variants of pathogenic bacteria. **Biomedical Progress**. 2003; **16**:47-51.
- Häußler, S. Morphologische Varianten bakterieller Erreger und chronische Infektionen. **Gelbe Hefte**. 2003; **42**:17-24.
- Häußler, S.; Lehmann, C.; Breselge, C.; Rohde, M.; Claßen, M.; Tümmler, B.; Vandamme, P., and Steinmetz, I. Fatal outcome of lung transplantation in cystic fibrosis due to serum resistant Burkholderia cepacia complex small colony variants. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. 2003; **22**:249-253.

- Häußler, S.; Rohde, M.; von Neuhoff, N.; Nimtz, M., and Steinmetz, I. Structural and functional cellular changes induced by *Burkholderia pseudomallei*. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:2970-2975.
- Häußler, S.; Ziegler, I.; Löttel, A.; Von Götz, F.; Rohde, M.; Wehmhöner, D.; Saravanamuthu, S.; Tümmler, B., and Steinmetz, I. Highly adherent small colony variants of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. **Journal of Medical Microbiology**. 2003; **52**:295-301.
- Häußler, S.; Ziesing, S.; Rademacher, G.; Hoy, L., and Weißbrodt, H. Evaluation of the MERLIN, micronaut system for automated antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia* species isolated from cystic fibrosis patients. **European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases**. 2003; **22**:496-500.
- Höfle, G.; Glaser, N.; Karama, U.; Leibold, T.; Sasse, F., and Steinmetz, H. Semisynthesis and degradation of the tubulin inhibitors epothilone and tubulysin. **Pure and Applied Chemistry**. 2003; **75**:167-178.
- Jansen, R.; Kunze, B.; Reichenbach, H., and Höfle, G. Chondrochloren A and B, new β -amino styrenes from *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria). **European Journal of Organic Chemistry**. 2003; 2684-2689.
- Jäger, V.; Barthold, M.; Fargali, S.; Majore, I.; Zghoul, N.; Stahl, F.; Rohde, M., and Mayer, H. 3-D cultivation and monitoring of bone precursor cells on calcium phosphate scaffolds in fixed bed bioreactors. **Artificial Organs**. 2003; **26**: 829.
- Karama, U. and Höfle, G. Synthesis of epothilone 16,17-alkyne analogs by replacement of the C13-C15(O)-ring segment of natural epothilone C. **European Journal of Organic Chemistry**. 2003; **(6)**:1042-1049.
- Kaverina, I.; Stradal, T. E. B., and Gimona, M. Prodomain formation in cultured A7r5 vascular smooth muscle cells requires Arp2/3-dependent de-novo actin polymerization at discrete microdomains. **Journal of Cell Science**. 2003; **116**:4915-4924.
- Kim, E.-J.; Sabra, W., and Zeng, A.-P. Iron deficiency leads to inhibition of oxygen transfer and enhanced formation of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* cultures. **Microbiology-SGM**. 2003; **149**:2627-2634.
- Kresse, A. U.; Dinesh, S. D.; Larbig, K., and Römling, U. Impact of large chromosomal inversions on the adaptation and evolution of *Pseudomonas aeruginosa* chronically colonizing cystic fibrosis lungs. **Molecular Microbiology**. 2003; **47(1)**:145-158.
- Kretschmer, K.; Jungebloud, A.; Stopkowicz, J.; Kleinke, T.; Hoffmann, R., and Weiss, S. The selection of marginal zone B cells differs from that of B-1a cells. **Journal of Immunology**. 2003; **171(12)**:6495-6501.
- Kretschmer, K.; Jungebloud, A.; Stopkowicz, J.; Stoermann, B.; Hoffmann, R., and Weiss, S. Antibody repertoire and gene expression profile: implications for different developmental and functional traits of splenic and peritoneal B-1 lymphocytes. **Journal of Immunology**. 2003; **171(3)**:1192-1201.
- Krumme, D.; Budde, H.; Hecht, H.-J.; Menge, U.; Ohlenschläger, O.; Roß, A.; Wissing, J.; Wray, V., and Flohé, L. NMR studies of the interaction of trypanothione with redox-inactive substrate homologs. **Biochemistry**. 2003; **42**:14720-14728.
- Kröger, A.; Dallügge, A.; Kirchhoff, S., and Hauser, H. IRF-1 reverts the transformed phenotype of oncogenically transformed cells in vitro and in vivo. **Oncogene**. 2003; **22(7)**:1045-1056.
- Kuhlmeier, D.; Rodda, E.; Kolarik, L. O.; Furlong, D. N., and Bilitewski, U. Application of atomic force microscopy and grating coupler for the characterization of biosensor surfaces. **Biosensors & Bioelectronics**. 2003; **18**:925-936.
- Kwissa, M.; Kröger, A.; Hauser, H.; Reimann, J., and Schirmbeck, R. Defining conditions for cytokine-facilitated priming of CD8⁺ T cell responses by DNA vaccination. **Journal of Molecular Medicine**. 2003; **81**:91-101.
- Köster, M.; Lykke-Andersen, S.; Elnakady, Y. A.; Gerth, K.; Washausen, P.; Höfle, G.; Sasse, F.; Kjems, J., and Hauser, H. *Raijadones* inhibit nuclear export by blocking DRM1/exportin 1. **Experimental Cell Research**. 2003; **286**:321-331.
- Lavrik, I.; Krueger, A.; Schmitz, I.; Baumann, S.; Weyd, H.; Krammer, P. H., and Kirchhoff, S. The active caspase-8 heterotetramer is formed at the CD95 DISC. **Cell Death and Differentiation**. 2003; **10**:144-145.
- Lindenmaier, W. Gentechnik und Schöpfungsglaube – Plädoyer für eine konkrete Diskussion. (Babke, H.-G., Fritsche A., editors). In: *Gerechtigkeit – ein globaler Wert*. München; 2003; pp. 163-177.
- Lipps, H. J.; Jenke, A. C. W.; Nehlsen, K.; Scintei, M.; Stehle, I. M., and Bode, J. Chromosome-based vectors for gene therapy. **Gene**. 2003; **304**:23-33.
- Lommel, S.; Benesch, S.; Rohde, M., and Wehland, J. Pedestal formation by pathogenic *E. coli*: A model system for studying signal transduction to the actin cytoskeleton. In: *Cell Biology, A laboratory handbook*. 3rd edition, 2003.
- Machens, H. G.; Jasmund, I.; Spanholtz, T.; Maichle, A.; Niedworok, C.; Lindenmaier, W.; Herbolt-Brand, S.; Görg, S.; Kropf, K.; Stöckelhuber, B. M.; Hellwig-Bürgel, T.; Krüger, S.; Reichert, B.; Siemers, F.; Krapohl, B. D., and Mailänder, P. A new model to induce angiogenesis by ex vivo transfected isogenic fibroblasts based on gene transfer. In: *Proceedings of the 2nd Congress for Reconstructive Microsurgery* (Germann, G., editor): Monduzzi Editore; 2003; pp. 213-216.
- Machens, H. G.; Salehi, J.; Weich, H.; Munch, S.; Siemers, S.; Krapohl, B. D.; Herter, K. H.; Krüger, S.; Reichert, B.; Berger, A.; Vogt, P., and Mailänder, P. Angiogenic effects of injected VEGF165 and sVEGFR.1 (sFLT-1) in a rat flap model. **Journal of Surgical Research**. 2003; **III**:136-142.
- Machens, H. G.; Spanholtz, T.; Maichle, A.; Niedworok, C.; Lindenmaier, W.; Herbolt-Brand, U.; Görg, G.; Kropf, K.; Stöckelhuber, B.; Reichert, B.; Siemers, F.; Krapohl, B. D., and Mailänder, P. Ein neues gentechnologisches Modell zur Angiogeneseinduktion mittels ex vivo transfizierter isogener Fibroblasten. In: *Chirurgisches Forum 2003 für experimentelle und klinische Forschung* (Haas, N. P. Neugebauer E. Bauer H., editors): Springer-Verlag; 2003; Vol. 32, pp. 237-240.
- Machner, M. P.; Frese, S.; Schubert, W.-D.; Orian-Rousseau, V.; Gherardi, E.; Wehland, J.; Niemann, H. H., and Heinz, D. W. Aromatic amino acids at the surface of In1B are essential for host cell invasion by *Lysteria monocytogenes*. **Molecular Microbiology**. 2003; **48**:1525-1536.
- Maiorino, M.; Bosello, V.; Ursini, F.; Foresta, C.; Garolla, A.; Scapin, M.; Sztajer, H., and Flohé, L. Genetic variations of gpx-4 and male infertility in humans. **Biology of Reproduction**. 2003; **68**:1134-1141.
- Majore, I.; Barthold, M.; Stahl, F.; Schulz, R.; Loose, S.; Mayer, H.; Fargali, S., and Jäger, V. Optimization of cell culture conditions and comparative analysis of the proliferation and differentiation of human osteoprogenitor cells by DNA microarray analysis and non-invasive methods. **International Journal of Artificial Organs**. 2003; **26**:869.
- Manitz, M. P.; Horst, B.; Seeliger, S.; Strey, A.; Skryabin, B. V.; Gunzer, M.; Frings, W.; Schonlau, F.; Roth, J.; Sorg, C., and Nacken, W. Loss of S100A9 (MRP14) results in reduced interleukin-8-induced CD11b surface expression, a polarized microfilament system, and diminished responsiveness to chemoattractants in vitro. **Molecular and Cell Biology**. 2003; **23(3)**:1034-1043.
- Mascher, T.; Zähler, D.; Merai, M.; Balmelle, N.; de Saizieu, A. B., and Hakenbeck, R. The *Streptococcus pneumoniae* *cia* regulon: *CiaR* target sites and transcription profile analysis. **Journal of Bacteriology**. 2003; **185(1)**:60-70.
- Mataraza, J. M.; Briggs, M. W.; Li, Z.; Frank, R., and Sacks, D. B. Identification and characterization of the Cdc42-binding site of IQGAP1. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 2003; **305**:315-321.



- Titelbild der Zeitschrift *Molecular Microbiology*, Vol. 47 (3), 2003 anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes Dinkla, K.; Rohde, M.; Jansen, W. T. M.; Carapetis, J. R.; Chhatwal, G. S., and Talay, S. R. Streptococcus pyogenes recruits collagen via surface bound fibronectin: a novel colonisation and immune evasion mechanism. **Molecular Microbiology**. 2003; **47**:861-869. Mit freundlicher Genehmigung des Blackwell Publishing Verlags.
- Matussek, A.; Lauber, J.; Bergau, A.; Hansen, W.; Rohde, M.; Dittmar, K. E. J.; Gunzer, M.; Mengel, M.; Gatzlaff, P.; Buer, J., and Gunzer, F. Molecular and functional analysis of Shiga toxin induced response patterns in human vascular endothelial cells. **Blood**. 2003; **102**(4):1323-1332.
- Matys, V.; Fricke, E.; Geffers, R.; Gößling, E.; Haubrock, M.; Hehl, R.; Hornischer, K.; Karas, D.; Kel, A. E.; Kel-Margoulis, E. V.; Kloos, D. U.; Land, S.; Lewicki-Potapov, B.; Michael, H.; Münch, R.; Reuter, I.; Rotert, S.; Saxel, H.; Scheer, M.; Thiele, S., and Wingender, E. TRANSFAC[®]: transcriptional regulation, from patterns to profiles. **Nucleic Acids Research**. 2003; **31**:374-378.
- McArthur, J. D.; West, N. P.; Cole, J. N.; Jungnitz, H.; Guzmán, C. A.; Chin, J.; Lehrbach, P. R.; Djordjevic, S. P., and Walker, M. J. An aromatic amino acid auxotrophic mutant of Bordetella bronchiseptica is attenuated and immunogenic in a mouse model of infection. **FEMS Microbiology Letters**. 2003; **221**:7-16.
- McKay, F. C.; McArthur, J. D.; Sanderson-Smit, M. L.; Gardam, S.; Currie, B. J.; Sriprakash, K. S.; Fagan, P. K.; Towers, R. J.; Batzloff, M. R.; Chhatwal, G. S.; Ranso, M., and Walker, M. J. Plasminogen binding by group A streptococcal isolates from tropical region with hyperendemic streptococcal skin infection and a high-incidence of invasive infection. **Infection and Immunity**. 2003; **72**:364-370.
- Medina, E.; Goldmann, O.; Toppel, A.; Rohde, M., and Chhatwal, G. S. Survival of Streptococcus pyogenes within host phagocytic cell: a pathogenic mechanism for persistence and systematic invasion. **Journal of Infectious Diseases**. 2003; **187**:597-603.
- Medina, E.; Rohde, M., and Chhatwal, G. S. Intracellular survival of Streptococcus pyogenes in polymorphonuclear cells results in increased bacterial virulence. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:5376-5380.
- Monciardini, P.; Cavaletti, L.; Schuhmann, P.; Rohde, M., and Donadio, S. Conexibacter woesei, gen. nov., sp. nov., a novel representative of a deep evolutionary line of descent within the class Actinobacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:569-576.
- Mothana, R. A. A.; Awadh Ali, N. A.; Jansen, R.; Wegner, U.; Mentel, R., and Lindequist, U. Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus Ganoderma pfeifferi. **Fitoterapia**. 2003; **74**(1-2):177-180.
- Mundt, S.; Kreitlow, S., and Jansen, R. Fatty acids with antibacterial activity from the cyanobacterium Oscillatoria redekei HUB 051. **Journal of Applied Phycology**. 2003; **15**(2):63-267.
- Müller, P. P.; Wirth, D.; Unsinger, U., and Hauser, H. Genetic approaches to recombinant protein production in mammalian cells. (Vinci, V. A. and Parekh, S. R., editors). In: *Handbook of Industrial Cell Culture: Mammalian, Microbial and Plant Cells: Humana Press*; 2003; pp. 21-50.
- Müthing, J.; Kemminer, S. E.; Conradt, H. S.; Sagi, D.; Nimtz, M.; Kärst, U., and Peter-Katalinic, J. Effects of buffering conditions and culture pH on production rates and glycosylation of clinical phase I anti-melanoma mouse IgG3 monoclonal antibody R24. **Biotechnology and Bioengineering**. 2003; **83**(5):321-334.
- Nakagawa, H.; Miki, H.; Nozumi, M.; Takenawa, T.; Miyamoto, S.; Wehland, J., and Small, J. V. IRSp53 is co-localised with WAVE2 at the tips of protruding lamellipodia and filopodia independently of Mena. **Journal of Cell Science**. 2003; **116**:2577-2583.
- Nedashkovskaya, O. I.; Kim, S. B.; Han, S. K.; Lysenko, A. M.; Rohde, M.; Zhukova, N. V.; Falsen, E.; Frolova, G. M.; Mikhailov, V. V., and Bae, K. S. Mesonia algae gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the family Flavobacteriaceae isolated from the green alga Acrosiphonia sonderi (Kütz) Kornm. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:1967-1971.
- Noguera-Obenza, M.; Ochoa, T. J.; Gomez, H. F.; Guerrero, M. L.; Herrera-Insua, I.; Morrow, A. L.; Ruiz-Palacios, G.; Pickering, L. K.; Guzmán, C. A., and Cleary, T. G. Human milk secretory antibodies against attaching and effacing Escherichia coli antigens. **Emerging Infectious Diseases (United States)**. 2003; **9**:545-551.
- Ochoa, T. J.; Noguera-Obenza, M.; Ebel, F.; Guzmán, C. A., Gomez, H. F. and Cleary T. G. Lactoferrin impairs Type III secretory system function in enteropathogenic Escherichia coli. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:5149-5155.
- Pancholi, V. and Chhatwal, G. S. Housekeeping enzymes as virulence factors for pathogens. **International Journal of Medicinal Microbiology**. 2003; **293**:1-11.
- Panthel, K.; Jechlinger, W.; Matis, A.; Rohde, M.; Szostak, M.; Lubitz, W., and Haas, R. Generation of Helicobacter pylori ghosts by PhiX protein E-mediated inactivation and their evaluation as vaccine candidates. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:109-116.
- Pulz, M.; Matussek, A.; Monazahian, M.; Tittel, A.; Nikolic, E.; Hartmann, M.; Bellin, T.; Buer, J., and Gunzer, F. Comparison of a shiga toxin enzyme-linked immunosorbent assay and two different types of PCR for detection of shiga toxin-producing Escherichia coli in human stool specimens. **Journal of Clinical Microbiology**. 2003; **41**(10):4671-4675.
- Ramnath, M.; Reehinger, K. B.; Jänsch, L.; Hastings, J. W.; Knochel, S., and Gravesen, A. The development of a Listeria monocytogenes EGDe proteome reference map and comparison with food isolates. **Applied and Environmental Microbiology**. 2003; **69**(6):3368-3376.
- Ranson, T.; Vosshenrich, C. A.; Corcuff, E.; Richard, O.; Müller, W., and Di Santo, J. P. IL-15 is essential mediator of peripheral NK cell homeostasis. **Blood**. 2003; **101**:4887-4893.
- Reinscheid, D. J.; Ehlert, K.; Chhatwal, G. S., and Eikmanns, B. J. Functional analysis of a Pcs-deficient mutant of group B streptococcus. **FEMS Microbiology Letters**. 2003; **221**:73-79.
- Retter, I.; Blöcker, H.; Hühne, R.; Scharfe, M.; Riblet, R., and Müller, W. Characterisation of the immunoglobulin heavy chain locus of the mouse. **Immunobiology**. 2003; **208**(1-3):103.
- Retter, I.; Hühne, R., and Müller, W. Automatic generation of a germ-line encoded immunoglobulin heavy chain variable gene database of the mouse. *Proceedings of the German Conference on Bioinformatics*; 2003; Vol. 2 pp. 70-72.
- Rodrigo, I.; Hill, R. E.; Balling, R.; Münsterberg, A., and Imai, K. Pax1 and Pax9 active Bapx1 to induce chondrogenic differentiation in the sclerotome. **Development**. 2003; **130**:473-482.

- Rohde, M.; Müller, E.; Chhatwal, G. S., and Talay, S. R. Host cell caveolae act as an entry-port for Group A streptococci. **Cellular Microbiology**. 2003; **5**:323-342.
- Rohde, M.; Püls, J.; Buhrdorf, R.; Fischer, W., and Haas, R. A novel sheathed surface organelle of the *Heliobacter pylori* cag type IV secretion system. **Molecular Biology**. 2003; **49**:219-234.
- Romanenko, L. A.; Schumann, P.; Zhukova, N. V.; Rohde, M.; Mikhailov, V. V., and Stackebrandt, E. *Oceanisphaera litoralis* gen. nov., sp. nov., a novel halophilic bacterium from marine bottom sediment. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:1885-1888.
- Romanenko, L. A.; Zhukova, N. V.; Rohde, M.; Lysenko, A. M.; Mikhailov, V. V., and Stackebrandt, E. *Glaciocola mesophila* sp. nov., a novel marine agar-digesting bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:647-651.
- Romanenko, L. A.; Zhukova, N. V.; Rohde, M.; Lysenko, A. M.; Mikhailov, V. V., and Stackebrandt, E. *Pseudoalteromonas agarivorans* sp. nov., a novel marine agarolytic bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:125-131.
- Rubio-Aliaga, I.; Frey, I.; Boll, B.; Gronjeberg, D. A.; Eichinger, H. M.; Balling, R., and Daniel, H. Targeted disruption of the peptide transporter *Pept2* gene in mice defines its physiological role in the kidney. **Molecular and Cellular Biology**. 2003; **23**(9):3247-3252.
- Römling, U.; Bokranz, W.; Rabsch, W.; Zogaj, X.; Nimtz, M., and Tschäpe, H. Occurrence and regulation of the multicellular morphotype in *Salmonella* serovars important in human disease. **International Journal of Medical Microbiology**. 2003; **293**:273-285.
- Samson, I.; Richard, O.; Tavian, M.; Ranson, T.; Vosshenrich, C. A. J.; Colucci, F.; Buer, J.; Grosveld, F.; Godin, I., and DiSanto, J. P. GAIA-3 promotes maturation, IFN- γ production and liver-specific homing of NK cells. **Immunity**. 2003; **19**:701-711.
- Sasse, F.; Leibold, T.; Kunze, B.; Höfle, G., and Reichenbach, H. Cyrmenins, new β -methoxyacrylate of the respiratory chain isolated from *Myxobacteria*. **Journal of Antibiotics**. 2003; **56**:827-831.
- Sasse, F.; Steinmetz, H.; Höfle, G., and Reichenbach, H. Archazolid A, new cytotoxic macrolactones from *Archangium* gephyra (*Myxobacteria*). **Journal of Antibiotics**. 2003; **56**(6):520-525.
- Satyanarayana, A.; Wiemann, S. U.; Buer, J.; Lauber, J.; Wüstefeld, T.; Blasco, M.; Manns, M. P., and Rudolph, K. L. Telomere shortening impairs organ regeneration by inhibition of cell cycle re-entry in a sub-population of cells with critical short telomeres. **EMBO Journal**. 2003; **22**:4003-4013.
- Scheele, U.; Alves, J.; Frank, R.; Duwel, M.; Kalthoff, C., and Ungewickell, E. J. Molecular and functional characterization of clathrin and AP-2 binding determinants within a disordered domain of auxilin. **Journal of Biological Chemistry**. 2003; **278**(28):25357-25368.
- Schmitz, I.; Krueger, A.; Baumann, S.; Schulze-Bergkamen, H.; Krammer, P. H., and Kirchhoff, S. An IL-2 dependent switch between CD95 signaling pathways sensitizes primary human T cells towards CD95-mediated activation-induced cell death. **Journal of Immunology**. 2003; **171**:2930-2936.
- Schomburg, L.; Schweizer, U.; Holtmann, B.; Flohé, L.; Sendtner, M., and Köhrle, J. Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. **Biochemical Journal**. 2003; **370**(2):397-402.
- Schrader, A. J.; Lauber, J.; Lechner, O.; Heidenreich, A.; Hofmann, R., and Buer, J. Application of real-time RT-PCR in urologic oncology. **Journal of Urology**. 2003; **169**:1858-1864.
- Schubert, W.-D. and Heinz, D. W. Details der Wechselwirkung zwischen Bakterium und Mensch. **Laborwelt**. 2003; **(1)**:16.
- Schubert, W.-D. and Heinz, D. W. Structural aspects of adhesion and invasion of host cells by the human pathogen *Listeria monocytogenes*. **ChemBioChem**. 2003; **4**:1285-1291.
- Schughart, K. and Accart, N. Use of adenovirus vectors for functional gene analysis in the chicken chorioallantoic membrane. **Biotechniques**. 2003; **34**:178-183.
- Schulze, K. and Guzmán, C. A. Identification of the domains of the fibronectin-binding protein I of *Streptococcus pyogenes* responsible for adjuvanticity. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**. 2003; **37**:173-177.
- Schulze, K.; Medina, E.; Chhatwal, G. S., and Guzmán, C. A. Identification of B- and T-cell epitopes within the fibronectin-binding domain of the SfbI protein of *Streptococcus pyogenes*. **Infection and Immunity**. 2003; **71**(12):7197-7201.
- Schulze, K.; Medina, E.; Chhatwal, G. S., and Guzmán, C. A. Stimulation of long-lasting protection against *Streptococcus pyogenes* after intranasal vaccination with non adjuvanted fibronectin-binding domain of the SfbI protein. **Vaccine**. 2003; **21**(17-18):1958-1964.
- Sechi, A. S. and Wehland, J. Molecular basis of *Listeria monocytogenes* host cell invasion and intracellular motility: Implications for understanding actin-based processes. **Recent Research Development Infection and Immunity**. 2003; **1**:261-276.

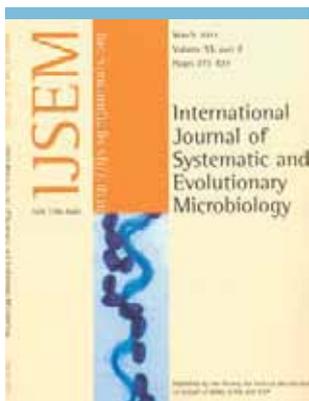


- Titelbild der Zeitschrift *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 111 (12), 2003, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes Dinkla, K.; Rohde, M.; Jansen, W. T. M.; Kaplan, E. L.; Chhatwal, G. S. und Talay, S. R. Rheumatic fever-associated *Streptococcus pyogenes* isolates aggregate collagen. **The Journal of Clinical Investigation**. 2003; **111**:1905-1912. Mit freundlicher Genehmigung des Blackwell Publishing Verlags.

- Sobrado, V. R.; Montemartini-Kalisz, M.; Kalisz, H.; De la Fuente, M. C.; Hecht, H.-J., and Nowicki, C. Involvement of conserved asparagine and arginine residues from the N-terminal region in the catalytic mechanism of rat liver. **Protein Science**. 2003; **12**:1039-1050.
- Spitzer, D.; Dittmar, K. E.; Rohde, M.; Hauser, H., and Wirth, D. Green fluorescent protein-tagged retroviral envelope protein for analysis of virus-cell interactions. **Journal of Virology**. 2003; **77**:6070-6075.
- Stock, M.; Schäfer, H.; Stricker, S.; Gross, G.; Mundlos, S., and Otto, F. Expression of galectin-3 in skeletal tissues is controlled by *Runtx2*. **Journal of Biological Chemistry**. 2003; **278**:17360-17367.
- Stoeger, T.; Proetzel, G. E.; Welzel, H.; Papadimitriou, A.; Dony, C.; Balling, R., and Hofmann, C. In situ gene expression analysis during BMP2-induced ectopic bone formation in mice shows simultaneous endochondral and intramembraneous ossification. **Growth Factors**. 2003; **20**:197-210.

- Stradal, T. B.; Sechi, A. S.; Wehland, J., and Rottner, K. The cytoskeleton. In: *Essential Cell Biology Vol. 1- Cell Structure: Practical Approach Series*: Oxford University Press; 2003.
 - Streetz, K.; Wüstefeld, T.; Klein, C.; Kallen, K. J.; Tronche, F.; Betz, U.; Schütz, G.; Manns, M. P.; Müller, W., and Trautwein, C. Lack of gp 130 expression in hepatocytes promotes liver injury. *Gastroenterology*. 2003; **125(2)**:532-543.
 - Streetz, K. L.; Tacke, F.; Leifeld, L.; Wüstefeld, T.; Graw, A.; Klein, C.; Kamino, K.; Spengler, U.; Kreipe, H.; Kubicka, S.; Müller, W.; Manns, M. P., and Trautwein, C. Interleukin 6/gp130-dependent pathways are protective during chronic liver diseases. *Hepatology*. 2003; **38**:218-229.
 - Söker, U.; Kunze, B.; Reichenbach, H., and Höfle, G. Dawenol, a new polyene metabolite from the myxobacterium *Stigmatella aurantiaca*. *Zeitschrift für Naturforschung B*. 2003; **58b**:1024-1026.
 - Toppel, A.; Rasmussen, M.; Rohde, M.; Medina, E., and Chhatwal, G. S. Contribution of protein G-related $\alpha 2$ -macroglobulin binding protein to bacterial virulence in a mouse skin model of group A streptococcal infection. *Journal of Infectious Diseases*. 2003; **187**:1694-1703.
 - Towers, R. J.; Fagan, P. K.; Talay, S. R.; Currie, B. J.; Sriprakash, K. S.; Walker, M. J., and Chhatwal, G. S. Evolution of *sfbl* encoding streptococcal fibronectinbinding protein I: horizontal genetic transfer and gene mosaic structure. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; **41**:5398-5406.
 - Van Trappen P.O.; Steele, D.; Lowe, D. G.; Baithun, S.; Beasley, N.; Thiele, W.; Weich, H. A.; Krishnan, J.; Shepherd, J. H.; Pepper, M. S.; Jackson, D. G., and Sleeman, J. P. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D, and their receptor VEGFR-3, during different stages of cervical carcinogenesis. *Journal of Pathology*. 2003; **201**:544-554.
 - Viret, J.-F.; Moser, C.; Rharbaoui, F.; Metcalfe, I. C., and Guzmán, C. A. Virosomal technology and mucosal adjuvants. (Kaufmann, S. H. E., ed.). *Novel Vaccination Strategies*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH; 2003; Chapter 10, pp. 197-217.
 - Voigt, J. and Frank, R. 14-3-3 proteins are constituents of the insoluble glycoprotein framework of the *Chlamydomonas* cell wall. *Plant Cell*. 2003; **15(6)**:1399-1413.
 - Voshenrich, C.; Cumano, A.; Müller, W.; Di Santo, J. P., and Vieira, P. Thymic stromal-derived lymphopoietin distinguishes fetal from adult B cell development. *Nature Immunology*. 2003; **4(8)**:773-779.
 - Walter, U.; Toepfer, T.; Dittmar, K. E. J.; Kretschmer, K.; Lauber, J.; Weiss, S.; Servos, G.; Lechner, O.; Scherbaum, W. A.; Bornstein, S. R.; von Boehmer, H., and Buer, J. Pancreatic NOD beta-cells express MHC class II protein and frequency of I-A(g7) mRNA expressing beta-cells strongly increase during progression to autoimmune diabetes. *Diabetologia*. 2003; **46(8)**:1106-1114.
 - Wehmhöner, D.; Häussler, S.; Tümmler, B.; Jänsch, L.; Wehland, J., and Steinmetz, I. Inter- and intracolon diversity of *Pseudomonas aeruginosa* proteome manifests within the secretome. *Journal of Bacteriology*. 2003; **185(19)**:5807-5814.
 - Weinbauer, M. G.; Brettar, I., and Höfle, M. G. Lysogeny and virus-induced mortality of bacterioplankton in surface, deep, and anoxic marine waters. *Limnology and Oceanography*. 2003; **48**:1457-1465.
 - Weinig, S.; Hecht, H.-J.; Mahmud, T., and Müller, R. Melithiazol biosynthesis: Further insights into myxobacterial PKS/NRPS systems and evidence for a new subclass of methyl transferase. *Chemistry and Biology*. 2003; **10**:939-952.
 - Weinig, S.; Mahmud, T., and Müller, R. Markerless mutations in the myxothiazol biosynthetic gene cluster: A delicate megasynthetase with a superfluous nonribosomal peptide synthetase domain. *Chemistry and Biology*. 2003; **10**:953-960.
 - Weiss, S. Transfer of eukaryotic expression plasmids to mammalian hosts by attenuated *Salmonella* spp. *International Journal of Medical Microbiology*. 2003; **293**:95-106.
 - Werhahn, W.; Jänsch, L., and Braun, H. P. Identification of novel subunits of the tom complex from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*. 2003; **41**:407-416.
 - Wieth, C.; Dittmar, K. E. J.; Doan, T.; Lindenmaier, W., and Tindle, R. Enhanced effector and memory CTL responses generated by incorporation of receptor activator of NF-kappaB (RANK)/RANK ligand costimulatory molecules into dendritic cell immunogens expressing a human tumor-specific antigen. *Journal of Immunology*. 2003; **171**:4121-4130.
 - Wieth, C.; Dittmar, K. E. J.; Doan, T.; Lindenmaier, W., and Tindle, R. Provision of 4-1bb ligand enhances effector and memory ctl responses generated by immunization with dendritic cells a human tumor-associated antigen. *Journal of Immunology*. 2003; **170**:2912-2922.
 - Wüstefeld, T.; Klein, C.; Streetz, K. L.; Betz, U.; Lauber, J.; Buer, J.; Manns, M. P.; Müller, W., and Trautwein, C. IL6/GP130-dependent pathways are protective during liver regeneration. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; **278**:11281-11288.
 - Zander, K.; Sherman, M. P.; Tessmer, U.; Bruns, K.; Wray, V.; Prechter, A. T.; Schubert, E.; Henklein, P.; Neidleman, J.; Greene, W. C. and Schubert U. Cyclophilin A interacts with HIV-1 Vpr and is required for its functional expression. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; **278**:43202-43213.
 - Zander, N.; Gerhardt, J., and Frank, R. Polystyrylsulfonyl-3-nitro-1H-1,2,4-triazolide-resin: a new solid-supported reagent for the esterification of amino acids. *Tetrahedron Letters*. 2003; **44(35)**:6557-6560.
 - Zeitz, U.; Weber, K.; Soegiarto, D. W.; Wolf, E.; Balling, R., and Erben, R. G. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *FASEB Journal*. 2003; **17**:509-511.
 - Zogaj, X.; Bokranz, W.; Nimtz, M., and Römling, U. Production of cellulose and curli fimbriae by members of the family Enterobacteriaceae isolated from the human gastrointestinal tract. *Infection and Immunity*. 2003; **71(7)**:4151-4158.
 - zur Lage, S.; Goethe, R.; Darji, A.; Valentin-Weigand, P., and Weiss, S. Activation of macrophages and interference with CD4+ T cell stimulation by *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis and *Mycobacterium avium* ssp. avium. *Immunology*. 2003; **108(1)**:62-69.
 - Zähler, D.; Kaminski, K.; van der Linden, L. M.; Mascher, T.; Merai, M., and Hakenbeck, R. The *ciaR/ciaH* regulatory system of *Streptococcus pneumoniae* is involved in beta-lactam resistance and genetic competence. In: *Regulatory Networks in Prokaryotes*. Norfolk (Dürre, P. and Friedrich, B. eds.); Horizon Press; 2003; pp. 41-46.
- ### Vergleichende Genomforschung – 2003
- Bi, J.-X.; Buhr, P.; Zeng, A. P., and Wirth, M. The human *c-fos* promoter mediates high-level, inducible expression in various mammalian cell lines. *Biotechnology and Bioengineering*. 2003; **81**:848-854.
 - Bialek, K.; Swistowski, A., and Frank, R. Epitope-targeted proteome analysis: Towards a large-scale automated protein-protein-interaction mapping utilizing synthetic peptide arrays. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2003; **376(7)**:1006-1013.
 - Black, G. F.; Weir, R. E.; Chaguluka, S. D.; Warndorff, D.; Crampin, A. C.; Mwaungulu, L.; Sichali, L.; Floyd, S.; Bliss, L.; Jarman, E.; Donovan, L.; Andersen, P.; Britton, W.; Hewinson, G.; Huygen, K.; Paulsen, J.; Singh, M.; Prestidge, R.; Fine, P. E., and Dockrell, H. M. Gamma interferon responses induced by a panel of recombinant and purified mycobacterial antigens in healthy, non-mycobacterium bovis BCG-vaccinated Malawian young adults. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2003; **10(4)**:602-611.
 - Buchrieser, C.; Rusniok, C.; Kunst, F.; Cossart, P.; Glaser, P.; The European Listeria Genome Consortium (GBF: H. Blöcker; P. Brandt; U. Käst; G. Nordisiek, and J. Wehland). Comparison of the genome sequences of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*: clues for evolution and pathogenicity. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003; **35**:207-213.

- Eichler, J. *Kombinatorische Chemie. Konzepte und Strategien.* Teubner Studienbücher Chemie. Stuttgart: Teubner, B. G.; 2003.
 - Eichler, J.; Hirsch, T., and Overwin, H. Synthetic mimicry of conformationally defined protein binding sites: hYAP-WW domain. (Benedetti, E. and Cedone, C., editors). In: *Peptides 2002.* Napoli, Italy; 2003; pp. 740-741.
 - Franke, R.; Doll, C.; Wray, V., and Eichler, J. Solid-phase synthesis of structurally diverse scaffolded peptides for the mimicry of discontinuous protein binding sites. *Protein and Peptide Letters.* 2003; **10(6)**:531-539.
 - Gardan, R.; Cossart, P.; Labadie, J.; The European Listeria Genome Consortium (GBF: H. Blöcker; P. Brandt; U. Kärst; G. Nordsiek, and J. Wehland). Identification of Listeria monocytogenes genes involved in salt and alkaline-pH tolerance. *Applied and Environmental Microbiology.* 2003; **69**:3137-3143.
 - Gardan, R.; Duché, O.; Leroy-Setrin, S.; Labadie, J.; The European Listeria Genome Consortium (GBF: H. Blöcker; P. Brandt; U. Kärst; G. Nordsiek, and J. Wehland). Role of *ctc* from Listeria monocytogenes in osmotolerance. *Applied and Environmental Microbiology.* 2003; **69**:154-161.
 - Kauer, G. and Blöcker, H. Applying signal theory to the analysis of biomolecules. *Bioinformatics.* 2003; **19**:2016-2021.
 - Krull, M.; Voss, N.; Choi, C.; Pistor, S.; Potapov, A., and Wingender, E. TRANSPATH[®]: an integrated database on signal transduction and a tool for array analysis. *Nucleic Acids Research.* 2003; **31**:97-100.
 - Kuper, J.; Winking, J.; Hecht, H.-J.; Mendel, R. R., and Schwarz, G. The active site of molybdenum cofactor biosynthetic protein domain Cnx 1. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2003; **411**:36-46.
 - Kämpfer, S.; Dalley, D.; Hewinson, R. G.; Chambers, M. A., and Singh, M. Multi-antigen ELISA for enhanced diagnosis of tuberculosis in badgers. *Veterinary Record.* 2003; **153**:403-404.
 - Layer, G.; Moser, J.; Heinz, D. W.; Jahn, D., and Schubert, W.-D. Crystal structure of coproporphyrinogen III oxidase reveals cofactor geometry of radical SAM enzymes. *EMBO Journal.* 2003; **22**:6214-6224.
 - Ma, H. and Zeng, A. P. The connectivity structure, giant strong component and centrality of metabolic networks. *Bioinformatics.* 2003; **19**:1423-1430.
 - Ma, H. and Zeng, A.-P. Reconstruction of metabolic networks from genome data and analysis of their global structure for various organisms. *Bioinformatics.* 2003; **19**:270-277.
 - Marcus, K.; Hultschig, C.; Frank, R.; Herberg, F. W.; Schuchhardt, J., and Seitz, H. Innovative Forschungsansätze im NGFN Verbund "The Human Brain Proteome Projekt HBPP". *GenomXpress.* 2003; **4**:5-8.
 - Matys, V.; Fricke, E.; Geffers, R.; Gößling, E.; Haubrock, M.; Hehl, R.; Hornischer, K.; Karas, D.; Kel, A. E.; Kel-Margoulis, E. V.; Kloos, D. U.; Land, S.; Lewicki-Potapov, B.; Michael, H.; Münch, R.; Reuter, I.; Rotert, S.; Saxel, H.; Scheer, M.; Thiele, S., and Wingender, E. TRANSFAC[®]: transcriptional regulation, from patterns to profiles. *Nucleic Acids Research.* 2003; **31**:374-378.
 - Moser, J.; Frere, F.; Heinz, D. W.; Jahn, D., and Schubert, W.-D. Die tRNA-abhängige Tetrapyrrol-Biosynthese. *BioSpektrum.* 2003; **(9)**:133-137.
 - Münch, R.; Hiller, K.; Barg, H.; Heldt, D.; Linz, S.; Wingender, E., and Jahn, D. PRODORIC: prokaryotic database of gene regulation. *Nucleic Acids Research.* 2003; **31**:266-269.
 - Qiao, J.-J.; Yuan, Y.-J.; Zhaol, H.; Wu, J.-C., and Zeng, A.-P. Apoptotic cell death in suspension cultures of *Taxus cuspidata* co-treated with silylicic acid and hydrogen peroxide. *Biotechnology Letters.* 2003; **25**:387-390.
 - Retter, I.; Blöcker, H.; Hühne, R.; Scharfe, M.; Riblet, R., and Müller, W. Characterisation of the immunoglobulin heavy chain locus of the mouse. *Immunobiology.* 2003; **208(1-3)**:103.
 - Rodriguez, A.; Troye-Blomberg, M.; Lindroth, K.; Ivanyi, J.; Singh, M., and Fernandez, C. B- and C-cell responses to the mycobacterium surface antigen PstS-1 in the respiratory tract and adjacent tissues. Role of adjuvants and routes of immunization. *Vaccine.* 2003; **21**:458-467.
 - Sabra, W.; Lünsdorf, H., and Zeng, A.-P. Alterations in the formation of lipopolysaccharide and membrane vesicle on the surface of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 under oxidative stress conditions. *Microbiology-SGM.* 2003; **149**:2789-2795.
 - Shelest, E.; Kel, A. E.; Gößling, E., and Wingender, E. Prediction of potential C/EBP/NF-kappaB composite elements using the matrix-based search methods. *In Silico Biology.* 2003; **3(1-2)**:71-79.
 - Sun, J.; van den Heuvel, J.; Soucaille, P.; Qu, Y., and Zeng, A. P. Comparative genomic analysis of *dha* regulon and related genes for anaerobic glycerol metabolism in microorganisms. *Biotechnology Progress.* 2003; **19**:263-272.
 - Wang, W.; Sun, J.; Hartlep, M.; Deckwer, W.-D., and Zeng, A.-P. Combined use of proteomics analysis and enzyme activity assay for metabolic pathway analysis of glycerol fermentation by *Klebsiella pneumoniae*. *Biotechnology and Bioengineering.* 2003; **83**:525-536.
 - Wang, W.; Sun, J.; Nimtz, M.; Zeng, A.-P., and Deckwer, W.-D. Protein identification from 2-dimensional gel electrophoresis analysis of *Klebsiella pneumoniae* by combined use of mass spectrometry data and unannotated genome sequences. *Proteome Science.* 2003; **1**:6.
 - Zander, N.; Gerhardt, J., and Frank, R. Polystyrylsulfonyl-3-nitro-1H-1,2,4-triazolide-resin: a new solid-supported reagent for the esterification of amino acids. *Tetrahedron Letters.* 2003; **44(35)**:6557-6560.
- ### Nachhaltige Nutzung von Landschaften – 2003
- Abraham, W.-R. and Hesse, C. Isotope fractionations in the biosynthesis of cell compounds by different fungi: A basis for environmental carbon flux studies. *FEMS Microbiology Ecology.* 2003; **46**:121-128.
 - Abraham, W.-R.; Lünsdorf, H.; Strömpl, C.; Nogales, B.; Moore, E. R. B., and Timmis, K. N. Microbial communities in composite biofilms participating in the degradation of PCB. *Water, Air and Soil Pollution: Focus.* 2003; **3(3)**:57-64.
 - Abraham, W.-R. and Wenderoth, D. F. Schicksal fakultativ pathogener Mikroorganismen während und nach dem Sommerhochwasser an Elbe und Mulde. (Geller, W.; Ockenfeld K.; Böhme M.; Voigt M.; editors). In: *Schadstoffbelastung im Mulde- und Elbeeinzugsgebiet nach dem Augusthochwasser 2002.* Magdeburg; 2003; pp. 6-9.
 - Allgaier, M.; Uphoff, H.; Felske, A., and Wagner-Döbler, I. Aerobic anoxygenic photosynthesis in *Roseobacter* clade bacteria from diverse marine habitats. *Applied and Environmental Microbiology.* 2003; **69(9)**:5051-5059.
 - Barreiros, L.; Nogales, B.; Manaia, C. M.; Ferreira, A. C. S.; Pieper, D. H.; Reis, A. M., and Nunes, O. C. A novel pathway for mineralization of the thiocarbamate herbicide molinate by a defined bacterial consortium. *Environmental Microbiology.* 2003; **5**:944-953.
 - Bertini, I.; Provenzani, A.; Viezzoli, M. S.; Pieper, D. H., and Timmis, K. N. NMR spectroscopy as a tool to investigate the degradation of aromatic compounds by a *Pseudomonas putida* strain. *Magnetic Resonance Chemistry.* 2003; **41**:615-621.
 - Brettar, I.; Christen, R., and Höfle, M. G. *Idiomarina baltica*, sp. nov. a marine bacterium with high temperature optimum isolated from surface water of the Central Baltic Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2003; **53**:407-413.
 - Brümmer, I. H. M.; Felske, A., and Wagner-Döbler, I. Diversity and seasonal variability of β -Proteobacteria in biofilms of polluted rivers analyzed by TGGE and cloning. *Applied and Environmental Microbiology.* 2003; **69(8)**:4463-4473.



- Titelbild der Zeitschrift *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 53, 2003, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Monciardini, P.; Cavaletti, L.; Schumann, P.; Rohde, M. und Donadio, S. *Conexibacter woesei* gen. nov., spec. nov. A novel representative of a deep evolutionary line of descent within the class Actinobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003; **53**: 569-576. Mit freundlicher Genehmigung der Society for General Microbiology (SGM).
- Budde, H.; Flohé, L.; Hecht, H.-J.; Hofmann, B.; Stehr, M.; Wissing, J., and Lünsdorf, H. Kinetics and redox-sensitive oligomerisation reveal negative subunit cooperativity in trypanedoxin peroxidase of *Trypanosoma brucei brucei*. *Biological Chemistry*. 2003; **384**:619-633.
- Demnerova, K.; Stiborova, H.; Leigh, M. B.; Pieper, D. H.; Pazlarova, J.; Brenner, V., and Macek, T. Bacteria degrading PCBs and CBs isolated from long-term PCB contaminated soil. *Water, Air and Soil Pollution: Focus*. 2003; **3**(3):47-55.
- Felske, A.; Fehr, W.; Pauling, B. V.; von Canstein, H., and Wagner-Döbler, I. Functional profiling of mercuric reductase (mer A) genes in biofilm communities of a technical scale biocatalyzer. *BMC Microbiology*. 2003; **3**:22.
- Felske, A.; Vandieken, V.; Pauling, B. V.; von Canstein, H. F., and Wagner-Döbler, I. Molecular quantification of genes encoding for green fluorescent proteins. *Journal of Microbiological Methods*. 2003; **52**:297-304.
- Felske, A.; Heyrman, J.; Balcaen, A., and De Vos, P. Multiplex PCR screening of soil isolates for novel *Bacillus*-related lineages. *Journal of Microbiological Methods*. 2003; **53**(2):447-458.
- Ferrer, M.; Chernikova, T. N.; Yakimov, M. M.; Golyshin, P. N., and Timmis, K. N. Chaperonins govern growth of *Escherichia coli* at low temperatures. *Nature Biotechnology*. 2003; **21**:1266-1267.
- Ferrer, M.; Golyshin, P., and Timmis, K. N. Novel maltotriose esters enhance biodegradation of Arochlor 1242 by *Burkholderia cepacia* LB400. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2003; **19**:637-643.
- Flohé, L.; Jaeger, T.; Pilawa, S., and Sztajer, H. Thiol-dependent peroxidases care little about homology-based assignments of function. *Redox Report*. 2003; **8**(5):1-10.
- Fry, J. C.; Giuliano, L., and Golyshin, P. N. New tools for elucidating the ecology of micro-organisms in aquatic environments. *FEMS Microbiology and Ecology*. 2003; **46**:231.
- Golyshin, P. N.; Martins Dos Santos, V. A. P.; Kaiser, O.; Ferrer, M.; Sabirova, Y. S.; Lünsdorf, H. Chernikova T. N.; Golyshina, O. V.; Yakimov, M. M.; Pühler, A., and Timmis, K. N. Genome sequence completed of *Alcanivorax borkumensis*, a hydrocarbon-degrading bacterium that plays a global role in oil removal from marine systems. *Journal of Biotechnology*. 2003; **106**:215-220.
- Hahn, M. W.; Lünsdorf, H.; Wu, Q.; Schauer, M.; Höfle, M. G.; Boenigk, J., and Stadler, P. Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *Applied and Environmental Microbiology*. 2003; **69**:1442-1451.
- Hallsworth, J. E.; Heim, S., and Timmis, K. N. Chaotropic solutes cause water stress in *Pseudomonas putida*. *Environmental Microbiology*. 2003; **5**:1270-1280.
- Heil, M.; Mittnacht-Krauss, R.; Issbrücker, K.; van den Heuvel, J.; Dehio, C.; Schaper, W.; Clauss, M., and Weich, H. A. An engineered heparin-binding form of VEGF-E: biological effects in vitro and mobilisation of precursor cells. *Angiogenesis*. 2003; **6**(3):201-211.
- Heim, S.; Ferrer, M.; Heuer, H.; Regenhardt, D.; Nimtz, M., and Timmis, K. Proteome reference map of *Pseudomonas putida* strain KT2440 for gene profiling analysis: comparative whole genome analysis of iron deprivation in KT2440 and *P. aeruginosa* strain PAO1. *Environmental Microbiology*. 2003; **5**:1257-1269.
- Junca H. and Pieper, D. H. Amplified functional DNA restriction analysis to determine catechol 2,3-dioxygenase gene diversity in soil bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. 2003; **55**:697-708.
- Kahl, S. and Hofer, B. A genetic system for the rapid isolation of aromatic-ring-hydroxylating dioxygenase activities. *Microbiology-SGM*. 2003; **149**:1475-1481.
- Kämpfer, P.; Dreyer, U.; Neef, A.; Dott, W., and Busse, H.-J. *Chryseobacterium defluvii* sp. nov., isolated from wastewater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003; **53**:93-97.
- Labrenz, M.; Lawson, P. A.; Tindall, B. J.; Collins, M. D., and Hirsch, P. *Saccharospirillum impatiens* gen. nov., sp. nov., a novel gamma-Proteobacterium isolated from hypersaline Ekho Lake (East Antarctica). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003; **53**:653-660.
- Lucas, F.; Bertru, G., and Höfle, M. G. Characterization of free-living and attached bacteria in sediments colonized by *Hediste* (Nereis) diversicolor. *Aquatic Microbial Ecology*. 2003; **32**:165-174.
- Maiorino, M.; Bosello, V.; Ursini, F.; Foresta, C.; Garolla, A.; Scapin, M.; Sztajer, H., and Flohé, L. Genetic variations of gpx-4 and male infertility in humans. *Biology of Reproduction*. 2003; **68**:1134-1141.
- Mauclair, L.; Thullner, M.; Pelz, O.; Abraham, W.-R., and Zeyer, J. Assimilation of toluene carbon along a bacteria-protist food chain determined by ¹³C-enrichment of biomarker fatty acids. *Journal of Microbiological Methods*. 2003; **55**:635-649.
- McKay, D.; Prucha, W.; Reineke, K.; Timmis, K. N., and Pieper, D. H. Substrate specificity and expression of three 2,3-dihydroxybiphenyl 1,2-dioxygenases from *Rhodococcus globerulus* strain P6. *Journal of Bacteriology*. 2003; **185**:2944-2951.
- Neef, A.; Schäfer, R.; Beimfroh, C., and Kämpfer, P. Fluorescence based rRNA sensors for whole cells of *Saccharomonospora* spp. and *Thermoactinomyces* spp. *Biosensors and Bioelectronics*. 2003; **18**:565-569.
- Nikodem, P.; Hecht, V.; Schlömann, M., and Pieper, D. H. A new bacterial pathway for 4- and 5-chlorosalicylate degradation via 4-chlorocatechol and maleylacetate in *Pseudomonas* sp. strain MT1. *Journal of Bacteriology*. 2003; **185**:6790-6800.

- Perez-Pantoja, D. T.; Ledger, D.; Pieper, D., and Gonzalez, B. Efficient turnover of chlorocatechols is essential for growth of *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4) in 3-chlorobenzoic acid. **Journal of Bacteriology**. 2003; **185**:1534-1542.
 - Pollmann, K.; Wray, V.; Hecht, H.-J., and Pieper, D. H. Rational engineering of the regioselectivity of TecA tetrachlorobenzene dioxygenase for the transformation of chlorinated toluenes. **Microbiology-SGM**. 2003; **149**:903-913.
 - Rapp, P. and Gabriel-Jürgens, L. H. E. Degradation of alkanes, highly chlorinated benzenes and production of biosurfactants by a psychotrophic *Rhodococcus* sp. Genetic characterization of its chlorobenzene dioxygenase. **Microbiology-SGM**. 2003; **149**:2879-2890.
 - Römmling, U.; Bokranz, W.; Gerstel, U.; Lünsdorf, H.; Nimtz, M.; Rabsch, W.; Tschäpe, H., and Zogaj, X. Dissection of the genetic pathway leading to multicellular behaviour in *Salmonella enterica* serotype typhimurium and other Enterobacteriaceae. In: *Medical Implications of Biofilms* (Wilson, M.; Devine D., eds.). Cambridge: Cambridge University Press; 2003; pp. 231-261.
 - Schmeisser, C.; Stöckigt, C.; Raasch, C.; Wingender, J.; Timmis, K. N.; Wenderoth, D. F.; Jaeger, K.-E.; Flemming, H.-C.; Liesegang, H.; Henne, A., and Streit, W. R. A metagenome survey of biofilms grown on rubber-coated valves in drinking water networks. **Applied and Environmental Microbiology**. 2003; **69**:7298-7309.
 - Simankova, M. V.; Kotsyurbenko, O. R.; Lueders, T.; Nozhevnikova, A. N.; Wagner, B.; Conrad, R., and Friedrich, M. W. Isolation and characterization of new strains of methanogens from cold terrestrial habitats. **Systematic and Applied Microbiology**. 2003; **26(2)**:312-318.
 - Strömpl, C.; Hold, G. N.; Lünsdorf, H.; Graham, J.; Gallacher, S.; Abraham, W.-R.; Moore, E. R. B., and Timmis, K. N. *Oceanicaulis alexandrii* gen. nov., sp. nov., a novel stalked bacterium isolated from a culture of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:1901-1906.
 - Timmis, K. N. Forensische Methoden für die Nach-Koch'sche Ära. **Forschung und Diagnostik**. 2003; **1**:49.
 - Torres, K. N.; Jaenecke, S.; Timmis, K. N.; Garcia, J., and Diaz, E. A dual lethal system to enhance predictability of recombinant microorganisms. **Microbiology-SGM**. 2003; **149**:3595-3601.
 - Veluri, R.; Oka, I.; Wagner-Döbler, I., and Laatsch, H. New indole alkaloids from the North Sea bacterium *Vibrio parahaemolyticus* Bio 249. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:1520-1523.
 - Von Canstein, H. F.; Li, Y.; Leonhäuser, J.; Deckwer, W.-D., and Wagner-Döbler, I. Bioremediation of mercury-polluted industrial wastewater by mercury-reducing biofilms. **Recent Research Developments in Biotechnology and Bioengineering**. 2003; **5**:147-171.
 - Von Canstein, H. F.; Li, Y.; Leonhäuser, J.; Deckwer, W.-D., and Wagner-Döbler, I. Mikrobielle Reinigung von quecksilberhaltigen Industrieabwässern. **BioSpektrum**. 2003; **(2/3)**:150-152.
 - Wagner-Döbler, I. Microbial inoculants – snake oil or panacea. (Singleton, M. G.; Milner I. M., eds.) *Bioremediation – A Critical Review*: Horizon Press; 2003; pp. 259-289.
 - Wagner-Döbler, I. Minireview: Pilot plant for bioremediation of mercury contaminated industrial waste water. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 2003; **62**:124-133.
 - Wagner-Döbler, I.; Rheims, H.; Felske, A.; Pukall, R., and Tindall, B. *Jannaschia helgolandensis*, gen. nov., a novel abundant member of the marine Roseobacter clade from the North Sea. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53(3)**:731-738.
 - Wagner-Döbler, I.; von Canstein, H. F.; Li, Y.; Leonhäuser, J., and Deckwer, W.-D. Process-integrated microbial mercury removal from wastewater of chlor-alkali electrolysis plants. **Engineering in Life Sciences**. 2003; **3(4)**:177-181.
 - Witte, U.; Wenzhöfer, F.; Sommer, S.; Boetius, A.; Heinz, P.; Aberle, N.; Sand, M.; Cremer, A.; Abraham, W.-R.; Jörgensen, B. B., and Pfannkuche, O. In situ experimental evidence of the fate of a phytodetritus pulse at the abyssal sea floor. **Nature**. 2003; **424**:763-766.
 - Yakimov, M. M.; Giuliano, L.; Gentile, G.; Cristafi, E.; Chernikova, T. N.; Abraham, W.-R.; Lünsdorf, H.; Timmis, K. N., and Golyshin, P. N. *Oleispira antarctica* gen. nov., sp. nov., a new hydrocarbonoclastic marine bacterium, isolated from an antarctic coastal seawater. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:779-785.
 - Yakimov, M. M.; Lünsdorf, H., and Golyshin, P. N. *Thermoleophilum album* and *Thermoleophilum minutum* are culturable representatives of group 2 of the Rubrobacterales (Actinobacteria). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2003; **53**:377-380.
 - Zielinski, M.; Kahl, S.; Hecht, H.-J., and Hofer, B. Pinpointing biphenyl dioxygenase residues that are crucial for substrate interaction. **Journal of Bacteriology**. 2003; **185**:6976-6980.
- ### Technologische Plattformen – 2003
- Barthold, M.; Fargali, S.; Majore, I.; Zghoul, N.; Stahl, F.; Rohde, M.; Mayer, H., and Jäger, V. Proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on calcium phosphate scaffolds in fixed bed bioreactors. **Tissue Engineering**. 2003; **9**:848.
 - Bringmann, G.; Mühlbacher, J.; Messer, K.; Deyer, M.; Ebel, R.; Nugroho, B. W.; Wray, V., and Proksch, P. Cyclorocaglamide, the first bridged cyclopentatetrahydrobenzofuran and a related "open chain" rocaglamide derivative from *Alaia oligophylla*. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:80-85.
 - Ding, H.; Griesel, C.; Nimtz, M.; Conrad, H. S.; Weich, H. A., and Jäger, V. Molecular cloning, expression, purification, and characterization of soluble full-length, human interleukin-3 with a baculovirus-insect cell expression system. **Protein Expression and Purification**. 2003; **31**:34-41.
 - Eckermann, C.; Matthes, B.; Nimtz, M.; Reiser, V.; Lederer, B.; Böger, P., and Schröder, J. Covalent binding of chloroacetamide herbicides to the active site cysteine of plant type II polyketide synthases. **Phytochemistry**. 2003; **64**:1045-1054.
 - Fargali, S.; Barthold, M.; Majore, L., and Jäger, V. Three-dimensional cultivation of rabbit mesenchymal stem cells on bioresorbable, macroporous calcium phosphate scaffolds in vitro. **International Journal of Artificial Organs**. 2003; **26**: 859.
 - Franke, R.; Doll, C.; Wray, V., and Eichler, J. Solid-phase synthesis of structurally diverse scaffolded peptides for the mimicry of discontinuous protein binding sites. **Protein and Peptide Letters**. 2003; **10(6)**:531-539.
 - Heil, M.; Mittnacht-Krauss, R.; Issbrücker, K.; van den Heuvel, J.; Dehio, C.; Schaper, W.; Clauss, M., and Weich, H. A. An engineered heparin-binding form of VEGF-E: biological effects in vitro and mobilisation of precursor cells. **Angiogenesis**. 2003; **6(3)**:201-211.
 - Häußler, S.; Rohde, M.; von Neuhoff, N.; Nimtz, M., and Steinmetz, I. Structural and functional cellular changes induced by *Burholderia pseudomallei*. **Infection and Immunity**. 2003; **71**:2970-2975.
 - Jäger, V.; Barthold, M.; Fargali, S.; Majore, I.; Zghoul, N.; Stahl, F.; Rohde, M., and Mayer, H. 3-D cultivation and monitoring of bone precursor cells on calcium phosphate scaffolds in fixed bed bioreactors. **Artificial Organs**. 2003; **26**: 829.

- Lin, W.; Brauers, G.; Ebel, R.; Wray, V.; Berg, A.; Sudarsono, and Proksch, P. Novel chromone derivatives from the fungus *Aspergillus versicolor* isolated from the marine sponge *Xestospongia exiqua*. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:57-61.
 - Majore, I.; Barthold, M.; Stahl, F.; Schulz, R.; Loose, S.; Mayer, H.; Fargali, S., and Jäger, V. Optimization of cell culture conditions and comparative analysis of the proliferation and differentiation of human osteoprogenitor cells by DNA microarray analysis and non-invasive methods. **International Journal of Artificial Organs**. 2003; **26**:869.
 - Marxen, J. C.; Nimtz, M.; Becker, W., and Mann, K. The major soluble 19.6 kDa protein of the organic shell matrix of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* is an N-glycosylated dermapontin. **Biochimica Et Biophysica Acta – Proteins & Proteomics**. 2003; **1650**:92-98.
 - Münzenberger, B.; Hammer, E.; Wray, V.; Shauer, F.; Schmidt, J., and Strack, D. Detoxification of ferulic acid by ectomycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**. 2003; **13**:117-121.
 - Pipp, F.; Heil, M.; Issbrücker, K.; Ziegelhoeffer, T.; Martin, S.; van den Heuvel, J.; Weich, H.; Fernandez, B.; Colomb, G.; Caremeliet, P.; Schaper, W., and Claus, M. The VEGFR-1 selective VEGF-homologue PlGF is arteriogenic: evidence for a monocyte mediated mechanism. **Circulation Research**. 2003; **92**:378-385.
 - Pollmann, K.; Wray, V.; Hecht, H.-J., and Pieper, D. H. Rational engineering of the regioselectivity of TecA tetrachlorobenzene dioxygenase for the transformation of chlorinated toluenes. **Microbiology-SGM**. 2003; **149**:903-913.
 - Proksch, P.; Ebel, R.; Erada, R. A.; Schupp, P.; Lin, W. H.; Sudarsono; Wray, V., and Steube, K. Detection of pharmacologically active natural products using ecology. Selected examples from Indopacific marine invertebrates and sponge-derived fungi. **Pure and Applied Chemistry**. 2003; **75**:337-346.
 - Schultz, A.; Laschat, S.; Diele, S., and Nimtz, M. Tetraphenylethene-derived columnar crystals and their oxidative photocyclization. **European Journal of Organic Chemistry**. 2003; 2829-2839.
 - Schupp, P.; Poehner, T.; Erada, R.; Ebel, R.; Wray, V., and Proksch, P. Eudistomins W and X, two new β -carboline alkaloids from the Micronesian Tunicate *Eudistoma viride*. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:272-275.
 - Wang, C.-Y.; Wang, B.-G.; Wiroyowidago, S.; Wray, V.; van Soest, R.; Steube, K. G.; Guan, H.-S.; Proksch, P., and Ebel, R. Melophins C-O, thirteen novel terpenic acids from the marine sponge *Melophlus sarassinorum*. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:51-56.
 - Wang, W.; Sun, J.; Nimtz, M.; Zeng, A.-P., and Deckwer, W.-D. Protein identification from 2-dimensional gel electrophoresis analysis of *Klebsiella pneumoniae* by combined use of mass spectrometry data and unannotated genome sequences. **Proteome Science**. 2003; **1**:6.
 - Weinig, S.; Hecht, H.-J.; Mahmud, T., and Müller, R. Melithiazol biosynthesis: Further insights into myxobacterial PKS/NRPS systems and evidence for a new subclass of methyl transferase. **Chemistry and Biology**. 2003; **10**:939-952.
 - Yasman; Edrada, R. A.; Wray, V., and Proksch, P. New 9-thiocyanatopupukeanane sesquiterpenes from the mudbranch *Phyllidia varicosa* and its sponge-predator *Axinyssa aculeata* collected in Thousand Island National Park, Indonesia. **Journal of Natural Products**. 2003; **66**:1512-1514.
 - Zander, K.; Sherman, M. P.; Tessmer, U.; Bruns, K.; Wray, V.; Prechter, A. T.; Schubert, E.; Henklein, P.; Neidleman, J., Greene, W. C. and Schubert U. Cyclophilin A interacts with HIV-1 Vpr and is required for its functional expression. **Journal of Biological Chemistry**. 2003; **278**:43202-43213.
 - Zielinski, M.; Kahl, S.; Hecht, H.-J., and Hofer, B. Pinpointing biphenyl dioxygenase residues that are crucial for substrate interaction. **Journal of Bacteriology**. 2003; **185**:6976-6980.
 - Zorn, H.; Langhoff, S.; Scheibner, M.; Nimtz, M., and Berger, R. G. Cleavage of β , β -carotene to flavour compounds by *Lepista irina* versatile peroxidase. **Biochemical Journal**. 2003; **384**:1049-1056.
- ### Bioverfahrenstechnik – 2003
- Duvar, S.; Berlin, J.; Ziehr, H., and Conradt, H. S. Modulation of the glycosylation repertoire of recombinant human EPO expressing model cell lines under different culture conditions. In: Proceedings of the 18th ESACT-Meeting-Granada. Granada; 2003.
 - Elias, C. B.; Carpentier, E.; Durocher, Y.; Bisson, L.; Wagner, R., and Kamen, A. Improving glucose and glutamine metabolism of human HEK 293 and *Trichoplusia ni* insect cells engineered to express a cytosolic pyruvate carboxylase enzyme. **Biotechnology Progress**. 2003; **19**:90-97.
 - Hesse, F.; Ebel, M.; Konisch, N.; Sterlinski, R.; Kessler, W., and Wagner, R. Comparison of a production process in a membrane-aerated stirred tank and up to 1000 L airlift bioreactors using BHK-21 cells and chemically defined protein-free medium. **Biotechnology Progress**. 2003; **19**:833-843.
 - Horn, H.; Cordes, C.; Krull, R.; Hempel, D. C.; Jahn, D., and Rinas, U. Einfluss der Pelletmorphologie von *Aspergillus niger* auf Stoffumsatz und Produktbildung – Experimentelle Untersuchungen und Modellierung. **Chemie Ingenieur Technik**. 2003; **75**:1070-1071.
 - Krumme, D.; Budde, H.; Hecht, H.-J.; Menge, U.; Ohlenschläger, O.; Roß, A.; Wissing, J.; Wray, V., and Flohé, L. NMR studies of the interaction of tryptaredoxin with redox-inactive substrate homologs. **Biochemistry**. 2003; **42**:14720-14728.
 - Marten, E.; Müller, R.-J., and Deckwer, W.-D. Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters: I. Low molecular mass model esters and aliphatic polyesters. **Polymer Degradation and Stability**. 2003; **80**(3):485-501.
 - Müller, C.; Richter, S., and Rinas, U. Kinetic control preferential heterodimer formation of platelet-derived growth factor from unfolded A- and B-chains. **Journal of Biological Chemistry**. 2003; **278**:18330-18335.
 - Müller, R.-J. Biodegradability of polymers: regulations and methods for testing. (A. Steinbüchel, ed.) *Biopolymers*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2003; 10, Chapter 1 pp. 365-391.
 - Priesner, C.; Elmahouhoub, A., and Wagner, R. Immortale Hepatocyten zur Analyse leberspezifischer Funktionen. **Bioforum**. 2003; **(1-2)**:35-37.
 - Wang, W.; Sun, J.; Hartlep, M.; Deckwer, W.-D., and Zeng, A.-P. Combined use of proteomics analysis and enzyme activity assay for metabolic pathway analysis of glycerol fermentation by *Klebsiella pneumoniae*. **Biotechnology and Bioengineering**. 2003; **83**:525-536.
 - Wang, W.; Sun, J.; Nimtz, M.; Zeng, A.-P., and Deckwer, W.-D. Protein identification from 2-dimensional gel electrophoresis analysis of *Klebsiella pneumoniae* by combined use of mass spectrometry data and unannotated genome sequences. **Proteome Science**. 2003; **1**:6.

Veröffentlichungen 2004

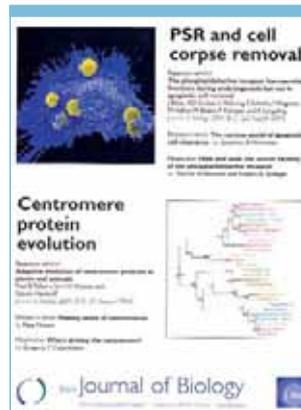
Infektion und Immunität – 2004

- Albrecht, P.; Bode, J.; Büiting, K.; Prashanth, A. K., and Lohmann, D. R. Recurrent deletion of a region containing exon 24 or the RB1 gene caused by nonhomologous recombination between a LINE 1hs and MER21B element. **Journal of Medical Genetics**. 2004; **41**:e122.
- Auwerx, J.; Avner, P.; Baldock, R.; Ballabio, A.; Balling, R.; Barbacid, M.; Berns, A.; Bradley, A.; Brown, S.; Carmeliet, P.; Chambon, P.; Cox, R.; Davidson, D.; Davies, K.; Duboule, D.; Forejt, J.; Granucci, F.; Hastie, N.; de Angelis, M. H.; Jackson, L.; Kioussis, D.; Kollias, G.; Lathrop, M.; Lendahl, U.; Malumbres, M.; von Melchner, H.; Muller, W.; Partanen, J.; Ricciardi-Castagnoli, P.; Rigby, P.; Rosen, B.; Rosenthal, N.; Skarnes, B.; Stewart, A. F.; Thornton, J.; Tocchini-Valentini, G.; Wagner, E.; Wahli, W., and Wurst, W. The european dimension for the mouse genome mutagenesis program. **Nature Genetics**. 2004; **36(9)**:925-927.
- Balke, B.; Hoy, L.; Weissbrodt, H., and Häußler, S. Comparison of standard agar dilution with the Merlin, Micronaut System for automated broth microtiter antimicrobial susceptibility testing of mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. **European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases**. 2004; **23(10)**:765-771.
- Balling, R. and Schlender, H. Nichts bleibt wie es ist! Die Biowissenschaften müssen sich der Globalisierung stellen. **Zeitschrift für Biopolitik**. 2004; **3(2)**:43-47.
- Bando, H.; Brokelmann, M.; Toi, M.; Alitalo, K.; Sleeman, J.; Sipos, B.; Groene, H. J., and Weich, H. A. Immunodetection and quantification of vascular endothelial growth factor receptor-3 in human malignant tumour tissue. **International Journal of Cancer**. 2004; **111**:184-191.
- Becker, P. D. and Guzmán, C. A. Rational design of vaccination strategies to promote antigen entry into the MHC class I-restricted presentation pathway. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**. 2004; **31**:398-411.
- Benga, L.; Goethe, R.; Rohde, M., and Valentin-Weigand, P. Non-encapsulated strains reveal novel insights in invasion and survival of *Streptococcus suis* in epithelial cells. **Cellular Microbiology**. 2004; **6(9)**:867-881.
- Bergmann, S.; Rohde, M.; Chhatwal, G. S., and Hammerschmidt, S. Characterization of plasmin(ogen) binding to *Streptococcus pneumoniae*. **Indian Journal of Medical Research**. 2004; **119**:29-32.
- Bergmann, S.; Rohde, M., and Hammerschmidt, S. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Streptococcus pneumoniae* is a surface-displayed plasminogen-binding protein. **Infection and Immunity**. 2004; **72**:2416-2419.
- Bernhardt, H.; Brokelmann, M., and Weich, H. A. Hochempfindliches System zur Detektion von His-tag-Proteinen in HTS und Proteomics. **Laborwelt**. 2004; **5(2)**:15-16.
- Bertot, G. M.; Becker, P. D.; Guzmán, C. A., and Grinstein, S. Intranasal vaccination with recombinant P6 protein and adamantylamide dipeptide as mucosal adjuvant confers efficient protection against Otitis media and lung infection by nontypeable *Haemophilus influenzae*. **Journal of Infectious Diseases**. 2004; **189(7)**:1304-1312.
- Bode, H. B.; Wenzel, S. C.; Irschik, H.; Höfle, G., and Müller, R. An unusual biosynthesis leading to the unique leupyrrin class of natural products in the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. **Angewandte Chemie International Edition**. 2004; **43**:4163-4167.
- Bohn, E.; Müller, S.; Lauber, J.; Geffers, R.; Speer, N.; Speer, C.; Krejci, J.; Manncke, B.; Buer, J.; Zell, A., and Autenrieth, I. B. Gene expression patterns of epithelial cells modulated by pathogenicity factors of *Yersinia enterocolitica*. **Cellular Microbiology**. 2003; **6(2)**:129-141.
- Bolm, M.; Chhatwal, G. S., and Jansen, W. T. Bacterial resistance of *daf-2* mutants. (Letters to the Editor) **Science**. 2004; **303(5666)**:1976.
- Bolm, M.; Jansen, W. T. M.; Schnabel, R., and Chhatwal, G. S. Hydrogen peroxide-mediated killing of *Caenorhabditis elegans*: a common feature of different streptococcal species. **Infection and Immunity**. 2004; **72(2)**:1192-1194.
- Bollati Fogolin, M.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Selection of the cell line and the appropriate vector system for bioactive RHGM-CSF expression. (Jonas, R.; Pandey, A., and Tharun, G., eds.) In: *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 92-96.
- Borsutzky, S.; Cazac, B. B.; Roes, J., and Guzman, C. A. TGF- β receptor signaling is critical for mucosal IgA responses. **Journal of Immunology**. 2004; **173**:3305-3309.
- Bruder, D.; Probst-Kepper, M.; Westendorf, A. M.; Geffers, R.; Beissert, S.; Loser, K.; Von Boehmer, H.; Buer, J., and Hansen, W. Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. **European Journal of Immunology**. 2004; **34(3)**:623-630.
- Bruder, D.; Westendorf, A. M.; Geffers, R.; Gruber, A. D.; Gereke, M.; Enelow, R. I., and Buer, J. CD4 T cell mediated lung disease: steady state between pathological and tolerogenic immune reactions. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. 2004; **170**:1145-1152.
- Böse, J.; Gruber, A. D.; Helming, L.; Schiebe, S.; Wegener, I.; Hafner, M.; Beales, M.; Köntgen, F., and Lengeling, A. Essential functions of the phosphatidylserine receptor during embryogenesis, distinct from apoptotic cell removal. **The Journal of Biology**. 2004; **3**:15.
- Cesari, F.; Rennekampff, V.; Vintersten, K.; Vuong, L.; Bode, J.; Seibler, J.; Wiebel, F. F., and Nordheim, A. Elk-1 knock-out mice engineered by Flp recombinase-mediated cassette exchange genesis. **Genesis**. 2004; **38**:87-92.
- Chhatwal, G. S. Streptococcal research: new challenges ahead. **Indian Journal of Medical Research**. 2004; **119**:vii-viii.
- Dickschat, J. S.; Wenzel, S. C.; Bode, H. B.; Müller, R., and Schulz, S. Biosynthesis of volatiles by the mycobacterium *Myxococcus xanthus*. **ChemBioChem**. 2004; **5**:778-787.
- Dieterich, G.; Kvesic, M.; Schomburg, D.; Heinz, D. W., and Reichelt, J. Integrating public databases into an existing protein visualization and modeling program BRAGI. **Lecture Notes in Informatics**. 2004; **P-53**:149-156.
- Dikopoulos, N.; Wegenka, U.; Kröger, A.; Hauser, H.; Schirmbeck, R., and Reimann, J. Recently primed CD8+ T cells entering the liver allow hepatocytes to interact with naive CD8+ T cell and downregulate their immune-suppressive effects. **Hepatology**. 2004; **39**:1256-1266.
- Disanza, A.; Carlier, M. F.; Strada, T. E. B.; Didry, D.; Frittoli, E.; Confalonieri, S.; Croce, A.; Wehland, J.; DiFiore, P. P., and Scita, G. Eps8 controls actin-based motility by capping the barbed ends of actin filaments. **Nature Cell Biology**. 2004; **5**:1180-1188.
- Dittmar, K. E. J.; Lindenmaier, W.; Hauser, H., and Pügelow, U. Flexibel einsetzbares System für zelluläre Impfstoffe. **Bioforum**. 2004; **5**:41-42.
- Dürfahrt, T.; Eppelmann, K.; Müller, R., and Marahiel, M. A. Rational design of a bimodular model system for the investigation of heterocyclization in nonribosomal peptide biosynthesis. **Chemistry and Biology**. 2004; **11**:261-271.
- Ebensen, T.; Guzman, C. A., and Schulze, K. Salmonellen – Feind, aber auch Freund. **Labor Praxis**. 2004; Oktober: 30.33.

- Ebsensen, T.; Paukner, S.; Link, C.; Kudela, P.; de Domenico, C.; Lubitz, W., and Guzmán, C. A. Bacterial ghosts are an efficient delivery system for DNA vaccines. **Journal of Immunology**. 2004; **172**:6858-6865.
- Eberhardt, M. O.; Frank, R.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Defining the antigenic structure of human GM-CSF and its implication to receptor interaction and therapeutic treatments. **Molecular Diversity**. 2004; **8**:257-269.
- Eberhardt, M. O.; Frank, R.; Kratje, R., and Etcheverrigaray, M. GM-CSF epitope analysis using a panel of monoclonal antibodies. (Jonas, R.; Pandey A.; Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 250-254.
- Elm, C.; Braathen, R.; Bergmann, S.; Frank, R.; Vaerman, J.-P.; Kaetzel, C. S.; Chhatwal, G. S.; Johansen, F.-E., and Hammerschmidt, S. Ectodomains 3 and 4 of human polymeric immunoglobulin receptor (hplgR) mediate invasion of *Streptococcus pneumoniae* into the epithelium. **Journal of Biological Chemistry**. 2004; **279**(8):6296-6304.
- Elm, C.; Rohde, M.; Vaerman, J. P.; Chhatwal, G. S., and Hammerschmidt, S. Characterization of the interaction of the pneumococcal surface protein SpsA with the human polymeric immunoglobulin receptor hplgR. **Indian Journal of Medical Research**. 2004; **119**:61-65.
- Elnakady, Y. A.; Sasse, F.; Lünsdorf, H., and Reichenbach, H. Disorazol A1, a highly effective antimetabolic agent acting on tubulin polymerization and inducing apoptosis in mammalian cells. **Biochemical Pharmacology**. 2004; **67**:927-935.
- Eschbach, M.; Schreiber, K.; Trunk, K.; Buer, J.; Jahn, D., and Schobert, M. Anaerobic long-term survival of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* via pyruvate fermentation. **Journal of Bacteriology**. 2004; **186**:4596-4604.
- Fey, A.; Eichler, S.; Flavier, S.; Christen, R.; Höfle, M. G., and Guzmán, C. A. Development of a real-time PCR-based approach for accurate quantification of bacterial RNA targets in water, using *Salmonella* as a model organism. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**:3618-3623.
- Fogolin, M. B.; Wagner, R.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Impact of temperature reduction and expression of yeast pyruvate carboxylase on hGM-CSF-producing CHO cells. **Journal of Biotechnology**. 2004; **109**:179-191.
- Forno, G.; Fogolin, M. B.; Oggero, M.; Kratje, R.; Etcheverrigaray, M.; Conrath, H. S., and Nimitz, M. N- and O-linked carbohydrates and glycosylation site occupancy in recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor secreted by a chinese hamster ovary cell line. **European Journal of Biochemistry**. 2004; **271**:907-919.
- Freiberg, A.; Machner, M-P.; Pfeil, W.; Schubert, W.-D.; Heinz, D. W., and Seckler, R. Folding and stability of the leucine-rich repeat domain of internalin B from *Listeria monocytogenes*. **Journal of Molecular Biology**. 2004; **337**(2):453-461.
- Gismondí, M. I.; Staendner, L. H.; Grinstein, S.; Guzmán, C. A., and Preciado, M. V. Hepatitis C virus isolates from Argentina disclose a novel genotype 1-associated restriction pattern. **Journal of Clinical Microbiology**. 2004; **42**(3):1298-1301.
- Godehardt, A.; Hammerschmidt, S.; Frank, R., and Chhatwal, G. S. Binding of alpha 2-macroglobulin to GRAB, an important virulence factor of group A streptococci, is mediated via two charged motifs in the Delta A region. **Biochemical Journal**. 2004; **381**:877-885.
- Goldmann, O.; Chhatwal, G. S., and Medina, E. The role of host genetic factors in susceptibility to group A streptococcal infections. **Indian Journal of Medical Research**. 2004; **119**:141-143.
- Goldmann, O.; Rohde, M.; Chhatwal, G. S., and Medina, E. Role of macrophages on host resistance to group A streptococci. **Infection and Immunity**. 2004; **72**(5):2956-2963.
- Gunzer, M.; Weishaupt, C.; Hillmer, A.; Basoglu, Y.; Fiedl, P.; Dittmar, K. E.; Kolanus, W.; Varga, G., and Grabbe, S. A spectrum of biophysical interaction modes between T cells and different antigen presenting cells during priming in 3-D collagen and in vivo. **Blood**. 2004; **104**: 2801-2809.
- Guzman, C. A. and Feuerstein, G. Pharmaceutical Biotechnology – Editorial Overview. **Current Opinion in Biotechnology**. 2004; **15**:503-505.
- Hafner, M. and Müller, W. Generation of mouse mutants by sequence information driven and random mutagenesis. (H. J. Hedrich, G. Bullock eds.) *The Laboratory Mouse (The handbook of experimental animals)*. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2004; pp. 85-95.
- Hafner, M.; Wenk, J.; Nenci, A.; Pasparakis, M.; Scharffetter-Kochanek, K.; Smyth, N.; Peters, T.; Kess, D.; Holtkötter, O.; Shephard, P.; Kudlow, J. E.; Smola, H.; Haase, I.; Schippers, A.; Krieg, T., and Müller, W. Keratin 14 Cre transgenic mice authentically keratin 14 as an oocyte-expressed protein. **Genesis**. 2004; **38**(4):176-181.
- Hansen, W. and Buer, J. Role of regulatory T cells for the outcome of allo- and autoimmune responses. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**. 2004; **31**:322-331.
- Heinemeyer, J.; Eubel, H.; Wehmhöner, D.; Jänsch, L., and Braun, H. P. Proteomic approach to characterize the supramolecular organization of photosystems in higher plants. **Phytochemistry**. 2004; **65**:1683-1692.
- Heng, H. H. Q.; Goetze, S.; Ye, C. J.; Lu, W.; Liu, G.; Bremer, S.; Hughes, M.; Bode, J., and Krautetz, S. A. Chromatin loops are selectively anchored using scaffold/matrix-attachment regions. **Journal of Cell Science**. 2004; **117**:999-1008.
- Huehn, J.; Siegmund, K.; Lehmann, J. C. U.; Siewert, C.; Haubold, U.; Feuerer, M.; Debes, G. F.; Lauber, J.; Frey, O.; Przybylski, G. K.; Niesner U.; de la Rosa, M.; Schmidt, C. A.; Bräuer, R.; Buer, J.; Scheffold, A., and Hamann, A. Developmental stage, phenotype and migration distinguish naive- and effector/memory-like CD4+ regulatory T cells. **Journal of Experimental Medicine**. 2004; **199**:303-313.
- Häußler, S. Biofilm formation by the small colony variant phenotype of *Pseudomonas aeruginosa*. **Environmental Microbiology**. 2004; **6**:546-551.
- Innocenti, M.; Zucconi, A.; Disanza, A.; Frittoli, E.; Areces, L.; Steffen, A.; Stradal, T. E. B.; Di Fiore, P. P.; Carlier, M. F., and Scita, G. Abil is essential for the formation and activation of a WAVE2 signaling complex mediating Rac-dependent actin remodeling. **Nature Cell Biology**. 2004; **6**:319-327.
- Jenke, A. W.; Stehle, I. M.; Eisenberger, T.; Baiker, A.; Bode, J.; Fackelmayer, F. O., and Lipps, H. J. Nuclear scaffold/matrix attached region modules linked to a transcription unit are sufficient for replication and maintenance of a mammalian episome. **Proceedings of National Academy of Sciences USA**. 2004; **101**:11322-11327.
- Jomantaitė, I.; Dikopoulos, N.; Kröger, A.; Leithäuser, F.; Hauser, H.; Schrimbeck, R., and Reimann, J. Hepatic dendritic cell subsets in the mouse. **European Journal of Immunology**. 2004; **34**:355-365.
- Juhas, M.; Wiehlmann, L.; Huber, B.; Jordan, D.; Lauber, J.; Salunkhe, P.; Limpert, A. S.; Von Götz, F.; Steinmetz, I.; Eberl, L., and Tümmler, B. Global regulation of quorum sensing and virulence by VqsR in *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology-SGM**. 2004; **150**:831-841.
- Kaps, C.; Hoffmann, A.; Zilberman, Y.; Pelled, G.; Häußler, T.; Sittlinger, M.; Burmester, G.; Gazit, G., and Gross, G. Distinct roles of BMP receptors type IA and IB in osteo-/chondrogenic differentiation in mesenchymal progenitors (C3H10T⁺). **BioFactors**. 2004; **20**:71-84.
- Keller, C.; Lauber, J.; Blumenthal, A.; Buer, J., and Ehlers, S. Resistance and susceptibility to tuberculosis analysed at the transcription level: lessons from mouse macrophages. **Tuberculosis**. 2004; **84**:144-158.

- Kopp, M.; Irschik, H.; Gross, F.; Perlova, O.; Sandmann, A.; Gerth, K., and Müller, R. Critical variations of conjugal DNA transfer into secondary metabolite multiproducing *Sorangium cellulosum* strains So ce12 and So ce56 development of a mariner-based transposon mutagenesis system. **Journal of Biotechnology**. 2004; **107**:29-40.
- Kossatz, U.; Dietrich, N.; Zender, L.; Buer, J.; Manns, M. P., and Malek, N. P. Skp2 dependent degradation of p27kip1 is essential for cell cycle progression. **Genes and Development**. 2004; **18**:2602-2607.
- Kretschmer, K.; Stopkowicz, J.; Scheffer, S.; Greten, T. F., and Weiss, S. Maintenance of peritoneal B-1a lymphocytes in the absence of the spleen. **Journal of Immunology**. 2004; **173**(1):197-204.
- Kunze, B.; Jansen, R.; Höfle, G., and Reichenbach, H. Ajudazols, new inhibitor of the mitochondrial electron transport from *Chondromyces crocatus*. Production, antimicrobial activity and mechanism of action. **Journal of Antibiotics**. 2004; **57**(2):151-155.
- Kuper, J.; Llamas, A.; Hecht, H. J.; Mendel, R. R., and Schwarz, G. Structure of the molybdopterin-bound Cnx1G domain links molybdenum and copper metabolism. **Nature**. 2004; **430**:803-806.
- Lai, F. P.; Cole-Sinclair, M.; Cheng, W. J.; Quinn, J. M. W.; Gillespie, M. T.; Sentry, J. W., and Schneider, H. G. Myeloma cells can directly contribute to the pool of RANKL in bone bypassing the classic stromal and osteoblast pathway of osteoclast stimulation. **British Journal of Haematology**. 2004; **126**:192-201.
- Leibold, T.; Sasse, F.; Reichenbach, H., and Höfle, G. Cyrmenins, novel antifungal peptides containing a nitrogen-linked β -methoxyacrylate pharmacophore: Isolation and structure elucidation. **European Journal of Organic Chemistry**. 2004; **(2)**:431-435.
- Link, C.; Gavioli, R.; Ebensen, T.; Canella, A.; Reinhard, E., and Guzmán, C. A. The toll-like receptor ligand MALP-2 stimulates dendritic cell maturation and modulates proteasome composition and activity. **European Journal of Immunology**. 2004; **34**(3):899-907.
- Loessner, H. and Weiss, S. Bacteria-mediated DNA transfer in gene therapy and vaccination. **Expert Opinion in Biological Therapy**. 2004; **4**(2):157-168.
- Lommel, S.; Benesch, S.; Rohde, M.; Wehland, J., and Rottner, C. Enterohaemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli* use different mechanisms for actin pedestal formation that converge on N-WASP. **Cellular Microbiology**. 2004; **6**:243-254.
- Luckow, B.; Joergensen, J.; Chilla, S.; Li, J.-P.; Henger, A.; Kiss, E.; Wiczorek, G.; Roth, L.; Hartmann, N.; Hoffmann, R.; Kretzler, M.; Nelson, P. J.; Lema, G. P. de; Maier, H.; Wurst, W.; Balling, R.; Pfeffer, K.; Gröne, H.-J.; Schlöndorff, D., and Zerwes, H.-G. Reduced intragraft mRNA expression of matrix metalloproteinases Mmp3, Mmp12, Mmp13 and Adam8, and diminished transplant arteriosclerosis in Ccr5-deficient mice. **European Journal of Immunology**. 2004; **34**: 2568-2578
- Ma, H.-W.; Buer, J., and Zeng, A.-P. Hierarchical structure and modules in the *Escherichia coli* transcriptional regulatory network revealed by a new top-down approach. **BMC Bioinformatics**. 2004; **5**:199.
- Ma, H.-W.; Kumar, B.; Ditges, U.; Gunzer, F.; Buer, J., and Zeng, A. P. An extended transcriptional regulatory network of *Escherichia coli* and analysis of its hierarchical structure and network motifs. **Nucleic Acids Research**. 2004; **32**:6643-6649.
- Ma, H.-W. and Zeng, A.-P. Phylogenetic comparison of metabolic capacities of organisms at genome level. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 2004; **31**:204-213.
- May, T.; Hauser, H., and Wirth, D. Transcriptional control of SV40 expression allows a complete reversion of immortalization. **Nucleic Acids Research**. 2004; **32**:5529-5538.
- McArthur, J.; Medina, E.; Mueller, A.; Chin, J.; Currie, B. J.; Sriprakash, K. S.; Talay, S. R.; Chhatwal, G. S., and Walker, M. J. Intranasal vaccination with streptococcal fibronectin binding protein, Sfb 1, fails to prevent growth and dissemination of *Streptococcus pyogenes* in a murine skin infection model. **Infection and Immunity**. 2004; **72**:7342-7345.
- McArthur, J.; Schulze, K.; Chin, J.; Currie, B. J.; Sriprakash, K. S.; Talay, S. R.; Chhatwal, G. S., and Guzmán C. A. Immune responses of a liposome/ISCOM vaccine adjuvant against streptococcal fibronectin binding protein 1 (Sfb1) in mice. **Indian Journal of Medical Research**. 2004; **119** (Suppl.):113-118.
- McKay, F. C.; McArthur, J. D.; Sanderson-Smit, M. L.; Gardam, S.; Currie, B. J.; Sriprakash, K. S.; Fagan, P. K.; Towers, R. J.; Batzloff, M. R.; Chhatwal, G. S.; Ranso, M., and Walker, M. J. Plasminogen binding by group A streptococcal isolates from tropical region with hyperendemic streptococcal skin infection and a high incidence of invasive infection. **Infection and Immunity**. 2004; **72**:364-370.
- Mersal, G. A. M.; Khodari, M., and Bilitewski, U. Optimisation of the composition of the enzyme layer with respect to an improved selectivity and stability of glucose electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**. 2004; **20**:305-314.
- Milkereit, G.; Morr, M.; Thiem, J., and Vill, V. Thermotropic and lyotropic properties of long chain alkyl glycopyranosides. **Chemistry and Physics of Lipids**. 2004; **127**:47-63.
- Müller, R. Don't classify polyketide synthases. **Chemistry and Biology**. 2004; **11**:4-6.
- Niedick, I.; Froese, N.; Oumard, A.; Müller, P. P.; Nourbakhsh, M.; Hauser, H., and Köster, M. Nucleolar localization and mobility analysis of the NF- κ B repressing factor NRE. **Journal of Cell Science**. 2004; **117**:3447-3458.
- Niemann, H.; Schubert, W.-D., and Heinz, D. Adhesins and invasions of pathogenic bacteria: a structural view. **Microbes and Infection**. 2004; **6**:101-112.
- Niggemann, J.; Herrmann, M.; Gerth, K.; Irschik, H.; Reichenbach, H., and Höfle, G. Tuscolid and Tuscoron A and B: Isolation, structural elucidation and studies on the biosynthesis of novel furan-3(2H)-one-containing metabolites from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. **European Journal of Organic Chemistry**. 2004; 487-492.
- Nimt, M.; Conrad, H. S., and Mann, K. LacdiNAc (GalNAAC β 1-44lcNAc) is a major motif in N-glycan structures of the chicken eggshell protein ovocleiding-116. **Biochimica Et Biophysica Acta**. 2004; **1675**:71-80.
- Oggero, M.; Frank, R.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Defining the antigenic structure of human GM-CSF and its implication to receptor interaction and therapeutic treatments. **Molecular Diversity**. 2004; **8**:257-269.
- Pacholsky, D.; Himmel, M.; Löw, T.; Stradal, T. E. B.; Rottner, K.; Fürst, D. O., and Van der Ven, P. F. Xin repeats define a novel actin binding motif. **Journal of Cell Science**. 2004; **117**:5257-5268.
- Papagrigroriou, E.; Gringas, A. R.; Barsukov, I. L.; Bate, N.; Fillingham, I. J.; Patel, B.; Frank, R.; Ziegler, W. H.; Roberts, G. C. K.; Critchley, D. R., and Emsley, J. Activation of a vinculin binding site in the talin rod involves re-arrangement of a five helix bundle. **EMBO Journal**. 2004; **23**:2942-2951.
- Probst-Kepper, M.; Hecht, H.-J.; Herrmann, H.; Janke, V.; Ocklenburg, F.; Klempnauer, J.; Van den Eynde, B. J., and Weiss, S. Conformational restraints and flexibility of 14-meric peptides in complex with HLA-B*3501. **Journal of Immunology**. 2004; **173**:5610-5616.
- Retter, I.; Althaus, H. H.; Münch, R., and Müller, W. VBASE2, an integrative V gene database. **Nucleic Acids Research**. 2004; **33**:D671-D674.
- Rharbaoui, F.; Westendorf, A.; Link, C.; Felk, S.; Buer, J.; Gunzer, M., and Guzmán, C. A. The mycoplasma-derived lipopeptide MALP-2 triggers a global immune activation on nasal associated lymphoid tissues. **Infection and Immunity**. 2004; **72**:6978-6986.

- Roers, A.; Siewe, L.; Strittmatter, E.; Deckert, M.; Schlüter, D.; Stenzel, W.; Gruber, A. D.; Krieg, T.; Rajewsky, K., and Müller, W. T cell-specific inactivation of the interleukin-10 gene in mice results in enhanced T cell responses but normal innate responses to LPS or skin irritation. **Journal of Experimental Medicine**. 2004; **200**:1289-1297.
- Romanenko, L. A.; Schumann, P.; Rohde, M.; Mikhailov, V. V., and Stackebrandt, E. *Reinekea marinisedimentorum* gen. nov., sp. nov., a novel gammaproteobacterium from marine coastal sediments. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:669-673.
- Ross, A.; Kessler, W.; Krumme, D.; Menge, U.; Wissing, J.; van den Heuvel, J., and Flohé, L. Optimised fermentation strategy for 13C/15N recombinant protein labelling in *Escherichia coli* for NMR-structure analysis. **Journal of Biotechnology**. 2004; **108**:31-39.
- Rottner, K.; Lommel, S.; Wehland, J., and Stradal, T. E. B. Pathogen-induced actin filament rearrangement in infectious diseases. **Journal of Pathology**. 2004; **204**:396-406.
- Sandmann, A.; Sasse, F., and Müller, R. Identification and analysis of the core biosynthetic machinery of tubulysin, a potent cytotoxin with potential anticancer activity. **Chemistry and Biology**. 2004; **(11)**:1071-1079.
- Saravanamuthu, S. S.; von Götz, F.; Salunkhe, P.; Choshavendan, R.; Geffers, R.; Buer, J.; Tümmeler, B., and Steinmetz, I. Evidence for polyadenylated mRNA in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**. 2004; **186**:7015-7018.
- Satyanarayana, A.; Geffers, R.; Manns, M. P.; Buer, J., and Rudolph, K. L. Gene expression profile at the G1/S transition of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. **Cell Cycle**. 2004; **3**(11):1405-1417.
- Satyanarayana, A.; Greenberg, R. A.; Schaetzlein, S.; Buer, J.; Masutomi, K.; Hahn, W. C.; Zimmermann, S.; Martens, U.; Manns, M. P., and Rudolph, K. L. Mitogen stimulation cooperates with telomere shortening to activate DNA-damage responses and senescence signalling. **Molecular and Cellular Biology**. 2004; **24**:5459-5474.
- Schaumburg, J.; Diekmann, O.; Hagendorff, P.; Bergmann, S.; Rohde, M.; Hammerschmidt, S.; Jänsch, L.; Wehland, J., and Kärst, U. The cell wall subproteome of *Listeria monocytogenes*. **Proteomics**. 2004; **4**:2991-3006.
- Schmitz, I.; Weyd, H.; Krueger, A.; Baumann, S.; Fas, S. C.; Rammer, P. H., and Kirchhoff, S. Resistance of short term activated T cells to CD95-mediated apoptosis correlates with de novo protein synthesis of c-FLIP(short). **Journal of Immunology**. 2004; **172**:2194-2200.
- Schneider, J. E.; Böse, J.; Bamforth, S. D.; Gruber, A. D.; Broadbent, C.; Clarke, K.; Neubauer, S.; Lengeling, A., and Bhattacharya, S. Identification of cardiac malformations in mice lacking *Ptdsr* using a novel high-throughput magnetic resonance imaging technique. **BMC Developmental Biology**. 2004; **4**:16(e).
- Schrader, A. J.; von Knobloch, R.; Heidenreich, A.; Buer, J., and Hoffmann, R. Application of retinoids in the treatment of renal cell carcinoma – a futile effort? **Anti-Cancer Drugs**. 2004; **15**:819-824.
- Sechi, A. S. and Wehland, J. ENA/VASP proteins: multifunctional regulators of actin cytoskeleton dynamics. **Frontiers in Bioscience**. 2004; **9**:1294-1310.
- Sechi, A. S. and Wehland, J. Interplay between TCR signalling and actin cytoskeleton dynamics. **Trends in Immunology**. 2004; **25**:257-265.
- Shpacovitch, V. M.; Varga, G.; Strey, A.; Gunzer, M.; Mooren, F.; Buddenkotte, J.; Vergnolle, N.; Sommerhoff, C. P.; Grabbe, S.; Gerke, V.; Homey, B.; Hollenbergh, M.; Luger, T. A., and Steinhoff, M. Agonists of proteinase-activated receptor-2 modulate human neutrophil cytokine secretion, expression of cell adhesion molecules, and migration within 3-D collagen lattices. **Journal of Leukocyte Biology**. 2004; **76**:388-398.
- Spanholtz, T.; Niedworok, C.; Maichle, A.; Lindenmaier, W.; Herbort-Brand, U.; Krüger, S.; Stöckelhuber, B.; Krapohl, B. D.; Mailänder, P., and Machens, H. G. Synergistische therapeutische Effekte von bFGF und VEGF165 nach Transplantation isogener adenoviral transfizierter Fibroblasten im ischämischen Lappenmodell der Ratte. (Ulrich, B.; Jauch K. W.; Bauer H., editors). *Chirurgisches Forum 2004 für experimentelle und klinische Forschung*: Springer Verlag; 2004; Vol. 33; pp. 421-423.
- Steffen, A.; Rottner, K.; Ehinger, J.; Innocenti, M.; Scita, G.; Wehland, J., and Stradal, T. E. B. *Sra-1* and *Nap1* link *Rac* to actin assembly driving lamellipodia formation. **EMBO Journal**. 2004; **23**(4):749-759.



- Titelbild der Zeitschrift *The Journal of Biology*, Vol. 3, 2004, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Böse, J.; Gruber, A. D.; Helming, L.; Schiebe, S.; Wegener, I.; Hafner, M.; Beales, M.; Köntgen, F., und Lengeling, A. Essential functions of the phosphatidylerine receptor during embryogenesis, distinct from apoptotic cell removal. **The Journal of Biology**. 2004; **3**:15. Mit freundlicher Genehmigung von BioMed Central.

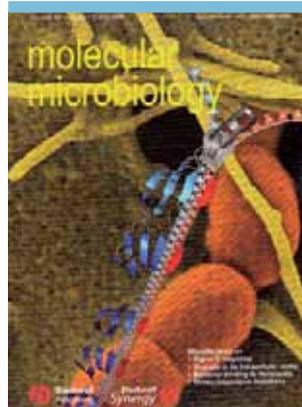
- Steinmetz, H.; Glaser, N.; Herdtweck, E.; Sasse, F.; Reichenbach, H., and Höfle, G. Isolation, crystal and solution structure determination, and biosynthesis of tubulysins – powerful inhibitors of tubulin polymerization from myxobacteria. **Angewandte Chemie Internationale Edition**. 2004; **43**:4888-4892.
- Stradal, T. E. B.; Rottner, K.; Disanza, A.; Confalonieri, S.; Innocenti, M., and Scita, G. Regulation of actin dynamics by WASF and WAVE family proteins. **Trends in Cell Biology**. 2004; **14**:303-311.
- Towers, R. J.; Gal, D.; McMillan, D.; Sriprakash, K. S.; Currie, B. J.; Walker, M. J.; Chhatwal, G. S., and Fagan, P. K. Fibronectin-binding protein gene recombination and horizontal transfer between group A and G streptococci. **Journal of Clinical Microbiology**. 2004; **42**(11):5357-5361.
- Unsinger, J.; Lindenmaier, W.; May, T.; Hauser, H., and Wirth, D. LTR – flanked autoregulated expression cassettes for uniform and strictly controlled expression in adenoviral vectors. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 2004; **319**:879-887.
- Urzi, C.; Salamone, P.; Schumann, P.; Rohde, M., and Stackebrandt, E. *Blastococcus saxosidens* sp. nov., and emended description of the genus *Blastococcus* Ahrens and Moll 1970 and *Blastococcus aggregatus* Ahrens and Moll 1970. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:253-259.

- Vidakovic, M.; Grđovic Quesada, P.; Bode, J., and Poznanovic, G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1: association with nuclear lamins in rat hepatocytes. **Journal of Cellular Biochemistry**. 2004; **93**:1155-1168.
 - Von Goetz, F.; Häußler, S.; Jordan, D.; Saravanamuthu, S.; Wehmhöner, D.; Strüßmann, A.; Lauber, J.; Attree, I.; Buer, J.; Tümmler, B., and Steinmetz, I. Expression analysis of a highly adherent and cytotoxic small colony variant of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a cystic fibrosis lung. **Journal of Bacteriology**. 2004; **186**:3837-3847.
 - Voshenrich, C. A. J.; Cumano, A.; Müller, W.; Di Santo, J. P., and Vieira, P. Pre-B cell receptor expression is necessary for thymic stromal lymphopoietin responsiveness in the bone marrow but not in the liver environment. **Proceedings of National Academy of Sciences USA**. 2004; **101(30)**:11070-11075.
 - Walter, U.; Scherbaum, W. A., and Buer, J. MHC class II expression by beta cells in Type 1 diabetes: promoting or inhibiting the auto-immune process? **Diabetologia**. 2004; **47**:1641-1642.
 - Wang, Y. L.; Burridge, K.; Dembo, M.; Gabbiani, G.; Hanks, S. K.; Hosoya, H.; Janmey, P.; Karlsson, R.; Lindberg, U.; Mabuchi, I.; Otey, C.; Rottner, K.; Small, J. V.; Wang, C. L., and Zigmond, S. Biomedical research publication system. **Science**. 2004; **303**:1974-1976.
 - Weich, H. A.; Bando, H.; Brokelmann, M.; Baumann, P.; Toi, M.; Barleon, B.; Alitalo, K.; Sipos, B., and Sleeman, J. Quantification of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) by a novel ELISA. **Journal of Immunological Methods**. 2004; **285**:145-155.
 - Weig, M.; Jänsch, L.; Groß, U.; De Koster, C. G.; Klis, F. M., and De Groot, P. W. J. Systematic identification of covalently-bound cell wall proteins and analysis of protein-polysaccharide linkages of the human pathogen *Candida glabrata*. **Molecular Microbiology**. 2004; **150**:3129-3144.
 - Weissenbach, M.; Weber, C.; Spitzer, D.; Wirth, D.; Heinrich, P. C., and Schaper, F. Interleukin-6-induced migration of human primary T-cells and T-cell derived cell lines. **European Journal of Immunology**. 2004; **34**:2895-2906.
 - Wirth, D. and Hauser, H. Flp-mediated integration of expression cassettes into FRT tagged chromosomal loci. (Balbas, P. and Lorence, A., editors). *Methods in Molecular Biology*, Vol. 267: Recombinant Gene Expression Reviews and Protocols: Humana Press Inc.; 2004; pp. 467-476.
 - Wirth, M. and Beer, C. Viroquant – Quantifizierung viraler Partikel mittels Fluoreszenzmikroskopie. **Bioforum**. 2004; **4**:53-55.
 - Wollscheid-Lengeling, E.; Müller, R.-J.; Balling, R., and Schughart, K. Maintaining your immune-system – One method for enhanced longevity. **Science of Aging Knowledge Environment**. 2004; **2004(1)**:pe2.
 - Zander, N. and Frank, R. Polystyrylsulfonyl-3-nitro-1H-1,2,4-triazolide-resin: a new reagent for the anchoring of Fmoc-amino acids to membrane supports as esters by the SPOT Technique. (Epton, R. ed.) *Solid Phase Synthesis and Combinatorial Libraries*. Kingswinford, UK: Mayflower Worldwide Ltd.; 2004; pp. 323-324.
- Vergleichende Genomforschung – 2004**
- Bayle, J.; Letard, S.; Frank, R.; Dubreuil, P., and De Sepulveda, P. Suppressor of cytokine signaling 6 associates with KIT and regulates KIT receptor signaling. **Journal of Biological Chemistry**. 2004; **279**:12249-12259.
 - Beutling, U.; Tegge, W.; Zander, N., and Frank, R. High-throughput synthesis and screening without wells and walls. (Epton, R., ed.) *Solid Phase Synthesis and Combinatorial Libraries*. Kingswinford, UK: Mayflower Worldwide Ltd.; 2004; pp. 191-194.
 - Bialek, K.; Swistowski, A.; Beutling, U.; Mühle, L., and Frank, R. Development of a new biochip platform technology for the automated recognition and validation of peptide-protein-interactions. (Epton, R., ed.) *Solid Phase Synthesis and Combinatorial Libraries*. Kingswinford, UK: Mayflower Worldwide Ltd.; 2004; pp. 35-38.
 - Bialek, K.; Swistowski, A., and Frank, R. Peptide and protein repertoires for global analysis of modules. (G. Cesareni, M. Gimona M. Sudol M. Yaffe eds.) *Modular Protein Domains*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag; 2004; pp. 409-438.
 - Buss, H.; Dörrie, A.; Schmitz, L. M.; Frank, R.; Livingstone, M.; Resch, K., and Kracht, M. Phosphorylation of serine 468 by GSK-3 β negatively regulates basal p65 NF- κ B activity. **Journal of Biological Chemistry**. 2004; **279**:49571-49574.
 - Dikmans, A. J.; Morr, M.; Zander, N.; Adler, F.; Türk, G., and Frank, R. A new compact disc format of high density array synthesis applied to peptide nucleic acids and in situ MALDI analysis. **Molecular Diversity**. 2004; **8**:197-207.
 - Doll, C. and Eichler, J. Synthesis of scaffolded peptides by solid-phase fragment condensation. (Epton, R., ed.) *Solid Phase Synthesis and Combinatorial Chemical Libraries*. Birmingham, UK: Mayflower Scientific Ltd.; 2004; pp. 217-220.
 - Eberhardt, M. O.; Frank, R.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Defining the antigenic structure of human GM-CSF and its implication to receptor interaction and therapeutic treatments. **Molecular Diversity**. 2004; **8**:257-269.
 - Eberhardt, M. O.; Frank, R.; Kratje, R., and Etcheverrigaray, M. GM-CSF epitope analysis using a panel of monoclonal antibodies. (Jonas, R.; Pandey A.; Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 250-254.
 - Ehinger, S.; Schubert, W.-D.; Bergmann, S.; Hammerschmidt, S., and Heinz, D. W. Plasmin(ogen)-binding alpha-enolase from *Streptococcus pneumoniae*: crystal structure and evaluation of plasmin(ogen)-binding sites. **Journal of Molecular Biology**. 2004; **343**:997-1005.
 - Eichler, R. Rational and random strategies for the mimicry of discontinuous protein binding sites. **Protein Peptide Letters**. 2004; **11(4)**:281-290.
 - Frank, R. Funktionelle und chemische Genomik: Kleine Moleküle kommen ganz groß raus. **GenomXpress**. 2004; **2**:14-15.
- Frank, R. High-density synthetic peptide arrays. **Molecular Diversity**. 2004; **8**:175-176.
- Franke, R.; Doll, C.; Wray, V., and Eichler, J. Loops on loops: generation of complex scaffolded peptides presenting multiple cyclic fragments. **Organic and Biomolecular Chemistry**. 2004; **2**:2847-2851.
 - He, F.; Ma, H.; Zhao, X.-M.; Yuan, Y.-J., and Zeng, A.-P. Progress and perspective in the application of bioinformatics for the analysis of metabolic networks. **Journal of Chemical and Industrial Engineering (China)**. 2004; **55**:1593-1601.
 - Hirsch, T.; Franke, R., and Eichler, J. Mimicking discontinuous protein binding sites: synthesis tools and protein targets. (Epton, R., ed.) *Solid Phase Synthesis and Combinatorial Chemical Libraries*. Birmingham, UK: Mayflower Scientific Ltd.; 2004; pp. 159-162.
 - Hultschig, C. and Frank, R. Multiplexed sorting of libraries versus libraries empirical protein design by affinity-driven phage enrichment on synthetic peptide arrays. **Molecular Diversity**. 2004; **8**:231-245.
 - Hultschig, C.; Hecht, H.-J., and Frank, R. Systematic delineation of a calmodulin peptide interaction. **Journal of Molecular Biology**. 2004; **343**:559-568.

- Humphray, S. J.; Oliver, K.; Hunt, A. R.; Plumb, R. W.; Loveland, J. E.; Howe, K. L.; Andrews, T. D.; Searle, S.; Hunt, S. E.; Scott, C. E.; Jones, M. C.; Winscough, R.; Almeida, J. P.; Ambrose, K. D.; Ashwell, R. I. S.; Babbage, A. K.; Babbage, S.; Bagguley, C. L.; Bailey, J.; Banerjee, R.; Barker, D. J.; Barlow, K. F.; Bates, K.; Beasley, H.; Beasley, O.; Bird, C. P.; Bray-Allen, S.; Brown, A. J.; Brown, J. Y.; Burford, D.; Burrill, W.; Burton, J.; Carder, C.; Carter, N. P.; Chapman, J. C.; Chen, Y.; Clarke, G.; Clark, S. Y.; Clee, C. M.; Clegg, S.; Collier, R. E.; Corby, N.; Crosier, M.; Cummings, A. T.; Davies, J.; Dhami, P.; Dunn, M.; Dutta, I.; Dyer, L. W.; Earthrwl, M. E.; Faulkner, L.; Fleming, C. J.; Frankish, A.; Frankland, J. A.; French, L.; Fricker, D. G.; Garner, P.; Garnett, J.; Ghorji, J.; Gilbert, J. G. R.; Glison, C.; Grafham, D. V.; Gribble, S.; Griffiths, C.; Griffiths-Jones, S.; Grocock, R.; Guy, J.; Hall, R. E.; Hammond, S.; Harley, J. L.; Harrison, E. S. I.; Hart, E. A.; Heath, P. D.; Henderson, C. D.; Hopkins, B. L.; Howard, P. J.; Howden, P. J.; Huckle, E.; Johnson, C.; Johnson, D.; Joy, A. A.; Kay, M.; Keenan, S.; Kershaw, J. K.; Kimberley, A. M.; King, A.; Knights, A.; Laird, G. K.; Langford, C.; Lawlor, S.; Leongamornlert, D. A.; Leversha, M.; Lloyd, C.; Lloyd, D. M.; Lovell, J.; Martin, S.; Mashreghi-Mohammadi, M.; Matthews, L.; McLaren, S.; McLay, K. E.; McMurray, A.; Milne, S.; Nickerson, T.; Nisbett, J.; Nordstiek, G.; Pearce, A. V.; Peck, A. I.; Porter, K. M.; Pandian, R.; Pelan, S.; Phillimore, B.; Povey, S.; Ramsey, Y.; Rand, V.; Scharfe, M.; Sehra, H. K.; Shownkeen, R.; Sims, S.; Skuce, C. D.; Smith, M.; Steward, C. A.; Swarbreck, D.; Sycamore, N.; Tester, J.; Thorpe, A.; Tracey, A.; Tromans, A.; Thomas, D. W.; Wall, M.; Wallis, J. M.; West, A. P.; Whitehead, S. L.; Willey, D. L.; Williams, S. A.; Wilming, L.; Wray, P. W.; Young, L.; Ashurst, J. L.; Coulson, A.; Blöcker, H.; Durbin, R. J.; Sulston, E.; Hubbard, T.; Jackson, M. J.; Bentley, D. R.; Beck, S.; Rogers, J., and Dunham, I. DNA sequence and analysis of human chromosome 9. **Nature**. 2004; **429**:369-374.
- Imaz, M. S.; Comini, M. A.; Zerbini, E.; Sequeira, M. D.; Latini, O.; Claus, J. D., and Singh, M. Evaluation of commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of tuberculosis in Argentinian population. **Journal of Clinical Microbiology**. 2004; **42**:884-887.
- Jaeger, T.; Budde, H.; Flohé, L.; Menge, U.; Singh, M.; Trujillo, M., and Radi, R. Multiple thioredoxin-mediated routes to detoxify hydroperoxides in Mycobacterium tuberculosis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 2004; **423**(1):182-191.
- Jahn, D.; Moser, J.; Schubert, W.-D., and Heinz, D. W. Transfer RNA-dependent aminolevulinic acid formation: structure and function of glutamyl-tRNA synthase, reductase and glutamate-1-semialdehyde-2,1-aminomutase. Chlorophylls. Boca Raton: CRC Press; 2004; pp. 1257-1269.
- Kauer, G. and Blöcker, H. Analysis of disturbed images. **Bioinformatics**. 2004; **20**:1381-1387.
- Lara, M.; Sevin-Gonzalez, L.; Singh, M.; Moreno, C.; Cohen, I.; Nimtz, M., and Espitia, C. Expression, secretion, and glycosylation of the 45- and 47-kDa glycoprotein of Mycobacterium tuberculosis in Streptomyces lividans. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**:679-685.
- Layer, G.; Heinz, D. W.; Jahn, D., and Schubert, W.-D. Structure and function of radical SAM enzymes. **Current Opinion in Chemical Biology**. 2004; **8**:468-476.
- Ma, H.-W.; Buer, J., and Zeng, A.-P. Hierarchical structure and modules in the Escherichia coli transcriptional regulatory network revealed by a new top-down approach. **BMC Bioinformatics**. 2004; **5**:199.
- Ma, H.-W.; Kumar, B.; Ditzges, U.; Gunzer, F.; Buer, J., and Zeng, A. P. An extended transcriptional regulatory network of Escherichia coli and analysis of its hierarchical structure and network motifs. **Nucleic Acids Research**. 2004; **32**:6643-6649.
- Ma, H.-W.; Zhao, X.-M.; Yuan, Y.-J., and Zeng, A.-P. Decomposition of metabolic network based on the global connectivity structure of reaction graph. **Bioinformatics**. 2004; **20**:1870-1876.
- MacAry, P. A.; Javid, B.; Floto, R. A.; Smith, K. G.; Oehlmann, W.; Singh, M., and Lehner, P. J. HSP70 peptide binding mutants separate antigen delivery from dendritic cell stimulation. **Immunity**. 2004; **20**:95-106.
- Rampon, C.; Prandini, M.-H.; Bouillot, S.; Pointu, H.; Tillet, E.; Frank, R.; Vernet, M., and Huber, P. Protocadherin 12 (VE-cadherin) is expressed in endothelial trophoblast and mesangial cells and is dispensable for normal mouse development. **Experimental Cell Research**. 2004; **302**:48-60.
- Sängler, C.; Busche, A.; Bentien, G.; Spallek, R.; Jonas, F.; Böhle, A.; Singh, M., and Brandau, S. Immunodominant PstSI antigen of Mycobacterium tuberculosis is a potent biological response modifier for the treatment of bladder cancer. **BMC Cancer**. 2004; **4**:86(e).
- Scheller, J.; Kovaleva, M.; Rabe, B.; Eichler, J.; Kallen, K. J., and Rose-John, S. Development of a monoclonal antibody-based immuno-absorbent assay for the binding of gp130 to the IL-6/IL-6R complex and its competitive inhibition. **Journal of Immunological Methods**. 2004; **291**(1-2):93-100.
- Schiller, D.; Rübner, R.; Krämer, R., and Morbach, S. The C-terminal domain of the betaine carrier BetP of Corynebacterium glutamicum is directly involved in sensing K⁺ as an osmotic stimulus. **Biochemistry**. 2004; **43**:5583-5591.
- Sun, J.; Daniel, R.; Wagner-Döbler, I., and Zeng, A.-P. Is auto-inducer-2 a universal signal for interspecies communication? A comparative and phylogenetic genomic analysis of the synthesis and signal transduction pathways. **BMC Evolutionary Biology**. 2004; **4**:36.
- Sun, J. and Zeng, A.-P. IdentCS – Identification of coding sequence and in silico reconstruction of the metabolic network directly from unannotated low-coverage bacterial genome sequence. **BMC Bioinformatics**. 2004; **5**:112.
- Taylor, M. S.; Okwuchukwuasanya, C.; Nickl, C. K.; Tegge, W.; Brayden, J. E., and Dostmann, W. R. G. Inhibition of cGMP-dependent protein kinase by the cell-permeable peptide DT-2 reveals a novel mechanism of vasoregulation. **Molecular Pharmacology**. 2004; **65**(5):1111-1119.
- The International Chimpanzee Chromosome 22 Consortium: Watanabe, H.; Fujiyama, A.; Hattori, M.; Taylor, T. D.; Toyoda, A.; Kuroki, Y.; Noguchi, H.; BenKahla, A.; Lehrach, H.; Sudbrak, R.; Kube, M.; Taenzer, S.; Galgoczy, P.; Platzer, M.; Scharfe, M.; Nordstiek, G.; Blöcker, H.; Hellmann, I.; Khaïtovich, P.; Pääbo, S.; Reinhardt, R.; Zheng, H.-J.; Zhang, X.-L.; Zhu, G.-F.; Wang, B.-F.; Fu, G.; Ren, S.-X.; Zhao, G.-P.; Chen, Z.; Lee, Y.-S.; Cheong, J.-E.; Choi, S.-H.; Wu, K.-M.; Liu, T.-T.; Hsiao, K.-J.; Tsai, S.-F.; Kim, C.-G.; Oota, S.; Kitano, T.; Kohara, Y.; Saitou, N.; Park, H.-S.; Wang, S.-Y.; Yaspo, M.-L., and Sakaki, Y. DNA sequence and comparative analysis of chimpanzee chromosome 22. **Nature**. 2004; **429**:382-388.
- Varfolomeyev, S.; Efremenko, E.; Beletskaya, I.; Bertini, I.; Blackburn, G. M.; Bogdanov, A.; Cunin, R.; Eichler, J.; Galaev, I.; Gladyshev, V.; O'Hagan, D.; Haertle, T.; Jarv, J.; Karyakin, A.; Kurochkin, I.; Mikolajczyk, M.; Poroikov, V.; Sakharov, I.; Spener, F.; Voyer, N., and Wild, J. Post-genomic chemistry. **Pure and Applied Chemistry**. 2004; **76**(11):1985-1999.
- Williams, A.; Reljic, R.; Naylor, I.; Clark, S. O.; Falero-Diaz, G.; Singh, M.; Challacombe, S.; Marsh, P. D., and Ivanyi, J. Passive protection with immunoglobulin A antibodies against tuberculous early infection of the lungs. **Immunology**. 2004; **113**:328-333.
- Xiu, Z.-L.; Song, B.-H.; Wang, Z.-T.; Sun, L.-H.; Feng, E.-M., and Zeng, A.-P. Optimization of dissimilation of glycerol to 1,3-propanediol by Klebsiella pneumoniae in one- and two-stage anaerobic cultures. **Biochemical Engineering Journal**. 2004; **19**:189-197.
- Zeng, A.-P. and Kim, E.-J. Iron availability, oxygen limitation, Pseudomonas aeruginosa and cystic fibrosis. **Microbiology Comment**. 2004; **150**:516-518.
- Zhou, J.; Schmid, T.; Frank, R., and Brüne, B. PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor 1alpha from pVHL-independent degradation. **The Journal of Biological Chemistry**. 2004; **279**(14):13506-13513.

Nachhaltige Nutzung von Landschaften – 2004

- Abraham, W.-R.; Strömpl, C.; Vancanneyt, M.; Bennasar, A.; Swings, J.; Smit, J., and Moore, E. R. B. *Woodsholea maritima* gen. nov., sp. nov., a marine bacterium with a low diversity of polar lipids. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:1227-1234
- Abou-Zeid, D. M.; Biebl, H.; Spröer, C., and Müller, R.-J. *Propionispora hippei* sp. nov., a novel Gram-negative, spore-forming anaerobe that produces propionic acid. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:951-954.
- Asolkar, R. N.; Heckmann, R.; Lang, S.; Wagner-Döbler, I., and Laatsch, H. Marine bacteria, XXVII: Helquinoline, a new tetrahydroquinoline antibiotic from *Janibacter limosus* Hel 1. **Journal of Antibiotics**. 2004; **57**:17-23.
- Brettar, I.; Christen, R., and Höfle, M. G. *Aquiflexum balticum* gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides group isolated from surface water of the central Baltic Sea. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:2335-2341.
- Brettar, I.; Christen, R., and Höfle, M. G. *Belliella baltica*, sp. nov., a novel marine bacterium of the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides group isolated from surface water of the central Baltic Sea. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:65-70.
- Bruemmer, I. H. M.; Felske, A. D. M., and Wagner-Döbler, I. Diversity and seasonal changes of uncultured Planctomycetales in river biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**(9):5094-5101.
- Chávez, F. P.; Lünsdorf, H., and Jerez, C. A. Growth of polychlorinated-biphenyl-degrading bacteria in the presence of biphenyl and chlorobiphenyls generates oxidative stress and massive accumulation of inorganic polyphosphate. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**(5):3064-3072.
- Comini, M. A.; Guerrero, S. A.; Haile, S.; Menge, U.; Lünsdorf, H., and Flohé, L. Validation of *Trypanosoma brucei* trypanothione synthetase as drug target. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 2004; **36**:1289-1302.
- Cámara, B.; Herrera, C.; González, M.; Couve, E.; Hofer, B., and Seeger, M. From PCBs to highly toxic metabolites by the biphenyl pathway. **Environmental Microbiology**. 2004; **6**(8):842-850.
- Deckwer, W.-D.; Becker, F. U.; Ledakowicz, S., and Wagner-Döbler, I. Microbial removal of ionic mercury in a three-phase fluidized bed reactor. **Environmental Science and Technology**. 2004; **38**:1858-1865.
- Eichler, S.; Weinbauer, M. G.; Dominik, D., and Höfle, M. G. Extraction of total RNA and DNA from bacterioplankton. (Akkermans, A. D. L., van Elsas J. D., de Bruijn F. J., eds.) *Molecular Microbial Ecology Manual*. 2nd edition Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publisher; 2004; pp. 103-120.
- Elnakady, Y. A.; Sasse, F.; Lünsdorf, H., and Reichenbach, H. Disorazol A1, a highly effective antimetabolic agent acting on tubulin polymerization and inducing apoptosis in mammalian cells. **Biochemical Pharmacology**. 2004; **67**:927-935.
- Ferrer, M.; Chernikova, T. N.; Timmis, K. N., and Golyshin, P. N. Heterologous expression of heat-sensitive psychrophilic esterase in *E. coli* grown at low temperatures. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**(8):4499-4504.
- Ferrer, M.; Lünsdorf, H.; Chernikova, T. N.; Yakimov, M.; Golyshin, P., and Timmis, K. N. Functional consequences of single:double ring transitions in chaperonins: life in the cold. **Molecular Microbiology**. 2004; **53**:167-182.
- Fey, A.; Eichler, S.; Flavie, S.; Christen, R.; Höfle, M. G., and Guzmán, C. A. Development of a real-time PCR-based approach for accurate quantification of bacterial RNA targets in water, using *Salmonella* as a model organism. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**:3618-3623.
- Fritz, I.; Strömpl, C., and Abraham, W.-R. Phylogenetic relationships of the genera *Stella*, *Labrys* and *Angulomicrobium* within the "Alphaproteobacteria" and description of *Angulomicrobium amanitifforme* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:651-657.
- Göbel, M.; Kranz, O. H.; Kaschabek, S. R.; Schmidt, E.; Pieper, D. H., and Reineke, W. Microorganisms degrading chlorobenzene via ameta-cleavage pathway harbor highly similar chlorocatechol-2,3-dioxygenase-encoding gene clusters. **Archives of Microbiology**. 2004; **182**:147-156.
- Hahn, M. W.; Lünsdorf, H., and Janke, L. Exopolymer production and microcolony formation play an important role in protistan grazing defense of novel bacterial strains isolated from freshwater plankton. **Aquatic and Microbial Ecology**. 2004; **35**:297-308.
- Heyman, J.; Vanparys, B.; Logan, N. A.; Balcaen, A.; Rodriguez-Diaz, M.; Felske, A., and De Vos, P. *Bacillus novalis* sp. nov. *Bacillus vireti* sp. nov. *Bacillus soli* sp. nov., *Bacillus bataviensis* sp. nov. and *Bacillus drentensis* sp. nov. five new species isolate from the Drentse A grasslands. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:47-57.
- Höfle, M. G. Genotyping of bacterial isolates from the environment using low-molecular-weight RNA fingerprints. Akkermans, A. D. L. van Elsas J. D. de Bruijn F. J. *Molecular Microbial Ecology Manual*. 2nd ed. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publisher; 2004; pp. 587-610.
- Ivanova, E. P.; Flavie, S., and Christen, R. Phylogenetic relationship among marine Alteromonas-like Proteobacteria: emended description of the family Alteromonadaceae and proposal of Pseudoalteromonadaceae fam. nov., Colwelliaceae fam. nov., Shewanellaceae fam. nov., Moritellaceae fam. nov., Ferrimonadaceae fam. nov., Idiomarinaceae fam. nov., and Psychromonadaceae fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:1773-1788.
- Junca, H. and Pieper, D. H. Functional gene diversity analysis in BTEX contaminated soils by means of PCR-SSCP DNA fingerprinting: comparative diversity assessment against bacterial isolates and PCR-DNA clone libraries. **Environmental Microbiology**. 2004; **6**:95-110.
- Junca, H.; Plumeier, I.; Hecht, H. J., and Pieper, D. H. Difference in kinetic behavior of catechol 2,3-dioxygenase variants from a polluted environment. **Microbiology-SGM**. 2004; **150**:4181-4187.



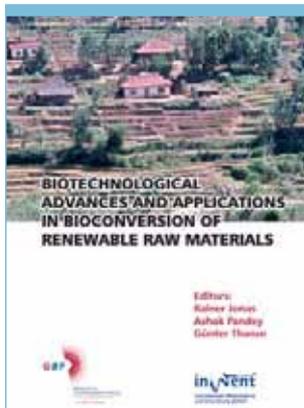
- Titelbild der Zeitschrift *Molecular Microbiology*, Vol. 52(3), 2004, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Schwarz-linek, U.; Hook, M. und Potts, J. R. *The molecular basis of fibronectin-mediated bacterial adherence to host cells*. Das Foto des Titelbildes wurde von Dr. M. Rohde, GBF, erstellt und bezieht sich auf den erwähnten Aufsatz. **Molecular Microbiology**. 2004; **52**(3):631-641. Mit freundlicher Genehmigung des Blackwell Publishing Verlags.

- Kotsyurbenko, O. R.; Chin, K. J.; Glagolev, M. V.; Stubner, S.; Simankova, M. V.; Nozhevnikova, A. N., and Conrad, R. Acetogenic and hydrogenotrophic methane production and methanogenic populations in an acidic West-Siberian peat bog. **Environmental Microbiology**. 2004; **6(11)**:1159-1173.
- Labrenz, M.; Brettar, I.; Flavier, S.; Christen, R.; Bötzel, J., and Höfle, M. G. Development and application of a real-time PCR approach for the detection and quantification of an uncultured *Thiomicrospira denitrificans*-like bacterium in the central Baltic Sea using environmental nucleic acids as external standards. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**:4971-4979.
- Nikitin, D.; Strömpl, C.; Oranskaya, M. S., and Abraham, W.-R. Phylogeny of the ring-forming bacterium *Arcicella aquatica* gen. et sp. nov. (ex Nikitin et al. 1994) from a freshwater neuston. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:681-684.
- Ott, S. J.; Musfeldt, M.; Wenderoth, D.; Hampe, J.; Brant, O.; Filsch, U. R.; Timmis, K. N., and Schreiber, S. Reduction in diversity of the colonic mucosa-associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. **GUT**. 2004; **53**:685-693.
- Pauling, B. V.; Kroer, N., and Wagner-Döbler, I. Effect of selective pressure and GEM densities on mercury resistance (*mer*) operon transfer in Elbe river and estuarine sediments. **Environmental Practice**. 2004; **6**:68-82.
- Pieper, D. H.; Martins dos Santos, V. A. P., and Golyshin, P. N. Genomic and mechanistic insights into the biodegradation of organic pollutants. **Current Opinion in Biotechnology**. 2004; **15**:215-224.
- Pieper, D. H. and Reineke, W. Degradation of chloroaromatics by *Pseudomonas*(s). (J. L. Ramos, ed.) *The Pseudomonads* Vol. III. *Biosynthesis of Macromolecules and Molecular Metabolism*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2004; pp. 509-574.
- Pradella, S.; Allgaier, M.; Hoch, C.; Päuker, O.; Stackebrandt, E., and Wagner-Döbler, I. The *puFLM* genes of the photosynthesis reaction centre may be located on linear/circular plasmids in marine Alphaproteobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**:3360-3369.
- Ramm, W.; Schatton, W.; Wagner-Döbler, I.; Wray, V.; Nimtz, M.; Tokuda, H.; Enjyo, F.; Nishino, H.; Beil, W.; Heckamnn, R.; Lurtz, V., and Lang, S. Diglycosyl-glycerolipids from a marine sponge-associated *Bacillus pumilus* strain AAS3: their production, enzymatic modification and properties. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 2004; **64**:497-504.
- Römmling, U. and Lünsdorf, H. Characterization of cellulose produced by *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **Cellulose**. 2004; **11**:413-418.
- Soler, L.; Yáñez, M. A.; Chacon, M. R.; Aguilera-Arreola, M. G.; Catalan, V.; Figueras M.J., and Martínez-Murcia, A. J. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:1511-1519.
- Sun, J.; Daniel, R.; Wagner-Döbler, I., and Zeng, A.-P. Is auto-inducer-2 a universal signal for interspecies communication? A comparative and phylogenetic genomic analysis of the synthesis and signal transduction pathways. **BMC Evolutionary Biology**. 2004; **4**:36.
- Wagner-Döbler, I.; Rheims, H.; Felske, A.; El-Ghezal, A.; Laatsch, H.; Lang, S.; Pukall, R., and Tindall, B. J. *Oceanibulbus indolifex*, gen. nov., sp. nov., a North sea Alphaproteobacterium producing bioactive metabolites. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:1177-1184.
- Yakimov, M. M.; Gentile, G.; Bruni, V.; Capello, S.; D'Auria, G.; Golyshin, P. N., and Giuliano, L. Crude oil-induced structural shift of coastal bacterial communities of Rod Bay (Terra Nova Bay, Ross Sea, Antarctica) and characterization of cultured cold-adapted hydrocarbonoclastic bacteria. **FEMS Microbiology and Ecology**. 2004; **49(3)**:419-432.
- Yakimov, M. M.; Giuliano, L.; Denaro, R.; Cristafi, E.; Chernikova, T.; Abraham, W.-R.; Luensdorf, H.; Timmis, K. N., and Golyshin, P. N. *Thalassolituus oleivorans*, gen. nov. sp. nov., and new marine bacterium confined to the utilization of hydrocarbons. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2004; **54**:141-148.

Technologische Plattformen – 2004

- Aydogmus, Z.; Imre, S.; Ersoy, L., and Wray, V. Halogenated secondary metabolites from *Laurencia optusa*. **Natural Product Research**. 2004; **18(1)**:43-49.
- Duvar, S.; Hecht, V., and Ziehr, H. Biopharmazeutika-Produktion mit tierischen Zellen. **Laborwelt**. 2004; **5**:12-14.
- Ehrhardt, S.; Rittig, F.; Vogel, M.; Wray, V., and Skeries, B. Sucrosyl-(1 \Rightarrow 2)- β -isomaltulose: Enzymatic synthesis and structure determination. **Journal of Carbohydrate Chemistry**. 2004; **23(2&3)**:163-168.
- Forno, G.; Fogolin, M. B.; Oggero, M.; Kratje, R.; Etcheverrigaray, M.; Conradt, H. S., and Nimtz, M. N- and O-linked carbohydrates and glycosylation site occupancy in recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor secreted by a chinese hamster ovary cell line. **European Journal of Biochemistry**. 2004; **271**:907-919.
- Fouad, M.; Al-Traben, K.; Badran, M.; Wray, V.; Edrada, R.; Proksch, P., and Ebel, R. New steroidal saponins from the sponge *Erylus lendenfeldi*. **ARKIVOC**. 2004; **8**:17-27.
- Franke, R.; Doll, C.; Wray, V., and Eichler, J. Loops on loops: generation of complex scaffolded peptides presenting multiple cyclic fragments. **Organic and Biomolecular Chemistry**. 2004; **2**:2847-2851.
- Hassan, W.; Edrada, R. A.; Ebel, R.; Berg, A.; Wray, V.; Steube, K.; van Soest, R.; Wiryowidagdo, S., and Proksch, P. New imidazole alkaloids from Indonesian sponge *Leucetta chagosensis*. **Journal of Natural Products**. 2004; **67**:817-822.
- Hassan, W.; Edrada, R. A. Ebel R.; Wray, V., and Proksch, P. New alkaloids from the mediterranean sponge *Hamigera hamigera*. **Marine Drugs**. 2004; **2**:88-100.
- Hiort, J.; Maksimenka, K.; Reichert, M.; Perovic-Ottstadt, S.; Lin, W. H.; Wray, V.; Steube, K.; Schaumann, K.; Weber, H.; Proksch, P.; Ebel, R.; Müller, W. E. G., and Bringmann, G. New natural products from the sponge-derived fungus *Aspergillus niger*. **Journal of Natural Products**. 2004; **67**:1532-1543.
- Jadulco, R.; Edrada, R. A.; Ebel, R.; Berg, A.; Schaumann, K.; Wray, V.; Steube, K., and Proksch, P. New communesin derivatives from the fungus *Penicillium* sp. derived from the mediterranean sponge *Axinella verrucosa*. **Journal of Natural Products**. 2004; **67**:78-81.
- Lara, M.; Sevin-Gonzalez, L.; Singh, M.; Moreno, C.; Cohen, I.; Nimtz, M., and Espitia, C. Expression, secretion, and glycosylation of the 45- and 47-kDa glycoprotein of *Mycobacterium tuberculosis* in *Streptomyces lividans*. **Applied and Environmental Microbiology**. 2004; **70**:679-685.
- Pedpradab, S.; Edrada, R.-A.; Ebal, R.; Wray, V., and Proksch, P. New β -carboline alkaloids from the Andaman sea sponge, *Drummacidon* sp. **Journal of Natural Products**. 2004; **67**:2113-2116.
- Ramm, W.; Schatton, W.; Wagner-Döbler, I.; Wray, V.; Nimtz, M.; Tokuda, H.; Enjyo, F.; Nishino, H.; Beil, W.; Heckamnn, R.; Lurtz, V., and Lang, S. Diglycosyl-glycerolipids from a marine sponge-associated *Bacillus pumilus* strain AAS3: their production, enzymatic modification and properties. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 2004; **64**:497-504.

- Santamaria-Araujo, J. A.; Fischer, B.; Otte, T.; Nimtz, M.; Mendel, R. R.; Wray, V., and Schwarz, G. The tetrahydropyranopterin structure of the sulfur-free and metal-free molybdenum cofactor precursor. **The Journal of Biological Chemistry**. 2004; **279(16)**:15994-15999.
- Schultz, A.; Laschat, S.; Saipa, A.; Gießelmann, F.; Nimtz, M.; Schulte, J. L.; Baro, A., and Miehlich, B. Columnar liquid crystals with a central crown ether unit. **Advanced Functional Materials**. 2004; **14(2)**:163-168.
- Schwarz, M.; Wray, V., and Winterhalter, P. Isolation and identification of novel pyranoanthocyanins from black carrot (*Daucus carota* L.) juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2004; **52**:5095-5101.
- Wang, B.-G.; Ebel, R.; Wang, C.-Y.; Edrada, R. A.; Wray, V., and Proksch, P. Aglacins I-K, three highly methoxylated lignans from *Aglaia cordata*. **Journal of Natural Products**. 2004; **67**:682-685.



- Titelbild des Buches *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Herausgeber: Rainer Jonas, Ashok Pandey und Günter Tharun. GBF/InWEnt, Döring Druck Braunschweig. 2004, 312 Seiten. Mit freundlicher Genehmigung der Herausgeber.

Bioverfahrenstechnik – 2004

- Duvar, S.; Hecht, V., and Ziehr, H. Biopharmazeutika-Produktion mit tierischen Zellen. **Laborwelt**. 2004; **5**:12-14.
- Fogolin, M. B.; Wagner, R.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Impact of temperature reduction and expression of yeast pyruvate carboxylase on hGM-CSF-producing CHO cells. **Journal of Biotechnology**. 2004; **109**:179-191.
- Hoffmann, F. and Rinas, U. Roles of heat-shock chaperones in the production of recombinant proteins in *Escherichia coli*. **Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology**. 2004; **89**:143-161.
- Hoffmann, F. and Rinas, U. Stress induced by recombinant protein production in *Escherichia coli*. **Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology**. 2004; **89**:73-92.
- Hoffmann, F.; van den Heuvel, J.; Zidek, N., and Rinas, U. Minimizing inclusion body formation during recombinant protein production in *Escherichia coli* at bench and pilot plant scale. **Enzyme and Microbial Technology**. 2004; **34**:235-241.
- Lin, H.; Hoffmann, F.; Rozkov, A.; Enfors, S.-O.; Rinas, U., and Neubauer, P. Change of extracellular cAMP concentration is a sensitive reporter for bacterial fitness in high cell density cultures of *Escherichia coli*. **Biotechnology and Bioengineering**. 2004; **87**:602-613.
- Rinas, U. and Hoffmann, F. Selective leakage of host cell proteins during high-cell density cultivation of recombinant and non-recombinant *Escherichia coli*. **Biotechnology Progress**. 2004; **20**:679-687.
- Ross, A.; Kessler, W.; Krumme, D.; Menge, U.; Wissing, J.; van den Heuvel, J., and Flohé, L. Optimised fermentation strategy for 13C/15N recombinant protein labelling in *Escherichia coli* for NMR-structure analysis. **Journal of Biotechnology**. 2004; **108**:31-39.
- Sabra, W. A.; Ross, A., and Jonas, R. Alginate versus PHB production by the diazotrophic growing culture of *Azotobacter chroococcum*. (Jonas, R.; Pandey A., Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 309-311.
- Santiago, W. Jr.; Rosa da Silva, M.; Müller, M.; Hawumba, J. F.; Krützfeld, R., and Ross, A. Optimal control and downstream processing aspects of penicillin-G-acylase production using high cell density cultivation. (Jonas, R.; Pandey A., and Tharun, G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 281-286.
- Vallejo, F. and Rinas, U. Optimized procedure for renaturation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 at high protein concentration. **Biotechnology and Bioengineering**. 2004; **85**:601-609.
- Vallejo, L. F. and Rinas, U. Strategies for the recovery of active proteins through refolding of bacterial inclusion body proteins. **Microbial Cell Factories**. 2004; **3**:11:doi:10.1186/1475-2859-3-11.

Andere Forschungsfelder – 2004

- Carvalho-Jonas, M. F.; Schneider, A. L. S.; Furlan, S. A., and Jonas, R. Characterization of the β -D-galactosidase of *Kluyveromyces marxianus* CDB 002. (Jonas, R.; Pandey A.; Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 139-146.
- Jonas, R.; Pandey, A., and Tharun, G., Editors. *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 1-312.
- Jonas, R. and Silveira, M. M. Sorbitol can be produced not only chemically but also biotechnologically. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 2004; **118**:321-336.
- Kern, M. and Jonas, R. Aspects of the future of agrotechnologies. (Jonas, R.; Pandey A.; Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 38-50.
- Sabra, W. A.; Ross, A., and Jonas, R. Alginate versus PHB production by the diazotrophic growing culture of *Azotobacter chroococcum*. (Jonas, R.; Pandey A.; Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 309-311.
- Schneider, A. L. S.; Gern, R. M. M.; Ninow, J. L.; Furlan, S. A., and Jonas, R. Characterization of microbial inulinases. (Jonas, R.; Pandey A.; Tharun G., eds.) *Biotechnological Advances and Applications in Bioconversion of Renewable Raw Materials*. Braunschweig, Germany: Döring Druck; 2004; pp. 128-132.

Veröffentlichungen 2005

Infektion and Immunität – 2005

- Bauer, H.; Darji, A.; Chakraborty, T., and Weiss, S. Salmonella-mediated oral DNA vaccination using stabilised eukaryotic expression plasmids. **Gene Therapy**. 2005; **12**:364-372.
- Beer, C.; Pedersen, L., and Wirth, M. Amphotropic mouse leukaemia virus envelope protein is associated with cholesterol-rich domains. **Virology Journal**. 2005; **2**:36 (eJ).
- Bollati Fogolin, M.; Forno, G.; Nimtz, M.; Conradt, H.; Etcheverrigaray, M., and Kratje, R. Temperature reduction in cultures of hGM-CSF-expressing CHO cells: effect on productivity and product quality. **Biotechnology Progress**. 2005; **21**(1):17-21.
- Bollati Fogolin, M.; Irani, N.; Beccaria, A. J.; Schulz, C.; van den Heuvel, J.; Elias, C. B.; Carpentier, E.; Durocher, Y.; Bisson, L.; Etcheverrigaray, M.; Kratje, R. B.; Wirth, M.; Kamen, A., and Wagner, R. Impact of yeast pyruvate carboxylase on the productivity of animal host cell lines. Godia, F. Fussenegger M. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht: Springer, The Netherlands; 2005; pp. 87-89.
- Chandrasekar, I.; Stradal, T. E. B.; Holt, M. R.; Entschladen, F.; Jockusch, B. M., and Ziegler, W. H. Vinculin acts as a sensor in lipid regulation of adhesion-site turnover. **Journal of Cell Science**. 2005; **118**:1461-1472.
- Dikopoulos, N.; Bertolotti, A.; Kröger, A.; Hauser, H.; Schirmbeck, R., and Reimann, J. Type I interferon negatively regulates CD8+ T cell responses through IL-10-producing CD4+ TR1 cells. **Journal of Immunology**. 2005; **174**:99-109.
- Dubois, T.; Paleotti, O.; Mironov, A. A.; Fraissier, V.; Stradal, T. E. B.; De Matteis, M. A.; Franco, M., and Chavrier, P. Golgi-localized GAP for Cdc42 functions downstream of ARF1 to control Arp2/3 complex and F-actin dynamics. **Nature Cell Biology**. 2005; **7**(4):353-364.
- Eiting, M.; Hagelüken, G.; Schubert, W.-D., and Heinz, W.-D. The mutation G145S in PrfA, a key virulence regulator of *Listeria monocytogenes*, increases DNA-binding affinity by stabilizing the HTH-motif. **Molecular Microbiology**. 2005; **56**(2):433-446.
- Erck, C.; Peris, L.; Andrieux, A.; Meissirel, C.; Gruber, A. D.; Vernet, M.; Schweitzer, A.; Saoudi, Y.; Pointu, H.; Bosc, C.; Salin, P.; Job, D., and Wehland, J. A vital role of tubulin-tyrosine-ligase for neuronal organization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 2005; **102**:7853-7858.
- Friedl, P.; den Boer, A. T., and Gunzer, M. Tuning immune responses: diversity and adaptation of the immunological synapse. **Nature Reviews Immunology**. 2005; **5**(7):532-545.
- Gaitatzis, N.; Kunze, B., and Müller, R. Novel insights into siderophore formation in myxobacteria. **ChemBioChem**. 2005; **6**(2):365-374.
- Gerth, K. and Müller, R. Moderately thermophilic Myxobacteria: novel potential for the production of natural products isolation and characterization. **Environmental Microbiology**. 2005; **7**(6):874-880.
- Goetze, S.; Baer, A.; Winkelmann, S.; Nehlsen, K.; Seibler, J.; Maass, K., and Bode, J. Performance of genomic bordering elements at pre defined genomic loci. **Molecular and Cellular Biology**. 2005; **25**:2260-2272.
- Goldmann, O.; Chhatwal, G. S., and Medina, E. Contribution of NK cells to the pathogenesis of septic shock induced by *Streptococcus pyogenes* in mice. **Journal of Infectious Diseases**. 2005; **191**:1280-1286.
- Hansen, W.; Grabenhorst, E.; Nimtz, M.; Conradt, H. S., and Wirth, M. Generation of serum-stabilized mouse retroviruses: Reduction of alpha 1,3-galactosyltransferase synthesis in a murine packaging cell line by expression of chimeric glycosyltransferases. **Metabolic Engineering**. 2005; **7**(3):221-228.
- Heinz, D. W.; Schubert, W.-D., and Höfle, G. Lange gesucht – Die bioaktive Konformation von Epothilon und seine Bindung im Tubulin. **Angewandte Chemie**. 2005; **117**(9):1324-1327.
- Henklein, P.; Bruns, K.; Nimtz, M.; Wray, V.; Tessmer, U., and Schubert, W.-D. Influenza A virus protein PB1-F2: Synthesis and characterization of the biologically active full length protein and related peptides. **Journal of Peptide Science**. 2005; doi: 10.1002/psc.641.
- Höfle, G. and Reichenbach, H. *Epothilone, a myxobacterial metabolite with promising antitumor activity*. (Cragg, G.; Kingston, D.; Newman, D., eds) *Anticancer Agents from Natural Products*. Boca Raton, USA: CRC Press; 2005, 600 pp.
- Jenzora, A.; Behrendt, B.; Small, J. V.; Wehland, J., and Stradal, T. E. B. PREL1 links Ras signalling to actin remodeling via Ena/VASP proteins. **FEBS Letters**. 2005; **579**:455-463.
- Juhas, M.; Wiehlmann, L.; Salunkhe, P.; Lauber, J.; Buer, J., and Tummeler, B. Gene Chip expression analysis of the VqsR regulon of *Pseudomonas aeruginosa* TB. **FEMS Microbiology Letters**. 2005; **242**:287-295.
- Kayser, A.; Weber, J.; Hecht, V., and Rinas, U. Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: I. Growth rate dependent metabolic efficiency at steady state. **Microbiology**. 2005; **151**:693-706.
- Kuhlmeier, D.; Rodda, E.; Kolarik, L. O.; Furlong, D. N., and Bilitewski, U. Application of atomic force microscopy and grating coupler for the characterization of biosensor surfaces. **Biosensors & Bioelectronics**. 2005; **18**(7):925-936.
- Lechel, A.; Satyanarayana, A.; Ju, Z.; Plentz, R.; Schaezlein, S.; Rudolph, C.; Wilkens, L.; Wiemann, S. U.; Saretzki, G.; Malek, N. P.; Manns, M. P.; Buer, J., and Rudolph, K. L. The cellular level of telomere dysfunction determines induction of senescence or apoptosis in vivo. **EMBO Reports**. 2005; **6**:275-281.
- Lenz, T.; Gauer, S.; Weich, H. A.; Haak, T.; Bergner, R., and Gossmann, J. VEGF and Flt-1 are not correlated to EPO in diabetics with normal or reduced renal function. **Nephrology**. 2005; **10**(1):84-89.
- McMillan, D. and Chhatwal, G. S. Prospects for a group A streptococcal vaccine. **Current Opinion in Molecular Therapeutics**. 2005; **7**:11-16.
- Michalzik, M.; Wendler, J.; Rabe, J.; Büttgenbach, S., and Bilitewski, U. Development and application of a miniaturised quartz crystal microbalance (QCM) resonator as immunosensor for bone morphogenic protein-2. **Sensors and Actuators B**. 2005; **105**(2):508-515.
- Pust, S.; Morrison, H.; Wehland, J.; Sechi, A., and Herrlich, P. *Listeria monocytogenes* exploits ERM protein functions to efficiently spread from cell to cell. **EMBO Journal**. 2005; **24**:1287-1300.
- Rasmussen, U.; Schreiber, V.; Schultz, H.; Mischler, F., and Schughart, K. Tumor cell targeting by phage displayed peptides. **Cancer Gene Therapy**. 2005; **9**:606-612.
- Reichelt, J.; Dieterich, G.; Kvesic, M.; Schomburg, D., and Heinz, W. D. BRAF1. Linking and visualization of database information in a 3D-viewer and modelling tool. **Bioinformatics**. 2005; **21**:1291-1293.
- Retter, I.; Althaus, H. H.; Münch, R., and Müller, W. VBASE2, an integrative V gene database. **Nucleic Acids Research**. 2005; **33**:D671-D674.
- Rharbaoui, F.; Bruder, D.; Vidakovic, M.; Ebensen, T.; Buer, J., and Guzman, C. A. Characterization of a B220+ lymphoid cell subpopulation with immune modulatory functions. **Journal of Immunology**. 2005; **174**:1317-1324.

- Rottner, K.; Stradal, T. E. B., and Wehland, J. Bacteria - host cell interactions at the plasma membrane: stories on actin cytoskeleton subversion. **Developmental Cell**. 2005; **9**:3-17.
 - Salunkhe P.; Töpfer, T.; Buer, J., and Tümmler, B. Genome-wide transcriptional profiling of the steady state response of *Pseudomonas aeruginosa* to hydrogen peroxide. **Journal of Bacteriology**. 2005; **187**:2565-2572.
 - Schulze, K.; Goldmann, O.; Toppel, A.; Medina, E., and Guzmán, C. A. The FAI protein of group C streptococci targets B cells and exhibits adjuvant activity. **Vaccine**. 2005; **23**:1408-1413.
 - Stradal, T. E. B.; Lommel, S.; Wehland, J., and Rottner, K. Host-pathogen interactions and cell motility: learning from bacteria. (Wedlich, D., ed.) *Cell Migration in Development and Disease*. Weinheim: Wiley VCH Verlag; 2005; pp. 205-248.
 - Strassburger, M.; Bloch, W.; Sulyok, S.; Schüller, J.; Keist, A. F.; Schmidt, A.; Wenk, J.; Peters, T.; Wlaschek, M.; Krieg, T.; Hafner, M.; Kümin, A.; Werner, S.; Müller, W., and Scharffetter-Kochanek, K. Heterozygous deficiency of manganese superoxide dismutase results in severe lipid peroxidation and spontaneous apoptosis in murine myocardium in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**. 2005; **38(11)**:1458-1470.
 - Sun, J.; Gunzer, F.; Westendorf, A. M.; Buer, J.; Scharfe, M.; Gößling, F.; Blöcker, H., and Zeng, A. P. Genomic peculiarity of coding sequences and metabolic potential of probiotic *Escherichia coli* strain NISSLE 1917 inferred from raw genome data. **Journal of Biotechnology**. 2005; **117(2)**:147-161.
 - Trost, M.; Wehmhöner, D.; Kärst, U.; Dieterich, G.; Wehland, J., and Jänsch, L. Comparative proteome analysis of secretory proteins from pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. **Proteomics**. 2005; **5**:1544-1557.
 - Weber, J.; Kayser, A., and Rinas, U. Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: II. Dynamic response to famine and feast, activation of the methylglyoxal pathway and oscillatory behavior. **Microbiology**. 2005; **151**:707-716.
 - Wehmhöner, D.; Dieterich, G.; Fischer, E.; Baumgärtner, M.; Wehland, J., and Jänsch, L. "LaneSpector", a toll for membrane proteome profiling based on SDS-PAGE / LC-MS/MS analysis: Application to *Listeria monocytogenes* membrane proteins. **Electrophoresis**. 2005; **26**:2450-2460.
 - Wendler, J.; Vallejo, L. F.; Rinas, U., and Bilitewski, U. Application of an SPR-based receptor assay for the determination of biologically active recombinant bone morphogenetic protein-2. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 2005; **381(5)**:1056-1064.
 - Wenzel, S. C.; Kunze, B.; Höfle, G.; Silakowski, B.; Blöcker, H., and Müller, R. Structure and biosynthesis of myxochromides S in *Stigmatella aurantiaca*: Evidence for an iterative and stuttering bacterial type I polyketide synthase and for module skipping in nonribosomal peptide biosynthesis. **ChemBioChem**. 2005; **6(2)**:375-385.
 - Westendorf, A. M.; Gunzer, F.; Deppenmeier, S.; Tapadar, D.; Hunger, J. K.; Schmidt, M.; Buer, J., and Bruder, D. Intestinal immunity of *E. coli* NISSLE 1917: A safe carrier for therapeutic molecules. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**. 2005; **43(3)**:373-384.
 - Westendorf, A. M.; Templin, M.; Geffers, R.; Deppenmeier, S.; Gruber, A. D.; Probst-Kepper, M.; Hansen, W.; Liblau, R. S.; Gunzer, F.; Bruder, D., and Buer, J. CD4+ T cell mediated instinal immunity: chronic inflammation versus immune regulation. **Gut**. 2005; **54**:60-69.
 - Wiemann, S. U.; Satyanarayana, A.; Buer, J.; Kamino, K.; Manns, M. P., and Rudolph, K. L. Contrasting effects of telomere shortening on organ homeostasis, tumor suppression, and survival during chronic liver damage. **Oncogene**. 2005; **24**:1501-1509.
- ### Infektion und Immunität – 2005 – im Druck
- Bassani Molinas, M. M.; Nelving, A.; Beer, C.; Hesse, F.; Wirth, M.; Durocher, Y.; Kamen, A., and Wagner, R. Intracellular nucleotide pools for optimizing product-oriented transient transfection of HEK293 cells in suspension. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2005.
 - Beer, C. and Wirth, M. A new method for the quantitative determination of enveloped viral particles. *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht, Niederlande: Kluwer Academic Publishers; 2005.
 - Beer, C. and Wirth, M. The role of cholesterol rich domains and cellular proteins in mouse retrovirus assembly. **Current Topics in Virology**. 2005.
 - Benesch, S.; Polo, S.; Lai, F. P. L.; Anderson, K. I.; Stradal, T. E. B.; Wehland, J., and Rottner, K. N-WASP deficiency impairs EGF internalization and actin assembly at clathrin coated pits. **Journal of Cell Science**. 2005.
 - Bilitewski, U. Biosensors for Bioprocess Monitoring. (Gorton, L., ed.) *Biosensors and Modern Biospecific Analytical Techniques*: Elsevier; 2005.
 - Bilitewski, U. Lab-on-a-chip Technologies. *Encyclopedia of Analytical Science 2nd ed.* Elsevier; 2005.
 - Blumenthal, A.; Lauber, J.; Hoffmann, R.; Ernst, M.; Keller, C.; Buer, J.; Ehlers, S., and Reiling, N. Common and unique gene expression signatures of human macrophages in response to four strains of *Mycobacterium avium* differing in their growth and persistence characteristics. **Infection and Immunity**. 2005.
 - Borsutzky, S.; Kretschmer, K.; Becker, P. D.; Mühlradt, P. F.; Kirschning, C. J.; Weiss, S., and Guzman, C. A. The mucosal adjuvant MALP-2 directly stimulates B lymphocytes via the TLR2 without the need of accessory cells. **Journal of Immunology**. 2005.
 - Chhatwal, G. S. and McMillan, D. Uncovering the mysteries of invasive streptococcal diseases. **Trends in Molecular Medicine**. 2005.
 - Deiters, U.; Barsig, J.; Tawil, B., and Mühlradt, P. F. The macrophage activating lipopeptide MALP-2 accelerates wound healing in diabetic mice. **Journal of Investigative Dermatology**. 2005.
 - Dieterich, G.; Heinz, D. W., and Reichelt, J. Matching of PDB chain sequences to information in public databases. *Journal of Integr. Bioinformatics*. 2005.
 - Dieterich, G.; Kärst, U.; Wehland, J., and Jänsch, L. MineBlast: A literature presentation service supporting protein annotation by data Mining of blast results. **Bioinformatics**. 2005.
 - Disanza, A.; Steffen, A.; Hertzog, M.; Frittoli, E.; Rottner, K., and Scita, G. Actin polymerization machinery: the finish line of signalling networks, the starting point of cellular movement. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 2005.
 - Eming, S.; Lauer, G.; Cole, M.; Jurk, S.; Christ, H.; Hornig, C.; Krieg, T., and Weich, H. A. Increased levels of the soluble variant of the vascular endothelial growth factor receptor VEGFR-1 are associated with a poor prognosis in wound healing. **Journal of Investigative Dermatology**. 2005.
 - Frank, R. and Dübel, S. Analysis of protein interactions with immobilized peptide arrays synthesized on membrane supports. Cold Spring Harbor; 2005.

- Gailus-Durner, V.; Fuchs, H.; Brielmeier, M.; Calzada-Wack, J.; Elvert, R.; Ehrhardt, N.; Dalke, C.; Franz, T. J.; Grundner-Culemann, E.; Hammelbacher, S.; Höfler, S. M.; Horsch, M.; Javaheri, A.; Kalaydjiev, S.; Klemp, M.; Kunder, S.; Lengger, C.; Lisse, T.; Mijalski, T.; Naton, B.; Pedersen, V.; Prehn, C.; Racz, I.; Reinhard, C.; Reitmeir, P.; Schneider, I.; Steinkamp, R.; Zybilla, C.; Adamski, J.; Beckers, J.; Behrendt, H.; Favor, J.; Graw, J.; Heldmaier, G.; Höfler, H.; Ivandic, B.; Katus, H.; Kirchhof, P.; Klingenspor, M.; Klopstock, T.; Lengeling, A.; Müller, W.; Ohl, F.; Ollert, M.; Quintanilla-Fend, L.; Schmidt, J.; Schulz, H.; Wolf, E.; Wurst, W.; Zimmer, A.; Busch, D. H., and Hrabé de Angelis, M. Introducing the German Mouse Clinic: Open access platform for standardized phenotyping. **Nature Methods**. 2005.
 - Gekara, N. and Weiss, S. Lipid rafts clustering and signalling by listeriolysin O. **Biochemical Society**. 2005.
 - Gunzer, M.; Riemann, H.; Basoglu, Y.; Hillmer, A.; Weishaupt, C.; Balkow, S.; Benninghoff, B.; Ernst, B.; Steinert, M.; Scholzen, T.; Sunderkotter, C., and Grabbe, S. Systemic administration of a TLR7 ligand leads to transient immune incompetence due to peripheral blood leukocyte depletion. **Blood**. 2005.
 - Guzmán, C. A.; Borsutzky, S.; Favre, D., and Dietrich, G. Vaccines against infections caused by Salmonella, Shigella and pathogenic Escherichia coli. *EcoSAL Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Washington, DC: ASM Press; 2005; Chapter 8.8.14.
 - Guzmán, C. A.; Borsutzky, S.; Griot-Wenk, M.; Metcalfe, I. C.; Pearman, J.; Collioud, A.; Favre, D., and Dietrich, G. Vaccines against Typhoid fever. **Vaccine**. 2005.
 - Guzmán, C. A.; Cebolla, A.; Beltrametti, F.; Staendner, L. H., and de Lorenzo, V. Physiological state of intracellular Shigella flexneri probed with a metabolic sensor fused to a surface-reporter system. **FEBS Letters**. 2005.
 - Günther, C.; Hause, B.; Heinz, D. W.; Krauzewicz, N.; Rudolph, R., and Lilie, H. Combination of listeriolysin O and a tumor-specific antibody facilitate efficient cell-type specific gene delivery of conjugated DNA. **Cancer Gene Therapy**. 2005.
 - Köster, M.; Frahm, T., and Hauser, H. Nucleocytoplasmic shuttling analysis of STAT1 by FRAP and FLIP. **Current Opinion in Biotechnology**. 2005.
 - Lommel, S.; Benesch, S.; Rohde, M., and Wehland, J. Pedestal formation by pathogenic E. coli: a model system for studying signal transduction to the actin cytoskeleton. (Celis, J. E., ed.) *Cell Biology: A Laboratory Handbook*. 3rd ed. Academic Press; 2005.
 - Lommel, S.; Benesch, S.; Rohde, M.; Wehland, J., and Rottner, K. Enterohaemorrhagic and enteropathogenic Escherichia coli use different mechanisms for actin pedestal formation that converge on N-WASP. **Cell Microbiology**. 2005.
 - Mayer, H.; Bertram, H.; Lindenmaier, W.; Korff, T.; Weber, H., and Weich, H. A. Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) expression in Human mesenchymal stem cells: autocrine and paracrine role on osteoblastic and endothelial differentiation. **Journal of Cellular Biochemistry**. 2005.
 - Medina, E. Models of group A streptococcal diseases: a review of current status. *Drug Discovery Today: Disease Models*. Review. 2005.
 - Nedshkovskaya, O. I.; Vancanneyt, M.; Van Trappen, S.; Vandemeulebroecke, K.; Lysenko, A. M.; Rohde, M.; Falsen, E.; Frolova, G. M.; Mikhailov, V. V., and Swings, J. Algoriphagus aquimarinus sp. nov., Algoriphagus chordae sp. nov. and Algoriphagus winogradskyi sp. nov., from seawater and algae. Transfer of Hongiella halophila Yi and Chun 2004 to the genus Algoriphagus as Algoriphagus halophilus comb. nov. emended description of the genera Algoriphagus Bowman et al. 2003 and Hongiella Yi and Chun 2004. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2005.
 - Paschen, A.; Schadendorf, P., and Weiss, S. Bacteria as vector for gene therapy of cancer. (Templeton, N. S. and Lasic, D. D., eds.) In: *Gene Therapy: Therapeutic mechanisms and strategies*. New York, Basel: Marcel Dekker; 2005.
 - Rharbaoui, F. and Guzmán, C. A. New generation of immune modulators based on toll-like receptor signaling. **Current Immunology Review**. 2005.
 - Rottner, K.; Kaverina, I. N., and Stradal, T. E. B. Cytoskeleton proteins. (Celis, J. E., ed.) *Cell Biology: A Laboratory Handbook*. 3rd Edition ed. Academic Press; 2005.
 - Schumacher, J. T.; Mersal, G. A. M., and Bilitewski, U. (Pandey, A., ed.) *Immobilisation of enzymes*; 2005.
 - Zhou, J.; Schmid, T.; Frank, R., and Brüne, B. PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect HIF-1 from pVHL-independent degradation. **Journal of Biological Chemistry**. 2005.
- ### Vergleichende Genomforschung – 2005
- Eichler, J. Synthetic peptide arrays and peptide combinatorial libraries for the exploration of protein-protein interactions and the design of protein inhibitors. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**. 2005; **8(2)**:135-143.
 - Franke, R.; Doll, C., and Eichler, J. Peptide ligation through click chemistry for the generation of assembled and scaffolded peptides. **Tetrahedron Letters**. 2005; **46(26)**:4479-4482.
 - Frere, F.; Reents, H.; Schubert, W.-D., and Heinz, D. W. Tracking the evolution of porphobilinogen synthase metal dependence in vitro. **Journal of Molecular Biology**. 2005; **345(5)**:1059-1070.
 - Gail, R.; Frank, R., and Wittinghofer, A. A systematic peptide-array based delineation of differential beta-Catenin interaction with Tcf4, E-Cadherin and APC. **Journal of Biological Chemistry**. 2005; **280**:7107-7117.
 - Heinz, D. W.; Schubert, W.-D., and Höfle, G. Lange gesucht – Die bioaktive Konformation von Epothilon und seine Bindung im Tubulin. **Angewandte Chemie**. 2005; **117(9)**:1324-1327.
 - Kaisermann, M. C.; Sardella, I. G.; Trajman, A.; Coelho, L. V.; Kämpfer, S.; Jonas, F.; Singh, M., and Saad, M. H. F. IgA antibody responses to Mycobacterium tuberculosis recombinant MPT-64 and MT-10.3 (Rv3019c) antigens in pleural fluid of patients with tuberculous pleurisy. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**. 2005; **9(4)**:461-466.
 - Kim, E.-J.; Deckwer, W.-D.; Wang, W., and Zeng, A.-P. Expression of the quorum sensing regulator protein LasR is strongly affected by iron deficiency and oxygen concentration in Pseudomonas aeruginosa irrespective of cell density. **Microbiology**. 2005; **151**:1127-1138.
 - Rampon, C.; Prandini, M.-H.; Bouillot, S.; Pointu, H.; Tillet, E.; Frank, R.; Vernet, M., and Huber, P. Protocadherin 12 (VE-cadherin) is expressed in endothelial trophoblast and mesangial cells and is dispensable for normal mouse development. **Experimental Cell Research**. 2005; **302**:48-60.
 - Sun, J.; Gunzer, F.; Westendorf, A. M.; Buer, J.; Scharfe, M.; Gößling, F.; Blöcker, H., and Zeng, A. P. Genomic peculiarity of coding sequences and metabolic potential of probiotic Escherichia coli strain NISSLE 1917 inferred from raw genome data. **Journal of Biotechnology**. 2005; **117(2)**:147-161.
 - Wenzel, S. C.; Kunze, B.; Höfle, G.; Silakowski, B.; Blöcker, H., and Müller, R. Structure and biosynthesis of myxochromides S in Stigmatella aurantiaca: Evidence for an iterative and stuttering bacterial type I polyketide synthase and for module skipping in nonribosomal peptide biosynthesis. **ChemBioChem**. 2005; **6(2)**:375-385.
 - Zander, N. and Frank, R. The use of polystyrylsulfonyl chloride resin as a solid supported condensation reagent for the formation of esters: Synthesis of N-(9-fluorenylmethoxy)carbonyl-L-aspartic acid; α -tert-butyl ester, β -(2-ethyl[(1E)-4-nitrophenyl]azo)phenylaminoethyl ester. *Organic Syntheses: Wiley*; 2005; Vol. 81; pp. 235-243. ISBN: 0-471-68257-8.

Vergleichende Genomforschung – 2005 – im Druck

- Hinsen, H.; Fock, U.; Schubert, W.-D., and Jochusch, B. Topological assignment of the N-terminal extension of plasma gelsolin to the gelsolin surface. **Biochemical Journal**. 2005.
- Jahn, D. and Heinz, D. W. Biosynthesis of 5-aminolevulinic acid. (Warren, M. J. Smith A. eds.) *Tetrapyrroles: Their birth, life and death*. Georgetown, USA: Landes Bioscience; 2005.
- Ma, H. and Zeng, A.-P. Reconstruction of metabolic network from genome information and its structural and functional analysis. (Eils, R. Kriete A. eds.) *Computational Systems Biology*: Elsevier Inc., USA; 2005.
- Zeng, A.-P. and Bi, J. Cell culture kinetics and modelling. (Ozturk, S. S. and Hu, W.-S. eds.) In: *Cell Culture Technology for Pharmaceutical and Cellular Therapies*; 2005; p. Chapter 16.
- Zeng, A.-P.; Sun, J.; Wang, W.; Ma, H., and Deckwer, W.-D. Application of genomic and proteomic data for bioprocess analysis and optimisation. (Yang, S. T. ed.) *Bioprocessing for Value-added Products from Renewable Resources*: Elsevier; 2005.

Nachhaltige Nutzung von Landschaften – 2005

- Abraham, W.-R. Controlling Gram-negative pathogenic bacteria by interfering with their biofilm formation, **Drug Design Reviews-Online**. 2005; **2**: 13-33.
- Abraham, W.-R.; Wenderoth, D. F., and Gläßer, W. Diversity of biphenyl degraders in a chlorobenzene polluted aquifer, **Chemosphere**. 2005; **58**: 529-533.
- Biebl, H.; Allgaier, M.; Tindall, B.; Koblizek, M.; Lünsdorf, H.; Pukall, R., and Wagner-Döbler, I. *Dinoroseobacter shibae*, gen. nov., sp. nov., a new aerobic phototrophic bacterium isolated from dinoflagellates. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2005; **55**:1089-1096.
- Campbell, E. A.; Pavlova, O.; Zenkin, N.; Leon, F.; Irschik, H.; Jansen, R.; Severinov, K., and Darst, S. A. Structural, functional, and genetic analysis of sorangicin inhibition of bacterial RNA polymerase. **The EMBO Journal**. 2005; **24**: 674-682.
- Fritz, I.; Strömpl, C.; Nikitin, D. I.; Lysenko, A. M., and Abraham, W.-R. *Brevundimonas mediterranea* sp. nov., a non-stalked species from the Mediterranean Sea. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2005; **55**:479-486.
- Gomes, N. C. M.; Kosheleva, I. A.; Abraham, W.-R., and Smalla, K. Effects of the inoculant strain *Pseudomonas putida* KT 2442 (pNF142) and of naphthalene contaminations on the soil bacterial community. **FEMS Microbiology Ecology**. 2005, published on-line 10 March 2005.
- Höfle, M. G.; Flavier, S.; Christen, R.; Bötzel, J.; Labrenz, M., and Brettar, I. Retrieval of nearly complete 16S rRNA gene sequences from environmental DNA following 16S rRNA based community fingerprinting. **Environmental Microbiology**. 2005; **7(5)**:670-675.
- Katsivela, E.; Moore, E.; Maroukli, D.; Strömpl, C.; Pieper, D. H., and Kalogerakis, N. Bacterial community dynamics during in-situ bioremediation of petroleum waste sludge in landfarming sites. **Biodegradation**. 2005; **16(2)**:169-180.
- Kopp, M.; Irschik, H.; Pradella, S., and Müller, R. Production of the tubulin destabilizer disorazol in *Sorangium cellulosum*: Biosynthetic machinery and regulatory genes. **ChemBioChem**. 2005; **6**:1277-1286.
- Pelz, O.; Abraham, W.-R.; Saurer, M.; Siegwolf, R., and Zeyer, J. Microbial assimilation of plant-derived carbon in soil traced by isotope analysis. **Biology and Fertility of Soils**. 2005; **41(3)**:153-162.
- Pieper, D.H. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. **Applied Microbiology Biotechnology**. 2005; **67**: 170-191.

- Pollmann, K.; Wray, V., and Pieper, D. H. Chloromethylmuconolactones as critical metabolites in the degradation of chloromethylcatechols: On the recalcitrance of 2-chlorotoluene. **Journal of Bacteriology**. 2005; **187**:2332-2340.
- Reineke, W., and Pieper, D. H. Evolution of degradative pathways for chloroaromatic compounds. In: *Innovative Approaches to the Bioremediation of Contaminated Sites*. (Fava F, Canepa P, eds.), Soil Remediation Series No.5, INCA, Venice, Italy. 2005; pp.111-127
- Sriramulu, D. D.; Lünsdorf, H.; Lam, J. S., and Römling, U. Microcolony formations: a novel biofilm model of *Pseudomonas aeruginosa* for the cystic fibrosis lung. **Journal of Medical Microbiology**. 2005; **54**: 667-676.
- Tillmann, S.; Strömpl, C.; Timmis, K. N., and Abraham, W.-R. Stable isotope probing reveals the dominant role of *Burkholderia* sp. in aerobic degradation of PCBs. **FEMS Microbiol Ecology**. 2005; **52(2)**:207-217.
- van der Wielen, P. W. J. J.; Bolhuis, H.; Bolin, S.; Daffonchio, D.; Corselli, C.; Giuliano, L.; de Lange, G. J.; Huebner, A.; Varnavas, S. P.; Thompson, J.; Tambourini, C.; Marty, D.; McGenity, T. J., and Timmis, K. N. The enigma of prokaryotic life in deep hypersaline anoxic basins. **Science**. 2005; **307**: 121-123.

Nachhaltige Nutzung von Landschaften – 2005 – im Druck

- Abraham, W.-R. Controlling Gram-negative pathogenic bacteria by interfering with their biofilm formation. **Drug Design Reviews-Online**. 2005.
- Abraham, W.-R.; Petzoldt, H., and Strauch, G. Risiken durch Mikroorganismen in unseren Gewässern/Flüssen In: „Schadstoffbelastung nach dem Elbe-Hochwasser 2002“, M. Böhme, F. Krüger, K. Ockenfeld (eds.). 2005.
- Abraham, W.-R., and Wenderoth, D. F. Fate of facultative pathogenic microorganisms during and after the flood of the Elbe and Mulde rivers in August 2002. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**. 2005.
- Abraham, W.-R.; Wenderoth, D. F., and Gläßer, W. Diversity of biphenyl degraders in a chlorobenzene polluted aquifer. **Chemosphere**. 2005.
- Druschel, G. K.; Labrenz, M.; Thomsen-Ebert, T.; Fowle, D. A., and Banfield, J. F. Geochemical modeling of ZnS in biofilms: An example of ore depositional processes. **Economic Geology and the Bulletin of the Society of Economic Geologists**. 2005.
- Ferrer M.; Golyshina O. V.; Chernikova T. N.; Martins dos Santos V. A. P.; Khachane A. N.; Yakimov M. M.; Timmis K. N., and Golyshin P. N. Novel microbial enzymes mined from the Urania deep-sea hypersaline anoxic basin. **Chemistry and Biology**. 2005.
- Ferrer M.; Golyshina, O. V.; Plou, F. J.; Timmis, K. N., and Golyshin, P. N. A novel α -glucosidase from the acidophilic archaeon, *Ferroplasma acidiphilum* Y with strong transglycosylation activity and unique catalytic nucleophile. **Biochemical Journal**. 2005.
- Ferrer M.; Golyshina O. V.; Chernikova T. N.; Khachane A. N.; Martins dos Santos V. A. P.; Strömpl C.; Yakimov M. M.; Elborough K.; Jarvis G.; Neef A.; Timmis K. N., and Golyshin P. N. Novel hydrolase diversity retrieved from a metagenome library of bovine rumen microflora. **Environmental Microbiology**. 2005.
- Ferrer M.; Martínez-Abarca, F., and Golyshin, P. N. Genome and "metagenome" mining for novel catalysts. **Current Opinion in Biotechnology**. 2005.
- Golyshina, O. V.; Golyshin, P. N.; Timmis, K. N., and Ferrer, M. Anomaly of low pH optima of intracellular enzymes of *Ferroplasma acidiphilum*, **Environmental Microbiology**. 2005.
- Golyshina, O. V., and Timmis, K. N. *Ferroplasma* and relatives, recently-discovered cell wall-lacking archaea making a living in extremely acid, heavy metal-rich environments. **Environmental Microbiology**. 2005.

- Golyshev, P. N.; Timmis, K. N., and Yakimov, M. M. Family Alcanivoraceae. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 3rd ed. New York: Springer; 2005; 2.
- Hallworth, J. E.; Prior, B. A.; Nomura, Y., and Timmis, K. N. Compatible solutes protect against chaotrope-(ethanol-) induced, non-osmotic water stress. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005.
- Hendrickx, B.; Junca, H.; Vosahlova, J.; Lindner, A.; Rüegg, I.; Bucheli-Witschel, M.; Faber, F.; Egli, T.; Mau, M.; Schlömann, M.; Brennerova, B.; Brenner, V.; Pieper, D. H.; Top, E. M.; Dejonghe, W.; Bastiaens, L., and Springael, D. Alternative primer sets for PCR detection of genotypes involved in bacterial aerobic BTEX degradation: Distribution of the genes in BTEX degrading isolates and in subsurface soils of a BTEX contaminated industrial site. *Journal of Microbiological Methods*. 2005.
- Junca, H. and Pieper, D. H. Diagnosing the biodegradation potential of soils. *Trends in soil and sediment*. IWA Publishing. 2005.
- Khachane, A. N.; Timmis, K. N., and Martins Dos Santos, V. A. P. Sequence-based prediction of optimum growth temperatures of uncultured prokaryotes. *Nucleic Acid Research*. 2005.
- Kotsyurbenko, O. R. Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems. *FEMS Microbiology and Ecology*. 2005.
- Labrenz, M. and Hirsch, P. The Genus *Antarctobacter*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*: Bergey's Manual Trust; 2005.
- Labrenz, M. and Hirsch, P. The Genus *Roseovarius*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*: Bergey's Manual Trust; 2005.
- Labrenz, M. and Hirsch, P. The Genus *Staleyia*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*: Bergey's Manual Trust; 2005.
- Macedo, A. J.; Kuhlicke, U.; Neu, T.; Timmis, K. N., and Abraham, W.-R. Three stages of a biofilm community developing at the liquid-liquid interface between polychlorinated biphenyls and water. *Applied Environmental Microbiology*. 2005.
- Martins dos Santos, V.; Heim, S.; Strätz, M.; Moore, E. R. B., and Timmis, K. N. In silico analysis of the *Pseudomonas putida* genome: niche specificity. *Environmental Microbiology*. 2005.
- Martins dos Santos, V. A. P.; Timmis, K. N.; Tümmler, B., and Weinel, C. Genomic features of *Pseudomonas putida* strain KT2440. (Ramos, J. L., ed.) *Pseudomonas: Genomics life style and molecular architecture*: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2005.
- Pauling, B. V. and Wagner-Döbler, I. Stream microcosm for investigating GEM impact on the autochthonous bacterial community in river water and sediment. *Journal of Applied Microbiology*. 2005.
- Pieper, D. H. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005.
- Simankova, M. V. and Kotsyurbenko, O. R. Genus II. *Acetobacterium*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 3rd ed. 2005: Springer Verlag; 2005.
- Stocchi M.; Ferrer M.; Timmis K.N., and Golyshev P.N. Low temperature-induced systems failure in *E. coli*: insights from rescue by cold-adapted chaperones. *Proteomics*. 2005.
- Vancanneyt, M.; Segers, P.; Abraham, W.-R., and de Vos, P. Genus *Brevundimonas* Segers, Vancanneyt, Pot, Torck, Hoste Dewettinck, Falsen, Kersters, de Vos 1994, 507VP emend. Abraham, Strömpl, Meyer, Lindholm, Moore, Christ, Vancanneyt, Tindall, Bennisar, Smit, Tesar 1999, 1070VP. (George M. Garrity, editor) In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 3rd ed. 2005: Springer Verlag; 2005; 2.
- Yakimov, M. M.; Denaro, R.; Genovese, M.; Cappello, S.; D'Auria, G.; Chernikova, T. N.; Timmis, K. N.; Golyshev, P. N., and Giuliano, L. Natural microbial diversity in superficial sediments of Milazzo harbor (Sicily) and community successions during microcosm enrichment with various hydrocarbons. *Environmental Microbiology*. 2005.

Technologische Plattformen – 2005

- Pollmann, K.; Wray, V., and Pieper, D. H. Chloromethylmuconolactones as critical metabolites in the degradation of chloromethylcatechols: On the recalcitrance of 2-chlorotoluene. *Journal of Bacteriology*. 2005; **187**:2332-2340.
- Rau, U.; Nguyen, L. A.; Schulz, S.; Wray, V.; Nimtz, M.; Roeper, H.; Koch, H., and Lang, S. Formation and analysis of mannosylerythritol lipids secreted by *Pseudozyma aphidis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005; **66**:551-559.

Technologische Plattformen – 2005 – im Druck

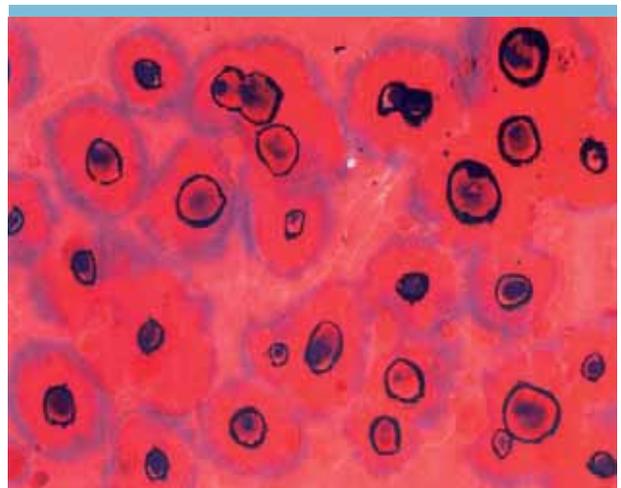
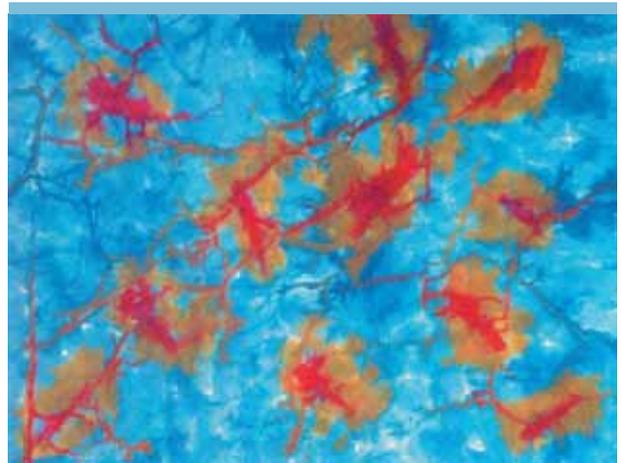
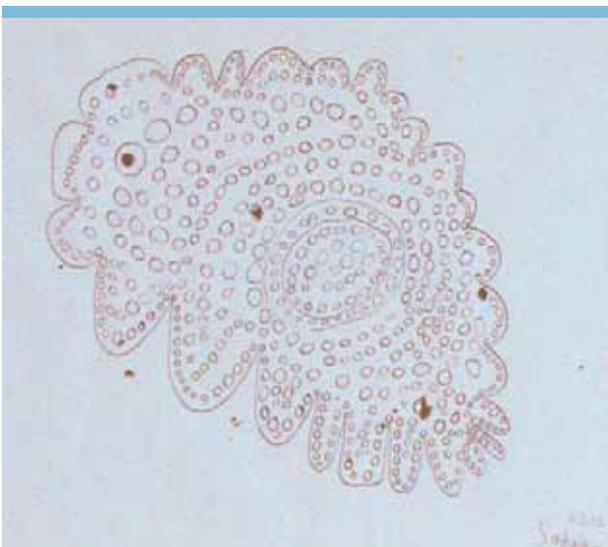
- Fargali, S.; Barthold, M.; Rohde, M.; Majore, I., and Jäger, V. In vitro cultivation of rabbit mesenchymal stromal cells on 3D bioresorbable calcium phosphate scaffolds for the generation of bone tissue implants. (Merten, O. W.; Griffiths J. B.; Godia F., eds.) *Animal Cell Technology Meets Genomics*: Kluwer Academic Publishers; 2005.

Bioverfahrenstechnik – 2005

- Bollati Fogolin, M.; Irani, N.; Beccaria, A. J.; Schulz, C.; van den Heuvel, J.; Elias, C. B.; Carpentier, E.; Durocher, Y.; Bisson, L.; Etcheverrigaray, M.; Kratje, R. B.; Wirth, M.; Kamen, A., and Wagner, R. Impact of yeast pyruvate carboxylase on the productivity of animal host cell lines. Godia, F. Fussenegger M. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht: Springer, The Netherlands; 2005; pp. 87-89.
- Kayser, A.; Weber, J.; Hecht, V., and Rinas, U. Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: I. Growth rate dependent metabolic efficiency at steady state. *Microbiology*. 2005; **151**:693-706.
- Weber, J.; Kayser, A., and Rinas, U. Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: II. Dynamic response to famine and feast, activation of the methylglyoxal pathway and oscillatory behavior. *Microbiology*. 2005; **151**:707-716.
- Wendler, J.; Vallejo, L. F.; Rinas, U., and Bilitewski, U. Application of an SPR-based receptor assay for the determination of biologically active recombinant bone morphogenetic protein-2. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005; **381**(5):1056-1064.
- Ahmed Elsayed, A.; Piehl, G.-W.; Medronho, R. A.; Deckwer, W.-D., and Wagner, R. Use of a hydrocyclone as an efficient and easily scalable perfusion system for mammalian cell bioreactors. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2005.
- Barthold, M.; Majore, I.; Fargali, S.; Stahl, F.; Schulz, R.; Lose, S.; Mayer, H., and Jäger, V. 3D-cultivation and characterisation of osteogenic cells for the production of highly viable bone tissue implants. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2005.
- Hesse, F.; Nelving, A., and Wagner, R. Correlation of intracellular nucleotide pools to amino acid concentrations in culture media by the application of multivariate methods. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2005.
- Rinas, U.; El-Enshasy, H.; Emmeler, M.; Hille, A.; Hempel, D. C., and Horn, H. Model-based prediction of substrate conversion and protein synthesis and excretion in recombinant *Aspergillus niger* biopellets. *Chemical Engineering Science*. 2005.

Mikrobielle Strukturen von Kindern gesehen

- Im Jahr 2003 besuchten mehrere Kinder von der „Peter-Räuber-Schule“ aus Wolfenbüttel, eine Schule für geistig behinderte Kinder, die GBF um einige einfache Experimente durchzuführen und um sich Zellen und Mikroorganismen unter dem Mikroskop anzuschauen. Ihre Eindrücke gaben sie anschließend als gemalte Bilder unter Benutzung verschiedener Techniken wieder. Die Bilder wurden im GBF-FORUM öffentlich ausgestellt. Das Projekt wurde durch den GBF-Förderverein unterstützt. Folgende Kinder nahmen am Projekt teil: Daniel Ecklebe, Aisha Khan, Sabrina Niewiadomski, Tobias Meyer, Christian Boog, Stefan Rümmler, Sarah Janson, Stefan Helmhold, Jessica Franke, Michaela Hennig, und als Lehrkräfte Frau Schreier und Herr Eckebrecht. Vier ausgewählte Bilder sind auf dieser Seite zu sehen.



ERGEBNISBERICHT

FOKUS BERICHTE AUS DER FORSCHUNG



Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Luftaufnahme vom GBF-Gelände. | Wissenschaftliches Seminar während der Biotech-Messe, die von OMNILAB im GBF-FORUM und im BioTec-Gründerzentrum im September 2004 organisiert wurde. | Teilnehmer eines Treffens in Bangkok, Thailand, wo die erste Fassung eines virtuellen Biotech-Netzwerks Deutschland-ASEAN-Länder durch Dr. Paul Charlton, InWent und GBF präsentiert wurden.

Fotos: GBF (li), Omnilab (mi), Dr. Charlton (re)

WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT ZAHLEN UND FAKTEN





ZAHLEN UND FAKTEN

Prof. Dr. Rainer Jonas | Abteilung für Wissenschaftliche Information | rjo@gbf.de

- Die GBF wurde 1965 als „Zentrum für Molekularbiologische Forschung“ (GMBF) mit finanzieller Unterstützung durch die Volkswagen-Stiftung gegründet. 1976 wurde sie durch das Bundesministerium für Forschung und Technologie (BMFT) sowie das Land Niedersachsen als Großforschungseinrichtung unter dem heutigen Namen „Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH“ (GBF) übernommen. Seitdem wird die GBF vom BMFT/BMBF sowie dem Land Niedersachsen finanziert. Seit 2002 hat die GBF ihren Forschungsschwerpunkt auf dem Gebiet der Infektionsforschung.

Forschungsfinanzierung Die Gesamtausgaben der GBF betragen im Jahr 2004 48,8 Mio €, wovon über die Hälfte, 35,3 Mio €, in das Programm „Infektion und Immunität“ investiert wurden.

Drittmittel Einwerbung Mehr als 70% der Drittmittel kamen aus nationalen Forschungsförderungsprogrammen. Etwa 11% der Drittmittel konnten aus EU-Programmen eingeworben werden, während aus der Industrie 15% kamen.

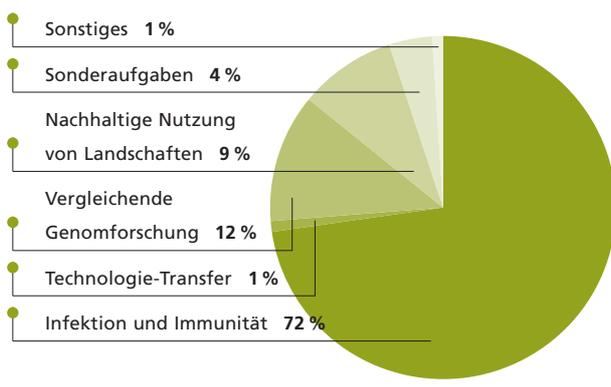
Kosten nach Kategorien und Programmen (in T€)

Forschungsbereich	Programm	Vollkosten
Gesundheit	Infektion und Immunität	35 253
	Vergleichende Genomforschung	6 021
Erde und Umwelt	Nachhaltige Nutzung von Landschaften	4 557
Technologie Transfer		507
Sonderausgaben		1 944
Sonstiges		469
Gesamt		48 751

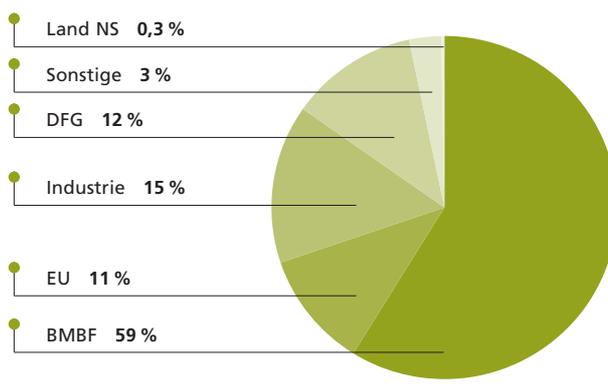
Drittmittelfinanzierung (in T€)

Quelle	Summe
BMBF	7 656.79
DFG	1 535.62
EU	1 420.23
Industrie	1 876.38
Land NS	96.38
Sonstige	342.46
Gesamt	12 867.87

Vollkosten 2004



Drittmittelfinanzierung 2004



Patente / Lizenzen Im Jahr 2004 wurde 13 Patente angemeldet, davon sechs in Deutschland. Neun dieser Patentanmeldungen kamen aus dem Bereich „Gesundheitsforschung“, die übrigen aus der „Umweltforschung“.

Patente und Lizenzen, Berichtsjahr 2004

	Insgesamt	Inland	Ausland
Prioritätsbegründende Anmeldungen	13	6	7
Bestand der lebenden Patentfamilien	106	76	30
Erteilte Patente	13	0	13
Gesamtbestand erteilter Patente und lebender Patentfamilien*	186	82	104
Lizenzvereinbarungen (Gesamtbestand)	56	40	16
Lizenzeinnahmen ** (in T€)	732	555	177

* Die stark veränderte Zahl des Gesamtbestandes der gehaltenen Patente, im Vergleich zu früheren Angaben, ergibt sich aus einer Neubetrachtung der Angaben zu den Patenten: Alle als Europäisches Patent angemeldeten Patente wurden als ein Patent gewertet und nicht mehr wie früher für jedes einzelne Land gezählt (es gibt hierfür auch nur eine Patenterteilung).

** Einschließlich Einnahmen aus sonstigen „Know-how“-Verträgen

Veröffentlichungen, Berufungen, DFG-Programme, und Gastwissenschaftler Eine bibliometrische Analyse, die vom hoch renommierten Center for Science and Technology Studies (CWTS), Leyden, Niederlande, durchgeführt wurde, zeigte, dass die Qualität der GBF-Veröffentlichungen deutlich über dem mittleren Weltniveau lagen. Die GBF konnte ihre Bedeutung durch hervorragende internationale Veröffentlichungen in den letzten Jahren weiter steigern. Eine Reihe von Aufsätzen wurden in den weltweit anerkannten Zeitschriften der *Nature*-Gruppe publiziert (Näheres siehe unter der Rubrik „Veröffentlichungen“ im Abschnitt „Wissenschaftlicher Ergebnisbericht“). Viele GBF-Wissenschaftler sind an wichtigen nationalen wie internationalen Forschungsprogrammen beteiligt.

Beteiligung von GBF-Wissenschaftlern an bedeutenden nationalen und internationalen F&E-Programmen

DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft)	
SFB 566	Cytokin-Receptors
SFB 578	From Genome to the Product
SFB 599	Permanent Implantates
SFB 621	Pathobiology of the Intestinal Mucosa
SSP 1087	Selenoproteins
SSP 1089	New Vaccination Strategies
SSP 1150	Signal Pathways to the Cytoskeleton and Bacterial Pathogenicity
SSP 1160	Colonisation and Infection through Human-Pathogen Fungi
FOR 119	Hepatocellular Carcinoma
FOR 471	Cell Differentiation

NGFN II (Nationales Genomforschungsnetzwerk)	
SMP	Mammalian Models
SMP	Protein
SMP	Antibody Factory
SMP	Infection and Inflammation

Genomik (Nationales Genomnetzwerk für Mikroorganismen)	
<i>Sorangium cellulosum</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Alcanivorax borkumensis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Metagenome Research	<i>Bordetella</i>

EU 6. Rahmenprogramm	
LSH	Genostem
LSH	Marine Genomics
GCE	BIOTOOL
NMP	BIOMERCURY
Marie Curie EST	MIDITRAIN
LSH	AVIP
LSH	EPI-VECTOR
LSH	FPLFLEX
LSH	EUROPATHOGENOMICS
LSH	MUGEN
Marie Curie RTN	IMDEMI

Graduiertenkollegs	
International PhD Programme	„Infection Biology“
Marie-Curie Graduate School	„MIDITRAIN“
International Graduate School	„Molecular Complexes“
DFG-Graduate School GRK 653	„Pseudomonas“
DFG-Graduate School GRK 705	„Characterization of Patho-Physiological Animal Models“



Quantitative Parameter	Art	2002	2003	2004
Veröffentlichungen	Veröffentlichungen in ISI-registrierten Zeitschriften	232	230	185
	Bücher und Veröffentlichungen in anderen Zeitschriften	33	25	38
	Gesamtzahl	265	255	223
	Habilitationen	3	0	1
	Dissertationen	14	23	33
Berufungen	C3- und C4-Berufungen an Universitäten	1	4	0
	Special DFG-Programme	5	5	4
Graduiertenkollegs	Sonderforschungsbereiche, Transregios	3	4	4
	DFG-Schwerpunkte	1	2	3
	Graduiertenkollegs	9	11	11
	Gesamtzahl	107	102	93
Gastwissenschaftler		107	102	93

Technologie-Transfer In der GBF besteht ein großes Potenzial an der Entwicklung innovativer Produkte, Verfahren und Dienstleistungen, insbesondere in Kooperation mit industriellen Partnern. Ein wichtiges Ziel der GBF ist es daher, die im Rahmen der Forschung erbrachten Ergebnisse durch Technologie-Transfer zur Anwendung zu bringen. Deshalb sind für die GBF Ausgründung von Firmen, Lizenzvergabe, Service und Dienstleistungen im Rahmen von Industriekooperationen wichtige Parameter für die Umsetzbarkeit ihrer F&E-Ergebnisse. Aus diesem Grund ist die GBF Mitglied in Vereinigungen wie BioRegion und dem Transferkolleg Biotechnologie e.V. und beteiligt sich aktiv in der BioRegion GmbH und dem BioProfil „Funktionelle Genomanalyse“.

Der GBF-Campus Im Jahr 2004 erwarb die GBF das BioTec-Gründerzentrum von der Stadt Braunschweig (zu weiteren Details s. u. „Highlights“ im Abschnitt *Fokus*). Die GBF verfügt nun über 3600 m² an Labor- und Bürofläche für Ausgründer-Firmen im Y-Gebäude sowie im BioTec-Gründerzentrum.

„Intellectual Property“ Seit 2002 bietet die *Ascenion GmbH* ihre Dienste in erster Linie den vier HGF-Zentren im Bereich Gesundheitsforschung, DKFZ, GBF, GSF und MDC, an. Die Hauptgeschäftsstelle befindet sich in München, ein Büro mit zwei ständigen Mitarbeitern auf dem GBF-Campus.

Die Ascenion GmbH übernimmt folgenden Aufgaben für die GBF:

- Erfindungsakquisition und Erfinderbetreuung an der GBF vor Ort
- Technologiebewertung und Schutzrechtsanmeldung
- Konzeption von Verwertungsstrategien für angemeldete bzw. erteilte Schutzrechte mit NPV („Net Present Value“) Berechnung

Biotech-Messe auf dem GBF-Gelände Zum 3. Mal organisierte die Firma OMNILAB eine Biotech-Messe mit Symposium am 23.9.2004 im GBF-FORUM als auch im BioTec-Gründerzentrum. Über 70 Aussteller zeigten ihre Produkte und mehr als 600 Besucher aus der Region Braunschweig – Hannover – Magdeburg waren anwesend. Parallel dazu wurden fünfzehn Vorträge zu hochaktuellen F&E-Themen angeboten.

BioTech-Netzwerk ASEAN-Länder-Deutschland Die GBF hat in Zusammenarbeit mit InWEnt und Paul Charlton



- Hochbetrieb im GBF-FORUM während der von OMNILAB organisierten Biotech-Messe.

Foto: OMNILAB

Coaching begonnen, ein virtuelles Netzwerk für Biotechnologie für die ASEAN-Länder in Verbindung mit Deutschland auszuarbeiten. Zu diesem Zweck wurde ein Basisprogramm im Rahmen von Workshops im Oktober 2004 in Singapur und Bangkok zusammen mit ehemaligen InWEnt-GBF-Kursteilnehmern, Wissenschaftlern und Managern aus Firmen und F&E-Einrichtungen dieser Länder erarbeitet. Ziel ist es, eine Plattform zu haben, die eine verbesserte Kommunikation zwischen interessierten Gruppen, gute Möglichkeiten der Zusammenarbeit in F&E-Bereichen und die gemeinsame Ausrichtung von Symposia und Workshops innerhalb der ASEAN-Länder als auch zusammen mit deutschen Partnern erleichtert.



- Die Teilnehmer des Bangkok-Workshops, bei dem die Grundlagen für das Biotech-Netzwerk ASEAN-Länder – Deutschland geschaffen wurden. Der Workshop wurde durch InWEnt und GBF organisiert und durch das Niedersächsische Ministerium für Wirtschaft, Arbeit und Verkehr finanziert.

Foto: Dr. Charlton

Liste der auf dem GBF-Gelände ansässigen Firmen, Stand: 31.03.2005

Firma	Geschäftsführer und/oder Ansprechpartner	Telefon/Fax	E-Mail Adresse	Internet
Ascenion	Dr. Sabina Heim/ Tina Damm	0531-6181-961/-962; Fax: -963	she@ascenion.de tda@ascenion.de	www.ascenion.de
AIMS Scientific Products GmbH	Dr. Norbert Zander	0531-260-2865; 0177-7637299; Fax: 260-2866	nza@aims-scientific-products.de	www.aims-sci.de
AMODIA Biosciences GmbH	Dr. Sabine Peters/ Dr. Ulrich Krause/ Frank Schwieger	0531-260-1764; Fax: -1766	info@amodia.de	www.amodia.com
Cosmix molecular biologicals GmbH	Dr. Thomas Wagner/ Ute Heidrich (Sekretärin)	0531-12086-0; Fax: -99	info@cosmix.de	www.cosmix.de
Eugene GbR	Dr. Werner Müller	0531-6181-687	wmu@gbf.de	
Forschungsgruppe Wundheilung der TU Braunschweig	Prof. Dr. Peter Mühradt	0531-1217-954; Fax: 0531-1217-958		
Glyco Thera GbR	Dr. Harald Conradt	0531-7996785/-6181-287	hco@gbf.de	www.glycothera.de
Hartmann Analytic GmbH	Dr. Ursula Hartmann	0531-26028-0; Fax: -28	hartmann@hartmann-analytic.de	www.hartmann-analytic.de
IBA Biologics GmbH	Dr. J. Bertram/ Dr. Bernd Müller	0551-50672118; 0531-6181-170		
Lionex GmbH	Dr. Ralf Spallek/ Dr. Eva Gebhardt-Singh	0531-260-12-66; Fax: -260-11-59	msi@lionex.de	www.lionex.de
RELIA Tech GmbH	Dr. Bernhard Barleon	0531-260-1831; Fax: -1833	info@reliatech.de	www.reliatech.de
Vakzine-Management GmbH	Dr. Albrecht Läufer/ Ingeborg Jakobi (Sekt.)	0531-28504-0; Fax: -29	jacobi@vakzine-manager.de	www.vakzine-manager.de
BIOS- Biotechnologisches Schülerlabor	Dr. Iris Eisenbeiser/ Arntraud Meyer	0531-6181-945; Fax: -949	Bios.lab@gbf.de	



Personal Der Personalstand betrug am 31.12.2004 insgesamt 608 Personen in Voll- und Teilzeitbeschäftigung. Hinzu kamen 86 Gastwissenschaftler in verschiedenen Projekten, deren Bezahlung zum Teil aus externen Stipendien außerhalb der GBF erfolgte. Insgesamt wurden Ende 2004 241 Wissenschaftler an der GBF beschäftigt, einschließlich 74 Postdocs und 79 Doktoranden.

Organe und Gremien der GBF Die Organe der GBF sind die Gesellschafterversammlung, der Aufsichtsrat, das Wissenschaftliche Komitee und die Geschäftsführung.

Gesellschafterversammlung In der Gesellschafterversammlung sind die beiden Gesellschafter der GBF, die Bundesrepublik Deutschland und das Land Niedersach-

sen, durch ihre federführenden Ressorts, das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und das Niedersächsische Finanzministerium vertreten.

Aufsichtsrat Der Aufsichtsrat besteht aus höchstens 15 Mitgliedern. Er überwacht die Rechtmäßigkeit, Zweckmäßigkeit und Wirtschaftlichkeit der Geschäftsführung und entscheidet über die allgemeinen Forschungsziele sowie die wichtigen forschungspolitischen und finanziellen Angelegenheiten der Gesellschaft.

Wissenschaftliches Komitee Das Wissenschaftliche Komitee besteht aus Mitgliedern des Aufsichtsrats und extern berufenen Wissenschaftlern. Es berät den Aufsichtsrat in Fragen der wissenschaftlichen Ausrichtung und Strategie der GBF.

Mitglieder des Aufsichtsrats (AR) und des Wissenschaftlichen Komitees (WK), Stand: 14.06.2005

Funktion	Name, Titel	Organisation	Ort
Vorsitz AR	Lange, MinDirig Dr. Peter	BMBF	Berlin
Stellvertreter Vorsitz AR	Weise, MinDirig Dr. Dr. Christian	NMWK	Hannover
AR	Warmuth, MR Dr. Ekkehard	BMBF	Berlin
AR	Kuhny, Reg. Direktorin Corinna	NMF	Hannover
AR	Bilitewski, Prof. Dr. Ursula	GBF	Braunschweig
AR	Weiß, Dr. Siegfried	GBF	Braunschweig
AR + WK	Bitter-Suermann, Prof. Dr. Dieter	MHH	Hannover
AR + WK	Müller-Goymann, Univ.-Prof. Dr. Christel	TU	Braunschweig
AR + WK	Kurth, Dr. Bärbel-Maria	Robert-Koch-Institut	Berlin
AR + WK	Daniel, Prof. Dr. Hannelore	Wissenschaftszentrum Weihenstephan	Freising
AR + Vorsitz WK	Pfeffer, Prof. Dr. Klaus	Universitätsklinikum	Düsseldorf
WK	Hacker, Prof. Dr. Jörg	Universität	Würzburg
WK	Apweiler, Dr. Rolf	EBI	Cambridge/England
WK + stellvertr. Vorsitz WK	Schendel, Prof. Dr. Dolores	GSF	München
WK	Birchmeier, Prof. Dr. Walter	MDC	Berlin-Buch
WK	Hämmerling, Prof. Dr. Günter	DKFZ	Heidelberg
WK	Hakenbeck, Prof. Dr. Regine	TU	Kaiserslautern
WK	Wilmanns, Dr. Matthias	EMBL	Hamburg

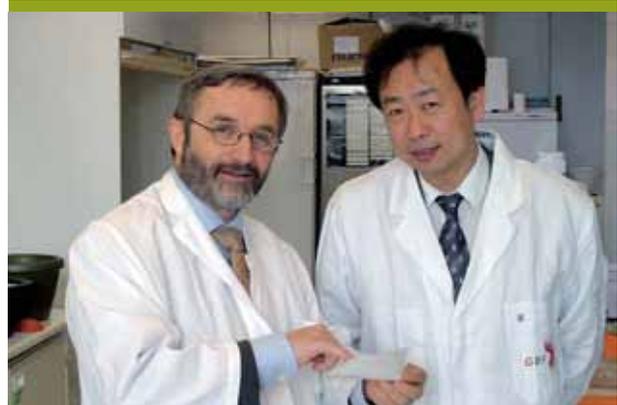
Geschäftsführer Die Geschäftsführer der GBF im Berichtszeitraum:

- Wissenschaft: Prof. Dr. Rudi Balling
- Administration: Dr. Georg Frischmann



● Prof. Dr. Rudi Balling (li), Dr. Georg Frischmann (re).

Foto: GBF, Bierstedt



● Prof. Dr. Rudi Balling im Gespräch mit Dr. Hong He, Leiter des HGF-Büros in Beijing, China, während eines Besuchs in der GBF.

Foto: GBF, Gazlig

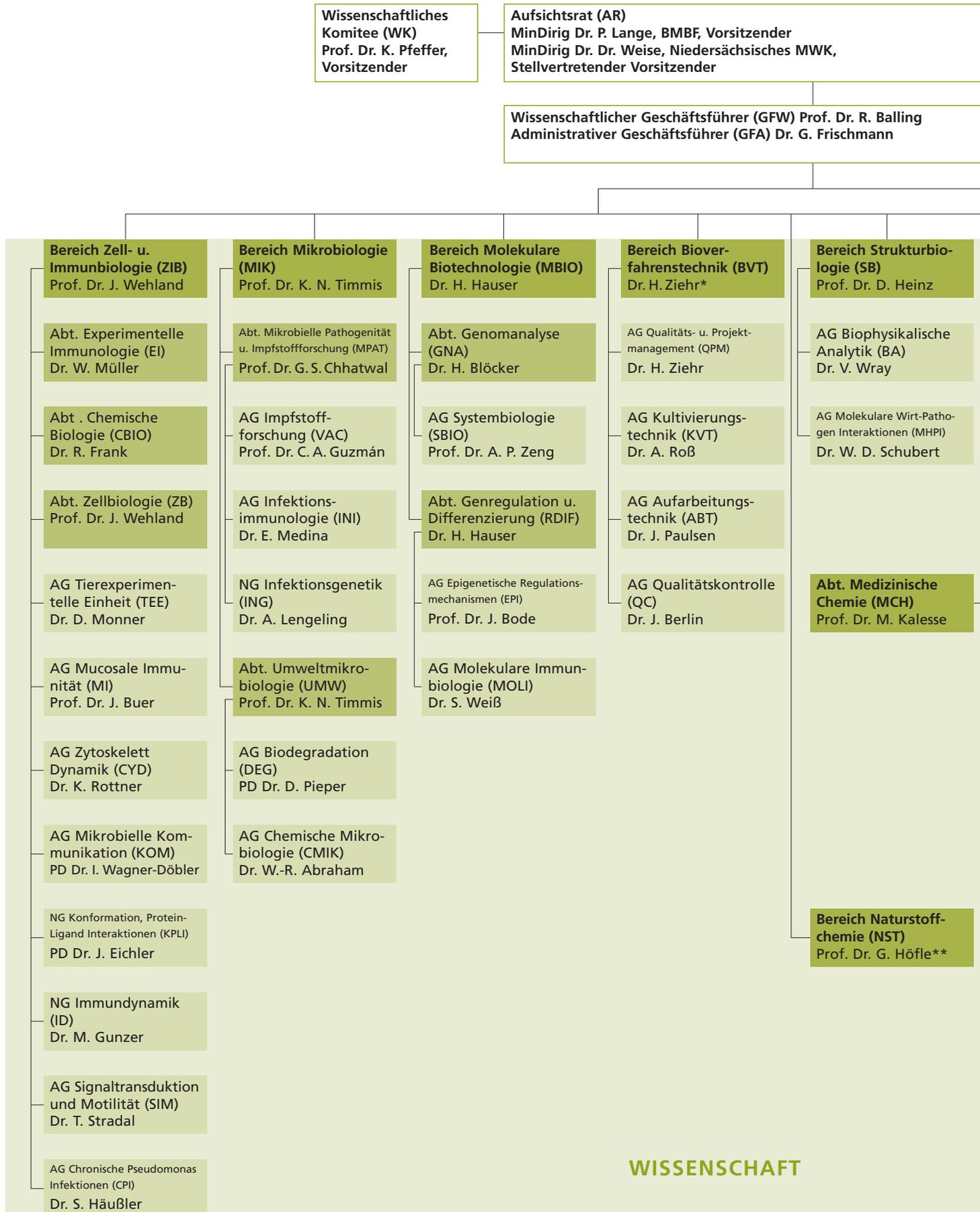
Direktorium Das Direktorium berät die Geschäftsführung in allen wichtigen Angelegenheiten der GBF. Ihm gehören neben der Geschäftsführung die Bereichsleiter, und als Gäste ein Vertreter der Nachwuchsgruppen und der Vorsitzende der Wissenschaftler-Versammlung an.

Wissenschaftler-Versammlung Die Wissenschaftler-Versammlung berät die Geschäftsführung in Angelegenheiten von grundsätzlicher wissenschaftlicher Bedeutung. Ihr gehören 22 gewählte Mitglieder aus dem Kreis der angestellten Wissenschaftler an. Die Geschäftsführung, Bereichsleiter, Arbeitsgruppenleiter der Nachwuchsgruppen und Doktoranden-Vertreter sind Gäste in der Wissenschaftler-Versammlung. Vorsitzender ist Dr. Wolf-Rainer Abraham (seit Mai 2003), Stellvertreter ist Dr. Siegfried Weiß.

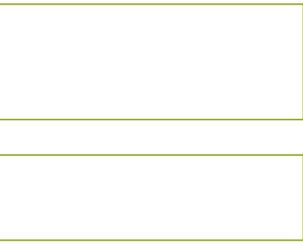
Betriebsrat Dem Betriebsrat gehören derzeit 11 Mitglieder an. Vorsitzender ist Herr John Aubert.

Frauenbeauftragte im Berichtszeitraum ist Frau Evelyn Rohn-Stenzel gewesen.

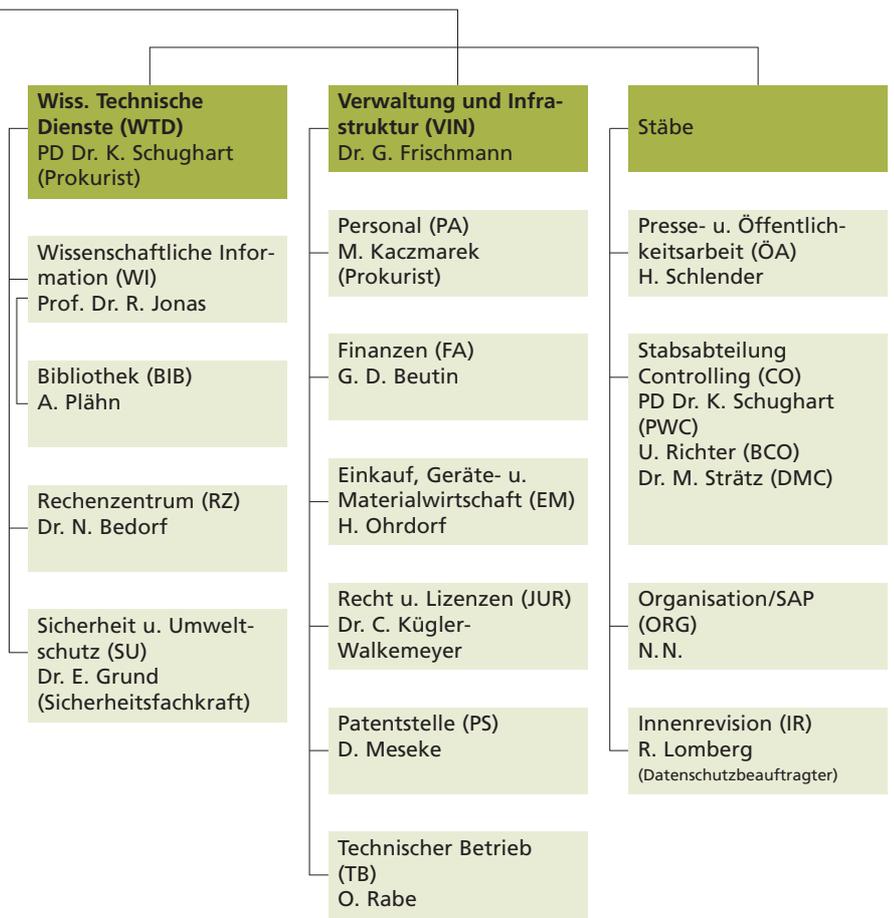
Organisationsdiagramm, Stand 1. Juni 2005



WISSENSCHAFT



Wissenschaftliches Direktorium (DR)	Betriebsrat J. Aubert
Wissenschaftler-versammlung (WV) Dr. W.-R. Abraham	Gleichstellungs-beauftragte E. Rohn-Stenzel



- **Abkürzungen:**
 Abt. Abteilung
 AG Arbeitsgruppe
 NG Nachwuchsgruppe
 PWC Wissensch. Controlling
 BCO Betriebsw. Controlling
 DMC Drittmittelcontrolling

● * mit der Wahrnehmung beauftragt.
 ** Dieser Bereich wurde nicht weitergeführt, nachdem Herr Prof. Dr. G. Höfle im Februar 2005 in den Ruhestand trat.

Ergebnisbericht 2004/2005

Herausgegeben von:

GBF Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH

Mascheroder Weg 1

D-38124 Braunschweig

Telefon (+49) 5 31/61 81-0

Telefax (+49) 5 31/61 81-515

info@gbf.de | www.gbf.de

Mitglied der Helmholtz-Gemeinschaft

Deutscher Forschungszentren

Redaktion:

Prof. Dr. Rainer Jonas (V.i.S.d.P.) | rjo@gbf.de

Priv.-Doz. Dr. Klaus Schughart | kls@gbf.de

Dipl.-Journ. Dipl.-Biol. Hannes Schlender | has@gbf.de

Dipl.-Biol. Journalist Manfred Braun | mbn@gbf.de

Redaktionsassistentz: Monica Kirchner, Sylvana Weidig

Textbearbeitung: Dr. Jo Schilling

© 2005 GBF Braunschweig

Fotografien:

Die Portraits wurden fotografiert von

Thomas Ammerpohl: Seiten 2, 54, 59, 61, 65, 73

Frank Bierstedt: Seiten 3, 5, 22, 31, 40, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49,

50, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 60, 62, 63, 66, 67, 68, 69, 70, 71,

72, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 85, 86, 88, 116, 117

Manfred Braun: Seite 87

Susanne Hübner: Seite 83

Dirk Hans: Seite 52

Bei allen übrigen Fotografien und Collagen wurden die Autoren

unter den Legenden genannt.

Layout und Gestaltung:

wir design GmbH, Braunschweig, Berlin

welcome@wir-design.de | www.wir-design.de

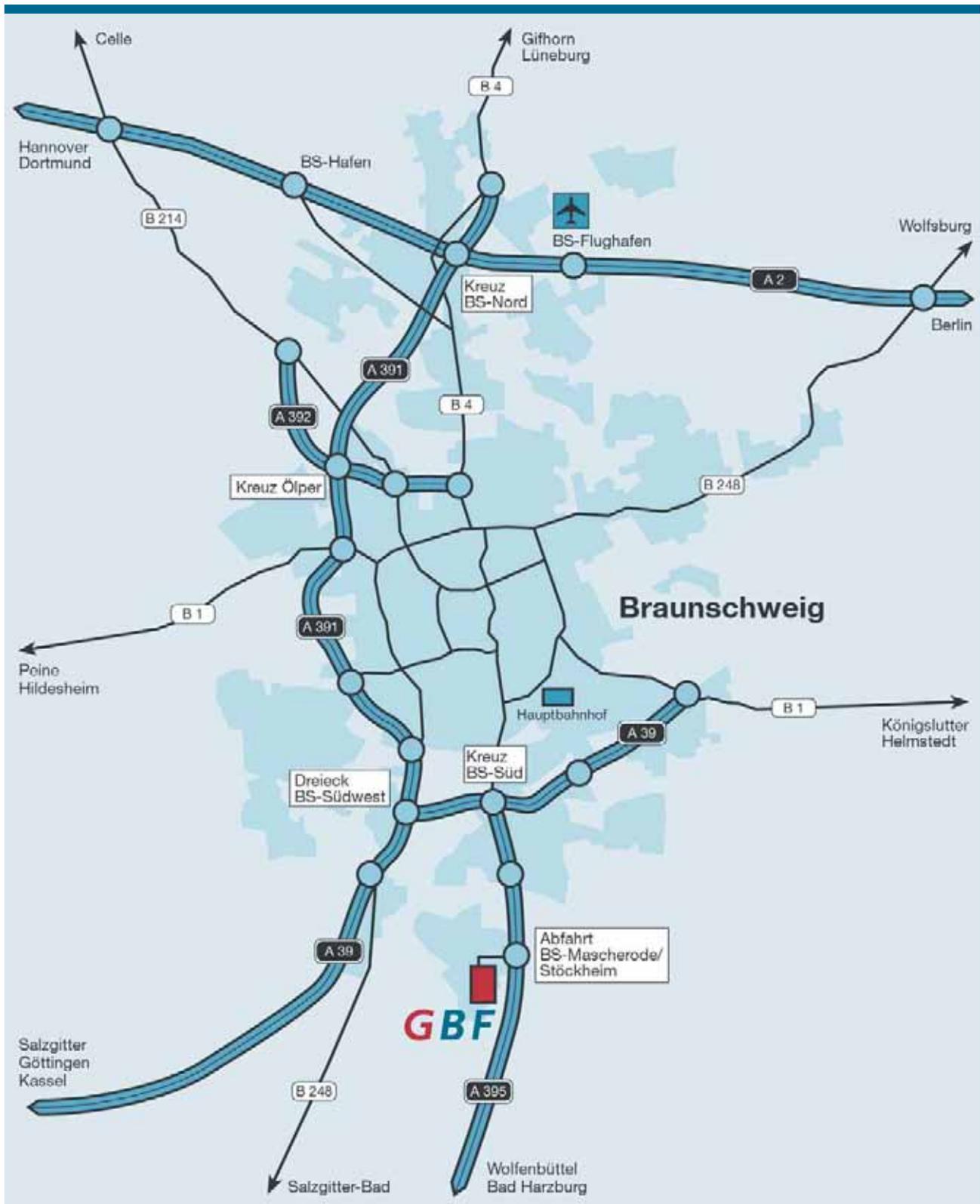
Herstellung :

Döring Druck, Druckerei und Verlag GmbH,

Braunschweig

Gedruckt auf chlorfrei gebleichtem Papier

ISSN 0935-0497



• Lageplan der GBF

ISSN 0935-0497

GBF Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH

Mascheroder Weg 1 | D-38124 Braunschweig

<http://www.gbf.de> | e-mail: info@gbf.de

