

# FORSCHUNGSBERICHT 2008/2009





## VORWORT

- 04 Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) – ein Portrait
- 07 Vorwort

## FOKUS

- 10 Naturstoffforschung im Verbund mit Infektionsforschung: Das neue Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland – HIPS – eine Außenstelle des HZI im Saarland
- 13 Höhepunkte 2007-2009

## BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

- 22 Von Mega-Genomen und Mikro-Chemikern: Neue Perspektiven für die Wirkstoffproduktion in Myxobakterien
- 30 Gezielte Diagnose in Pathogenen

## SONDERBEITRÄGE

- 36 *Ferroplasma acidiphilum*: ein ungewöhnlicher Mikroorganismus mit einer einzigartigen, von Eisen-Metalloproteinen dominierten Stoffwechsellaschinerie
- 44 Die Internalin-Story – was wir aus der strukturellen Infektionsbiologie lernen können

## WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT

- 54 INFEKTION UND IMMUNITÄT
- 56 **Mikrobielle Pathogenität**
- 58 Strukturanalyse von Virulenzfaktoren
- 59 Pathogenese von chronischen *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen
- 60 Virulenzfaktoren der Streptokokken und Pneumokokken
- 61 Systembiologie der Pseudomonaden
- 62 Mikrobielle Kommunikation
- 63 Molekulare Mechanismen des intrazellulären Transports, des Überlebens und der Persistenz von Streptokokken
  
- 64 **Pathogenese**
- 66 Molekulare Mechanismen von Wirtszell-Pathogeninteraktionen
- 67 Analyse der Proteinnetzwerke früher Wirt-Pathogen-Interaktionen
- 68 Signaltransduktion und Aktindynamik
- 69 Die angeborene Immunreaktion auf *Streptococcus pyogenes* in einem experimentellen Infektionsmodell
- 70 Systemgenetik von Infektion und Immunität
- 71 Die Biologie der Immunantwort
- 72 Strukturelle und mechanistische Analyse funktioneller Amyloide
  
- 73 **Entzündung und Immunität**
- 75 Strukturanalyse des angeborenen Immunsystems
- 76 IFN-abhängige Wirtsreaktionen auf die Infektion unter Verwendung von transgenen Reportermausmodellen
- 77 Epigenetische Prinzipien der Genregulation
- 78 Zelluläre Modelle für die Infektion
- 79 Mukosale Immunität und Entzündung
- 80 Immuneffektoren: Moleküle, Zellen und Mechanismen
- 81 Bioinformatik zellulärer Netzwerke

## WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT

- 82 Prävention und Therapie**
- 85 Mikrobielle Vielfalt und die Entdeckung neuer Naturstoffe
- 86 Medizinische Chemie von Antiinfektiva
- 87 Entwicklung neuer Antibiotika aus natürlichen Quellen
- 88 Chemische Biologie von Infektionskrankheiten
- 89 Identifizierung molekularer Angriffspunkte von Antiinfektiva
- 90 Antigen-transportsysteme und Impfstoffe
- 91 Therapeutische zelluläre Vakzine
- 92 Molekulare Diagnostik mikrobieller Krankheitserreger
- 93 Molekulare Infektions- und Replikationsmechanismen des Hepatitis-C-Virus
  
- 94 GENOM- UND GESUNDHEITSFORSCHUNG
- 95 Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen
- 96 Erstellung und Nutzung von DNA-Sequenzdaten
  
- 97 GENE, UMWELT UND GESUNDHEIT
- 98 Mikroorganismenvielfalt
- 99 Metabolische Vielfalt
- 100 Biofilm-Lebensgemeinschaft in Umwelt und Gesundheit
- 101 Gemeinschaften von pathogenen Bakterien
  
- 102 Technologische Plattformen**
- 103 Tierexperimentelle Einheit
- 104 Instrumentelle Analytik
- 105 Genexpressionsanalyse
- 106 Peptidsynthese
- 107 Histologie-/Pathologie-Plattform
- 108 Proteinexpression
  
- 109 Neue Projektgruppen**
- 110 Chronische Infektionen und Krebs
- 111 Strukturelle Charakterisierung von Faktoren der Pathogenabwehr
- 112 Übertragungsbarrieren für Säugetierprionen
- 113 Entwicklung und funktionelle Eigenschaften von Foxp3<sup>+</sup> regulatorischen T-Zellen
- 114 Regulation von Virulenzmechanismen, die zur Pathogen-Wirtszellinteraktion beitragen
- 115 Intrazellulärer Transport von Phagosomen und Immunität: Erkenntnisse von den Mykobakterien
  
- 116 DAS PROGRAMM „INFEKTION UND IMMUNITÄT“ IN PoF II
- 118 Mikrobielle Pathogenität**
- 120 Resistenz und Empfindlichkeit des Wirtes gegenüber Infektionskrankheiten**
- 123 Entzündung und Immunität**
- 124 Strategien für Prävention und Therapie**
- 126 Translationale Infektionsforschung**
  
- 128 TWINCORE, Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung GmbH
  
- 134 Veröffentlichungen 2008-2009
- 156 Gastvorträge 2008-2009

## ZAHLEN UND FAKTEN

- 162 Zahlen und Fakten

## Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung

Der Name des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung ist Programm: hier schaffen etwa 250 Wissenschaftler und etwa 350 technisches und administratives Personal die Grundlagen für neue Diagnoseverfahren, Medikamente und Wirkstoffe, mit denen sich Infektionskrankheiten in Zukunft besser heilen oder effektiver verhindern lassen. Die Wege, die zu diesem Ziel führen, sind ebenso vielfältig wie die Wege der Krankheitserreger in unsere Körper. Mikrobiologen setzen sich damit auseinander wie Bakterien und Viren es schaffen, in unseren Körper einzudringen, wie sich Bakterien untereinander verständigen und wodurch sie uns überhaupt krank machen. Immunologen untersuchen, wie unser Organismus auf einen Eindringling reagiert und sie abwehrt. Strukturbiologen erforschen die molekularen Strukturen von Schlüsselmolekülen bei all diesen Wechselwirkungen. Auf der Basis dieses Wissens untersuchen und entwickeln Chemiker neue Wirkstoffe, die wir den Krankheitserregern entgegensetzen können. Den Königsweg gegen Keime haben Impfstoffforscher im Visier: Sie wollen verhindern, dass diese uns überhaupt krank machen. Und Genetiker gehen noch einen Schritt weiter, indem sie unser Erbgut erforschen und nach Gründen suchen, weshalb ein Mensch etwa an Grippe erkrankt, sein Tischnachbar jedoch nicht.

Die Abwehr von Infektionskrankheiten kann nur über ein tiefes Verständnis für die Mechanismen dahinter gelingen, und diese Mechanismen sind – bei genauem Hinsehen – molekulare Interaktionen zwischen Mensch und Erreger und den Erregern untereinander. Ein Startpunkt, von dem aus sich Forscher des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung dem komplizierten Geflecht „Infektion“ nähern, ist die Zelle – sowohl die des Wirtes als auch die der Bakterien. Ein Beispiel: Chronische Infektionen. Zu einem Problem werden sie in Krankenhäusern. Da, wo Patienten mit geschwächtem Immunsystem behandelt werden, wandeln sich unauffällige Lebensbegleiter zu gefährlichen Angreifern. Im Extremfall nisten sie sich dauerhaft in unserem Körper ein, indem sie sich zu so genannten Biofilmen zusammenschließen. In ihnen sind die Bakterien von einer Schutzhülle umgeben, die sie sehr wirksam vor Angriffen des Immunsystems oder Antibiotika schützt.

Aber was muss geschehen, damit ein Keim zum Angreifer wird? Zu welchem Zeitpunkt wird aus vielen einzelnen Bakterien eine Lebensgemeinschaft? Wie verständigen sich die Bakterien innerhalb des Biofilms miteinander? Erst wenn diese Fragen und Prinzipien der Biofilme verstanden sind, ist der Weg für neue Therapien bereitet. Die Wissenschaftler können dann gezielt die Kommunikation zwischen den Bakterien im Biofilm stören – die bakterielle Abwehr bricht zusammen.

Dann haben sowohl das Immunsystem als auch Medikamente wieder eine Chance, die Keime erfolgreich zu bekämpfen.

Eine ebenso zentrale Rolle für das Verständnis von Infektionskrankheiten spielen die an Infektionen beteiligten Proteine. Mit tausenden von Proteinen organisieren und katalysieren die Mikroorganismen ihr Leben. Das Ziel ist, all diese Proteine nicht nur zu beschreiben, sondern ihre Funktion kennen zu lernen. Denn besonders diejenigen auf der Zelloberfläche sind es, die für den Kontakt mit dem Wirt verantwortlich sind – und die Frage, die über der gesamten Forschung steht, ist immer noch: Wie schaffen es Bakterien, uns zu infizieren? Zwar ist das Arsenal der verschiedenen Pathogenitätsfaktoren, mit denen Bakterien, Viren und andere mikrobielle Krankheitserreger in die Prozesse der menschlichen Zellen eingreifen, letztlich überschaubar – zu wissen, wo sie zu finden sind, und diesen Faktoren einen Namen geben zu können, heißt jedoch noch nicht, sie zu kennen. Proteine sind sehr große Moleküle mit komplexen Strukturen, und genau in diesen Strukturen liegt das Geheimnis ihres Erfolges. Sind diese Strukturen bekannt, können Chemiker natürliche Hemmstoffe identifizieren oder synthetische herstellen, mit denen die Funktionen der Erregerproteine gezielt blockiert werden können. Eine neue Klasse maßgeschneiderter Wirkstoffe würde dann genau dort angreifen, wo die Krankheit entsteht – mit einem Minimum an Nebenwirkungen.

Und neue Strategien gegen Infektionserreger sind dringend nötig. Krankheitserreger nehmen meist den Weg durch die Hintertür und die Mechanismen, die sie nutzen, wirken meist tückisch und bedrohlich. Ganz hilf- und wehrlos sind wir nicht. In den Apotheken stehen ganze Schränke voll Antiinfektiva bereit, die dort weiterhelfen, wo das Immunsystem überfordert ist. Doch es ist ein Wettlauf zwischen Keimen und Menschen – derzeit sind die Krankheitserreger auf der Überholspur. Immer häufiger treten Krankheitserreger auf, die gegen viele Antibiotika resistent geworden sind. Solche Infektionen sind nur schwer zu therapieren – einige gar nicht mehr. Die Basis für neue Wirkstoffe sind häufig Naturstoffe. Sie stammen aus traditionellen und erst neu entdeckten Heilpflanzen, aus Pilzen oder aus Bakterien. Eine besondere Rolle spielen am HZI die Myxobakterien. Und trotz erheblicher weltweiter Anstrengungen auf der Suche nach alternativen Quellen für Antiinfektiva konnten mikrobielle Wirkstoffprinzipien zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten bislang von keinem anderen Konzept übertroffen werden. Aus diesem Grund wurde mit Unterstützung des BMBF und des Saarlandes das Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland, HIPS, in Saarbrücken als eine Außenstelle des HZI in diesem Jahr gegründet.



Die Aufgabe der Chemie in der Infektionsforschung ist einfach beschrieben und schwierig gemacht: Chemiker suchen nach den wirksamen Bestandteilen, die etwa eine Pflanze zu einer Heilpflanze machen. Und in diesen Molekülen suchen sie nach den entscheidenden Strukturmerkmalen und chemischen Gruppen, um sie nachzubauen und sogar in ihrer Wirkung zu verbessern. Die Arbeit hat etwas vom magischen Würfel: Gelingt es, eine Seite mit einer Farbe zu vervollständigen, zerstört man unter Umständen dabei eine andere. Naturstoffe zu synthetisieren oder zu modifizieren, damit daraus potente Medikamente werden, ist eine Disziplin zwischen Grundlagenforschung und medizinischer Anwendung.

Ebenfalls an der Grenze zwischen Grundlagenforschung und Klinik bewegt sich die Impfstoffforschung. Impfstoffe gelten als effektivste und kostengünstigste Methode, um Mensch und Tier vor Krankheitserregern zu schützen. Natürlich suchen die Wissenschaftler nach neuen Impfstoffen gegen Krankheiten wie Aids oder Grippe – eine ihrer Spezialitäten ist jedoch, die Optimierung von Vakzinen durch verbesserte Adjuvanzien. Diese Stoffe haben selbst keine Wirkung gegen Krankheitserreger, helfen jedoch den Impfstoffen, ihre Wirkung voll zu entfalten. Lange wurden Adjuvanzien von Forschern und dem pharmazeutischen Markt stiefmütterlich behandelt, obwohl sie ein elementarer Bestandteil jedes Impfstoffs sind und genauso wichtig, wie der Wirkstoff selbst.

Mit Ausnahme der Vakzinologie – die das menschliche Immunsystem fit gegen Keime macht – haben alle beschriebenen Forschungszweige die Infektionserreger im Visier. Aber zur Infektion gehören zwei – also auch der befallene Organismus. Der Forschungszweig, der die damit verbundenen, sehr komplexen Fragen beantworten möchte, entwickelt sich gerade erst: die Systemgenetik. Die Erforschung der genetischen Zusammenhänge ist für verblüffend viele Krankheiten relevant. Herz-Kreislauf-Erkrankungen, neurologische Erkrankungen oder Allergien werden massiv von den

Erbanlagen beeinflusst. Auch ob ein Wirt empfindlich oder unempfindlich auf eine Infektion reagiert, bestimmt eine ganze Reihe von Genen. Dabei beeinflussen sich die Gene untereinander, so dass ein defektes Gen durch andere Gene kompensiert werden kann oder sich Fehler im Erbmateriale gegenseitig verstärken. Die systemgenetische Untersuchung solcher Verflechtungen wird zu neuen therapeutischen Ansätzen führen und die Mittel, mit denen sie durchgeführt werden, sind nicht Petrischale, Mikroskop oder Maus, sondern Computer.

Dieser Forschungsbogen, den das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung von den molekularen Interaktionen zwischen Erreger und Wirt bis zu neuen Wirkstoffe, Prävention und präklinischen Forschungsansätzen spannt, soll direkt zum Menschen führen. In Kooperation mit der Medizinischen Hochschule Hannover ist das Twincore in Hannover entstanden – ein Translationszentrum, das ein Forschungstreffpunkt von Klinik und Grundlagenforschung ist. Mediziner und Grundlagenforscher arbeiten dort unter einem Dach zusammen und entwickeln gemeinsam Lösungen für die Infektionsprobleme in den Arztpraxen und Kliniken. Mit dieser und weiteren derzeit entstehenden Kooperationen stärkt das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung die Kompetenzen der Gesundheitsforschung im Raum Braunschweig-Hannover. Und es nähert sich mit großen Schritten der Lösung eines alten und dennoch aktuellen Problems: Dem Schutz der Menschen vor Infektionskrankheiten.

Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung  
Inhoffenstraße 7  
38124 Braunschweig  
Tel: +49 (0)531-61 81-0  
Fax: +49 (0)531-61 81-2655  
info@helmholtz-hzi.de  
www.helmholtz-hzi.de



Alle Fotos: HZI, Gramann



# Vorwort

**Prof. Dr. Jürgen Wehland | Wissenschaftlicher Geschäftsführer**

2008 war für das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung ein spannendes Jahr: Nach der wissenschaftlichen Neuausrichtung des Instituts stand die erste Begutachtung im Rahmen der programmorientierten Förderung (PoF) an. Während der Vorbereitung dafür haben wir Wissenschaftler uns mehr als einmal gefragt, ob wir alles richtig gemacht haben: Hatten wir die richtigen Schwerpunkte gesetzt? Würden die Gutachter unsere Meinung teilen, dass wir wirklich sehr gute Ergebnisse erzielt haben? „Ja“ haben uns die Gutachter bestätigt und das wissenschaftliche Programm des HZI als überdurchschnittlich gut beurteilt. So haben wir grünes Licht für die weitere Entwicklung in Richtung Spitzenleistung bekommen. Mit dem Ziel, die Grundlagen für neue Antiinfektiva und neue Impfstoffe zu schaffen.

Jetzt geht es weiter: Wir müssen die Leistung halten und ausbauen. Wir wollen beweisen, dass unsere Forschung ganz im Sinne der Helmholtz-Mission tatsächlich hilft, konkrete Probleme in unserer Gesellschaft zu lösen. Ein Highlight aus dem Jahr 2007 beweist, dass ein Zentrum wie das HZI sehr gut dazu in der Lage ist: Damals hat die FDA in den USA das Krebsmedikament Ixempra zugelassen. Es basiert auf dem am HZI – damals war es noch die GBF – entdeckten und erforschten Naturstoff Epothilon.

Durch die Neugründung des Helmholtz-Instituts für Pharmazeutische Forschung Saarland als Außenstelle des HZI haben sich die Voraussetzungen dieses Jahr erneut verbessert, auch in Zukunft solche anwendungsbezogenen wissenschaftlichen Durchbrüche zu erzielen. Wir haben einen weiteren Meilenstein erreicht, um mit unseren Partnern in der Region die Forschungspipeline von der Laborbank bis zum Patienten auszubauen:

- Die Technische Universität Braunschweig und das HZI bauen zusammen das BRICS (das „Braunschweiger Integrierte Centrum für Systembiologie“) auf. Dort werden Biologen, Mathematiker, Informatiker und Ingenieure gemeinsam lernen, komplexe biologische Prozesse in ihrer Gesamtheit zu verstehen, sie zu modellieren und zu simulieren. Neue Sequenzierungstechnologien helfen bei dieser Arbeit. Die daraus resultierende Datenflut und die Tatsache, dass Infektionskrankheiten extrem komplizierte Prozesse sind, können wir in Zukunft nur mit solchen Methoden bewältigen, wie wir sie am BRICS etablieren.
- Ein gemeinsames Wirkstoffzentrum verbindet die Expertise in der chemischen Biologie und der medizinischen Chemie an der Leibniz Universität Hannover und am HZI. Dadurch wollen wir das Potenzial der am HZI vorhandenen Naturstoffsammlung für die Entwicklung neuer Antiinfektiva erschließen.
- Die Überprüfung der in der Grundlagenforschung und in der präklinischen Forschung gewonnenen Erkenntnisse am Menschen ermöglicht in Zukunft das Hannover Center for Translational Medicine (HCTM), das das Fraunhofer ITEM in Zusammenarbeit mit der MHH und dem HZI aufbaut. Hier können frühe klinische Studien (Phase I/IIa) durchgeführt werden.

All das sichert die wissenschaftliche Leistungsfähigkeit Niedersachsens – und damit auch die Zukunft des HZI. Mindestens genauso wichtig wie diese Investitionen in Gebäude sind allerdings Investitionen in die Köpfe. Wir arbeiten hart daran, aus dem HZI einen immer besseren Arbeitgeber zu machen. Um auch weiterhin die besten Mitarbeiter für exzellente Forschung zu gewinnen.

Jürgen Wehland

FOKUS

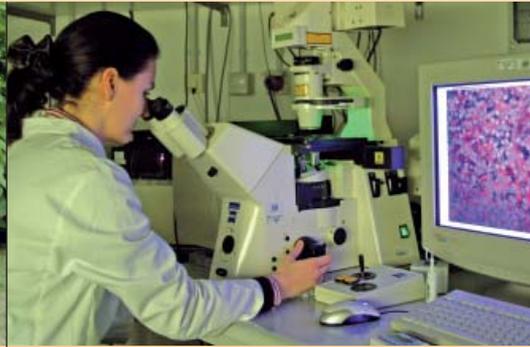
BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

SONDERBEITRÄGE



*Abbildungen auf diesen Seiten von links nach rechts: Das neue Maushaus des HZI wurde am 27. August 2009 eingeweiht | Die neuen Arbeitsgruppenleiter am Twincore, Profs. Ulrich Kalinke, Michael Ott, Tim Greten, Tim Sparwasser, Susanne Häußler, Thomas Pietschmann (von links nach rechts) | Dr. Kathrin Westphal während ihrer Arbeit im Labor. Sie wurde mit dem Preis des "Arbeitskreises Zellbiologie und Biomedizinische Forschung e.V." für ihre ausgezeichnete Doktorarbeit belohnt.*

*Fotos: HZI, Krämer (li) | HZI, Gramann (mi) | HZI, Dornbach (re)*



**10    Naturstoffforschung im Verbund mit Infektionsforschung:  
Interview mit Profs. Drs. Jürgen Wehland und Rolf Müller**

**13    Höhepunkte 2007–2009**



## Naturstoffforschung im Verbund mit Infektionsforschung: Das neue Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung – HIPS – eine Außenstelle des HZI im Saarland

INTERVIEW MIT | Prof. Dr. Jürgen Wehland, wissenschaftlicher Direktor des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung, Braunschweig, und Prof. Dr. Rolf Müller, Leiter des Helmholtz-Zentrums für Pharmazeutische Forschung Saarland, Saarbrücken

In Saarbrücken haben das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und die Universität des Saarlandes ein neues Helmholtz-Institut gegründet: das Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland – kurz HIPS. Im HIPS vereinen sich Infektionsforschung und Pharmazie. Damit geht das HZI konsequent den beschrittenen Translationsweg weiter. Das Ziel: Die Entwicklung neuer Arzneimittel gegen Infektionskrankheiten beschleunigen. Einerseits, um den stetig zunehmenden Resistenzen gegen Infektionserreger zu begegnen und andererseits, um Therapien gegen Krankheiten zu entwickeln, die bislang nicht oder nur unzureichend behandelbar sind.

**Institute und Kooperationen, die die Arzneimittelentwicklung im Bereich der Infektionskrankheiten vorantreiben wollen, gibt es in Deutschland und der ganzen Welt. Weshalb war es nötig das HIPS zu gründen?**

**Rolf Müller:** Die Besonderheit des HIPS ist die Kombination der Infektionsforschung mit der Expertise in der Fachrichtung Pharmazie. Pharmazeutische Wissenschaft, wie sie am HIPS betrieben wird, gibt es in Deutschland bisher nicht außerhalb von Universitäten. Somit gründen wir das erste außeruniversitäre Institut für Pharmazeutische Wissenschaften. Bei Forschungsk Kooperationen, die die Pharmazie nicht einbeziehen, reicht die Entwicklungs-Kette häufig vom Auffinden der Wirkstoffe bis zu ersten Studien im Tiermodell, aber nicht bis in die Klinik. Wir verbessern die Anwendung im Menschen und untersuchen, wie der Wirkstoff an seinen Zielort gelangt.



Sina Bonenberger bei der Proteinaufreinigung am Äkta Autopurifier

**Jürgen Wehland:** Damit haben wir durch die Gründung des HIPS einen Bereich erschlossen, der sonst nur in der Pharmazeutischen Industrie bearbeitet wird...

**RM:** ...wobei die Pharmaindustrie mit ihren Studien eigentlich sogar noch etwas später einsetzt. Im Gegensatz zur Pharmaindustrie wollen wir nicht nur wissen, ob eine neue Substanz wirkt, sondern schon ihren Weg in den Körper optimieren. Dieser Pfad der Wirkstoffentwicklung wird von der Akademia bisher nur unzureichend bedient. Ein weiterer Punkt: Bislang vergehen von der Idee für einen neuen Wirkstoff bis zu seiner Anwendung mindestens zehn Jahre – egal auf welchem Weg ein Therapeutikum entwickelt wird. Unser pharmazeutisches Portfolio in Kombination mit der Expertise der Wissenschaftler des HZI soll und kann diesen Weg verkürzen.

**Es gibt zahlreiche regionale erfolgreiche Kooperationen zwischen dem HZI und anderen Forschungseinrichtungen wie der Medizinischen Hochschule Hannover, der Tierärztlichen Hochschule Hannover, der Universität Braunschweig... Inwieweit profitieren diese Kooperationen von der Gründung eines Helmholtz-Instituts im Saarland?**

**JW:** Durch die Gründung des Helmholtz-Instituts haben wir die Saarbrücker Expertise langfristig in der Forschung des HZI eingebunden. Das HIPS ist ein Institut des HZI – eine Erweiterung – und ist als solche mit zusätzlichen Mitteln für das Zentrum verbunden. Alle anderen Kooperationen, die wir eingehen, müssen wir aus unserem bestehenden Budget finanzieren und das können in der Regel nur Lösungen auf Zeit sein.

**RM:** Der wichtigste Faktor ist jedoch, dass die pharmazeutische Forschung bisher in der Helmholtz-Gemeinschaft fehlt und durch die Gründung eines Helmholtz-Institutes diese Expertise in die Gemeinschaft geholt wurde.



*Ole Revermann bei der Isolation von Naturstoffen*

**Wie wird die Zusammenarbeit praktisch aussehen – Saarbrücken ist nicht gerade um die Ecke...?**

**RM:** Nun, die Kooperation zwischen Braunschweig und Saarbrücken funktioniert schon seit vielen Jahren. Ich habe ja nicht nur meinen Lehrstuhl im Saarland, sondern leite auch seit vier Jahren die Arbeitsgruppe Mikrobielle Wirkstoffe am HZI. Das geht fast reibungslos über den Austausch von Wissenschaftlern und natürlich moderne Kommunikationsmittel – eine Telefonkonferenz ist schnell geschaltet.

**Was wird sich mit der Gründung des Institutes in der Zusammenarbeit ändern?**

**RM:** Die Kooperation zwischen der Universität des Saarlandes und dem HZI betraf bisher nur meine Arbeitsgruppe. Das HIPS arbeitet deutlich breiter. Meine Kollegen Rolf W. Hartmann und Claus-Michael Lehr aus dem Fachbereich Pharmazie der Universität des Saarlandes werden mit ihren Arbeitsgruppen ins HIPS übersiedeln. Zudem sind noch drei Nachwuchs-Forschergruppen geplant.



*Prof. Rolf W. Hartmann und seine Arbeitsgruppe*

**Übersiedeln...?**

**JW:** Ja. Wir werden – so schnell die bürokratischen Hürden es zulassen – ein neues Gebäude für das HIPS auf dem Campus der Universität des Saarlandes bauen.

**RM:** Und damit dann Platz für unsere Nachfolger an der Universität des Saarlandes schaffen. Für die Zeit ohne eigenes Gebäude kommt auf uns drei Saarbrücker erst einmal die Doppelbelastung aus Lehrstuhl und HIPS zu.

**Welche inhaltlichen Schwerpunkte wird das HIPS bearbeiten?**

**RM:** Die Entwicklung neuer Antiinfektiva im weiteren Sinn. Rolf Hartmann ist auf die Optimierung von Leitstrukturen spezialisiert. Claus-Michael Lehr erforscht den gezielten Wirkstofftransport an den Zielort und der Schwerpunkt meiner Gruppe liegt in den mikrobiellen Wirkstoffen – vornehmlich aus Myxobakterien.

**So intensiv hat sich das HZI in den letzten Jahren nicht mehr mit Naturstoffen beschäftigt...**

**JW:** Das stimmt. Und mit diesem Arbeitsschwerpunkt gehen wir einen bewussten und sehr wichtigen Schritt für das HZI: Wir stärken wieder die Naturstoffforschung. In Kombination mit dem neu entstehenden Wirkstoffzentrum hier am Standort Braunschweig bekommt die Naturstoffforschung wieder neuen Schwung.

**RM:** Damit bedienen wir eine Lücke in der Arzneimittelentwicklung der Pharmaindustrie, die in den letzten Jahren immer größer geworden ist. In der Pharmaindustrie vollzieht sich auch eine Wende – wieder hin zu Naturstoffen.

**JW:** Durch die Gründung des HIPS ziehen wir jetzt schon internationales Interesse auf uns. Auch das Interesse der großen Pharmaunternehmen...



*Prof. Claus-Michael Lehr und seine Arbeitsgruppe*



Stefan Werner mit Streptomyceten

**RM:** ...mit deutlichen Folgen für unsere Forschungsmöglichkeiten. Es gibt bereits BMBF-Projekte, die finanziell zur Hälfte von der Pharmaindustrie getragen werden. Das war vor ein paar Jahren noch undenkbar!

**JW:** Und auch direkte Kooperationen mit der Industrie sind mit diesem Forschungsfokus in Zukunft für das HZI durchaus wieder möglich.

**In Niedersachsen entsteht gerade eine sehr intensive Translationslandschaft. Die „Translationsallianz in Niedersachsen“ will die akademische Arzneimittelentwicklung vorantreiben. Nun könnte das HIPS dieses interdisziplinäre Konsortium mit seiner Expertise in der Pharmazie wunderbar ergänzen – läge denn Saarbrücken in Niedersachsen.**

**JW:** Das ist der falsche Denkansatz! Das HIPS ist Teil des HZI und damit auch ein Teil unserer Translationsaktivitäten, Entfernungskilometer spielen da keine Rolle.

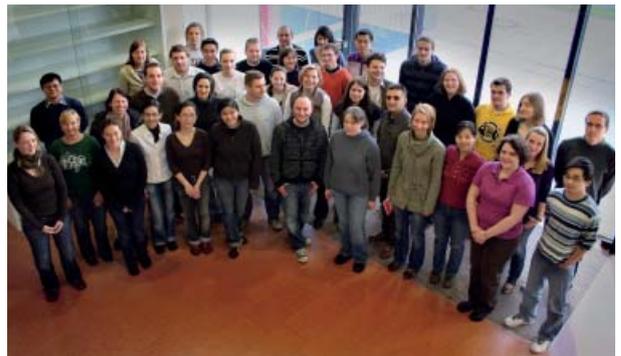
**RM:** Zumal in der Entwicklungskette in Niedersachsen die Elemente des Wirkstoffdesigns und der gezielten Steuerung zum Krankheitsherd eher unterrepräsentiert sind.



Thomas Hoffmann an der LTQ Orbitrap

**Wie sehen Sie die Entwicklung des HIPS in den – sagen wir – nächsten fünf Jahren?**

**JW:** Unser Ziel ist, komplementär zu den Aktivitäten des HZI, das HIPS in den nächsten Jahren mit renommierten Projekten aus den Arbeitsbereichen etabliert und in das HZI eingebunden zu haben. Damit hätten wir dann gleichzeitig unser Alleinstellungsmerkmal in der internationalen Infektionsforschung herausgearbeitet: die Naturstoffforschung.



Prof. Rolf Müller und seine Arbeitsgruppe am HIPS

Das Interview wurde von Dr. Jo Schilling durchgeführt. Sie ist Freie Wissenschaftsjournalistin und schreibt für verschiedene Wissenschaftsmagazine, Forschungseinrichtungen und -förderer. Sie ist auf biotechnologische, medizinische und chemische Themen spezialisiert. [joschilling@t-online.de](mailto:joschilling@t-online.de)



## Höhepunkte 2007-2009

AUTOR | Susanne Thiele | Leiterin der Presse- und Öffentlichkeitsarbeit | sth09@helmholtz-hzi

### Inhoffen-Preis an ETH-Forscher François Diederich

Inhoffen-Preisträger des Jahres 2007 war Prof. François Diederich von der Eidgenössischen Technischen Hochschule (ETH) in Zürich. Er erhielt den vom Förderverein des Helmholtz-Zentrums gestifteten Preis für seine wissenschaftlichen Arbeiten über biologische Rezeptoren – also Moleküle auf Zelloberflächen, die mit hoher Genauigkeit jeweils eine ganz bestimmte Substanz erkennen können. Mit ihnen identifizieren Zellen Botenstoffe, chemische Signale oder die Anwesenheit gefährlicher Krankheitserreger. Diederichs Verdienst ist es, grundlegend untersucht zu haben, wie solche Rezeptoren genau funktionieren. Dazu baute er vereinfachte Varianten solcher Rezeptoren künstlich im Chemielabor nach und studierte ihr Verhalten unter Modellbedingungen. Diese Forschung liefert wichtige Erkenntnisse für zahlreiche biologisch-medizinische Prozesse, unter anderem für das Verständnis von Krankheiten.



Prof. François Diederich von der ETH Zürich ist der Inhoffen-Preisträger des Jahres 2007 Foto: HZI, Hübner

**ASSIST: Hilfe für kranke Kinderherzen** Seit März 2007 koordiniert HZI-Bereichsleiter Singh Chhatwal das deutsch-indische Kooperationsprojekt ASSIST: Die ASSIST-Forscher wollen in den kommenden Jahren Erkenntnisse über in Indien verbreiteten Streptokokken-Stämme sammeln. Darauf aufbauend soll dann der Schnelltest entwickelt werden, um Infektionen mit besonders gefährlichen Streptokokken-Stämmen frühzeitig mit geeigneten Antibiotika bekämpfen zu können. Der Grund: Eine Streptokokken-Infektion kann zwar mit einer harmlosen Halsentzündung ausgestanden sein – sie kann aber auch tödliche Gefahr oder lebenslange Schädigung bedeuten. Experten schätzen, dass Streptokokken-Infektionen jedes Jahr bei rund 600 Millionen Menschen auftreten. Teilweise mit gravierenden Komplikationen, zu denen unter anderem rheumatisches Fieber gehört. Letzteres zieht oft schwere Herzschäden nach sich. Allein in Indien leben 6 Millionen Kinder mit rheumatischer Herzkrankheit.

Ein Schnelltest für Streptokokken könnte die Zahl der Neuerkrankungen drastisch reduzieren.



Das Deutsch-Indische Kooperationsprojekt ASSIST wird durch die Anwendung eines Schnelltests mit dazu beitragen gefährliche Streptokokkus-Stämme, die auch Rheumatisches Herzfieber erzeugen können, frühzeitig zu erkennen, um so eine schnelle Behandlung der Patienten beginnen zu können. Foto: HZI

**Indischer Gesundheitsminister besucht HZI** Der indische Gesundheits- und Familienminister Dr. Anbumani Ramadoss besuchte im Mai 2007 das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. Anlass war die Unterzeichnung eines Kooperationsvertrags, mit dem ein gemeinsames „Deutsch-indisches Wissenschaftszentrum für Infektionskrankheiten“ gegründet wurde. In ihm arbeiten indische und deutsche Wissenschaftler in gemeinsamen Teams. Sie haben sich die Erforschung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten zum Ziel gesetzt – ein Schwerpunkt in der Arbeit von Gesundheitsminister Ramadoss. Begleitet wurde Ramadoss vom Direktor des Indian Council for Medical Research, Prof. Nirmal K. Ganguly. Ein weiterer Besuchspunkt der indischen Delegation war Hannover. Dort besichtigten Ramadoss und Ganguly die Medizinische Hochschule Hannover (MHH) sowie das Twincore, das Translationszentrum der MHH und des HZI.



Der Indische Gesundheitsminister, Dr. Anbumani Ramadoss, und seine Delegation während eines Besuchs im HZI im Mai 2007. Foto: HZI, Krämer

### Internationaler Kongress zur komplexen Genetik am HZI

Internationale Fachleute der komplexen Genetik kamen im Mai 2007 an das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, um beim 6. Jahrestreffen des „Complex Trait Consortium – CTC“ („Konsortium zur Untersuchung komplexer vererbter Eigenschaften“) Erfahrungen auszutauschen und Forschungsaktivitäten aufeinander abzustimmen: Ein einzelner Forscher oder auch ein ganzes Forschungsinstitut kann die Herkulesaufgabe nicht bewältigen, das hochkomplexer Netzwerk der genetischen Abhängigkeiten in einem Organismus oder bei einer Infektion zu beschreiben – nur internationale Zusammenarbeit verspricht Erfolg. Deshalb haben Komplex-Genetiker aus aller Welt das Complex Trait Consortium gegründet. Bei ihrer Zusammenkunft in Braunschweig – organisiert vom HZI-Abteilungsleiter Prof. Klaus Schughart – haben die Forscher aus Deutschland, Großbritannien, Japan und den USA beraten, wie sie gemeinsam die neue Wissenschaftsdisziplin der komplexen Genetik vorantreiben können.



*Prof. Klaus Schughart war Organisator des Kongresses über Komplexe Genetik, der am HZI im Mai 2007 stattfand. Foto: HZI*

### Wissen findet Stadt: HZI-Impfkampagne auf dem Burgplatz

Aus Anlass des Festjahres „Braunschweig – Stadt der Wissenschaft“ informierten im Juni 2007 Experten aus Medizin, Gesundheitswesen und Wissenschaft in einem „Impfzelt“ auf dem Braunschweiger Burgplatz bei der Veranstaltung „Wissen findet Stadt“ über Infektionsforschung und die Notwendigkeit des Impfens. Das HZI hatte dazu gemeinsam mit dem Städtische Klinikum Braunschweig, dem Gesundheitsamt Braunschweig, der Arbeitsgemeinschaft Braunschweiger Krankenkassen und der Kassenärztlichen Vereinigung Niedersachsen (KVN) ein umfangreiches Programm mit Vorträgen, Filmen und Impfberatungen zusammengestellt. Wissenschaftler des HZI bekamen so Gelegenheit, einem großen Publikum ihre Arbeit vorzustellen und zu erklären, wie sie Ideen für neue Impfstoffe entwickeln.



*Anlässlich des Jahres „Braunschweig-Stadt der Wissenschaft“ informierte das HZI in Zelten auf dem Burgplatz über die Bedeutung der Infektionsforschung am HZI. Foto: HZI*

### Preise für den Kampf gegen Krebs und neue Bildgebungsverfahren

Der „Arbeitskreis Zellbiologie und Biomedizinische Forschung e.V.“ zeichnete im Juli 2007 zwei junge HZI-Wissenschaftler aus, die in ihrer Promotionsarbeit große wissenschaftliche Durchbrüche erzielt haben. Dr. Kathrin Westphal hatte in ihrer Doktorarbeit untersucht, wie krankheitserregende Bakterien als Helfer im Kampf gegen den Krebs eingesetzt werden können. So weiß man seit über hundert Jahren, dass Bazillen sich bevorzugt in Krebsgeschwüren ansiedeln. Kathrin Westphal konnte zeigen, dass Salmonellen in der Nähe eines Tumors ganz spezifische Eigenschaften entwickeln, die sich vielleicht in der Krebstherapie nutzen lassen. Der zweite Preisträger, Dr. Bin Ma, konnte neue Techniken entwickeln, um in Mäusen die dynamischen Prozesse einzelner Organe in Echtzeit darzustellen.



*Dr. Kathrin Westphal wurde mit dem Preis des Arbeitskreises Zellbiologie und Biomedizinische Forschung e.V. für ihre exzellente Doktorarbeit ausgezeichnet. Von links nach rechts: Dr. Siegfried Weiß, Dr. Kathrin Westphal, Prof. Jürgen Bode, Dr. Kurt Dittmar. Foto: HZI, Gramann*

**Virus trifft Wirtschaft** Ein Feld, das bisher öffentlich nicht thematisiert wurde, beleuchteten im Oktober 2007 internationale Experten am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung: die Schnittmenge zwischen Infektionskrankheiten und ihren Auswirkungen auf die Wirtschaft. Das Treffen war eine erste Kontaktaufnahme zwischen den beiden Welten. „Wir Wissenschaftler wollen über den Tellerrand schauen und unsere Zusammenarbeit mit der Wirtschaft verstärken. Nur so können wir die Probleme, die uns Infektionen in Zukunft noch bereiten werden, im Griff behalten“, war das Fazit Rudi Ballings zum Abschluss der Veranstaltung.

Infektionen verursachen jährlich weltweit etwa 17 Millionen Tote – Tendenz steigend. Das hat neben den sozialen Folgen auch Konsequenzen für die Wirtschaft: Infektionskrankheiten erfordern von der Pharmaindustrie immer mehr und neue Medikamente sowie Impfstoffe für Länder, die aber kaum Geld dafür haben. Malaria rückt ans Mittelmeer vor und könnte der Tourismusbranche schaden. Versicherungen müssen sich auf erhöhte Risiken durch den Ausfall menschlicher Arbeitskraft einstellen. Beim Kompetenztag am HZI wurden diese Zusammenhänge erstmals von Experten thematisiert und ihre Auswirkungen diskutiert.



Expertendiskussion über die Auswirkungen von Infektionskrankheiten auf die Wirtschaft. Foto: HZI, Gramann

#### Treffen internationaler AIDS-Forscher am HZI

Im Januar 2008 trafen sich HIV-Experten am HZI, um über den aktuellen Stand der AIDS-Forschung zu diskutieren. Neben Forschern aus Deutschland und Europa erklärten auch Fachleute aus Israel und den USA, was den HI-Virus so besonders macht, welche neuen Therapieansätze existieren und wie die Fortschritte in der Entwicklung einer HIV-Schutzimpfung aussehen. Bei dem öffentlichen Symposium konnten alle Teilnehmer mit einem Fachpublikum diskutieren, Fragen stellen und sich in Vorträgen informieren.

Das internationale Doktoranden-Programm „Miditrain“ und Helmholtz International Research School for Infection Biology (HIRSIB) veranstalteten das Symposium.

#### Jürgen Wehland erhält Descartes-Preis

Die EU-Kommission verlieh im März 2008 den mit 1,36 Millionen Euro dotierten Descartes-Preis für herausragende transnationale und kooperative Forschung. Eine der drei Preisträgergruppen – eine Forschergruppe aus Deutschland, Frankreich und Spanien – beschäftigt sich in dem Projekt „VIRLIS“ mit der Virulenz, das heißt der Infektionsfähigkeit des bakteriellen Krankheitserregers *Listeria monocytogenes*. Jürgen Wehland, Leiter des Bereichs „Zell- und Immunbiologie“, arbeitet seit Jahren erfolgreich in dem Konsortium mit. Seine Fragestellungen: Wie dringt das Bakterium in seine Wirtszellen ein, wie nutzt es dessen Zellskelett für die eigene Fortbewegung und wie überlebt es im Inneren der befallenen Zellen.



Prof. Jürgen Wehland wurde mit dem Descartes Preis im März 2008 ausgezeichnet. Foto: HZI, Gramann

#### Inhoffen-Medaille 2008 an Naturstoff-Chemiker Steven

**Victor Ley** Für seine herausragenden Beiträge beim Nachbau medizinisch relevanter Naturstoffe erhielt der britische Forscher Steven Victor Ley im April 2008 die Inhoffen-Medaille, verliehen vom Förderverein des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung. Ley ist Chemiker an der „University of Cambridge“ und beschäftigt sich seit Jahren mit dem Nachbau komplexer Naturstoffe. Ein Ergebnis dieser Arbeiten ist der Stoff Azadirachtin, der aus dem indischen Neem-Baum isoliert wurde und als Insekten-Fraßhemmer eingesetzt wird. Zusätzlich etablierte Ley eine Vielzahl neuer Methoden, die Einzug in die Labore der modernen synthetischen organischen Chemie gehalten haben. Seine Arbeiten sind besonders bedeutend, da viele Naturstoffe chemisch sehr komplex sind, was die künstliche Herstellung im Labor erschwert.



Prof. Steven Victor Ley von der Universität Cambridge wurde mit der Inhoffenmedaille 2008 ausgezeichnet. Foto: HZI, Dornbach

**Kenneth Timmis erhält höchste akademische Auszeichnung der Briten** Der Mikrobiologe Professor Kenneth Timmis vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig erhielt im Juni 2008 eine der höchsten Auszeichnungen für Wissenschaftler erhalten: Der gebürtige Brite wurde zum Fellow der britischen Royal Society gewählt. Er forscht seit 1989 am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (früher GBF) und hat in dieser Zeit durch eine enorme Zahl von Veröffentlichungen und diverse Preise und Auszeichnungen seine herausragende wissenschaftliche Qualifikation belegt. Die Arbeit, für die er als Fellow ausgewählt wurde, ist vor allem die Anwendung der Genetik für die Aufklärung komplexer Stoffwechselwege in Bakterien. Sein Wissen nutzt er beispielsweise, um Bakterien so zu verändern, dass sie Umweltgifte biologisch abbauen können. Prämiert wurde seine Technologie mit der er Quecksilber aus Abwasser entfernen kann. Mit der Wahl zum Fellow wird der Mikrobiologe aus Braunschweig Teil einer erlesenen wissenschaftlichen Gesellschaft: Der Astrophysiker Stephen Hawking, der Entwickler des World Wide Web Tim Berners-Lee und die Nobelpreisträger Paul Nurse und John Sulston sowie viele andere wissenschaftliche Pioniere sind ebenfalls Mitglieder.



Prof. Ken N. Timmis wurde im Juni 2008 zum Mitglied der British Royal Society gewählt. Foto: HZI, Gramann

**Internationaler Genetik-Kongress in Berlin** Zum ersten Mal seit 81 Jahren tagte der 20. Internationale Genetik-Kongress im Juli 2008 wieder in Deutschland. Vorsitz des Kongress hatte Rudi Balling. Mehr als 2000 Forscher kamen nach Berlin, um über alle relevanten Themen der Genetik und ihre neuesten Erkenntnisse zu diskutieren. Unter den teilnehmenden Forschern waren sechs Nobelpreisträger, die ebenfalls Vorträge über ihre Arbeiten hielten. Für Deutschland hatte die Rückkehr des Kongresses eine besondere historische Bedeutung: Ebenfalls im Juli 2008 jährte sich der Erlass des Gesetzes „zur Verhütung erbkranken Nachwuchses“ zum 75. Mal. Damit missbrauchten die Nazis die moderne Genetik, um über ihrer Meinung nach minderwertigen Rassen zu richten. Die deutsche Gesellschaft für Humangenetik (GfH) bezog in einer Erklärung Stellung zum Verhalten damals involvierter Wissenschaftler und gab Auskunft über die aktuelle Position der deutschen Humangenetik.



Das Logo des XX Internationalen Genetik Kongresses, der in Berlin im Juli 2008 stattfand.

**Twincore geht an den Start** Im August 2008 nahm das Twincore, das Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung, in Hannover seine Arbeit auf. Das Zentrum wird gemeinsam vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig und der Medizinischen Hochschule Hannover betrieben. Es kombiniert die infektionsbiologische Grundlagenforschung des HZI mit der klinischen Infektionsforschung der MHH. In Deutschland ist es ein einmaliges Modell und beispielhaft für die Zusammenarbeit von universitärer und außeruniversitärer Forschung. Anspruch des Forschungszentrums ist es, international an der Spitze der Infektionsforschung zu stehen. Dadurch wird es eine treibende Kraft bei der Übertragung von Ergebnissen der Grundlagenforschung in neue Impfstoffe, Diagnostika und Therapien sein.



Prof. Dieter Bitter-Suermann (links), Präsident der MHH, Prof. Rudi Balling (Mitte), Wissenschaftlicher Direktor des HZI and Prof. Ulrich Kalinke (rechts), Wissenschaftlicher Geschäftsführer des Twincore Forschungszentrums, vor dem Eingang von Twincore. Foto: HZI - MHH

**HZI und Braunschweiger Zeitung gewinnen Promega-Preis**

Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) und die Braunschweiger Zeitung (BZ) erhielten gemeinsam den mit 10.000 Euro dotierten ersten Preis im Wettbewerb „Hauptsache Biologie“ des Biotech-Unternehmens Promega GmbH. Mit der wissenschaftsjournalistischen Auszeichnung würdigt Promega besonders gelungene Beispiele



Die Entdeckung des Epthilon, einem Mittel zur Krebsbehandlung, und eine spannende Reportage über den Weg der Substanz bis zu seiner Anwendung führten zur Auszeichnung mit dem Promega Preis 2008 für das HZI und die Braunschweiger Zeitung. Foto: HZI

für die spannende und informative Vermittlung von Forschungsergebnissen in regionalen Medien. Preisträger waren die Professoren Gerhard Höfle und Hans Reichenbach vom HZI sowie der Wissenschaftsjournalist der BZ, Henning Noske. Ihre Ehrung nahmen sie im November 2008 in Hamburg entgegen. Das Dreierteam erhielt den Preis für die neunteilige Serie „Ein Krebs-Medikament entsteht“, die von November 2007 bis Januar 2008 in der Braunschweiger Zeitung erschienen ist. Darin schildert der Redakteur Henning Noske die Chronik der Entdeckung des Wirkstoffes Epthilon – geschrieben wie ein Wissenschaftskrimi.

**Inhoffen-Medaille 2009 an Meeresbiologen William**

**Fenical** Der Meeresbiologe William Fenical wurde im März 2009 mit der Inhoffen-Medaille geehrt. Fenical ist Professor für Meereskunde an der „Scripps Institution of Oceanography“, einem der ältesten und wichtigsten Zentren für interdisziplinäre Meeresforschung mit Sitz in San Diego, USA. Er sucht im Ozean nach neuen Medikamenten. Dazu kultiviert er Meeresbakterien und untersucht die Stoffe, die sie produzieren, nach medizinisch relevanten Eigenschaften. Viele dieser sogenannten Naturstoffe haben das Potenzial, dem Menschen bei der Bekämpfung von Krankheiten zu helfen. Der vom Förderverein des HZI mit 2500 Euro dotierte Preis wurde im Rahmen der öffentlichen Inhoffen-Vorlesung verliehen, einer gemeinsamen Veranstaltung des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung und der Technischen Universität Braunschweig.



Prof. William Fenical erhält die Inhoffen-Medaille aus den Händen von Prof. Joachim Klein, Vorsitzender des Fördervereins des HZI Foto: HZI

**Gründung des Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland an der Saar-Universität** Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig (HZI) und die Universität des Saarlandes haben im August 2009 auf dem Campus der Universität in Saarbrücken das gemeinsame Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) gegründet. Das neue Institut ist die erste Forschungs-Einrichtung der Helmholtz-Gemeinschaft mit dem Schwerpunkt Pharmazeutische Wissenschaften. Das Institut, das als Außenstelle des HZI dauerhaft eingerichtet wird, soll aus drei Abteilungen und drei Nachwuchsgruppen bestehen. Die Wissenschaftler wollen Wirkstoffe aus natürlichen Quellen identifizieren, sie durch Veränderung ihrer chemischen Strukturen für einen pharmazeutischen Einsatz optimieren und den Wirkstofftransport untersuchen. Geleitet wird das HIPS von Professor Rolf Müller; die Professoren Rolf Hartmann und Claus-Michael Lehr übernehmen stellvertretende Leitungsfunktionen. Die Fördermittel für das HIPS stammen ab 2010 zu 90 Prozent aus dem Etat des Bundesministeriums für Bildung und Forschung, die restlichen zehn Prozent werden aus dem saarländischen Landeshaushalt erbracht.



*Während der Unterzeichnung des HIPS-Vertrages: (von links nach rechts) Herr Heiko Gevers, Nds. MWK, Herr Rippel, Landesregierung Saarland, Ministerin Annette Schavan (BMBF), Prof. Volker Linneweber, Universität des Saarlandes, Prof. Jürgen Mlynek, HGF, und Prof. Jürgen Wehland, HZI. Foto: HZI*

**Einweihung eines der modernsten Tierhäuser Europas am HZI** Im August 2009 wurde das neue Tierhaus auf dem Campus des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung eingeweiht. Mäuse als Versuchstiere spielen bei der wissenschaftlichen Arbeit eine entscheidende Rolle. Für viele Untersuchungen reichen Zellschalen und Kulturmedien nicht aus. Für komplexe Vorgänge wie Infektionen, Krebs

oder Autoimmunerkrankungen brauchen Wissenschaftler einen ganzen Organismus, um Krankheiten zu verstehen und Therapieformen entwickeln zu können. Der Spatenstich erfolgte im Frühjahr 2006, nachdem durch den veränderten Schwerpunkt „Infektionsforschung“ verstärkt Versuchstiere benötigt wurden. Mit dem Bau verfügt das HZI nun über eines der modernsten Tierhäuser Europas. Das neue Gebäude hat ein Investitionsvolumen von etwa 20 Millionen Euro, die aus Fördermitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) stammen.



*Das neue Tierhaus Foto: HZI*

**Biologisches Schülerlabor in neuen Räumen im Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung** Im September 2009 bezog das Biotechnologische Schülerlabor Braunschweig e.V. (BioS) neue Labore und Seminarräume im Gründerzentrum des HZI. „Schülern den Forscheralltag vermitteln“, aus diesem Gedanken entstand 2002 das Biotechnologische Schülerlabor Braunschweig e.V. (BioS) auf dem Campus des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig. Das Labor steht heute allen Schülerinnen und Schülern der Jahrgangsstufen 10 bis 13 offen, die sich für anspruchsvolle, biowissenschaftliche Experimente interessieren. In Kursen lernen die Schüler moderne molekularbiologische, mikrobiologische und biochemische Methoden kennen. Die Nachfrage ist groß: seit Bestehen haben mehr als 11.000 Teilnehmer aus der Region in den Kursen experimentiert. Durch den Umzug in die Nähe der Wissenschaftler ist das Arbeiten für die Schüler noch authentischer. Der kurze Weg zu den richtigen Forschern nebenan stellt einen entscheidenden Vorteil dar.



Die neuen Labore von BioS im Gründerzentrum werden besichtigt Foto: HZI

**Eröffnung der Open Access Woche in München mit HZI-Beteiligung** Vom 19.-23.11.2009 fand in Deutschland die Internationale Open Access Woche statt. Sie wurde von der Arbeitsgemeinschaft Open Access in der Allianz der Wissenschaftsorganisationen organisiert und wurde am Montag, 19.11., in der Bayerischen Staatsbibliothek, München, unter dem Titel „Open Access – eine Option für alle Wissenschaftsbereiche?“ mit Kurzbeiträgen und einer anschließenden Podiumsdiskussion eröffnet. Prof. Dr. Rainer Jonas vom HZI war einer der fünf eingeladenen Podiumsdiskussionsteilnehmer, der zu dem Thema „Open Access als Beitrag zur Internationalen Ausstrahlung der Wissenschaft“ referierte. Moderiert wurde die Podiumsdiskussion durch den Journalisten Matthias Spielkamp.



Prof. Rainer Jonas während der Eröffnungsveranstaltung der Open Access Woche Foto: HZI

**Neue Geschäftsführung am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung bestätigt** Der Aufsichtsrat des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig bestätigte im Dezember 2009 die beiden neuen Geschäftsführer des HZI: Prof. Jürgen Wehland und Ulf Richter.

Prof. Wehland tritt am 1. Januar 2010 die Nachfolge von Prof. Rudi Balling als wissenschaftlicher Geschäftsführer an. Prof. Balling wechselte nach neun Jahren am HZI im September 2009 nach Luxemburg und baut dort als Gründungsdirektor das „Luxembourg Centre for Systems Biomedicine“ auf. Ulf Richter folgt im Frühjahr 2010 Herrn Dr. Georg Frischmann, der als Geschäftsführer an das Berufsförderungswerk Thüringen wechselte. Jürgen Wehland kam 1989 an die damalige Gesellschaft für Biotechnologische Forschung. Seit 1997 ist er Leiter des Bereichs „Zell- und Immunbiologie“ und leitet das HZI bereits seit September 2009 Jahres kommissarisch. Jürgen Wehland ist Vizepräsident der Deutschen Gesellschaft für Zellbiologie und erhielt 2007 den Descartes-Preis für seine Forschungsarbeiten über Listerien als Krankheitserreger.

Ulf Richter war von 2003 bis 2005 Leiter der Abteilung „Betriebswirtschaftliches Controlling“ am HZI und von 2006 bis Anfang 2009 Personalleiter und Prokurist. Im März 2007 erwarb er den „Master of Business Administration in Higher Education and Research Management“. Anschließend war er als kaufmännischer Bereichsleiter bei der „Deutschen Einheit Fernstraßenplanung und Bau GmbH Straßenbau“ tätig.



Prof. Jürgen Wehland (Mitte), der neue Wissenschaftl. Geschäftsführer des HZI, im Gespräch mit Frau Annette Schavan (rechts), Bundesministerin für Bildung und Forschung, und Prof. Ulrich Kalinke(links), Twincore, während eines Besuchs im HZI Foto: HZI

FOKUS

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

SONDERBEITRÄGE



*Abbildungen auf diesen Seiten von links nach rechts: Prof. Singh Chhatwal diskutiert mit Mitarbeiterinnen Ergebnisse einer Gelelektrophorese | Diana Telkemeyer überprüft Petrischalen | Biofilme von Myxobakterien | Fotos: HZI, Gramann (li, mi) | HZI (re)*



**22    Von Mega-Genomen und Mikro-Chemikern:  
Neue Perspektiven für die Wirkstoffproduktion  
in Myxobakterien**

**30    Gezielte Diagnose von Pathogenen**

## Von Mega-Genomen und Mikro-Chemikern: Neue Perspektiven für die Wirkstoffproduktion in Myxobakterien

KORRESPONDIERENDER AUTOR: | Prof. Dr. Rolf Müller | Arbeitsgruppe Mikrobielle Wirkstoffe – HZI | Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland – HIPS | rom@helmholtz-hzi.de | Institut für Pharmazeutische Biotechnologie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken | rom@mx.uni-saarland.de

CO-AUTOR | Dr. Klaus Gerth | Arbeitsgruppe Mikrobielle Wirkstoffe

Am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig – vormals GBF – wird seit fast 30 Jahren mit Myxobakterien gearbeitet. Zunächst fasziniert von der für Prokaryoten einmaligen Fähigkeit zu komplexen morphogenetischen Prozessen, die zu fruchtkörperartigen Strukturen führen (Abb.1), wurde gezeigt, dass Myxobakterien zudem sehr gute Produzenten ganz neuartiger niedermolekularer Wirkstoffe sind. Solche Substanzen sind in der Pharmazie und der Agrarwirtschaft weit verbreitet, z. B. als Antibiotika, Chemotherapeutika oder Fungizide.

**Myxobakterien als Wirkstoffproduzenten** Naturstoffe aus Myxobakterien stellen häufig sehr komplexe Verbindungen dar, für deren Biosynthese die Mikroorganismen besondere Strategien entwickelt haben. Diese Verbindungen sind synthetisch oft nur unter großem Aufwand oder gar nicht herstellbar, weshalb sie nach wie vor häufig fermentativ aus den Mikroorganismen gewonnen werden (Abb. 2). Über hundert neue Metabolite wurden bereits aus Myxobakterien isoliert, fast fünfzig Prozent davon aus Kulturextrakten von Vertretern der Gattung *Sorangium cellulosum* (1,2). Der Genus *Sorangium* gehört zur Unterordnung der Sorangiineae, während *Myxococcus xanthus* als Modellorganismus für das Studium prokaryotischer Entwicklung zu den Cystobacteriineae zählt. Myxobakterien sind damit einer der wenigen in den letzten Jahrzehnten entdeckten neuen Wirkstoffpro-

duzenten und werden zu den „talentiertesten“ Sekundärstoffproduzenten überhaupt gerechnet. Erstaunlicherweise besitzen die gebildeten Naturstoffe – bis auf ganz wenige Ausnahmen – völlig neue Grundstrukturen, oft Kombinationen aus Peptiden und Polyketiden. Sie werden meist als „Derivat-Familien“ produziert.



Abb. 1. Fruchtkörper von Myxobakterien Foto: HZI



Abb. 2. Bioreaktor im Technikum Foto: HZI

### Wirkstoffe aus Sorangien und ihr wirtschaftliches Potential

Fast gleichzeitig mit der Publikation der kompletten Genomsequenz von *Sorangium cellulosum* So ce56 in *Nature Biotechnology* (3) wurde ein weiterer Sorangien-Durchbruch bekannt. Im Oktober 2007 wurde einem Wirkstoff aus *S. cellulosum* So ce90 – dem Epothilinderivat Ixabepilone – von der amerikanischen Zulassungsbehörde FDA die Zulassung als Brustkrebsmedikament erteilt. Er ist mittlerweile auf dem Arzneimittelmarkt (Abb. 3 Ixabepilone, BMS (4,5)).

Bereits 1985 wurde an der GBF Epothilon in Extrakten von *Sorangium cellulosum* So ce90 entdeckt und zunächst als Wirkstoff gegen pflanzenpathogene Pilze (1) patentiert. Nachdem bekannt wurde, dass Epothilon ähnlich wie das Krebsmittel Taxol wirkt, indem es die Zellteilung von höheren Zellen durch Bindung an das Tubulinskelett hemmt und insbesondere gegen die sich besonders häufig teilenden Krebszellen wirkt, arbeiteten Biologen intensiv an der Stammoptimierung und der Etablierung eines industriell nutzbaren Fermentationsprozesses. Das gesamte „Know-how“ wurde in Lizenz an Bristol Meyers Squibb übertragen, wo – neben anderen Pharmafirmen – die Entwicklung der Epothilone als Antitumormittel vorangetrieben wurde und wird.

Sekundärstoffe aus Sorangien sind also offensichtlich wirtschaftlich besonders interessant (2). Eines der ersten Sorangien-Antibiotika war das Sorangicin. Es wirkt genauso wie das in der Medizin bereits eingesetzte Rifampicin. Die Entdeckung kam jedoch seinerzeit zu spät; für ein zweites „Rifampicin“ war auf dem Arzneimittelmarkt kein Platz. Heute müssen solche Entscheidungen neu überdacht werden, da die Tuberkulose-Therapie durch Rifamycine einige Schwachstellen aufweist (z.B. Resistenzentwicklung und P450-Induktion), die möglicherweise durch die Einführung von Sorangicin in die Therapie umgangen werden könnten. Als Pflanzenschutzmittel erwies sich Soraphen lange Zeit als hoch interessant. Dieser Hemmstoff der Fettsäuresynthese – bevorzugt bei Pilzen – bewährte sich in Feldversuchen hervorragend gegen Erreger von Pilzkrankungen, unter anderem bei Reis und Wein und wurde fast bis zur Produktionsreife entwickelt. Erst eine in späten Studien nachgewiesene Schädigung von Ratten-Embryonen beendete die Entwicklung.

Es gibt eine Vielzahl anderer Naturstoffe aus Sorangien, die unterschiedlichste biologische Aktivitäten aufweisen und in einem kürzlich erschienen Reviewartikel ausführlich beschrieben werden (2).

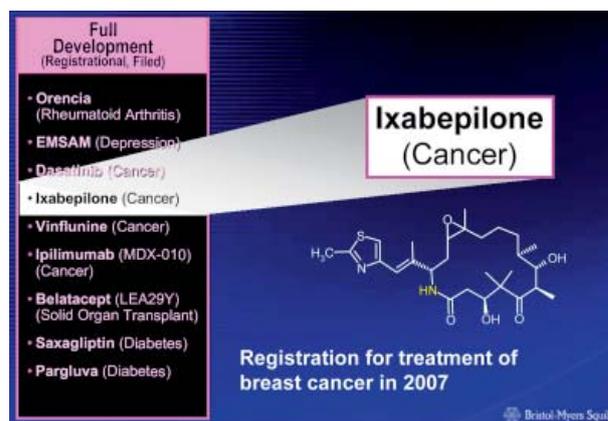


Abb. 3. Ixabepilone Grafik: HZI

### Besonderheiten des Sorangien-Genoms

Die Gen-Sequenzierung eines Sorangien-Vertreters im Rahmen des BMBF geförderten Projekts „GenoMik“ war wichtig, um das biotechnologische Potenzial für weitere Arbeiten besser zu erschließen. Die Erkenntnisse lassen die Sekundärstoffbiosynthese und auch deren Regulation besser verstehen und ermöglichen zukünftig eine gezielte Expression und Produktionsoptimierung.

Insgesamt wurden im Sorangiumgenom 9367 Gene annotiert (Abb. 4A). Diese Zahl übertrifft sogar deutlich diejenige von eukaryotischen Modellorganismen wie der Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*). Die Genomgröße von *Sorangium cellulosum* und der hohe GC-Gehalt waren eine enorme Herausforderung für die Sequenzierung und die bioinformatische Auswertung der Daten, die in enger Zusammenarbeit mit zahlreichen Forschergruppen im In- und Ausland durchgeführt und von unserer Arbeitsgruppe koordiniert wurde.

Ein einziges weiteres Myxobakterien-Genom – von *Myxococcus xanthus* – wurde kürzlich sequenziert (6). Die Vergleichsanalyse beider Gattungen hat gezeigt, dass wider alle Erwartungen die allgemeine Genomorganisation und -struktur sehr stark unterschiedlich ist, obwohl die Genaufteilung in unterschiedliche funktionale Kategorien ähnlich ist. So sind in der Erbsubstanz beispielsweise sehr viele Regulatorproteine kodiert. Die Genomanalyse von *S. cellulosum* zeigt dabei eine erstaunliche Vielfalt von Regulatorproteinen auf, die ursprünglich nur aus Eukaryoten bekannt waren – die Serin/Threonin/Tyrosin-Proteinkinase (7). Mehr als dreihundert dieser Proteine (kodiert

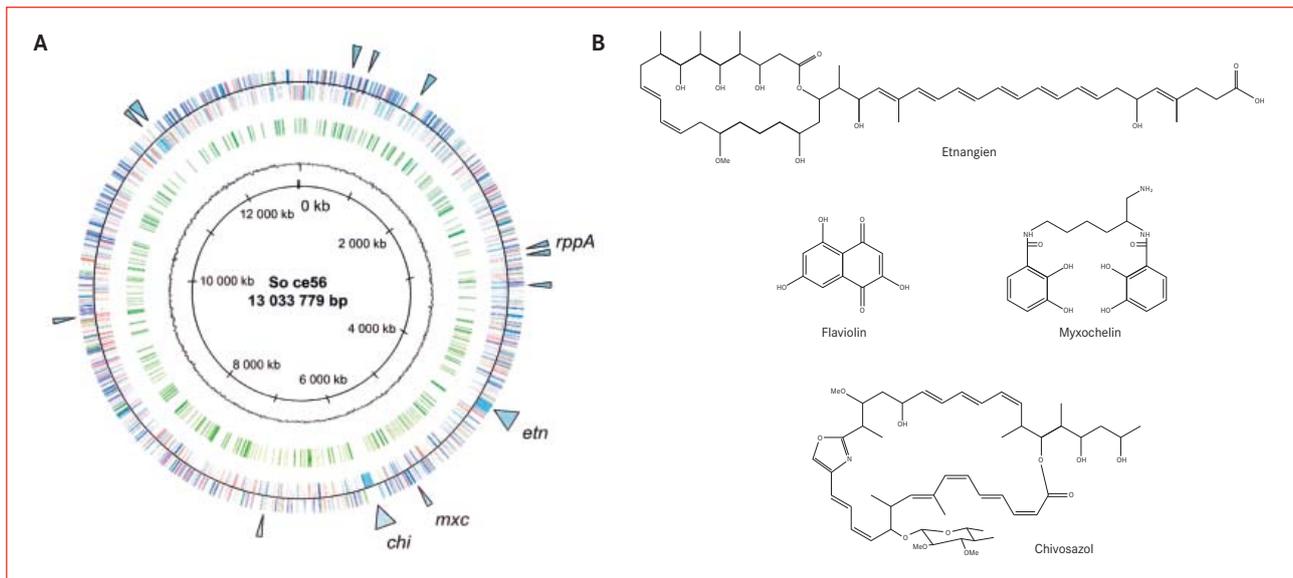


Abb. 4 (A+B). Genom von *Sorangium cellulosum* Foto: HZI

auf fast 1Mbp!) wurden annotiert (Abb. 4A) und zeigen großteils einen sehr ungewöhnlichen oder bisher gar nicht bekannten Aufbau. In Proteomstudien konnten wir zeigen, dass ca. 40% der Proteine in *S. cellulosum* phosphoryliert vorliegen, woraus sich ableiten lässt, dass post-translationale Proteinmodifikationen einen überaus wichtigen Anteil bei der Regulation in Sorangien spielen (3). Die komplexen globalen Regulationsnetzwerke in *S. cellulosum* unterscheiden sich somit signifikant von denen anderer Bakterien. Auch die Zahl an Zweikomponenten-Regulationssystemen und EBPs („enhancer binding proteins“), die ebenfalls bei der Übertragung externer und interner Signale und bei der Koordination des Stoffwechsels eine Rolle spielen, ist ungewöhnlich hoch. Die zahlreichen Regulatorgene können jedoch nicht alleine die außerordentliche Größe des Genoms erklären. Die Frage nach aufgenommener Fremd-DNA (beispielsweise von Bakteriophagen oder Plasmiden) ist derzeit nicht eindeutig zu beantworten, obwohl offensichtlich zumindest einige Gene durch horizontalen Gentransfer übertragen wurden. Hierzu gehören mit hoher Wahrscheinlichkeit auch Gene, die für die Biosynthese von Naturstoffen wie beispielsweise den Epothilonen verantwortlich sind.

Obwohl bereits hunderte bakterielle Genome sequenziert wurden und ein Vergleich auf viele Gemeinsamkeiten innerhalb der unterschiedlichen Bakteriengruppen schließen lässt, bietet die genetische Information aus *S. cellulosum* viel Neues: So zeigen 34,7% aller kodierten Proteine kaum

Ähnlichkeiten mit in Datenbanken hinterlegten Sequenzen. Weitere 13% zeigen Ähnlichkeiten mit hypothetischen Proteinen aus anderen Organismen, deren Funktion jedoch bisher noch unbekannt ist. Erstaunlicherweise liegt damit die Anzahl der in *S. cellulosum* gefundenen „neuen“ Gene in der Größenordnung kompletter bakterieller Genome.

**Die Lebensweise der Myxobakterien, eine Erklärung für die Genomgröße?** Vertreter der Gattung *Sorangium* sind weltweit verbreitete, häufige Vertreter der Bodenmikroflora. Von Ökologen bisher kaum wahrgenommen, gehört die Art *Sorangium cellulosum* zu den wenigen Vertretern aerober, gram-negativer Zellulosezerersetzer. Charakteristisch ist ihre Fähigkeit, sich auf Oberflächen gleitend fortzubewegen, und ein hoher GC-Gehalt des Genoms, der sie von anderen gleitenden Zellulosezeresetzern – den Zytophagen und Sporozytophagen – unterscheidet. Bei der Mineralisierung pflanzlichen Materials leben die Sorangien in der Natur in direkter Konkurrenz mit zelluloseabbauenden niederen Pilzen. Ob dieser Befund mit der Vielzahl antifungischer Wirkstoffe aus Sorangien korreliert, ist derzeit Spekulation.

Sorangien haben, im Vergleich zu den meisten anderen Myxobakterien wie der Gattung *Myxococcus*, einen deutlich vielseitigeren Stoffwechsel. Sie können außer Aminosäuren auch alternative Kohlenstoff-Quellen, wie Zellulose und Stärke, sowie deren Abbauprodukte verwerten. Neben Zellulose sind Pektine und Hemizellulosen typische

Bestandteile der pflanzlichen Zellwand. Mannose oder Xylose werden ebenfalls als Nahrungsquelle genutzt. Die ausgeprägte genetische Ausstattung (über 40 Gene) für den Abbau dieser Zucker konnte im Genom von *Sorangium* verteilt identifiziert werden. Mittlerweile wurden sehr einfache synthetische Medien entwickelt – mit Glukose als Kohlenstoff-Quelle und Ammoniumionen oder Nitrat als Stickstoff-Quelle – auf denen Sorangien wachsen. Alle anderen Primärmetabolite – wie die Aminosäuren – können von Sorangien *de novo* synthetisiert werden.

Myxobakterien sind nur gemeinsam stark: Sie leben in Biofilmen (Abb. 5) und schwärmen als „Rudel“, eine Strategie, die ihnen auch komplexe und nicht lösliche Substrate wie Zellulose oder gar andere Mikroorganismen als Nahrungsquelle erschließen. Die Zellen eines Isolats erkennen sich gegenseitig und Schwärme unterschiedlicher Isolate vermischen sich nicht. Myxobakterien kommunizieren offenbar über Signalstoffe miteinander. Diese für Bakterien einmalige Überlebensstrategie zeigt sich auch unter Hungerbedingungen: Millionen von Einzelzellen der Myxobakterienspezies sammeln sich, vereinen sich zu Zellaggregaten und bilden in einer „kooperativen Morphogenese“ mehr oder weniger

komplexe, gattungsspezifische „Fruchtkörper“. Diese bestehen bei Sorangien aus Massen von Sporangiolen (Abb.6), in denen sich die einzelnen vegetativen Zellen in einer „zellulären Morphogenese“ in Myxosporen umwandeln. Das sind Zellen, in denen der Stoffwechsel zum Erliegen kommt und die gleichzeitig unempfindlich gegen Austrocknung werden. Bei geeigneten Bedingungen entstehen aus den Myxosporen wieder vegetative Zellen, die die Sporangiolen verlassen, so dass ein neuer gemeinsamer Lebenszyklus beginnt.

Für diese morphogenetischen und physiologischen Prozesse sind ebenso wie für die Produktion von Sekundärmetaboliten komplexe Regulationsmechanismen erforderlich, die in der genomischen DNA kodiert sind und – zumindest teilweise – die erstaunliche Genomgröße der Myxobakterien erklären können.

Auch andere Organismen mit komplexen Lebenszyklen sind gleichzeitig Sekundärstoffproduzenten. Dazu gehören beispielsweise die Cyanobakterien oder die Streptomyceten, welche als Aktinomyceten zu den erfolgreichsten Wirkstoffproduzenten überhaupt zählen. Es scheint ein Zusammenhang zwischen der Fähigkeit zu morphogenetischen Pro-

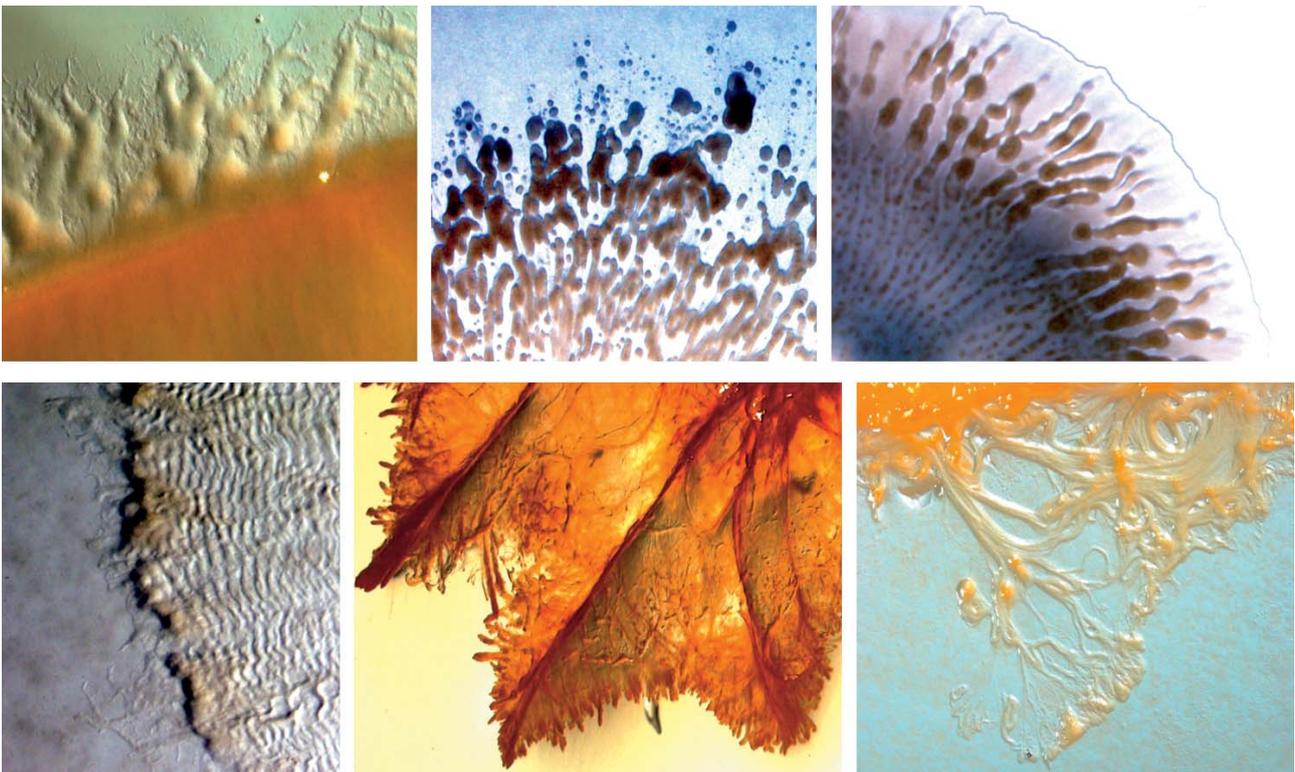


Abb. 5. Biofilme verschiedener myxobakterieller Spezies Fotos: HZI



Abb. 6. Fruchtkörper von *Sorangium cellulosum* Foto: HZI

zessen und der zur Sekundärstoffproduktion zu bestehen. Diese Bakterien besitzen gleichzeitig sehr große Chromosomen. Jedoch ist dasjenige von *S. cellulosum* mit 13,1 Mbp noch einmal um ca. 4 Mbp größer als alle anderen bisher sequenzierten bakteriellen Genome. Allein diese Differenz entspricht fast der Größe des *Escherichia coli*-Genoms.

Die meisten Sorangien-Wirkstoffe werden mittels hochkomplexer und multimodularer Enzymsysteme, den Polyketidsynthasen (PKS) und den nichtribosomalen Peptidsynthetasen synthetisiert. Diese Multienzymkomplexe sind oft in Biosynthesegenclustern kodiert, die 100 kb oder sogar mehr an genetischer Information beinhalten. Meist sind Sorangien sogar Multiproduzenten, die bis zu zwölf unterschiedliche Metabolite gleichzeitig produzieren können (2). Zusätzlich befinden sich noch „ruhende“ Biosynthesegencluster im Genom, deren Produkte bislang nicht bekannt sind. Der Modelstamm *S. cellulosum* So ce56 produziert, wie viele andere Vertreter der Gattung *Sorangium*, mehrere Sekundärmetabolite gleichzeitig (Abb. 4B). Chivosazol ist ein zelltoxischer und fungizider Wirkstoff während Etnangien als Nukleinsäurepolymeraseinhibitor antibakteriell wirken. Zudem wurden die der Eisenversorgung dienenden Myxocheline aus Kulturextrakten dieses Stammes isoliert. Neben den zugehörigen Biosynthesegenclustern zeigt die Analyse des Genoms, dass es auf dem Chromosom noch diverse zusätzliche Regionen gibt, die Informationen für die Biosynthese weiterer Naturstoffe beinhalten. Die Befähigung zur Biosynthese dieser komplexen Substanzen sowie deren Regulation erklärt so einen wichtigen Teil des Sorangien-genoms und ermöglichten in Zukunft gezielte Eingriffe zur Herstellung neuer und veränderter Wirkstoffe.

#### Neue und optimierte Wirkstoffe aus Myxobakterien:

**Zukunftsperspektiven** In *M. xanthus* konnten insgesamt achtzehn Gencluster für die Biosynthese von Sekundärmetaboliten nachgewiesen werden (9). Die Entwicklung und Optimierung chemisch-analytischer Methoden erlaubte uns die Identifizierung von weiteren bisher unbekanntem Sekundärmetaboliten, ähnliches gilt auch für *S. cellulosum* (9-12).

Um das offensichtlich vorhandene genetische Potenzial der Myxobakterien weiter zu erschließen, wird daran gearbeitet, auch „ruhende“ Gene zu aktivieren und so zu neuen Naturstoffen als potentielle Wirkstoffe zu kommen (13). Die Expression dieser komplexen Gencluster ist eine große Herausforderung für die Sekundärstoff-Forschung. Eine Möglichkeit, an der bereits erfolgreich gearbeitet wurde, ist die heterologe Expression der Biosynthesegene in anderen, schneller wachsenden und einfacher zu kultivierenden Wirtsorganismen. Essentielle Voraussetzung hierfür sind detaillierte Kenntnisse des Biosynthese-Mechanismus. Eine Polyketidsynthase unbekannter Funktion aus *S. cellulosum* konnte auf diese Weise in *Pseudomonas putida* exprimiert werden und führte zur Produktion von Flaviolin, einer Verbindung, die bei Myxobakterien bisher unbekannt war (13). Große Biosynthesegencluster aus Myxobakterien wurden auch bereits erfolgreich heterolog exprimiert. Myxochromid, Epothilon und Myxothiazol konnten in *M. xanthus* und in *P. putida* hergestellt werden, wobei zum Teil signifikante Steigerungen der Ausbeute erreicht wurden (8,14-17). Weitere Ansätze, die Biosynthesen zu optimieren, liegen in der Erforschung der Regulation im Originalproduzenten; in *S. cellulosum* wurde ein wichtiger Regulator der Chivosazol-Biosynthese durch biomagnetische Abtrennung identifiziert und experimentell verifiziert; ChiR ist für die Transkription der Biosynthesegene notwendig und eine Überexpression dieses Regulators führt zu einer Verfünffachung der Ausbeute (18). Dieses Beispiel zeigt, wie die Verfügbarkeit der Genomsequenz direkt biotechnologisch verwertbar ist.

Genetische Information kann sogar die Arbeit der Naturstoff-Chemiker bei der Aufklärung neuer Moleküle sowie deren dreidimensionaler Struktur unterstützen. Genaue Kenntnisse der Stereochemie des Moleküls sind von hoher Bedeutung für die Etablierung von Struktur-Wirkungsbeziehungen und eine unabdingbare Voraussetzung für die Totalsynthese oder eine chemische Derivatisierung. Die detaillierte Analyse der Biosynthese des Chivosazols und des Thuggacins erlaubte so Voraussagen zu den absoluten Konfigurationen beider Moleküle, welche nachfolgend auch chemisch bestätigt werden konnten (19,20).

Die Verfügbarkeit der Genomsequenz von *S. cellulosum* stellt einen Meilenstein der Naturstoffforschung mit Myxobakterien dar. Sie ermöglicht die biotechnologische Produktionsoptimierung und das Auffinden neuer Wirkstoffe durch „genome-mining.“ Mit der geplanten Entschlüsselung der Erbinformation weiterer Stämme von *S. cellulosum* und von anderen Vertretern der Myxobakterien wird es bald möglich sein, sehr viel gezielter nach unbekanntem Wirkstoffen in dieser aussichtsreichen Ordnung der Bakterien zu suchen

und deren Produktion zu verbessern. Zudem werden diese Genomsequenzen das vertiefte Studium der oben geschilderten biologischen Prozesse fördern und so ein grundlegendes Verständnis der Biologie der Myxobakterien herbeiführen.

Ein dritter Schwerpunkt für zukünftige Arbeiten neben der Etablierung neuer analytischer Verfahren und der Genomanalyse zur Ermöglichung von „genome-mining“ sehen wir in der Nutzbarmachung des bei weitem noch nicht erschlossenen Potenzials der Biodiversität; veränderte Isolationsbedingungen und Proben aus bisher nicht untersuchten Biotopen werden in Zukunft zur Identifizierung neuer Gruppen von Myxobakterien führen (21). Ein Beispiel sind die moderat thermophilen Myxobakterien, die kürzlich von uns entdeckt wurden. Sie bevorzugen für ihr Wachstum Temperaturen von 40-45 °C und kommen vor allem im Mittelmeerbereich vor. Auf der Suche nach salzliebenden Myxobakterien konzentrierten wir uns auf terrestrische salzhaltige Biotope wie Kalihalden oder Regionen, bei denen Salzstöcke bis an die Oberfläche reichen. Beide Biotope sind lokal in unmittelbarer Nähe gut vertreten. Tatsächlich konnten wir bereits Myxobakterien isolieren, die höhere Salzkonzentrationen tolerieren oder sogar für das Wachstum benötigten. Wichtig hierbei war die Bestätigung der Hypothese, dass diese neuen Gruppen auch andere als die uns bisher bekannten Sekundärmetabolite produzieren, was am Beispiel der halophilen Myxobakterien in der Tat gezeigt wurde.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Aussichten für die Naturstoffforschung mit Myxobakterien nie besser waren als heute. Durch die Kombination von klassischen Methoden mit der Molekularbiologie, der Genomik und verbesserten Screeningmethoden sowie der Weiterentwicklung der Synthesechemie (22-26) und der Analytik stehen vielfältige Möglichkeiten zur Verfügung, um in Zukunft neue Wirkstoffe zu identifizieren und zu entwickeln und parallel alte Bekannte nutzbar zu machen und zu verbessern.



Die Arbeitsgruppe Mikrobielle Wirkstoffe am HZI Photo: HZI

**Dank** Die Arbeiten im Labor von R.M. wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das Bundesministerium für Bildung und Forschung unterstützt.



**Rolf Müller** Rolf Müller, geboren 1965, studierte Pharmazie an der Universität Bonn. Das Staatsexamen legte er 1990 ab. Sein Promotionsstudium im Fachgebiet pharmazeutische Mikrobiologie schloss er 1994 als Dr. rer. nat. ab und arbeitete dann 1995 an der Universität Bonn als wissenschaftlicher Mitarbeiter. Danach war er als DFG-Forschungsstipendiat an der Fakultät für Chemie der Universität Washington in Seattle tätig (1995-1997). Von 1997 bis 2003 war er Leiter einer Nachwuchsforschungsgruppe an der GBF. Parallel dazu arbeitete er als wissenschaftlicher Assistent an der TU Braunschweig. Die Habilitation in Mikrobiologie und Pharmazeutische Biologie erlangte er 2001. Im Jahre 2003 erhielt er den BioFuture-Preis des BMBF. Seit 2003 ist er ordentlicher Professor für Pharmazeutische Biotechnologie an der Universität des Saarlandes sowie seit 2006 Leiter der Arbeitsgruppe „Mikrobielle Wirkstoffe“ am HZI. Im August 2009 wurde er Leiter des neugegründeten Helmholtz Centre for Pharmaceutical Sciences (HIPS), Saarbrücken, einer Außenstelle des HZI.



**Klaus Gerth** Klaus Gerth, geboren 1946, studierte Biologie und Chemie an der Universität Freiburg (1967-1973). Er promovierte 1975 am Institut für Mikrobiologie in Freiburg (Dr. rer. nat.). Seit 1975 ist er Forschungsleiter an der GBF / am HZI, wo er in entscheidendem Maße an der Forschung über Myxobakterien als Quelle für Sekundärmetaboliten beteiligt war. Schwerpunkte seiner Forschung waren die Entdeckung der antifungellen Verbindung Soraphen sowie der Nachweis und die Weiterentwicklung der Antitumorsubstanz Epothilon.

## Literatur

1. Reichenbach, H. & Höfle, G. (1999) Myxobacteria as producers of secondary metabolites. In "Drug Discovery from Nature" (Grabley S, Thiericke R. eds.) Springer Verlag, Berlin, pp. 149-179
2. Gerth, K., Pradella, S., Perlova, O., Beyer, S. & Müller, R. (2003) 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* **106**, 233-253.
3. Schneiker, S., Perlova, O., Kaiser, O., Gerth, K., Alici, A., Altmeyer, M. O., Bartels, D., Bekel, T., Beyer, S., Bode, E., Bode, H.B., Bolten, C. J., Choudhuri, J.V., Doss, S., Elnakady, Y.A., Frank, B., Gaigalat, L., Goesmann, A., Groeger, A., Gross, F., Jelsbak, L., Kalinowski, J., Kegler, C., Knauber, T., Konietzny, S., Kopp, M., Krause, L., Krug, D., Linke, B., Mahmud, T., Martinez-Arias, R., McHardy, A.C., Merai, M., Meyer, F., Mormann, S., Munoz-Dorado, J., Perez, J., Pradella, S., Rachid, S., Raddatz, G., Rosenau, F., Ruckert, C., Sasse, F., Scharfe, M., Schuster, S.C., Suen, G., Treuner-Lange, A., Velicer, G.J., Vorholter, F.J., Weissman, K.J., Welch, R.D., Wenzel, S.C., Whitworth, D.E., Wilhelm, S., Wittmann, C., Blöcker, H., Pühler, A. & Müller, R. (2007) Complete genome sequence of the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Nature Biotechnology* **25**:1281-1289.
4. Höfle, G. & Reichenbach, H. (2005) Epothilone, a myxobacterial metabolite with promising antitumor activity, p. 413-450. In „Anticancer agents from natural products“ (G. M. Cragg, D. G. Kingston, and D. J. Newman, eds.), Taylor & Francis, Boca Raton.
5. Mulzer, J. (2008) "The Epothilones - An Outstanding Family of Anti-Tumour Agents: From Soil to the Clinic". Springer, Wien, New York.
6. Goldman, B.S., Nierman, W.C., Kaiser, D., Slater, S.C., Durkin, A.S., Eisen, J., Ronning, C.M., Barbazuk, W.B., Blanchard, M., Field, C., Halling, C., Hinkle, G., Iartchuk, O., Kim, H.S., Mackenzie, C., Madupu, R., Miller, N., Shvartsbeyn, A., Sullivan, S.A., Vaudin, M., Wiegand, R. & Kaplan, H.B. (2006) Evolution of sensory complexity recorded in a myxobacterial genome. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **103**:15200-15205.
7. Perez, J., Castaneda-Garcia, A., Jenke-Kodama, H., Müller, R. & Munoz-Dorado (2008) Eukaryotic-like protein kinases in the prokaryotes and the myxobacterial kinome. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* **105**:15950-15955.
8. Gerth, K., Perlova, O. & Müller, R. (2007) *Sorangium cellulosum*, p. in. In "Multicellularity and differentiation among the myxobacteria and their neighbors" ASM Press, Washington DC.
9. Bode, H.B. & Müller, R. (2005) The impact of bacterial genomics on natural product research. *Angewandte Chemie International Edition* **44**:6828-6846.
10. Meiser, P., Bode, H.B. & Müller, R. (2006) DKxanthenes: Novel secondary metabolites from the myxobacterium *Myxococcus xanthus* essential for sporulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **103**:19128-19133.
11. Krug, D., Zurek, G., Revermann, O., Vos, M., Velicer, G.J. & Müller, R. (2008) Discovering the hidden secondary metabolome of *Myxococcus xanthus*: a study of intraspecific diversity. *Applied and Environmental Microbiology* **74**:3058-3068.
12. Krug, D., Zurek, G., Schneider, B., Garcia, R. & Müller, R. (2008) Efficient mining of myxobacterial metabolite profiles enabled by liquid-chromatography - electrospray ionization - time-of-flight mass spectrometry and compound-based principal component analysis. *Analytica Chimica Acta* **624**(1):97-106.
13. Gross, F., Luniak, N., Perlova, O., Gaitatzis, N., Jenke-Kodama, H., Gerth, K., Gottschalk, D., Dittmann, E. & Müller, R. (2006) Bacterial type III polyketide synthases: Phylogenetic analysis and potential for the production of novel secondary metabolites by heterologous expression in pseudomonads. *Archives of Microbiology* **185**:28-38.
14. Gross, F., Ring, M.W., Perlova, O., Fu, J., Schneider, S., Gerth, K., Kuhlmann, S., Stewart, A.F., Zhang, Y. & Müller, R. (2006) Metabolic engineering of *Pseudomonas putida* for methylmalonyl-CoA biosynthesis to enable complex heterologous secondary metabolite formation. *Chemistry & Biology* **13**:1253-1264.
15. Perlova, O., Fu, J., Kuhlmann, S., Krug, D., Stewart, F., Zhang, Y. & Müller, R. (2006) Reconstitution of myxothiazol biosynthetic gene cluster by Red/ET recombination and heterologous expression in *Myxococcus xanthus*. *Applied and Environmental Microbiology* **72**:7485-7494.

16. Wenzel,S.C., Gross,F., Zhang,Y., Fu,J., Stewart,F.A. & Müller,R. (2005) Heterologous expression of a myxobacterial natural products assembly line in pseudomonads via Red/ET recombineering. *Chemistry & Biology* **12**:349-356.
17. Julien,B. & Shah,S. (2002) Heterologous expression of epothilone biosynthetic genes in *Myxococcus xanthus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **46**:2772-2778.
18. Rachid,S., Gerth,K., Kochems,I. & Müller,R. (2007) Deciphering regulatory mechanisms for secondary metabolite production in the myxobacterium *Sorangium cellulosum* So ce56. *Molecular Microbiology* **63**:1783-1796.
19. Janssen,D., Albert,D., Jansen,R., Müller,R. & Kalesse,M. (2007) Chivosazole A - Elucidation of the absolute and relative configuration. *Angewandte Chemie International Edition* **46**:4898-4901.
20. Bock,M., Buntin,K., Müller,R. & Kirschning,A. (2008) Stereochemical determination of thuggacins A-C, highly active antibiotics from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Angewandte Chemie International Edition* **47**:2308-2311.
21. Gerth,K. & Müller,R. (2005) Moderately thermophilic myxobacteria: Novel potential for production of natural products. *Environmental Microbiology* **7**:874-880.
22. Kirschning,A., Taft,F. & Knobloch,T. (2007) Total synthesis approaches to natural product derivatives based on the combination of chemical synthesis and metabolic engineering. *Organic & Biomolecular Chemistry* **5**:3245-3259.
23. Rahn,N. & Kalesse,M. (2008) The total synthesis of chlorotoniol A. *Angewandte Chemie-International Edition* **47**:597-599.
24. Balog,A., Meng,D.F., Kamenecka,T., Bertinato,P., Su,D.S., Sorensen,E.J. & Danishefsky,S. (1997) Total synthesis of (-)-epothilone A. *Angewandte Chemie International Edition* **35**:2801-2803.
25. Nicolaou,K.C., Winssinger,N., Pastor,J., Ninkovic,S., Sarabia,F., He,Y., Vourloumis,D., Yang,Z., Li,T., Giannakakou,P. & Hamel,E. (1997) Synthesis of epothilones A and B in solid and solution phase. *Nature* **387**:268-272.
26. Schinzer,D., Limberg,A., Bauer,A., Böhm,O.M. & Cordes,M. (1997) Total synthesis of (-)-epothilone A. *Angewandte Chemie International Edition* **36**:523-524.



# Gezielte Diagnose von Pathogenen

**KORRESPONDIERENDER AUTOR** | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | **Abteilung für Medizinische Mikrobiologie** | gsc@helmholtz-hzi.de

**CO-AUTOR** | Dr. Patric Nitsche-Schmitz | **Abteilung Mikrobielle Pathogenität**

Infektionen im Menschen können sich sehr schnell manifestieren, ausbreiten und lebensbedrohlich werden. Behandlungsverzögerungen – etwa bei einer Sepsis – verringern die Überlebenschance des Patienten dramatisch. Besonderheiten der Pathogene müssen rasch und präzise erfasst werden, um schnell zu geeigneten Therapien zu gelangen. Aber auch weniger schnell verlaufende Infektionen müssen genauer charakterisiert werden, um Komplikationen und Folgeerkrankungen besser prognostizieren und damit vermeiden zu können. Zudem verringert eine diagnostisch indizierte und optimierte Medikation die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen. Die Vielfalt der pathogenen Mikroorganismen, ihre genetische Diversität und Plastizität sind jedoch eine große Herausforderung für die mikrobiologische Diagnostik. Innerhalb einer pathogenen Spezies können verschiedene Stämme unterschiedliche Virulenzfaktoren tragen und so unterschiedliche Erkrankungen verursachen. Zur Entwicklung erfolgreicher Behandlungsstrategien ist es für den Arzt deshalb wichtig, nicht nur die Spezies des Erregers zu kennen, sondern auch den individuellen Stamm und seine speziellen pathogenen Eigenschaften. In Zukunft wird daher der Schwerpunkt auf einer gezielten Diagnose liegen, die den verursachenden Stamm und die mit ihm verbundenen Pathogenitätsfaktoren identifiziert. Dazu werden verschiedene Ansätze verfolgt, die alle auf der vorhergehenden funktionellen Charakterisierung von Virulenzfaktoren basieren.

**Entwicklungen in der Pathogendiagnostik** In der zweiten Hälfte des 17. Jahrhunderts nutzte Antoni van Leeuwenhoek die damals noch junge Erfindung „Mikroskop“, um erstmals Bakterien nachzuweisen. Zweihundert Jahre später, als Robert Koch der erste Nachweis eines pathogenen Mikroorganismus – des Erregers der Lungentuberkulose – gelang, war das Lichtmikroskop das entscheidende diagnostische Instrument. Weitere Differenzierung ermöglichten die u.a. von Paul Ehrlich und Hans Christian Gram entwickelten mikroskopischen Färbemethoden. Mikroorganismen wurden und werden auch heute noch anhand morphologischer, phänotypischer sowie sensorischer Merkmale (Tabelle 1) unterschieden und eingeteilt.

	<b>Merkmal</b>
<b>sensorisch</b>	Geruch Koloniekonsistenz
<b>makroskopisch</b>	Farbe Kolonieform Hämolyse
<b>mikroskopisch</b>	Form des Organismus Zellkern: Prokaryot/Eukaryot Begeißelung Sporenbildung

Tabelle 1: Einige morphologische, phänotypische und sensorische Merkmale von Mikroorganismen

Typisierungen, die bis auf die Ebene verschiedener Subspezies führen können, erfolgen bis heute durch biochemische Methoden, die auf unterschiedlichen Umsetzungen chromogener Substrate basieren, und durch immunologische Methoden, die spezifische Oberflächenstrukturen erkennen und unterscheiden. Durch letztere lassen sich Infektionen in Blutproben spezifisch nachweisen – wie der Erreger der Lyme-Borreliose *Borrelia burgdorferii* – oder in Sensibilitätstests wie dem Tuberkulintest für Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*). Immunologische Methoden, das Elektronenmikroskop und moderne DNA-basierte molekularbiologische Methoden erlauben Nachweis und Diagnose von Viren – leblosen Pathogenen. Die Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) ist eine effiziente und sichere Methode für Routineuntersuchungen von Spenderblut auf HIV und Hepatitisviren. Mit ihr werden erregerspezifische Gene vervielfältigt und sichtbar gemacht (Abb. 1).

Polymerase-Kettenreaktion und automatisierte DNA-Sequenzierung erlauben heute einen detaillierten Blick ins Erbgut der Pathogene. Sie ermöglichen den Nachweis von pathogenitätsassoziierten Genen (Virulenzgenen) und offenbaren die Diversität und Flexibilität der Genome. Die darauf basierende Vergleichende Genomanalyse hilft zu verstehen, wie Pathogene entstehen, zeigt aber auch die Grenzen der Pathogendiagnostik auf.

**Grenzen der gegenwärtigen Pathogendiagnostik und neue alternative Ansätze** Viele der oben genannten klassischen Methoden der mikrobiologischen Diagnostik setzen das Isolieren der Krankheitserreger voraus und das ist bei nichtkultivierbaren Krankheitserregern sehr aufwendig. Der bislang nicht kultivierbare Lepra-Erreger

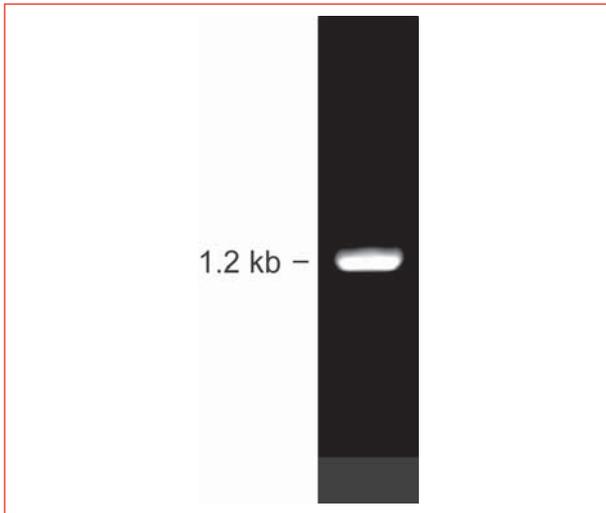


Abb. 1. PCR zur Analyse von *emm*-Genen aus *S. pyogenes* und *S. dysgalactiae equisimilis*. Agarosegelanalyse der Polymerasekettenreaktion für das *emm*-Gen von *S. pyogenes*

*Mycobacterium leprae* muss nach wie vor von Hautabstrichen mikroskopisch identifiziert werden. Weil sich die Routinediagnostik auf ein gewisses Repertoire an Nährmedien und Kulturbedingungen beschränkt, fallen Pathogene mit speziellen Anforderungen an Medien und Wachstumsbedingungen durch das „diagnostische Raster“. In gewissen Fällen jedoch versagen diese Methoden und die Erreger bleiben unzureichend charakterisiert. Die Pathogenität enterohämorrhagischer *E. coli* (EHEC), die Erreger blutiger Durchfallerkrankungen, ist auf den Besitz verschiedener Varianten des Shiga-Toxins zurückzuführen. EHEC können durch kontaminierte Lebensmittel übertragen werden, weshalb ihr Nachweis in der Lebensmittelkontrolle von erheblicher Bedeutung ist. Das Tragen des Shiga-Toxins korreliert nun mit bestimmten Serotypen der *E. coli*-Stämme, die jedoch aufwendig zu testen sind. Zudem werden Shiga-Toxin-tragende Stämme mit untypischem Serotyp nicht erfasst. Um die Pathogenität von *E. coli*-Stämmen sicher und kostengünstig einstufen zu können, sind weiterentwickelte Methoden nötig.

PCR-basierte Analysen sind kulturunabhängige Diagnosemethoden, mit denen schwer- und unkultivierbare Pathogene detektiert und der Zeit- und Kostenaufwand für die Diagnose erheblich reduziert werden können. Stabile Markergene für die Speziesbestimmung und solche für die Genotypisierung wurden und werden für den Einsatz in PCR-basierten Tests identifiziert und evaluiert. Diagnostische Genotypisierungen, die auf pathogenitäts-assoziierten Genen basieren, wie die Shiga-Toxin-Gene der EHEC oder die *emm*-Typisierung von *Streptococcus pyogenes*, sind vielversprechende Ansätze, die zu raschen ersten Einblicken

in das Pathogenitätspotenzial eines Organismus führen können. Aber auch die Aussagekraft von Genotypisierungen hat ihre Grenzen. Vollgenomanalysen und die Entdeckung mobiler genetischer Elemente zeigen, wie schnell und umfangreich sich das Erbgut der Mikroorganismen wandelt. *Neisseria*-Bakterien etwa sind sehr rege im Austausch von Genen. Dies erschwert die Diagnostik von Gonorrhö (*Neisseria gonorrhoeae*). Der Transfer von Markergenen auf apathogene *Neisseria*-Spezies führt häufig zu falsch-positiven Ergebnissen und der Verlust der Gene in den pathogenen Spezies verursacht falsche Negativdiagnosen. Bakteriophagen und Plasmide, die Virulenzgene tragen, werden ausgetauscht und verleihen ihrem Empfänger – auch über Speziesgrenzen hinweg – entsprechende pathogene Eigenschaften. Korrelationen zwischen Pathogenität und bestimmten Genotypen lösen sich auf und verlieren an diagnostischem Wert. Pathogenitätsassoziierte Gene halten sich nicht an Speziesgrenzen. Ein Beispiel dafür sind Hinweise auf Gentransfer zwischen *S. pyogenes* und *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*. Beide Spezies haben eine Reihe von Virulenzgenen gemeinsam, darunter auch das *emm*-Gen (Abb. 1). *Emm*-Gene sind ein herausragendes Beispiel dafür, dass ein Virulenzgen allein einen maßgeblichen Einfluss auf die Pathogenese haben kann, aber nicht auf eine Spezies beschränkt ist. *Emm*-Gene kodieren für ein wichtiges pathogenitätsassoziiertes Oberflächenprotein von Streptokokken, das M-Protein. Erst kürzlich wurde ein kollagenbindendes Motiv in M-Proteinen charakterisiert (Abb. 2 und 3). Dieses Motiv löst eine Autoimmunantwort gegen Kollagen aus, die zu einer schwerwiegenden Folgeerkrankung von Streptokokkeninfektionen, dem Akuten Rheumatischen Fieber, führt. Das Motiv trägt daher den Namen PARF für *Peptide Associated with Rheumatic Fever*. Nicht alle M-Proteine

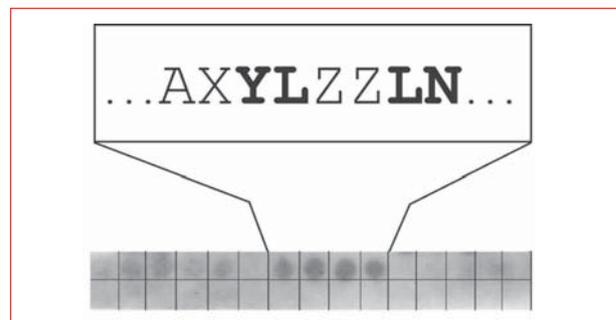


Abb. 2. Ein mit Rheumatischem Fieber assoziiertes Peptid – das PARF-Motiv. In einem Peptid-Array-Experiment (untere Abb.) bindet Kollagen – zu erkennen als runde dunkle Färbung – ausschließlich an die vier PARF-Peptide. Darüber ist das PARF-Konsensusmotiv angegeben.

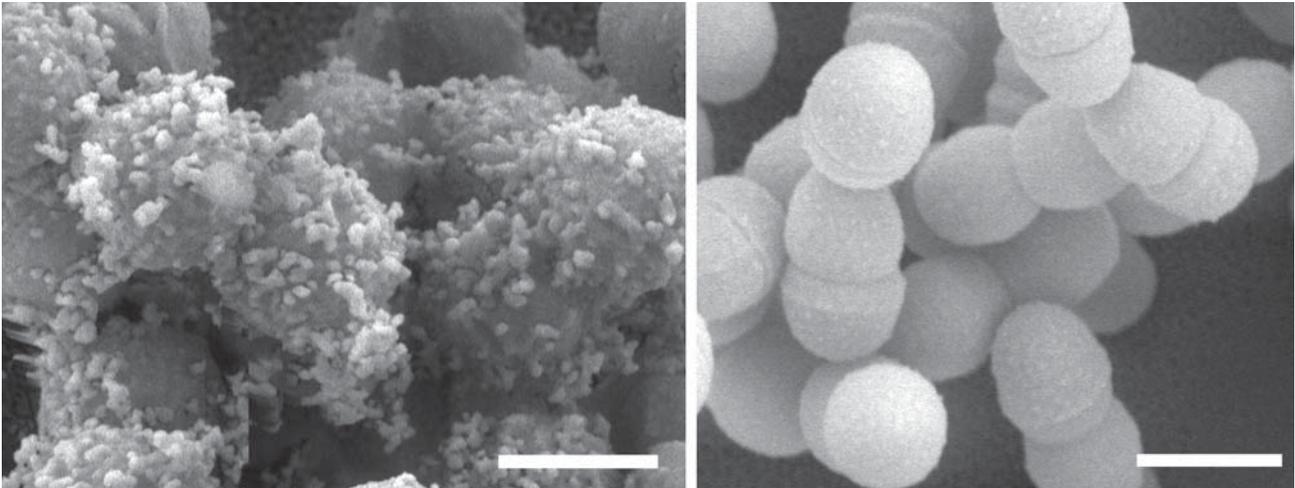


Abb. 3. Kollagenbindende rheumatogene Streptokokken. Rheumatogene Streptokokken tragen M-Proteine mit PARF-Motiv. Dies erlaubt ihnen, Kollagen zu binden und zu aggregieren (links). Das rechte Bild zeigt zum Vergleich Streptokokken ohne Kollagenaggregation. Foto: HZI, Rohde

sind in der Lage, eine solche rheumatogene Autoimmunantwort auszulösen. Diese Eigenschaft ist auf PARF-tragende M-Proteine beschränkt, was PARF zu einem wertvollen Marker für rheumatogene Stämme macht. Der Marker ist direkt mit dem Mechanismus der Pathogenese verknüpft. Dies ermöglicht eine Diagnostik, die von der mikrobiellen Spezies und Genotypen weitestgehend losgelöst ist.

Nur selten ließ sich bisher das Pathogenitätspotenzial eines Erregers an nur einem Faktor festmachen. Durch die starke genetische Wandlungsfähigkeit pathogener Mikroorganismen und weil ihre Virulenz von vielen Faktoren beeinflusst werden kann, werden künftig Tests entwickelt, die vollständige Virulenzfaktorprofile liefern. Solche Tests basieren auf DNA-Microarraytechniken, mit denen mehrere tausend Gene parallel getestet werden können. Die Methode basiert auf der Immobilisierung von Gensonden auf einem Träger. Ist ein entsprechendes Marker-, Virulenz-, oder Resistenzgen in der Probe, wird dieses durch die Sonde gebunden und detektierbar (Abb. 4). DNA-Microarrays sind für Genotypisierungen geeignet. Die Kenntnis des Virulenzfaktorprofils verspricht darüber hinaus Einblick in den individuellen Charakter des Pathogens und eine maßgeschneiderte Behandlung. Eine Voraussetzung dafür ist jedoch Kenntnis über die genauen Funktionen der Virulenzgene und die ggf. dort ansetzenden Therapeutika.

**Ausblick** Mit zunehmendem Wissen über das Repertoire von Virulenz- und Resistenzgenen und darüber, wie verschiedene Genprodukte einander beeinflussen, kann sich die Diagnostik auf die Detektion solcher Faktoren konzentrieren. Die benötigten Methoden sind zurzeit jedoch noch kostenintensiv und benötigen ein hohes Maß an Spezialwissen. Es werden noch beachtliche Anstrengungen nötig sein,

um diese Methoden routinetauglich zu machen. In einigen Fällen, wie voraussichtlich im Falle des PARF-Motivs, wird es möglich sein, das erhaltene Wissen in Schnelltests umzusetzen, die vielleicht schon sehr bald eine schnelle und kostengünstige Diagnose in der Arztpraxis ermöglichen.

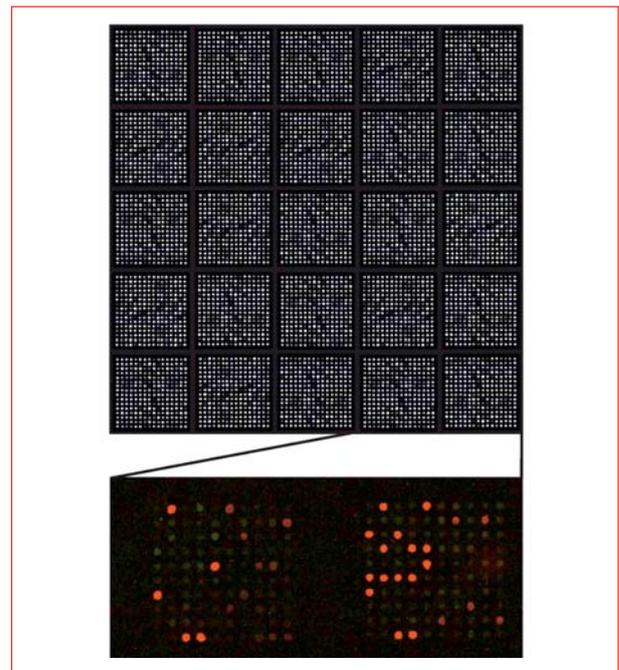


Abb. 4. DNA-Microarray zur Detektion von Streptokokkenvirulenzfaktoren. Im oberen Teil der Abbildung sind die 6400 Oligonukleotidsonden des Arrays visualisiert. Im unteren Teil ist in einem vergrößerten Ausschnitt die spezifische Detektion von virulenzassoziierten Streptokokkengen zu sehen.



**Singh Chhatwal** geboren 1949, leitet die Abteilung Mikrobielle Pathogenität am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI). Er studierte am G.S. Medical College in Bombay und erlangte 1971 an der Universität Bombay den Master of Science. Im Jahre 1975 promovierte er am Haffkine-Institut der Universität Bombay. Danach arbeitete er zwei Jahre an der Tohoku-Universität in Sendai, Japan, als wissenschaftlicher Assistent und Stipendiat der Japanischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften. Von 1978 bis 1979 wurde er an die Fakultät des Instituts für Postgraduierte Medizinische Ausbildung und Forschung in Chandigarh, Indien, gerufen. 1980 kam er als Stipendiat der Humboldt-Stiftung nach Deutschland und arbeitete bis 1988 als Wissenschaftler am Institut für Pharmakologie und Bakteriologie der Universität Gießen. Seit 1988 ist er Mitarbeiter des Bereiches Mikrobiologie am HZI, wo er 1994 auf seine derzeitige Stellung berufen wurde. Gleichzeitig ist er apl. Professor an der TU Braunschweig. Sein Hauptforschungsgebiet ist die mikrobielle Pathogenese mit Schwerpunkt auf den Pneumokokken, oralen Streptokokken und denen der Gruppen A, C, G.



**Patric Nitsche-Schmitz** wurde 1969 in Köln geboren und studierte an der Universität zu Köln Chemie (Diplom 1997). Seine Arbeit am Institut für Biochemie II der Medizinischen Fakultät schloss er 2001 mit der Promotion ab (Dr. rer. nat.). Nach seiner Tätigkeit als promovierter wissenschaftlicher Mitarbeiter am Biomedizinischen Zentrum der Universität Lund in Schweden kam er 2005 zum Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und untersucht seitdem molekulare Mechanismen von Streptokokken-Krankheiten und arbeitet an der Klassifizierung von Streptokokken-Pathogenen.

## Literatur

- Beutin,L., Miko,A., Krause,G., Pries,K., Haby,S., Steege,K. & Albrecht,N. (2007) Identification of human-pathogenic strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from food by a combination of serotyping and molecular typing of Shiga toxin genes. *Applied and Environmental Microbiology* **73**, 4769-4775.
- Bisno,A.L., Craven,D.E. & McCabe,W.R. (1987) M proteins of group G streptococci isolated from bacteremic human infections. *Infection and Immunity* **55**, 753-757.
- Chhatwal,G.S., Nitsche-Schmitz,D.P., Dinkla,K. & Barroso,V. (2007) Peptide associated with rheumatic fever (PARF) and its use as a diagnostic marker (International Patent WO 07140953).
- Cunningham,M.W. (2000) Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clinical Microbiology Reviews* **13**, 470-511.
- Davies,M.R., McMillan,D.J., Beiko,R.G., Barroso,V., Geffers,R., Sriprakash,K.S. & Chhatwal,G.S. (2007) Virulence profiling of *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* isolated from infected humans reveals 2 distinct genetic lineages that do not segregate with their phenotypes or propensity to cause diseases. *Clinical Infectious Diseases* **44**, 1442-1454.
- Davies,M.R., Tran,T.N., McMillan,D.J., Gardiner,D.L., Currie,B.J. & Sriprakash,K.S. (2005) Inter-species genetic movement may blur the epidemiology of streptococcal diseases in endemic regions. *Microbes and Infection* **7**, 1128-1138.
- Dinkla,K., Nitsche-Schmitz,D.P., Barroso,V., Reissmann,S., Johansson,H.M., Frick,I.M., Rohde,M. & Chhatwal,G.S. (2007) Identification of a streptococcal octapeptide motif involved in acute rheumatic fever. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 18686-18693.
- Fischetti,V.A. (1989) Streptococcal M protein: molecular design and biological behavior. *Clinical Microbiology Reviews* **2**, 285-314.
- Rudeeaneksin, J., Srisungngam, S., Sawanpanyalert, P., Sittiwakin, T., Likansakul, S., Pasadorn, S., Palittapongarnpim, P., Brennan, P. J., and Phetsuksiri, B. (2008) LightCycler (trade mark) real-time PCR for rapid detection and quantitation of *Mycobacterium leprae* in skin specimens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **54(2)**, 263-270
- Whiley,D.M., Garland,S.M., Harnett,G., Lum,G., Smith,D.W., Tabrizi,S.N., Sloots,T.P. & Tapsall,J.W. (2008) Exploring 'best practice' for nucleic acid detection of *Neisseria gonorrhoeae*. *Sexual Health* **5**, 17-23.

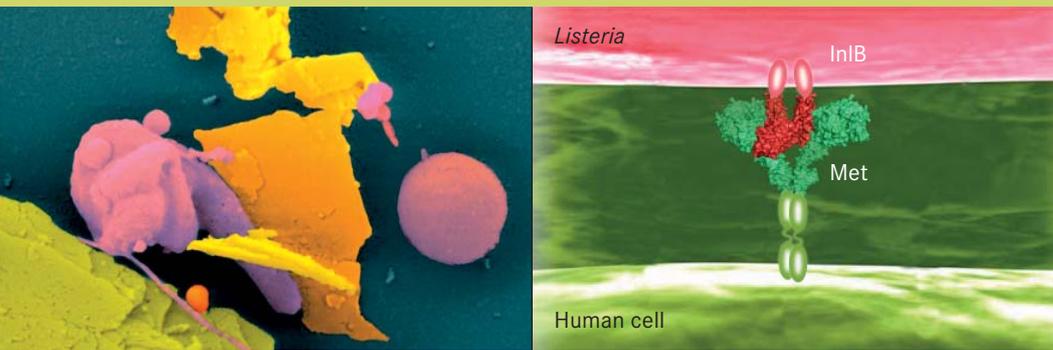
FOKUS

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

SONDERBEITRÄGE



*Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Dr. Olga Golyshina und Prof. Dr. Peter Golyshin kontrollieren das Wachstum von Mikroorganismen | Ferroplasma acidiphilum auf Pyrit | Schematische Darstellung der von InlB-gesteuerten Interaktion zwischen Listerien und Humanzellen | Fotos: HZI, Gramann (li) | HZI (mi)*



- 36 *Ferroplasma acidiphilum*: ein ungewöhnlicher Mikroorganismus mit einer einzigartigen, von Eisen-Metalloproteinen dominierten Stoffwechselmaschinerie
  
- 44 Die Internalin-Story – was wir aus der strukturellen Infektionsbiologie lernen können



## *Ferroplasma acidiphilum*: ein ungewöhnlicher Mikroorganismus mit einer einzigartigen, von Eisen-Metalloproteinen dominierten Stoffwechsellaschinerie

KORRESPONDIERENDER AUTOR | Prof. Dr. Kenneth N. Timmis | Arbeitsgruppe Umweltmikrobiologie | kti@helmholtz-hzi.de

CO-AUTOREN | Dr. Olga Golyshina | Prof. Dr. Peter Golyshin | alle Arbeitsgruppe Umweltmikrobiologie | Prof. Dr. Manuel Ferrer | Institute of Catalysis, CSIC, Madrid, Spanien

Extremophile Mikroorganismen leben in Habitaten an den Grenzen von Biosphäre und Geosphäre, in denen lebensfeindliche physikalisch-chemische Bedingungen vorherrschen. Diese Extremophilen gehören häufig zu den Archaeen, einer der drei Domänen, in die alle zellulären Lebensformen eingeteilt werden. Phänotypisch werden sie anhand der extremen Lebensbedingungen untergliedert, in denen sie existieren können: Thermophile, Acidophile, Piezophile, Halophile, etc.. Extremophile weisen im Gegensatz zu mesophilen Bakterien definierte physikalische, stoffwechselphysiologische und strukturelle Besonderheiten auf, die es ihnen erlauben, die außerordentlich schwierigen Lebensbedingungen in ihren Habitaten zu tolerieren. Einige Extremophile, beispielsweise acidophile schwefeloxidierende Bakterien, können dabei sogar durch ihre Stoffwechsellätigkeit an der Schaffung der extremen Bedingungen in ihren Habitaten beteiligt sein. Einige der oben genannten Umweltbedingungen, z.B. hoher/niedriger pH-Wert, Lösungsmittel oder Schwermetalle, können durch besondere Anpassungen der Zellwände und -membranen aus dem Zytoplasma ausgeschlossen werden. Anderen Faktoren, z.B. extremen Temperaturen, Drücken oder ionisierender Strahlung, müssen Extremophile durch besondere physiologische Anpassungen entgegenwirken.

Die Untersuchung der einzigartigen zellulären und biochemischen Anpassungen der Extremophilen im Kontext mit den Umweltbedingungen ihrer lebensfeindlichen Habitate erweitert dabei nicht nur unser Grundlagenwissen: sie ermöglicht es auch, die Grenzen des Lebens auf dem Planeten Erde und darüber hinaus auf anderen Planeten zu bestimmen. Dieser Forschungsbereich zeigt den Beitrag von Extremophilen zu den biogeochemischen Stoffkreisläufen auf, die die Biosphäre gestalten, ihre Funktion regulieren und ein lebenserhaltendes Gleichgewicht für alle biologischen Elemente schaffen. Darüber hinaus stellen Extremophile ein Reservoir neuartiger biotechnologischer Anwendungen dar, dessen Ausschöpfung gerade erst begonnen hat, obwohl die wirtschaftliche Bedeutung der von diesen Mikroorganismen produzierten "Extremozyme" weitestgehend bekannt ist. Sehr bekannte Beispiele hierfür sind unter anderem Enzyme, die in Anwesenheit von Lösungsmitteln, Salzen oder bei niedrigen bzw. sehr hohen Temperaturen (z.B. Taq Polymerase, die für die PCR verwendet wird) wirken (Tab. 1).

**Acidophile** Saure, lebensfeindliche Habitate sind in der Natur häufig anzutreffen. Einer dieser Lebensräume ist der Mageninhalt von Säugetieren, von dem bis vor kurzem angenommen wurde, dass er frei von jeglicher Mikroflora ist. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass selbst dieser Lebensraum säureresistente Bakterien, unter anderem *Helicobacter pylori*, enthält und zudem die Passage mancher Bakterien in den Darm ermöglicht.

Weitere saure Lebensräume sind geothermale Gewässer, beispielsweise saure vulkanische Quellen. Einige der sauersten Habitate sind jedoch Abwasserströme aus sauren Erzlaugungen, welche durch schwefeloxidierende Bakterien angesäuert werden: Diese können einen pH-Wert von 0 erreichen. Acidophile Mikroorganismen, die bei pH-Werten

unter 3 optimal wachsen, spielen eine wichtige ökologische Rolle in solchen Habitaten. Vertreter dieser Acidophilen finden sich dabei in allen drei Domänen des Lebens, den *Eukarya* (Pilzen), den autotrophen und heterotrophen Bakterien (z.B. *Helicobacter pylori*) sowie unter den *Archaea*.

Im Gegensatz zur Mehrheit der Mikroorganismen, deren Zytoplasma neutrale pH-Werte aufweist, haben Acidophile saure Zytoplasmata mit pH-Werten von 5 bis 6 und in Einzelfällen sogar noch geringeren Werten. Diese werden durch Zelloberflächenstrukturen ermöglicht, welche den Eintritt von Protonen ins Zytoplasma unterbinden, sowie durch Transportpumpen, die Protonen gegen den Protonengradienten aus der Zelle transportieren. Das funktioniert selbst, wenn ausserhalb der Zelle ein pH-Wert von 1 vorliegt.

Gruppe Extremophiler Mikroorganismen	Extremozyme	Wachstumsbedingungen, Toleranzgrenzen	Industrielle Anwendungsmöglichkeiten
Halophile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amylasen</li> <li>• Proteasen</li> </ul>	2-5 M NaCl	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chemikalienherstellung (Pestizide, Herbizide)</li> <li>• Bioremediation</li> <li>• Peptidsynthese</li> </ul>
Thermophile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glycosylhydrolasen</li> <li>• Xylanasen</li> <li>• Lipasen</li> <li>• Esterasen</li> <li>• Dehydrogenasen</li> <li>• Proreasen</li> <li>• DNA-Polymerasen</li> </ul>	bis 120°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stärke</li> <li>• Chitin</li> <li>• Zellulose-Pektin-Prozesse</li> <li>• Papierbleiche</li> <li>• Detergenzien</li> <li>• Hydrolyse in Lebensmitteln &amp; Futter</li> <li>• Molekularbiologische Anwendungen (z.B. PCR)</li> </ul>
Psychrophile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glycosylhydrolasen</li> <li>• Proteasen</li> <li>• Dehydrogenasen</li> <li>• Esterasen</li> <li>• Lipasen</li> <li>• Oxidasen</li> <li>• Peroxidasen</li> <li>• Katalasen</li> </ul>	bis 5°C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detergenzien</li> <li>• Lebensmitteltechnologie</li> <li>• Kosmetika</li> <li>• Biosensoren</li> <li>• Bioremediation</li> </ul>
Alkaliphile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glycosylhydrolasen</li> <li>• Proteasen</li> <li>• Lipasen</li> </ul>	bis pH 11.5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detergenzien</li> <li>• Lebensmittelindustrie</li> <li>• Kosmetika</li> </ul>
Acidophile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glycosylhydrolasen</li> <li>• Proteasen</li> <li>• Oxidasen</li> <li>• Esterasen</li> </ul>	bis pH 1.0	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stärkeproduktion</li> <li>• Kohleentschwefelung</li> <li>• Futterkomponenten</li> </ul>
Piezophile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glycosylhydrolasen</li> <li>• Hydrogenasen</li> <li>• Dehydrogenasen</li> </ul>	bis 130 MPa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antibiotikaproduktion</li> <li>• Lebensmittelindustrie</li> </ul>

Tabelle 1. Extremophile, Extremozyme und einige Beispiele für ihre industriellen Anwendungsmöglichkeiten

Ein besonders wichtiger von acidophilen Organismen genutzter Mechanismus ist der Aufbau einer positiven Ladung an der Innenseite der Zellmembran, welche eine Diffusionsbarriere für Protonen sowie ein Donnan-Potenzial bildet. Ein weiterer Mechanismus beinhaltet spezielle Chloridtransportproteine,  $H^+/K^+$  ( $Na^+$ )<sup>+</sup> Antiporter sowie eine Vielzahl von sekundären Transportproteinen. Archaeen-Zellmembranen verfügen darüber hinaus noch über einen dritten Schutzmechanismus: Etherbindungen, die die Membranlipide der Archaeen verbinden, machen diese resistenter gegen Säurehydrolyse. Zudem machen in die Membrane eingelagerte Isoprenoide diese für Protonen undurchdringlich.

Trotz der Homöostase des zytoplasmatischen pH-Wertes benötigen acidophile Mikroorganismen mit zytoplasmatischen pH-Werten unter 6 nicht nur speziell angepasste Enzyme, sondern müssen auch einer kontinuierlichen Beeinträchtigung ihrer Genomstabilität entgegenwirken, da niedrige pH-Werte unweigerlich zu einer Deaminierung, Oxidation

und Depurinierung ihrer Nukleotide und somit zu Mutationen führen. Organismen mit niedrigen zytoplasmatischen pH-Werten haben daher sehr effiziente DNA-Reparaturmechanismen entwickelt. So weist die Y-Familie der archaeobakteriellen DNA-Polymerasen eine geringe Genauigkeit bei der Kopie von unbeschädigten DNA-Strängen auf, kann andererseits jedoch selbst schwer beschädigte DNA-Stränge amplifizieren. Ferner wurde in den Genomen extrem acidophiler Mikroorganismen eine grosse Anzahl von Determinanten für Chaperone gefunden, was nahelegt, dass diese Proteine charakteristisch für acidophile Lebewesen sind und für ihr Überleben benötigt werden. In diesem Zusammenhang muss auch erwähnt werden, dass Bakterien wie *E. coli* und *H. pylori*, die normalerweise bei neutralem pH wachsen, in saurem Milieu überleben können, wenn chaperonartige Proteine und der Ammoniak-Stoffwechsel hochreguliert sowie Veränderungen in der Lipopolysaccharidzusammensetzung der Zellmembranen vorgenommen werden.

***Ferroplasma acidiphilum*** *Ferroplasma acidiphilum* (Fa) wurde in einem experimentellen Bioreaktor isoliert, in dem die Erzlaugung von Pyriterzen aus Bakyrchik (Kasachstan) mit Hilfe von säureproduzierenden Bakterien untersucht werden sollte. Es handelt sich hierbei um einen acidophilen, mesophilen, eisenoxidierenden, zellwandlosen Mikroorganismus, der namensgebend für eine neue Familie innerhalb der Ordnung Thermoplasmatales (einem Zweig der Archaeen) ist – die *Ferroplasmaceae* (Abb. 1). Es handelt sich um die einzige mesophile Familie innerhalb dieser Ordnung (Abb. 2).

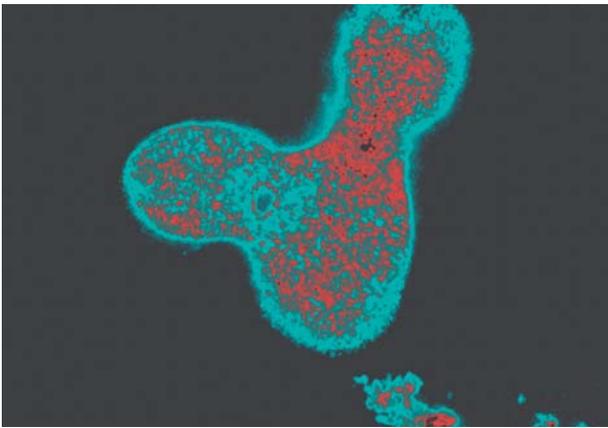


Abb. 1. Morphologie von *F. acidiphilum* Zellen: pleomorphe Formen typisch für Zellwand-lose Mikroben. Foto wurde von Heinrich Lünsdorf, HZI, aufgenommen und freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

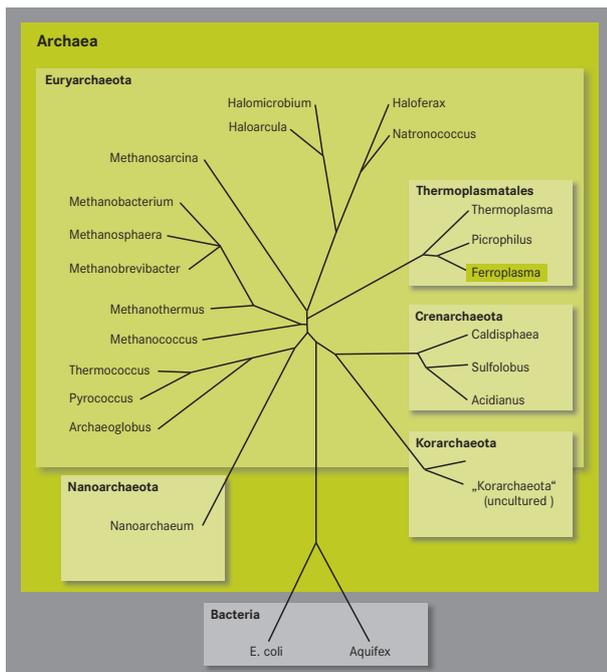


Abb. 2. Der phylogenetische Stammbaum zeigt die 16S rRNA-Sequenzverwandschaft der wichtigsten Stammfamilien von Archaea.

*Ferroplasma* ist ein chemoautotropher Mikroorganismus, der Kohlenstoff mittels  $\text{CO}_2$ -Fixierung bindet und Energie durch Oxidation von Eisen(II) zu Eisen(III) gewinnt. Dieses Archaeum ist in zweierlei Hinsicht extremophil, denn es benötigt nicht nur einen niedrigen pH-Wert sondern auch hohe Konzentrationen von üblicherweise in Eisenerzen auftretenden Schwermetallen in seinem Habitat. Die wesentlichen Bestandteile der Membranen von *Ferroplasma* sind Caldarchaetidylglycerol-Tetraetherlipide (Abb. 3). Diese zeigen aufgrund eines Kerns aus „sperrigen“ Isoprenoidmolekülen eine geringe Permeabilität für Protonen und sind somit einer der wesentlichsten Faktoren, die zur Säurebeständigkeit dieses zellwandlosen Mikroorganismus beitragen. Die Mitglieder der *Ferroplasmaceae* gehören bislang zu den am stärksten acidophilen Lebensformen. Sie können mesophil oder moderat thermophil sein und einen autotrophen oder heterotrophen Stoffwechsel haben. Weltweit sind sie die zahlenmässig signifikanten Mitglieder von mikrobiellen Konsortien in sauren Habitaten.

**Einzigartige acidophile intrazelluläre Proteine** Acidophile Proteine finden in vielen biotechnologischen Prozessen Anwendung (z.B. Xylanasen in der Bleiche für Sulfatzellstoff, Proteasen und Zellulasen in der Verarbeitung von Tiernahrung, Amylasen/Glucoamylasen in der Stärkeproduktion, Oxidasen in der Entschwefelung von Kohle, etc.). *Ferroplasma* müsste *a priori* eine hervorragende Quelle für säurebeständige Enzyme sein, da Enzyme, die von *Ferroplasma* ins umgebende Medium ausgeschieden werden, zwangsläufig säuretolerant sein müssen. Um dieses biotechnologische Potenzial zu bestimmen, wurde durch unsere Arbeitsgruppe eine Anzahl an zytoplasmatischen und membranständigen Enzymen von *Ferroplasma* in *E.coli* kloniert und exprimiert. Im Zuge dieser Untersuchung konnte festgestellt werden, dass *Ferroplasma* keine detektierbaren Exoenzyme produziert, sondern lediglich zytoplasmatische und Membranproteine. Es handelte sich um drei  $\alpha$ -Glukosidasen und eine Esterase – alle Enzyme, die eine zentrale Rolle im Stoffwechsel von *Ferroplasma* spielen: Glukosidasen sind am Kohlenhydratstoffwechsel, an der Glukosylierung von Lipiden (die Mehrzahl der Archaea-Lipide ist glukosyliert) sowie an der Energiegewinnung beteiligt. Esterasen hingegen spielen eine wichtige Rolle bei der Biosynthese von Cofaktoren und Vorläufern von Makromolekülen, sowie in der Energieproduktion der Zelle. Überraschenderweise zeigte die Untersuchung dieser zytoplasmatischen und membranständigen Enzyme, dass – obgleich das Zytoplasma der acidophilen Mikroorganismen neutral oder leicht sauer ist – alle klonierten Enzyme von *Ferroplasma in vitro* Aktivitätsoptima von pH 1.7 bis 4.0 hatten. Sie lagen also bis zu drei Werte auf der pH-Skala unter denen des Zytoplasmas (Abb. 4). Diese Ergebnisse sind nicht nur *a priori* überraschend, sie stehen in starkem Gegensatz zu jenen, die für intrazelluläre Enzyme von anderen extremophilen Mikroorganismen (sowohl Bakterien als auch Archaea) ermittelt wurden, deren pH-Optima nahe den jeweiligen intrazellulären pH-Werten liegen.

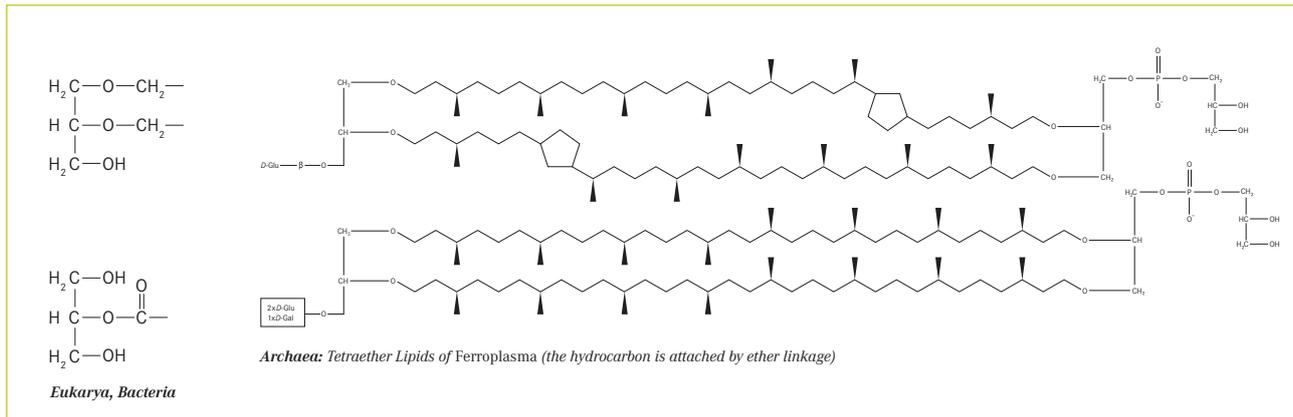


Abb. 3. Mikrobielle Membranlipide. Das Hauptunterscheidungsmerkmal von Lipiden in Archaea sind die Etherbindungen im Gegensatz zu den Esterbindungen bei Lipiden von Eukarya und Bacteria. Tetraetherlipide von *Ferroplasma* und anderen acidophilen Archaea sind wahrscheinlich ein Schlüssel für das Überleben unter den Bedingungen einer extrem sauren Umgebung.

Neben diesen Enzymen zeigt auch die DNA-Ligase von *Ferroplasma* ein extrem niedriges pH-Optimum. Somit besitzen fünf von fünf untersuchten Enzymen von *Ferroplasma* pH-Optima, die weit unter den ermittelten zytoplasmatischen pH-Werten liegen. Obwohl dies 100% entspricht, stellen 5 von 3000 Proteinen kein statistisch aussagekräftiges Ergebnis dar. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass der überwiegende Teil der Proteine von *Ferroplasma* bei sehr sauren pH-Werten aktiv ist. Obwohl der Grund für diese "pH-Optima-Anomalie" bis dato unbekannt ist, könnte eine Erklärung dieses Phänomens in einer Heterogenität des Zytoplasmas durch Kompartimentierung der Zellen zu suchen sein: In Kompartimenten können spezifische, lokal konzentrierte physikalisch-chemische Umgebungen vorliegen, die eine optimale Funktion dieser Enzyme ermöglichen. Da intrazelluläre pH-Wert-Messungen nur einen Durchschnittswert für das Zytoplasma der Zellen wiedergeben, könnten solche Kompartimente bislang unentdeckt geblieben sein.

Eine weitere Erklärung könnte in einer hohen Dichte positiv geladener Aminosäuren an der Proteinoberfläche zu suchen sein, zumal Acidophile häufig ein positives intrazelluläres Potenzial generieren, um dem starken Transmembran-pH-Gradienten entgegenzuwirken. Hinlänglich bekannte Beispiele für saure eukaryotische Zellkompartimente mit einer positiven Ladung beinhalten u.a. Mitochondrien, Lysosomen,

Erythrozyten, Kollagenfasern und sekretorische Vakuolen. Hier ist der niedrige pH-Wert von entscheidender Bedeutung für die Funktion der Kompartimente, z.B. für die Hydrolyse von Makromolekülen, die Freigabe von Ligand und Rezeptor, die Hormonsynthese oder die Proteinsortierung. In Bakterien wurden so genannte Acidocalcisomen nachgewiesen, deren Funktion die Energiespeicherung und die Regulierung des Säurehaushalts der Zelle ist. Zu diesem Zeitpunkt kann nicht ausgeschlossen werden, dass *Ferroplasma* eben solche einzigartigen, bislang unentdeckten Mechanismen entwickelt hat, um in saurem Milieu zu überleben.

Alle Proteine anderer Archaea, die eine Homologie zu  $\alpha$ -Glukosidasen von *Ferroplasma* besitzen, hatten bisher andere Funktionen zugewiesen bekommen. Diese Fehlannotierung unterstreicht wiederum die Unzulänglichkeiten von Genomannotationen, die auf Sequenzhomologien beruhen. So weist  $\alpha$ -GluFa (eine der *Fa*  $\alpha$ -Glukosidasen) eine starke Ähnlichkeit zu einem "nicht charakterisierten Membranprotein" (COG1287) auf, welches in fast allen Genomen von Archaea, in den Pathogenen *Helicobacter spp.*, *Campylobacter spp.* sowie in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* gefunden werden kann. Somit konnte gezeigt werden, dass  $\alpha$ -GluFa ein neuartiges Mitglied der Familie der Glykosylhydrolasen ist, das einen bislang unbekanntenen Mechanismus zur Glykosylierung und Transglykosylierung aufweist.

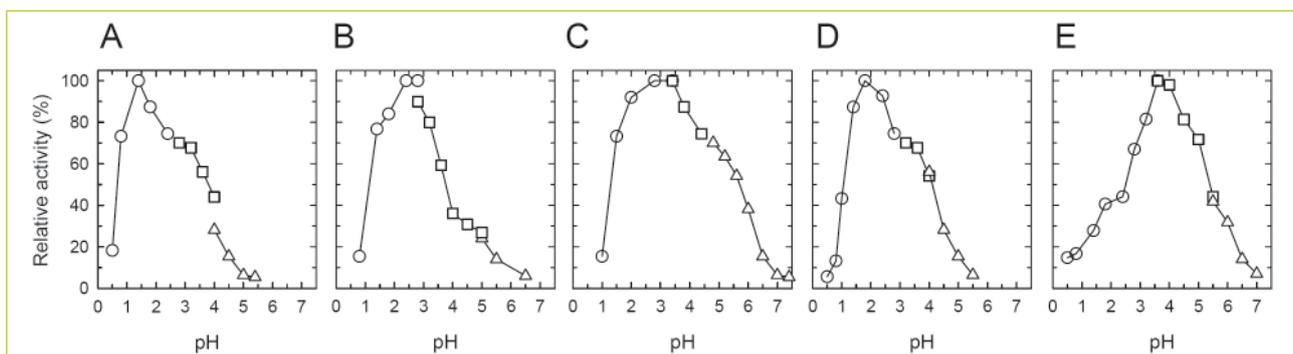


Abb. 4. "pH Optimum-Anomalie" von intrazellulären Enzymen von *Ferroplasma* in vitro (s. Environmental Microbiology 2006, 8(3), 416-25).

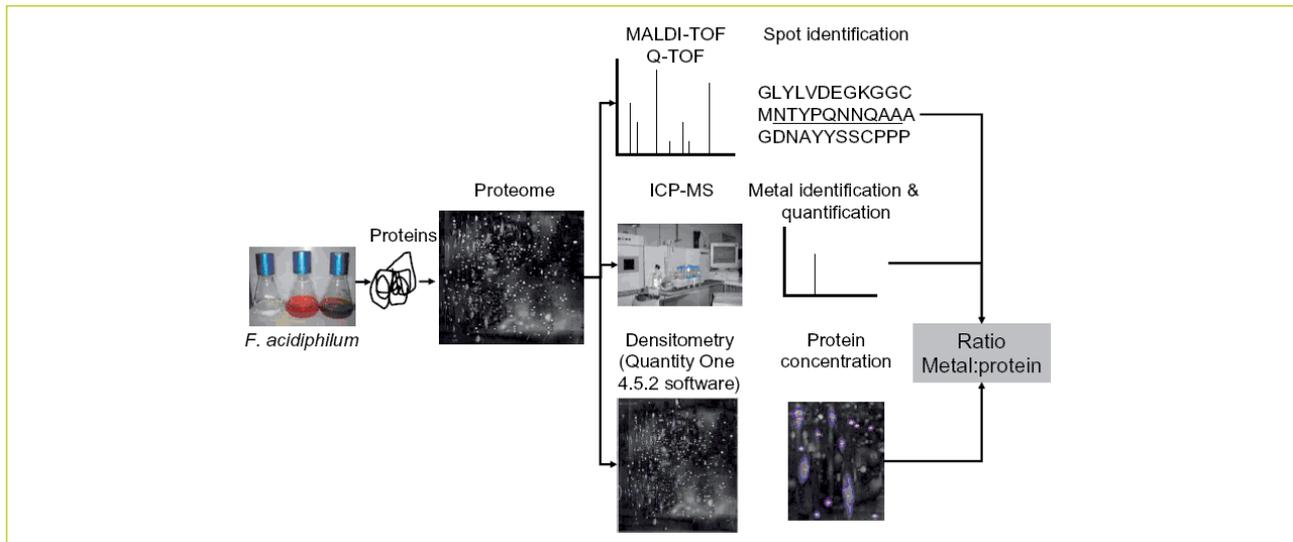


Abb. 5. Proteomics in Kombination mit ICP-MS um Metalloproteine in Ferroplasma zu identifizieren und die Metall-Protein-Stöchiometrie zu bestimmen (s. Nature 2007, 445, 91-94).

**Ferroplasma verfügt über eine einzigartige Eisen-Protein-dominierte Zellmaschinerie** Eine weitere Besonderheit der aufgereinigten *Ferroplasma*-Proteine ist die Anwesenheit von Eisen in stöchiometrischen Mengen: Keines der verwandten Enzyme in anderen Organismen enthält Eisenatome. Die Entfernung von Eisen führt dabei unweigerlich zum Verlust der Sekundärstruktur und der Enzymaktivität: somit ist Eisen von essenzieller Bedeutung für die Erhaltung der dreidimensionalen Proteinstrukturen und ihrer Funktion. Multivalentes Eisen spielt eine katalytische Schlüsselrolle in einer ganzen Reihe von Enzymen, beispielsweise in Oxygenasen, in denen es das Cosubstrat des Sauerstoffs aktiviert und durch strategisch angeordnete Aminosäureliganden im katalytischen Zentrum des Enzyms fixiert wird. In den *Fa*-Proteinen scheint Eisen die genau gegenteilige Rolle zu spielen, indem es die Aminosäureliganden in strategischen Positionen anordnet und somit die dreidimensionale Struktur des Proteins organisiert - eine Funktion, die wir als "Eisenniet" bezeichnen.

Wie gesagt: fünf von fünf Proteinen ergeben zwar 100%, sind jedoch statistisch nicht aussagekräftig. Um statistisch gestützte Aussagen über die eisenhaltigen Proteine machen zu können, wurde das Proteom von *Fa* mittels 2D-Polyacrylamid-Gelelektrophorese analysiert, isolierte Proteinspots extrahiert sowie ihre Mengen, Aminosäuresequenzen und Metallgehalte bestimmt (Abb.5). Erstaunlicherweise konnten 89% der 189 untersuchten zellulären Proteine als Eisen-Metalloproteine identifiziert werden, und zwar mit stöchiometrischen Mengen von Eisen. Diese beinhalten viele "Housekeeping"-Proteine mit strukturellen, stoffwechselfysiologischen und Chaperon-Funktionen, deren Analoga in anderen Organismen weder Eisen noch andere Metalle enthalten. Die Analyse der Proteome der nächsten phylogenetischen Nachbarn von *Ferroplasma acidiphilum* - des *Picrophilus torridus* sowie des direkten Habitatnachbarn,

des Bakteriums *Acidithiobacillus ferrooxidans* - wiesen weit weniger Metalloproteine auf und wenn, dann nur die typischen, längst bekannten Metalloproteine. *F. acidiphilum* verfügt somit über eine einzigartige Eisen-Protein-dominierte Zellmaschinerie und biochemische Phylogenie.

Was könnte nun die Erklärung für die Einzigartigkeit des "Eisennietes" in *Fa* sein? Eisen ist das vierthäufigste Element der Erde und von entscheidender Bedeutung für verschiedenste physiologische, metabolische und katalytische Funktionen. Es ist jedoch nur schwer wasserlöslich und aufgrund der daraus resultierenden geringen Bioverfügbarkeit oft ein limitierender Faktor für die Primärproduktion (photosynthetische Biomasseproduktion) im Meerwasser; eine Reihe von Bemühungen zur Reduktion von Treibhausgasen durch marine CO<sub>2</sub>-Fixierung beruhen daher auf grossflächiger Eisenzufuhr ("Eisendüngung") zum Meerwasser.

Alle Lebensformen verwenden grosse Energie auf die Gewinnung und Speicherung von Eisen für ihre Stoffwechselbedürfnisse. Der Wettstreit um bioverfügbares Eisen in der Umwelt ist hart: Er verwendet biochemische Eisengewinnungs- und Aufnahmesysteme mit hoher Affinität zu diesem Element und beinhaltet "Konkurrenz" innerhalb der Organismengemeinschaft. Oftmals entscheidet die Eisenaufnahme auch den Ausgang der "Schlacht" zwischen Wirt und Parasit im Laufe einer Infektion. Saure eisenreiche Habitate stellen im Gegensatz zur eisenlimitierten Biosphäre die einzigen Umgebungen dar, in denen bioverfügbares Eisen im Überschuss vorliegt, da die Löslichkeit dieses Elements mit sinkendem pH-Wert zunimmt. Die simple Annahme, der "Eisenniet" sei ein bevorzugter Stabilisator der Proteinstruktur und fehle lediglich in Organismen, die eisenlimitiert sind, kann aber nicht der Fall sein, da Bakterien, die dieselben Habitate wie *Fa* bewohnen (z.B. *Acidithiobacillus ferrooxidans*), über gewöhnliche Proteine verfügen. Somit ist die Hypothese,

dass ein Vorläufer von *F. acidiphilum* einen neuartigen, auf Eisen basierenden Proteinestabilisator nach Besiedlung pyritreicher Umgebungen entwickelte, sehr unwahrscheinlich, zumal dies in anderen Organismen nicht nachgewiesen werden konnte. Wahrscheinlicher ist die Gegenthese, dass der "Eisenniet" ein Relikt ist und alle proteinorganisierenden Elemente – hydrophobe und ionische Wechselwirkungen, „leucine zippers“,  $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen und Disulfidbrücken – sich erst später als Reaktion auf Eisenmangel entwickelten. Dies deutet an, dass sowohl "Eisenniet"-Proteine als auch *F. acidiphilum* bis dato einzigartig sind.

Wir gehen von der faszinierenden Möglichkeit aus, dass "Eisenniete" eine sehr alte Anpassung sind und lediglich in *Fa* bewahrt wurden, einem Mikroorganismus mit einzigartiger evolutionärer Herkunft. Diese Möglichkeit basiert auf einer der Theorien zum Ursprung allen Lebens, die von Günther Wächtershäuser aufgestellt wurde. Dieser Theorie zufolge, die auf der Eisen-Schwefel-Chemie fußt, haben energiereiche Eisen-Schwefel-Oberflächen (z.B. Pyrit) die Bildung der ersten einfachen organischen Moleküle, ihre Diversifizierung und die folgende Bildung komplexer biologischer Mono- und Polymere katalysiert. Mit steigender Reaktionsspezifität wurden einfache Katalysatoren aus starren, anorganischen Molekülen durch flexible Proteinkatalysatoren (Enzyme) ersetzt, die teilweise Reaktionszentren mit Eisen-Schwefel-Verbindungen enthielten. Mit steigender Komplexität der Enzyme entstand die Notwendigkeit einer Stabilisierung dieser von Natur aus flexiblen Polypeptidketten. Multivalentes Eisen, das an den Orten der Bildung des ersten Lebens im Überschuss vorhanden war, könnte somit zu einem strukturstabilisierenden Element der ersten Proteine und einem Vorläufer zukünftiger strukturstabilisierender Elemente der Zelle geworden sein. In diesem Zusammenhang soll erwähnt werden, dass saure eisenreiche Umgebungen in den ausgedehnten vulkanischen Zonen des Archaikums und Proterozoikums weit verbreitet waren.

Die folgende Ausbreitung der ersten Formen einzelligen Lebens, der prokaryotischen Mikroorganismen, ging daher von eisen- und schwefelreichen Habitaten mit niedriger Biodiversität aus und breitete sich in Lebensräume mit einem breiten Nahrungsangebot und höheren pH-Werten aus. Eine geringe Bioverfügbarkeit von Eisen übte jedoch einen massiven Selektionsdruck zu einer Proteinmaschinerie aus, die unabhängig von Eisen funktionierte. In der Folge wurde Eisen nur für wenige Funktionen in Proteinen beibehalten, z.B. für die Aktivierung von Sauerstoff, die Koordinierung von Eisen-Schwefel-Clustern und Häm, welches keine anderen Elemente zur Erhaltung seiner Funktion verwenden kann. Dies würde andeuten, dass *Ferroplasma* sich im Gegensatz zu phylogenetischen und Habitatsnachbarn komplett in sauren, pyrithaltigen Umgebungen entwickelt hat und seine Proteine daher eine einzigartige, "relikte" Form des Lebens darstellen. Andererseits zeigten jedoch 15% der Proteine von *Fa* eine Abwesenheit von Eisen, was andeutet, dass normale Proteinestabilisatoren unter Umständen effektiver sein können als Eisenatome. Diese könnten durch horizon-

talent Gentransfer von Habitatnachbarn wie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, der sich nicht in einer pyritreichen Umgebung entwickelt hat, übertragen worden sein.

**LigFa: eine purpurne, acidophile und eisenhaltige DNA-Ligase** Acidophile tendieren dazu, neutrale zytoplasmatische pH-Werte zu haben. DNA-Ligasen sind Schlüsselenzyme bei der Genomreplikation, Rekombination und Reparatur. Sie sind Hauptenzyme in den zentralen Prozessen der Zellteilung und Erhaltung der Genomintegrität in allen Lebensformen. Jedoch zeigen alle verfügbaren Informationen, dass DNA-Ligasen bei niedrigen pH-Werte nur suboptimal funktionieren. Es war daher eine umso überraschendere Entdeckung, dass die aufgereinigte DNA-Ligase von *Ferroplasma* (LigFa) ein *in vitro*-Aktivitätsoptimum von pH 2.5 bis 3.0, einen Aktivitätsbereich von pH 1 bis 4 mit einer 80%igen Aktivität zwischen pH 1.5 und 2.0 und kaum messbarer Aktivität über pH 5.0 aufweist. Keine andere bekannte DNA-Ligase zeigt diese Eigenschaften. Darüber hinaus hing die Aktivität von LigFa weder von Magnesium- noch Kaliumzugabe – essenziellen Cofaktoren aller anderen bekannten Ligasen – ab, noch wurde ihre Wirkung durch diese Spurenelemente verstärkt. LigFa zeigt eine optisch ansprechende purpurne Färbung (Abb. 6) – wiederum einzigartig unter den DNA-Ligasen – und ein Absorptionsspektrum, das auf Eisen-Tyrosin-Wechselwirkungen hinweist. Eine Mössbauer-Spektroskopie-Analyse konnte bestätigen, dass LigFa zwei Eisen-(II)-Ionen pro Molekül enthält, die lokale Ladungsänderungen während der DNA-Bindung durchmachen.



Abb. 6. Gereinigte DNA-Ligase von *Ferroplasma acidiphilum* (s. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the USA 2008, **105**(26), 8878-8883). Foto: HZI

Eine potenzielle unspezifische Bindung von Eisen an die Proteine von *Ferroplasma* konnte anhand von zielgerichteter Mutagenese ausgeschlossen werden. Eisen bildet eine spezifische genetische Basis sowohl als essenzieller Bestandteil von LigFa als auch für die Säuretoleranz des Enzyms. Diese Studien konnten Phenylalanin-192 und Glutaminsäure-134 als Schlüsselaminosäuren für die Acidophilie des Enzyms identifizieren. Zudem waren Tyrosin-55 und -129 an den Fe(II)-Tyrosin-Interaktionen und der charakteristischen purpurnen Färbung der *Ferroplasma*-Ligase beteiligt. Die letztgenannten Aminosäuren sowie auch Phe-192 sind vermutlich die Liganden der Eisen(II)-Atome in LigFa.

Niedrige pH-Werte begünstigen die Depurination und somit Mutationen in der DNA. Darüber hinaus führt Eisen Redoxreaktionen herbei, in deren Verlauf Sauerstoffradikale entstehen. Diese können nicht nur mutagen wirken, sondern auch die Lipidperoxidation verstärken und das Calcium- und

Sulfhydrylgleichgewicht der Zellen verändern. Ein niedriges pH-Optimum und eine Eisen(II)abhängigkeit stehen somit in krassem Gegensatz zu Eigenschaften, die von einem Enzym, welches die Genomintegrität und -stabilität erhalten soll, zu erwarten wären. Wie dem auch sei, es steht noch zu beweisen, dass die *in vitro*-Aktivitäten von LigFa auch *in vivo* vorliegen. Dennoch scheint es sehr wahrscheinlich, dass eine eingeschränkte Koordination der Eisen(II)-Zentren von LigFa deren Redoxaktivität minimiert. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass eine Anzahl von Krankheiten, beispielsweise Tumorbildung, Atherosklerose, Entzündungen, Herzinfarkte und Schlaganfälle durch Zellazidose gekennzeichnet sind oder sogar verursacht werden. Das Wissen um DNA-Reperaturmechanismen bei niedrigen pH-Werten im Allgemeinen und die außerordentlichen Fähigkeiten von Enzymen wie LigFa im Speziellen könnten somit letztendlich zur Entwicklung neuer Medikamente führen, die DNA-Schäden und damit verbundene Krankheiten durch zytoplasmatische Ansäuerung heilen.

Betrachtet man die aussergewöhnlichen Eigenschaften der LigFa, so stellt sich die Frage, ob die DNA-Ligasen von phylogenetisch verwandten Mikroorganismen und/oder acidophilen Habitatnachbarn von *Ferroplasma* Ähnlichkeiten zur LigFa aufweisen. Aus diesem Grund wurden die DNA-Ligasen der hyperacidophilen Mikroorganismen *Thermoplasma acidophilum* und *Picrophilus torridus* (den nächsten phylogenetischen Verwandten von *Ferroplasma*), *Sulfolobus acidocaldarius* (einem Archaeum aus dem Stamm der Crenarchaeota, welches metall- und schwefelhaltige, heisse, saure Habitate bewohnt) sowie *Acidithiobacillus ferrooxidans* (einem eisenoxidierenden Bakterium, welches nahezu dieselbe ökologische Nische wie *Ferroplasma* bewohnt) isoliert und charakterisiert. Im Gegensatz zur LigFa zeigten die DNA-Ligasen aller oben genannten Mikroorganismen gewöhnliche Charakteristika der DNA-Ligasen: keine niedrigen pH-Optima (jeweils im neutralen Bereich), kein Eiseninhalt und eine strikte Abhängigkeit von Mg oder K für die Katalyse. Somit bleibt LigFa bislang einzigartig und ein Musterbeispiel für einen neuartigen Typus von DNA-Ligase. Weitere dieser neuartigen Enzyme warten nur auf ihre Entdeckung und werden voraussichtlich nicht nur neue Einblicke in die Biologie der Extremophilen bieten sondern auch interessante Anwendungen in Medizin und Biotechnologie finden.

**Abschließende Bemerkungen** Alles in allem stellt *Ferroplasma acidiphilum* eine bis dato einzigartige Lebensform dar, deren zelluläre Stoffwechsellaschinerie von Eisen-Metalloproteinen dominiert wird, die wiederum ungewöhnlich niedrige pH-Optima aufweisen. Da *Fa* nur sehr langsam wächst und keine Einzelkolonien auf Agarmedien bildet, ist die Durchführung von physiologischen und genetischen Experimenten weitestgehend unmöglich. Viele der hier beschriebenen Studien beinhalten Proteine, die in *E.coli* exprimiert wurden. Auch weiterführende Arbeiten sind letztlich auf dieses molekularbiologische „Arbeitstier“ angewiesen. Dennoch eröffnet die kürzlich am HZI durchgeführte Genomsequenzierung die Möglichkeit, die Physiologie und Biochemie dieses hochinteressanten Organismus mittels „functional genomics“ genauer zu untersuchen. Kürzlich isolierte ferroplasmaartige Mikroorganismen ermöglichen darüber hinaus festzustellen, wie einzigartig dieser Organismus in Wirklichkeit ist und wie er sich im Verhältnis zu seinen Verwandten entwickelt hat.

Die Untersuchung von *Ferroplasma* und verwandten Organismen hat unser Verständnis für die Physiologie und Biochemie acidophiler Schwefel- und Eisenoxidierer bereits erheblich erweitert. *Ferroplasma* ist unzweifelhaft eine „Schatzkiste“ voller acidophiler und säuretoleranter Enzyme für breit gefächerte biotechnologische Anwendungen.

**Danksagungen** Herrn Dr. Christoph Gertler wird für seine Unterstützung bei der Übersetzung des Manuskripts ins Deutsche gedankt.



**Kenneth Timmis** geboren 1946, schloss an der Universität Bristol sein Studium im Fach Mikrobiologie mit dem Bachelor of Science (1967) ab und promovierte dann (1971). Zunächst war er an der Ruhr-Universität Bochum von 1970-1972, dann an der Yale Universität von 1972-1973 sowie an der Stanford Medical School von 1973-1976 als wissenschaftlicher Assistent tätig. Von 1972-1975 war er Stipendiat der Helen-Hay-Whitney Stiftung. Von 1976-1981 leitete er eine Forschungsgruppe am Max-Planck-Institut für Molekulargenetik in Berlin, und habilitierte sich 1979 in Mikrobiologie und Molekularbiologie an der Freien Universität Berlin. Im Jahre 1981 wurde er zum Professor der Abteilung Medizinische Biochemie an der medizinischen Hochschule der Universität Genf berufen. 1988 kam er nach Braunschweig, wo er zum Leiter des Bereichs Mikrobiologie an der GBF bzw. am HZI und zum Professor für Mikrobiologie an der Technischen Universität berufen wurde. 2006 gab er seine Position als Leiter des Forschungsbereiches ab, um sich voll und ganz der Forschung als Leiter des Laboratoriums für Umweltmikrobiologie am HZI zu widmen. Professor Timmis ist Mitglied der EMBO (1983), der Amerikanischen Akademie für Mikrobiologie (1992), der Royal Society (2008), der Europäischen Akademie für Mikrobiologie (2009) und Ehrenmitglied der Gesellschaft für Angewandte Mikrobiologie (2009). 2001 erhielt er den Erwin-Schrödinger-Preis und wurde in die Liste der 100 besten Mikrobiologie-Forscher des ISI aufgenommen. 1987 gründete er die Europäische Umweltforschungsorganisation und war gleichzeitig deren erster Vorsitzender. Kenneth Timmis ist Gründer und Herausgeber der Fachzeitschriften *Environmental Microbiology* und *Microbial Biotechnology*. Er hat über 400 Originalarbeiten in internationalen Fachzeitschriften veröffentlicht.



**Olga V. Golyshina** 1965 geboren, studierte Bodenkunde und Mikrobiologie an der Lomonossow-Universität in Moskau und erhielt 1988 ihr Diplom. Danach war sie als Nachwuchswissenschaftlerin (1988-1992) am Laboratorium für Geomikrobiologie des Winogradsky Institut für Mikrobiologie der Russischen Akademie der Wissenschaften in Moskau tätig. Seit 1999 arbeitet sie als Forschungsassistentin an der GBF/ am HZI und wurde 2005 an der TU Braunschweig zum Dr. rer. nat. promoviert. Hauptschwerpunkt ihrer Forschung ist die Untersuchung und Klassifizierung neuer extremophiler *Archaea* und die Erforschung der Metagenomik mikrobieller Gemeinschaften, die unter extremen Umweltbedingungen leben.



**Peter N. Golyshin** geboren 1965, studierte Bodenkunde und Mikrobiologie an der Lomonossow-Universität in Moskau und schloss 1987 sein Diplomstudium mit Auszeichnung ab. An der Lomonossow-Universität promovierte er 1991 im Fachgebiet Mikrobiologie. Von 1990-1994 arbeitete er als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Zentrum für Bioengineering der Russischen Akademie der Wissenschaften in Moskau. Von 1995 bis 2000 arbeitete er als Forschungsassistent an der GBF. Von 2001 bis 2004 war er Projektleiter am Institut für Mikrobiologie der Technischen Universität Braunschweig. Seit 2005 ist er als Wissenschaftler am HZI tätig und ist seit 2007 Lehrstuhlinhaber für Umweltgenomik an der Universität Bangor (Wales, Großbritannien).

**Manuel Ferrer** 1971 in Spanien geboren, studierte Chemie an der Universität von Granada (BSc 1989) und der Universidad Autónoma Madrid (PhD 1999). 2006 wurde er vom Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) als wissenschaftlicher Mitarbeiter ans Institute of Catalysis and Petrochemistry (ICP) berufen. Seit 2009 arbeitet er dort als Senior Research Scientist. Seine Forschung beinhaltet das funktionelle Verstehen von Mikroorganismen und Enzymen in ihrer natürlichen Umgebung. Dies hat zu Studien über die Adaptation von Proteinen an ihre Umweltbedingungen, über die Vielfalt und Evolution der Proteinkatalyse und über die Rekonstruktion des Stoffwechsels von mikrobiellen Gemeinschaften in marinen und terrestrischen Umgebungen geführt. In den letzten 10 Jahren war er Autor oder Co-Autor von über 80 Beiträgen in internationalen wissenschaftlichen Zeitschriften.

## Literatur

- D'Auria,S., Rossi,M., Herman,P. & Lakowicz,J.R. (2000) Pyruvate kinase from the thermophilic eubacterium *Bacillus acidocaldarius* as probe to monitor the sodium concentrations in the blood. *Biophysical Chemistry* **84**, 167-176.
- D'Auria,S., DiCesare,N., Staiano,M., Gryczynski,Z., Rossi,M. & Lakowicz,J.R. (2002) A novel fluorescence competitive assay for glucose determinations by using a thermostable glucokinase from the thermophilic microorganism *Bacillus strearothermophilus*. *Analytical Biochemistry* **303**, 138-144.
- Egorova,K. & Antranikian,G. (2005) Industrial relevance of thermophilic archaea. *Current Opinion in Microbiology* **8**, 649-655.
- Ferrer,M., Golyshina,O.V., Plou,F.J., Timmis,K.N. & Golyshin,P.N. (2005) A novel alpha-glucosidase from the acidophilic archaeon *Ferroplasma acidiphilum* strain Y with high transglycosylation activity and an unusual catalytic nucleophile. *Biochemical Journal* **391**, 269-276.
- Ferrer,M., Golyshina,O.V., Beloqui,A., Golyshin,P.N. & Timmis,K.N. (2007) The cellular machinery of *Ferroplasma acidiphilum* is iron-protein-dominated. *Nature* **445**, 91-94.
- Ferrer,M., Golyshina,O.V., Beloqui,A., Böttger,L.H., Andreu,J.M., Polaina,J., De Lacey,A.L., Trautwein,A.X., Timmis,K.N. & Golyshin,P.N. (2008) A purple acidophilic di-ferric DNA ligase from *Ferroplasma*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **105**, 8878-8883.
- Golyshina,O.V., Golyshin,P.N., Timmis,K.N. & Ferrer,M. (2006) The 'pH optimum anomaly' of intracellular enzymes of *Ferroplasma acidiphilum*. *Environmental Microbiology* **8**, 416-425.
- Golyshina,O.V., Yakimov,M.M., Lünsdorf,H., Ferrer,M., Nimtz,M., Timmis,K.N., Wray,V., Tindall,B.J. & Golyshin,P.N. *Acidiplasma aeolicum* gen. nov., sp. nov., a novel euryarchaeon of the family *Ferroplasmaceae*, isolated from a hydrothermal pool on Vulcano Island, Italy and transfer of *Ferroplasma cupricumulans* to *Acidiplasma cupricumulans* (submitted to *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*).
- Gomes,J. & Steiner,W. (2004) The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes. *Food Technology and Biotechnology* **42**, 223-235.
- Knight,J. (2003) Discovery changes view of bacteria. *Nature* **423**, 909-910.
- Krutmann,J. (2007) Use of osmolytes obtained from extremophilic bacteria for producing medicine for the external treatment of neurodermatitis. *USA Patent 20070122464*.
- Matin,A. (1999) pH homeostasis in acidophiles. *Novartis Foundation Symposium*, **221**, 152-169.
- Van den Burg,B. (2003) Extremophiles as a source for novel enzymes. *Current Opinion in Microbiology* **6**, 213-218.
- Wächtershäuser,G. (2002) Discussing the origin of life. *Science* **296**, 1982-1983.



## Die Internalin-Story – was wir aus der strukturellen Infektionsbiologie lernen können

KORRESPONDIERENDER AUTOR | Prof. Dr. Dirk Heinz | Bereich Strukturbiologie | [dirk.heinz@helmholtz-hzi.de](mailto:dirk.heinz@helmholtz-hzi.de)

CO-AUTOREN | Prof. Dr. Wolf-Dieter Schubert | Arbeitsgruppe Molekulare Wirt-Pathogen-Interaktionen, Bereich Strukturbiologie (ab 2010: Dept. Biotechnology, Univ. Western Cape, RSA) | Jun.-Prof. Dr. Hartmut Niemann | Fakultät für Chemie – Strukturbiochemie Universität Bielefeld

Die Strukturbiologie liefert als eine der Schlüsseldisziplinen der modernen Biologie detaillierte Informationen über Biomakromoleküle und deren dreidimensionale Struktur. Die auf diese Art gewonnenen Strukturdaten sind wichtig, um die molekularen Prinzipien und Interaktionen zu verstehen, welche die Grundlage für in den Zellen und Organismen ablaufende physiologische und pathologische Prozesse bilden.

Die Forschungstätigkeit des Bereichs Strukturbiologie am HZI konzentriert sich im Wesentlichen auf die Strukturaufklärung von Proteinen, welche bei Infektionsvorgängen eine zentrale Rolle spielen. Zu den angewandten Techniken gehört neben der Röntgenkristallographie auch die Kernmagnetresonanz-Spektroskopie (NMR). Von besonderem Interesse ist die Untersuchung der Interaktionen des mikrobiellen Pathogens mit seinem Wirtsorganismus auf molekularer Ebene. Ziel ist es, herausfinden, wie einzelne mikrobielle Pathogenitätsfaktoren zielgerichtet mit den entsprechenden Wirtszellrezeptoren interagieren und wie diese Wechselwirkungen zelluläre Prozesse auslösen, die für das Überleben und die Ausbreitung des Pathogens und somit für die Schädigung des Wirts von zentraler Bedeutung sind.

Seit einigen Jahren konzentrieren wir uns auf eine bestimmte Familie von Proteinen, die sogenannten Internaline aus dem humanpathogenen Bakterium *Listeria monocytogenes*. Durch die Erforschung des komplizierten Wechselspiels zwischen den einzelnen Mitgliedern dieser Familie von Invasionsproteinen und ihrer humanen Rezeptoren auf atomarer Ebene gelang uns erstmals eine sehr präzise Beschreibung dieser Proteinkomplexe. Basierend auf diesen Daten konnten wir neue Strategien und Werkzeuge entwickeln, um die bakterielle Adhäsion und Invasion sowie die beteiligten Rezeptorsignalwege im menschlichen Organismus besser zu verstehen.

**Einleitung** Der Bereich Strukturbiologie (SB) am HZI ist für die Erreichung seines Hauptziels – die Aufklärung der dreidimensionalen Strukturen der Proteine, die an Infektionsprozessen beteiligt sind – optimal ausgestattet. Einer der Forschungsschwerpunkte des Bereichs ist die Untersuchung der bakteriellen Adhäsion und Invasion. Zu den weiteren Themen gehören das Überleben der Bakterien in der Wirtszelle, die virale Reifung und die Bildung von physiologischen und pathologischen Amyloidfibrillen.

Pathogene Mikroorganismen produzieren typischerweise spezifische Moleküle, sogenannte Virulenzfaktoren, die im Verlaufe der Infektion in der Lage sind, physiologische Prozesse der Wirtszelle zu unterminieren. Die Virulenzfaktoren, die im Wesentlichen Proteine darstellen, modifizieren, lenken, unterdrücken oder ahmen einzelne Wirtszellvorgänge oder vollständige Signalkaskaden nach, um dem eindringenden Pathogen Vorteile zu verschaffen. Durch Einsatz einer begrenzten Anzahl von wirtsspezifischen Virulenzfaktoren ist das Pathogen oftmals in der Lage, sich an bestimmte Zellen des Wirts anzuhafte, dort einzudrin-

gen und sich innerhalb des Wirtszellgewebes systemisch zu verbreiten, was zur Erkrankung oder gar zum Tode des Wirtsorganismus führen kann.

Das Hauptziel von SB ist die Aufklärung der Strukturen von mikrobiellen Virulenzfaktoren verschiedener Pathogene, idealerweise im Komplex mit den entsprechenden Wirtszellenrezeptoren. Die Kenntnis der Strukturen dieser Proteine und Proteinkomplexe ermöglicht nicht nur einen Einblick in die molekularen Mechanismen der Infektion, sondern bildet auch die Grundlage für die Entwicklung von Kleinmolekülen, die gezielt in diese Vorgänge eingreifen und damit möglicherweise den Weg zu neuartigen pathogen-spezifischen Antibiotika ebnen.

**Sehen heißt verstehen: von Kristallen zur atomaren Struktur** Die Ursprünge der modernen Röntgenkristallographie gehen auf die Entdeckung der Röntgenstrahlen vor mehr als hundert Jahren und auf die Erkenntnis zurück, dass ein Kristall mit dieser Strahlung nach genau definierten Regeln interagiert und diese entsprechend ablenkt. Aus den

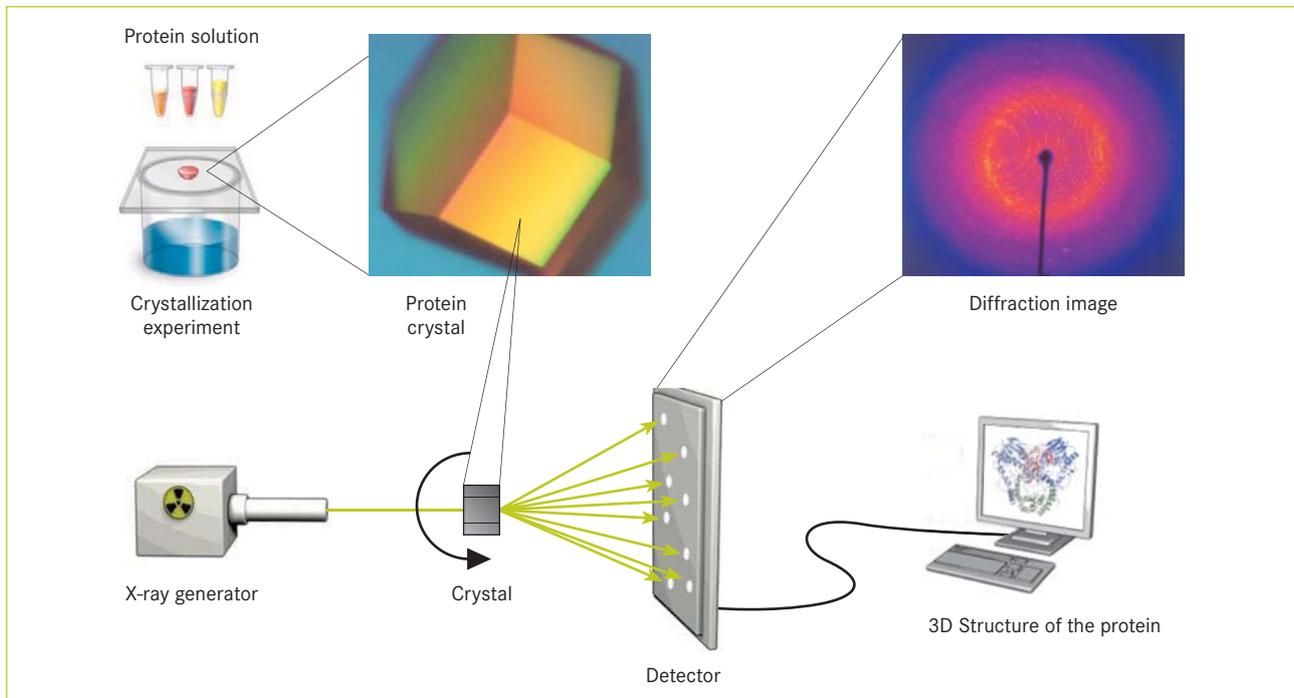


Abb. 1. Vom Kristall zur Struktur

Beugungsbildern kann dann die Struktur im Kristall abgeleitet werden. Heutzutage stellt die Röntgenkristallographie ein leistungsstarkes Verfahren dar, über das sich bei hoher Auflösung die Protein- bzw. Nukleinsäurestrukturen neu bestimmen lassen. Bevor jedoch das eigentliche Röntgenstrahlbeugungsexperiment beginnen kann, muss das zu untersuchende Molekül bzw. der zu untersuchende Komplex zunächst möglichst homogen gereinigt und anschließend kristallisiert werden, wobei der Kristallisationsprozess einige Stunden bis mehrere Monate erfordern kann. Proteinkristalle, die in der Regel nur wenige hundert Mikrometer groß werden können, werden aus übersättigten Proteinlösungen erhalten, denen zuvor geeignete Salze und andere Fällungsmittel beigemischt wurden.

Ein einzelner, typischerweise sehr fragiler Proteinkristall wird dann in einen Röntgenstrahl überführt, der idealerweise von einer leistungsfähigen Synchrotronquelle erzeugt und während der Röntgenaufnahme langsam gedreht wird. Mit entsprechenden Detektoren werden die dadurch erzeugten Röntgenstrahlbeugungsmuster aufgezeichnet und elektronisch gespeichert. Die Muster werden mit speziellen Computerprogrammen ausgewertet, wobei anhand der Daten die Verteilung der Elektronen innerhalb der Kristalle rekonstruiert wird. Anhand dieser Verteilung lässt sich jedes Atom eines Proteins identifizieren sowie seine genaue Position im Kristall ermitteln, wodurch eine vollständige und exakte Beschreibung der 3D-Struktur des Proteins erzeugt wird.

#### Der bakterielle Eindringling *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* ist ein Bakterium, das Mensch und Tier befallen kann. Es verbreitet sich durch verunreinigte Nahrungsmittel und ist für Menschen mit einem geschwächten Immunsystem, wie z. B. Neugeborene, schwangere Frauen und ältere Menschen, besonders gefährlich. *L. monocytogenes* ist ein gut etabliertes Modellsystem für intrazelluläre, bakterielle Pathogene und wird häufig verwendet, um das zelluläre Immunsystem zu untersuchen. Zahlreiche Forschergruppen – einige von ihnen am HZI – haben über viele Jahre hinweg den Infektionsweg der *L. monocytogenes* und die daraufhin ausgelöste Immunreaktion untersucht. Das Bakterium ist in der Lage, die Darmbarriere zu überwinden, die im Wesentlichen aus Darmepithel besteht. Anschließend breitet es sich im Körper aus, was die Entstehung einer Listeriose zur Folge hat, einer systemischen und oftmals tödlich verlaufenden Erkrankung. *L. monocytogenes* kann in die Wirtszellen eindringen, dort überleben und sich dadurch der Erkennung durch Antikörper entziehen. Tatsächlich verwendet das Pathogen eine bestimmte Anzahl spezifischer Virulenzfaktoren, um gezielt Vorgänge in der Wirtszelle umzuprogrammieren. Dies führt u. a. dazu, dass sich die Wirtszelle aktiv an der Aufnahme der Bakterien beteiligt.

Bei *L. monocytogenes* sind zwei Proteine, die Internaline A (InIA) und B (InIB), an der Wirtszellinvasion beteiligt. InIA ist dabei für den ersten Schritt der Infektion, die Überwindung der Darmbarriere, erforderlich. Somit ist InIA ein

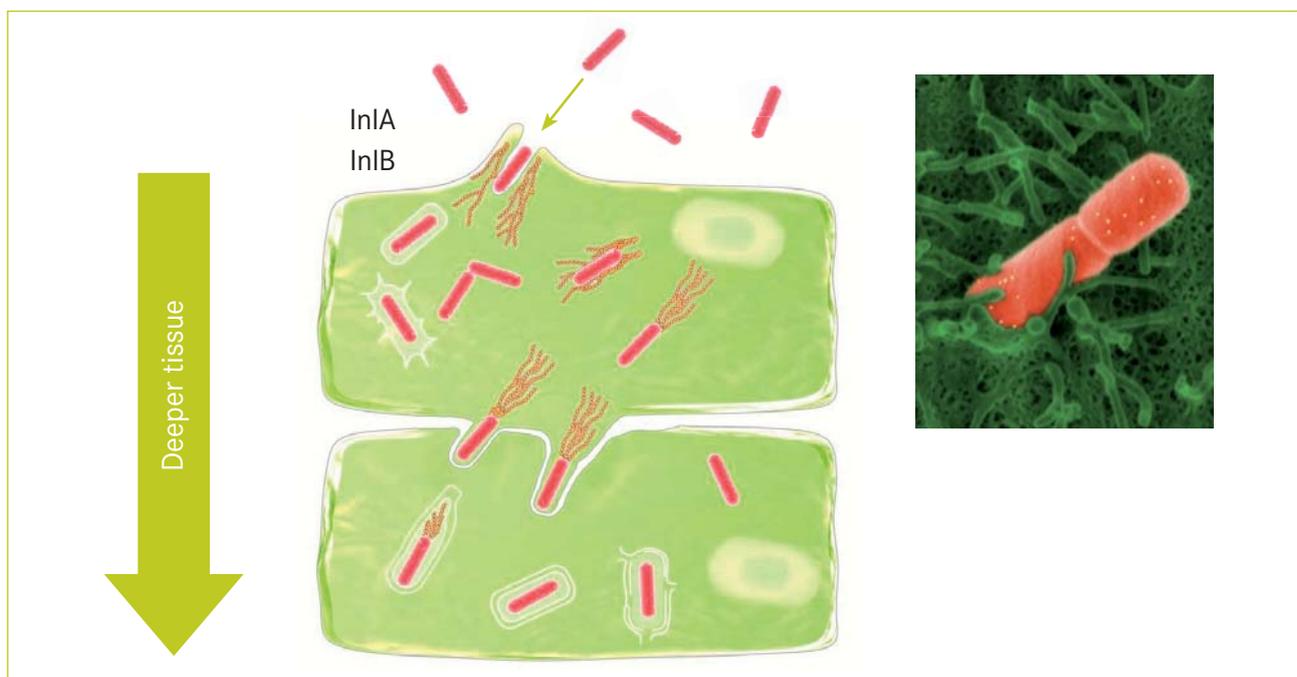


Abb. 2. Infektionsprozess bei Listerien

Invasin für Epithelzellen. InlB hingegen weist eine wesentlich breitere Wirtszellspezifität auf und ist dadurch für die Ausbildung einer systemischen Infektion verantwortlich. Beide Proteine sind Teil einer größeren Gruppe von entsprechenden Oberflächenproteinen in Listerien, die daher auch als Internalinfamilie bezeichnet wird. Alle Mitglieder dieser Familie haben eine zentrale Region gemeinsam, die durch Tandemsequenzwiederholungen von 22 Aminosäuren entsteht und unter der Bezeichnung „Leucine-rich repeats“ (LRR) bekannt ist. Diese Wiederholungen bilden eine gekrümmte, röhrenförmige Struktur, die im Falle von InlA und InlB auf spezifische Weise mit den Rezeptorproteinen in der Wirtszelle interagiert. InlA erkennt das humane E-Cadherin, ein transmembranes Protein, das normalerweise für ein enges Zusammenspiel von benachbarten Zellen im Darmepithel des Menschen zuständig ist. InlB bindet das menschliche Zelloberflächenprotein Met, dessen natürliche Aufgabe es ist, die Signale des menschlichen Hepatozyten-Wachstumsfaktors (HGF) durch die Plasmamembran ins Zellinnere weiterzuleiten. Der Met-vermittelte Signalweg ist während der Embryogenese und der Geweberegeneration, aber auch der Tumormetastasierung von großer Bedeutung. Interessanterweise ist InlB ein fast perfekter funktioneller Nachahmer des Wachstumsfaktors HGF, obwohl sich weder Sequenz noch Struktur ähneln.

**Ein genauerer Blick auf die Bakterieninvasion** Im Jahre 2002 gelang es uns, die Kristallstruktur von InlA im Komplex mit der N-Terminal-Domäne (hEC1) des menschlichen E-Cadherins zu klären. Dadurch erhielten wir ein erstes detailliertes Bild des Initialschritts der listeriellen Infektion des Menschen. In dieser Komplexstruktur umgreift die gekrümmte LRR-Domäne von InlA die kleinere hEC1-Domäne. Interessanterweise ist die Gesamtaffinität von InlA gegenüber E-Cadherin trotz der vielen direkten und wasservermittelten Interaktionen, die die beiden Proteine miteinander verbinden, überraschend schwach. Auf Basis der Komplexstruktur konnte auch auf molekularer Ebene geklärt werden, warum *L. monocytogenes* außer Stande ist, Mäuse über die orale bzw. intestinale Route zu infizieren. Diese Frage hat viele Experten auf dem Gebiet jahrelang beschäftigt. Die Forscher sahen sich schließlich gezwungen, Bakterien intravenös zu injizieren, um die menschliche Listeriose bei Mäusen zu simulieren. Eine intravenöse Injektion von Bakterien stellt jedoch ein nur unzureichendes Modell der menschlichen Listeriose dar, da mit diesem Modell lediglich die allerletzte Phase der Krankheit nachgebildet werden kann. Der Grund für die Speziespezifität von *L. monocytogenes* lässt sich an der Aminosäure an der Position 16 des E-Cadherins festmachen. Das menschliche Protein hat ein Prolin an dieser Position, das über eine hydrophobe

Tasche sehr gut auf der konkaven Seite der LRR-Domäne von InIA eingebettet wird. Beim E-Cadherin in Mäusen hingegen befindet sich dort anstelle des kleinen, hydrophobischen Prolins ein längeres, negativ geladenes Glutamat, das sowohl sterisch wie auch elektrostatisch eine Abstoßung zwischen beiden Proteinen verursacht und dadurch eine Interaktion verhindert.

Die Struktur von InIB im Komplex mit der extrazellulären Domain des menschlichen Rezeptors Met konnten wir im Jahre 2007 aufklären. Einige Analogien zum InIA/E-Cadherin Komplex sind offensichtlich, jedoch sind die Art

und Weise der Interaktion und Aktivierung bei beiden Komplexen vollkommen unterschiedlich. Sowohl InIB wie auch InIA binden den Rezeptor vorrangig über die konkave Seite der gekrümmten LRR-Domäne. Der extrazelluläre Teil von Met besteht aus insgesamt sechs Domänen, wobei diejenige Domäne, die von InIB erkannt wird, eine kleine  $\beta$ -Sandwich-Domäne darstellt, welche vergleichbar mit der hEC1-Domäne des E-Cadherins ist. Während jedoch die Berührungsfäche zwischen InIB und Met nicht einmal halb so groß ist wie diejenige beim InIA/E-Cadherin-Komplex, ist der InIB/Met-Komplex um drei Größenordnungen stärker. Während der Bindung an Met wechselwirkt InIB spezifisch

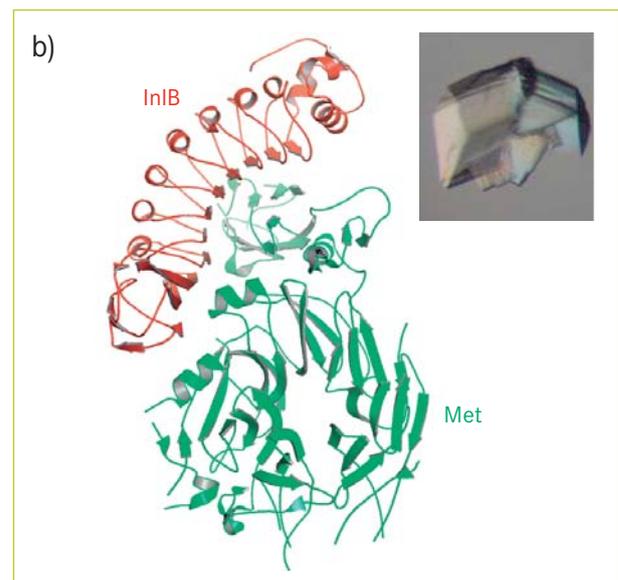
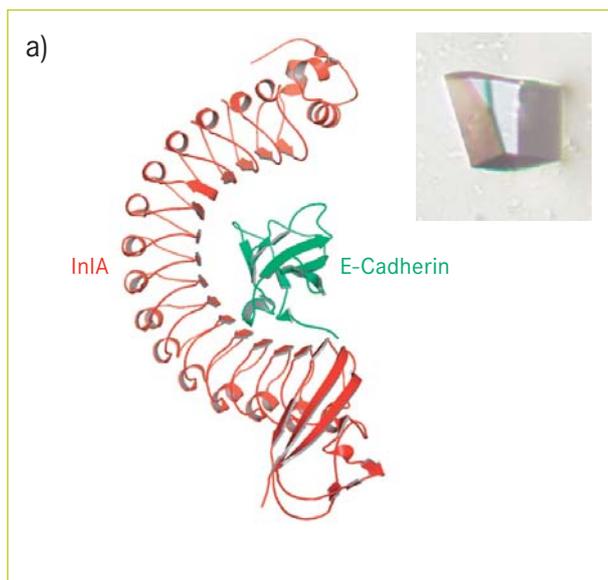


Abb. 3. Strukturen der Komplexe zwischen a) InIA/E-Cadherin und b) InIB/Met. Kleine Abbs innen: Kristalle der Komplexe

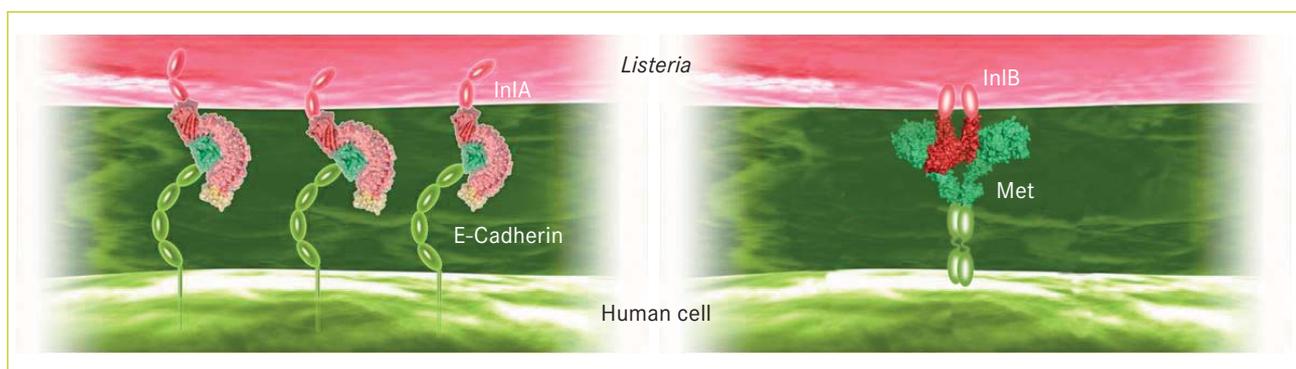


Abb. 4. Schematische Ansicht der von InIA- und InIB-veranlassten Interaktionen zwischen Listerien und Humanzellen

mit zwei von sechs Domänen des extrazellulären Teils des Rezeptors. Dies führt zu einer Änderung der Konformation des extrazellulären Teils von Met und damit verbunden zu einer Aktivierung des Rezeptors. Durch den Vergleich der Interaktionen zwischen Met und InlB mit denen von Met und seinem natürlichen Liganden HGF wird offensichtlich, dass es unterschiedliche Met-Bindungsstellen für InlB und HGF gibt und der Rezeptor somit auf sehr unterschiedliche Weise aktiviert werden kann.

**Von Mäusen und Menschen** Die unerwartet schwache Affinität des InlA gegenüber dem menschlichen E-Cadherin veranlasste uns, zu untersuchen, ob sich die Interaktion zwischen den beiden Proteinen durch Substitution einzelner Aminosäuren in InlA auf der dem E-Cadherin zugewandten Seite verstärken lässt. Eine detaillierte Analyse der Berührungsfäche gab Hinweise auf vier mögliche Reste, die den intermolekularen Kontakt verstärken könnten, wenn sie durch besser passende Aminosäuren ersetzt würden. Durch die Kombination zweier solcher Substitutionen (Serin192 gegen Asparagin und Tyrosin369 gegen Serin) konnte tatsächlich

die Affinität beider Proteine zueinander um mehr als drei Größenordnungen erhöht werden.

Vielleicht noch erstaunlicher war die Beobachtung, dass die Affinität dieser InlA-Variante (mit InlA<sup>m</sup> bezeichnet) gegenüber der N-Terminal-Domäne des E-Cadherins (mEC1) bei Mäusen vergleichbar zur Affinität des InlA-Wildtypproteins zum humanen E-Cadherin ist. Die Kristallstruktur des Komplexes aus InlA<sup>m</sup> und mEC1 zeigte, dass das ungünstige Glutamat an der Position 16 von mEC1 (das einen engeren Kontakt mit InlA verhindert, siehe oben) durch die beiden zusätzlichen Kontaktstellen zwischen beiden Proteinen wirksam kompensiert werden konnte.

Anschließend haben wir das Gen *inlA* des Wildtyp-Bakteriums *L. monocytogenes EGDe* durch das entsprechend modifizierte Gen *inlA<sup>m</sup>* ersetzt, um einen veränderten Bakterienstamm mit der Bezeichnung Lmo-InlA<sup>m</sup> zu erzeugen. Dieser Stamm zeichnet sich durch eine erhöhte Adhäsion und eine verstärkte Aufnahme in die menschliche Epithelzelllinie aus - jedoch nur um den Faktor zwei. Eine höhere

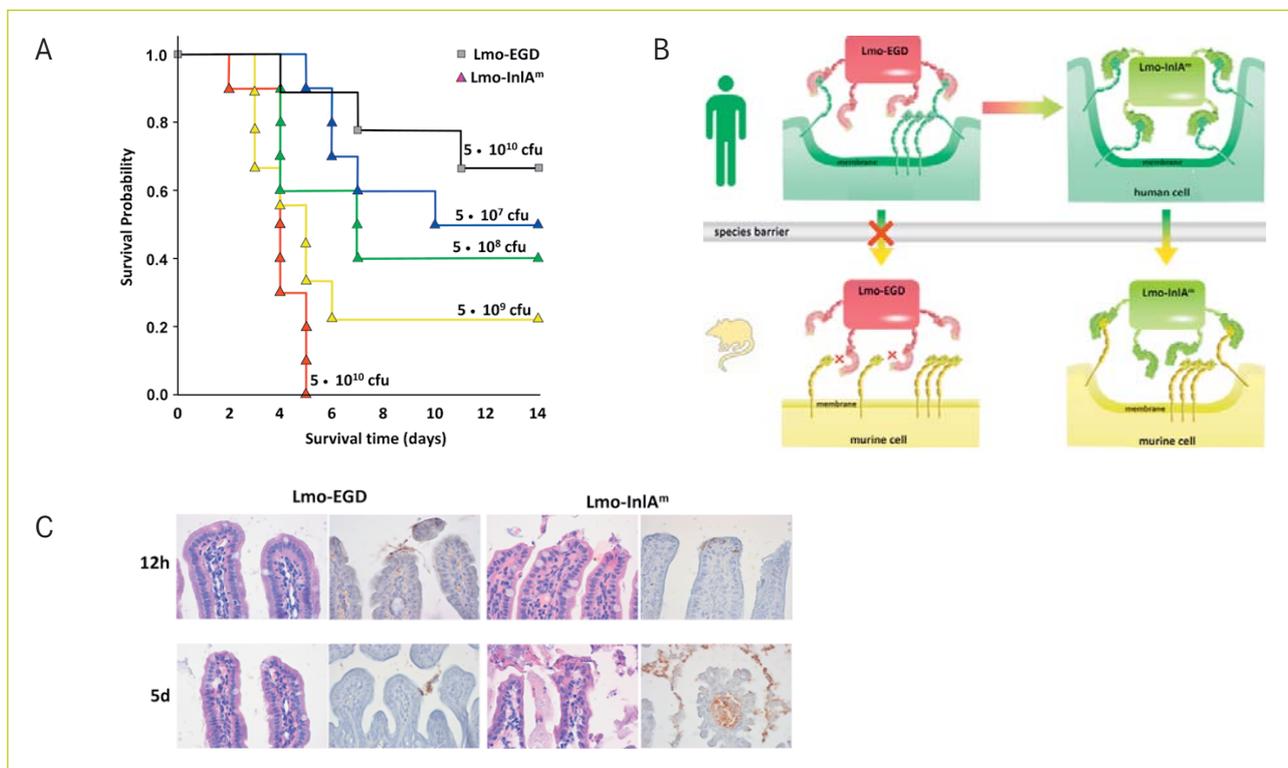


Abb. 5. Studien zur Mausinfektion mit InlA<sup>m</sup>. A) Der Listerienstamm, der die Mutante InlA (Lmo-InlA<sup>m</sup>) trägt, zeigte eine drastische Zunahme in der Mauslethalität, wenn er mit dem Wildstamm von Listeria (Lmo-EGD) verglichen wurde, B) Überwindung der Spezies Barriere durch rationales Proteindesign, C) Eine Lmo-InlA<sup>m</sup> Infektion führt zu einer starken Zerstörung des Darmepitheliums.

Bindungsaffinität führt somit nicht automatisch zu einer höheren Infektiosität. Der neu generierte Bakterienstamm ist somit nicht signifikant infektiöser für den Menschen als der Wildtypstamm. Von weitaus größerem Interesse ist jedoch die Tatsache, dass dieser Stamm nun in der Lage ist, Mäuse zu infizieren, wenn die Bakterien oral bzw. intestinal verabreicht werden. Durch Modifizierung bzw. »Anpassung an die Maus« haben wir somit ein Kleintiermodellsystem mit einem breiten Anwendungsbereich zur Erforschung der beim Menschen vorkommenden Listeriose geschaffen. Die strukturierte Einführung von lediglich zwei Mutationen in das Gen, das für das Protein InlA kodiert, ist damit ausreichend, um den Wirtsbereich des menschlichen Pathogens *L. monocytogenes* auf die Maus zu erweitern. Hier ist das erste Mal ein derartiges Verfahren erfolgreich durchgeführt worden. Dieses erfolgreiche Experiment ist auch ein Beleg für das außergewöhnliche Potenzial der Strukturbiologie, das weit über die einfache Bestimmung von biomolekularen Strukturen hinaus geht.

**Neue Werkzeuge für die Untersuchung der Rezeptor-signalwege** Aus der Kristallstruktur des InlB/Met-Komplexes (siehe oben) allein war noch nicht ersichtlich, ob der Rezeptor durch Dimerisation, einem gewöhnlichen Aktivierungsmechanismus, der zuvor bereits für eine Reihe anderer Wachstumsfaktorrezeptoren nachgewiesen worden

war, aktiviert wird. Dieses Szenario würde die Ausbildung eines Komplexes aus zwei InlB-Molekülen und zwei Met-Molekülen erfordern. In einer zweiten Kristallform des InlB/Met-Komplexes wurde eine Anordnung beobachtet, bei der die InlB-Moleküle zwischen Kopf- und Schwanzende über die konvexe Seite ihrer LRR-Domäne dimerisiert waren. Dadurch entsteht ein physiologisch plausibler Met/InlB/InlB/Met-Komplex, in dem die C-Termini der Met-Moleküle in dieselbe Richtung, nämlich physiologisch sinnvoll zur Zellmembran zeigen. Dabei fällt auf, dass diese dimere InlB-Anordnung auch in mehreren verschiedenen Kristallformen des isolierten InlB-Proteins vorhanden ist. Bei einer genaueren Analyse des InlB-Dimerinterfaces stellte sich heraus, dass zwischen den beiden InlB-Monomeren zwar schwache, aber spezifische Interaktionen bestehen.

Zur Bestätigung der potenziellen Bedeutung einer InlB-vermittelten Dimerisation für die Aktivierung des Met wurden zwei InlB-Moleküle durch die Einführung von reaktiven Cysteinresten auf der konvexen Seite der LRR-Domäne kovalent miteinander verbrückt, so dass ein künstliches Dimer entstand, was den in den Kristallen beobachteten InlB-Dimeren nahezu entsprach. Bemerkenswerterweise verursacht das daraus entstehende, konstitutive InlB-Dimer eine deutliche Aktivierung von Met und übertrifft damit sogar den natürlichen Met-Liganden HGF. Diese Ergebnisse

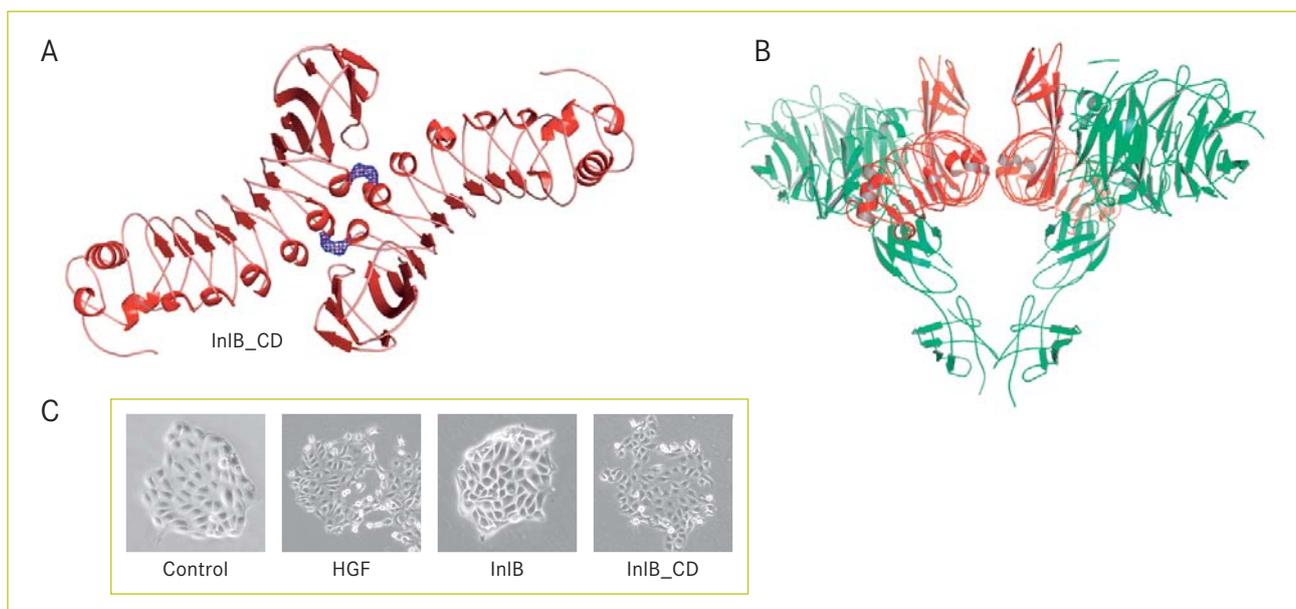


Abb. 6. Künstliche Dimerisierung von InlB um das Met-Signal in der Gastzelle zu studieren. A) Verbindung von zwei InlB-Molekülen durch intermolekulare Disulfidbrücken (InlB\_CD), B) Struktur des dimeren InlB/Met-Komplexes, C) InlB\_CD führt zu einer Zellstreuung als Ergebnis der Met-Aktivierung durch die Dimerisierung

belegen nicht nur, dass das Met durch InIB-vermittelte Dimerisation aktiviert werden kann, sondern stellen auch ein elegantes “molekulares Werkzeug» zur Untersuchung des zellulären Met-Signalwegs dar, der bei der Gewebsregeneration und Krebs eine entscheidende Rolle spielt.

**Zusammenfassung** Die Strukturanalysen von InIA und InIB im Komplex mit ihren menschlichen Rezeptoren liefern nicht nur eine genaue Beschreibung (d.h. bei atomarer Auflösung) der ersten Schritte der Adhäsion und Invasion der Listerien, sondern ermöglichen auch neuartige funktionelle Anwendungen auf der Grundlage strukturorientierten Protein-Designs. Wie gezeigt konnten wir InIA-Varianten und nachfolgend einen Mutantenstamm der *L. monocytogenes* erzeugen, der zur Untersuchung der Invasion der Listerien unter Verwendung eines bereits seit langem erwarteten experimentellen Mausmodells genutzt werden kann. Die künstlich miteinander vernetzten dimeren InIB-Varianten können andererseits zur Erforschung der Signalvorgänge des Met-Rezeptors bei physiologischen (d.h. Wundheilung und Gewebsregeneration) und pathologischen Prozessen (d.h. Krebsmetastasierung) verwendet werden.

**Danksagung** Wir sind den zahlreichen Mitarbeitern, Doktoranden und Diplomanden sowie dem technischen Personal für ihre wertvolle Mitarbeit an dem Internalinprojekt mehr als dankbar.



Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Bereichs Strukturbiologie Foto: HZI



**Dirk Heinz** Jahrgang 1960, Studium der Chemie an der Universität Freiburg; Dipl.-Chemiker 1986; Doktorand am Biozentrum der Universität Basel, Dr. phil. nat. 1990; Postdoktorand an der University of Oregon (Eugene, USA) 1990-1993; Wissenschaftlicher Assistent an der Universität Freiburg 1993-1998; Habilitation im Fach Biochemie 1998; Nachwuchsgruppenleiter an der GBF 1998-2002; Leiter der Abteilung Strukturbiologie an der GBF 2002-2003; seit 2003 Leiter des Bereiches Strukturbiologie am HZI und Honorarprofessor an der Technischen Universität Braunschweig; Gründer der GBM-Forschungsgruppe “Strukturbiologie“; seit 2008: EMBO-Mitglied.



**Wolf-Dieter Schubert** Jahrgang 1966, Studium der Chemie an der Universität Kapstadt (Südafrika); Master of Science in Chemie 1991; Dissertation an der Freien Universität Berlin; Dr. rer. Nat. 1997; Postdoktorand am Institut für Biotechnologie und Humanwissenschaft, Tsukuba, Japan 1998 und an der GBF 1998-2005; seit 2005 Gruppenleiter im Bereich Strukturbiologie am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. Ab 2010 Professor am Biotechnologiedepartment, Univ. Western Cape, RSA



**Hartmut Niemann** Jahrgang 1973, Studium der Biochemie an den Universitäten Regensburg und Witten/Herdecke; Dipl.-Biochemiker 1997; Dissertation am Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung in Heidelberg, Dr. rer. nat. 2002; Postdoktorand am HZI 2002-2007; seit 2007: Junior-Professor an der Universität Bielefeld.

## Literatur

- Bublitz, M., Polle, L., Holland, C., Heinz, D.W., Nimtz, M. & Schubert, W.-D. (2009) Structural basis for autoinhibition and activation of Auto, a virulence-associated peptidoglycan hydrolase of *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **71**(6), 1509-1522.
- Bublitz, M., Holland, C., Sabet, C., Reichelt, J., Cossart, P., Heinz, D.W., Bierne, H. & Schubert, W.-D. (2008) Crystal structure and standardized geometric analysis of InlJ, a listerial virulence factor and leucine-rich repeat protein with a novel cysteine ladder. *Journal of Molecular Biology* **378**(1), 87-96.
- Eiting, M., Hagelüken, G., Schubert, W.-D. & Heinz, D.W. (2005) The mutation G145S in PrfA, a key virulence regulator of *Listeria monocytogenes*, increases DNA-binding affinity by stabilizing the HTH-motif. *Molecular Microbiology* **56**, 433-446.
- Ferraris, D. M., Gherardi, E., Di, Y., Heinz, D. W. & Niemann, H. H. (2009). Ligand-mediated dimerization of the Met receptor tyrosine kinase by the bacterial invasion protein InlB. *Journal of Molecular Biology*, im Druck.
- Freiberg, A., Machner, M.P., Pfeil, W., Schubert, W.-D., Heinz, D.W. & Seckler, R. (2004) Folding and stability of the leucine-rich repeat domain of internalin B from *Listeria monocytogenes*. *Journal of Molecular Biology* **337**, 453-461.
- Machner, M.P., Frese, S., Schubert, W.-D., Orian-Rousseau, V., Gherardi, E., Wehland, J., Niemann, H.H. & Heinz, D.W. (2003). Aromatic amino acids at the surface of internalin B are essential for host cell invasion by *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **48**, 1525-1536.
- Niemann, H.H., Jäger, V., Butler, P.J. van den Heuvel, J., Schmidt, S., Ferraris, D., Gherardi, E. & Heinz, D.W. (2007) Structure of the human receptor tyrosine kinase Met in complex with the *Listeria* invasion protein InlB. *Cell* **130**, 235-246.
- Niemann, H.H., Petoukhov, M.V., Härtle, M., Moulin, M., Gherardi, E., Timmins, P., Heinz, D.W. & Svergun, D.I. (2008) X-ray and neutron small-angle scattering analysis of the complex formed by the Met receptor and the *Listeria monocytogenes* invasion protein InlB. *Journal of Molecular Biology* **377**, 489-500.
- Niemann, H.H., Schubert, W.-D. & Heinz, D.W. (2004) Adhesins and invasins of pathogenic bacteria: a structural view. *Microbes and Infection* **6**, 101-112.
- Schubert, W.-D., Göbel, G., Diepholz, M., Darji, A., Kloer, D., Hain, T., Chakraborty, T., Wehland, J., Domann, E., Heinz, D.W. (2001) Internalins from the human pathogen *Listeria monocytogenes* combine three distinct folds into a contiguous internalin domain. *Journal of Molecular Biology* **312**, 783-794.
- Schubert, W.-D. & Heinz, D.W. (2003) Structural aspects of adhesion and invasion of host cells by the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *ChemBioChem* **4**, 1285-1291.
- Schubert, W.-D., Urbanke, C., Ziehm, T., Beier, V., Machner, M.P., Domann, E., Wehland, J., Chakraborty, T. & Heinz, D.W. (2002) Structure of internalin, a major invasion protein of *Listeria monocytogenes*, in complex with its human receptor E-cadherin. *Cell* **111**, 825-836.
- Wollert, T., Heinz, D.W. & Schubert, W.-D. (2007) Thermodynamically re-engineering the listerial invasion complex InlA/E-Cadherin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **104**, 13960-13965.
- Wollert, T., Pasche, B., Rochon, M., Deppenmeier, S., van den Heuvel, J., Gruber, A.D., Heinz, D.W., Lengeling, A. & Schubert, W.-D. (2007) Extending the host range of *Listeria monocytogenes* by rational pathogen design. *Cell* **129**, 891-902.

FOKUS

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

SONDERBEITRÄGE



*Die Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Ute Widow bereitet eine präparative Trennung mittels Säulenchromatographie vor | Dr. Theresia Stradal während ihrer Arbeit an einer Cleanbench | Dr. Heinrich Lünsdorf untersucht bakterielle Strukturen mit einem Elektronenmikroskop | Fotos: HZI, Bierstedt (li) | HZI (mi) | HZI, Hübner (re)*



- 54 **Infektion und Immunität**
- 94 **Genom- und Gesundheitsforschung**
- 97 **Gene, Umwelt und Gesundheit**
- 102 **Technologie-Plattformen**
- 109 **Neue Projektgruppen**
- 116 **Das Programm Infektion und Immunität in PoF II**
- 130 **TWINCORE, Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung GmbH**
- 134 **Veröffentlichungen**



## INFEKTION UND IMMUNITÄT

PROGRAMMSPRECHER | Prof. Dr. Jürgen Wehland | Bereich Zell- und Immunbiologie |  
jwe@helmholtz-hzi.de

Infektionen verursachen weltweit ein Drittel aller krankheitsbedingten Todesfälle. Obwohl eine verbesserte Hygiene und die Verfügbarkeit von Antibiotika und Impfstoffen in den letzten Jahrzehnten dazu geführt haben, dass solche Krankheiten immer seltener ausbrechen, stehen wir heute vor dem Problem, dass viele Infektionskrankheiten nicht nur gegen Medikamente resistent werden, sondern auch wieder auftreten. Der weltweite Tourismus und der globale Austausch von Waren haben zu Epidemien von bis dato unbekannten Krankheiten geführt, deutlich zu zeigen am Beispiel der neuartigen zoonotischen Infektionen, wie z.B. HIV, SARS und Vogelgrippe. Zudem haben sich Infektionskrankheiten, die als ausgerottet galten, wie z.B. die Tuberkulose, erneut zu einer weltweiten Gefahr entwickelt.

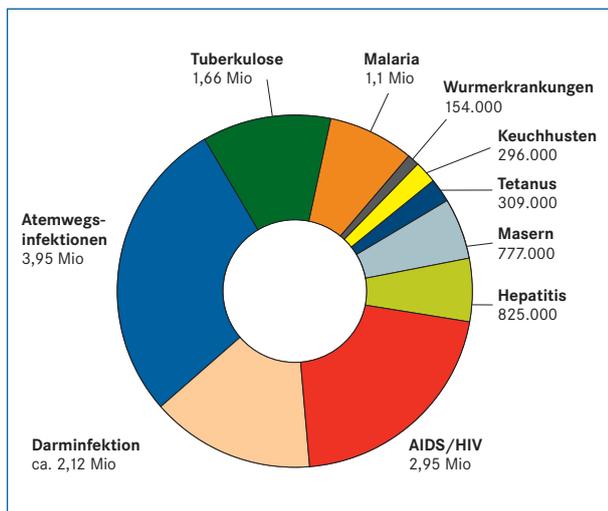
In den Industrieländern ist die Bekämpfung von Infektionskrankheiten aufgrund der modernen High-Tech-Medizin zu einer großen Herausforderung geworden: Patienten, bei denen Transplantationen vorgenommen wurden oder die auf Intensivstationen behandelt werden, sind infolge einer immunsuppressiven Medikation äußerst anfällig gegenüber opportunistischen Infektionen. Außerdem bilden sich ständig neue Resistenzen heraus, welche die Aussicht auf erfolgreiche Behandlung nicht nur akuter Krankheiten sondern auch chronischer und hartnäckiger Infektionen deutlich verschlechtern. Diese Situation verdeutlicht, wie dringend neue Strategien für die Diagnose, Prävention und Behandlung von Infektionskrankheiten entwickelt werden müssen. Daher ist es unbedingt erforderlich, dass sich die Grundlagenforschung, die sich mit den bei der Infektion ablaufenden Vorgängen befasst, schwerpunktmäßig auf die Mechanismen konzentriert, die den Pathogen-/Wirt-Interaktionen zugrunde liegen. Um neue innovative Impfstoffe entwickeln zu können, müssen wir untersuchen, wie das Immunsystem des Wirts auf die Invasion eines Pathogens reagiert und wie eine Immunreaktion ausgelöst wird. Nicht zuletzt müssen wir verstehen lernen, welchen Einfluss die Umgebung, wie z.B. die Nahrung und die pathogenen Reservoirs, auf den Verlauf einer Infektion und die Abwehr der Krankheitserreger hat.

Opportunistische Infektionen sind nicht nur für immungeschwächte Patienten ein ernst zu nehmendes Problem, sondern generell auch eine Gefahr für ältere Menschen. Trotz dieser bedrohlichen Entwicklung stehen die Chancen für die Etablierung neuer diagnostischer und effizienter therapeutischer Strategien sehr gut. Die systematische Genomanalyse liefert Informationen über potenzielle Medikamenten-Zielstrukturen, die bei der Entwicklung neuer Antibiotika Hilfestellung leisten. Ein besseres Verständnis der Funktionen einzelner Stoffe bildet zusammen mit dem Wissen über die Interaktionen von mikrobiellen Faktoren bei Wirtszellgenen eine ausgezeichnete Grundlage für das zielgerichtete Design chemotherapeutischer Strategien gegen mikrobielle Pathogene. Die funktionelle Genomanalyse liefert zudem Erkenntnisse über die molekulare Basis von Immunreaktionen sowie die genetische Suszeptibilität und Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten.

Das zunehmende Wissen über die molekularen und zellulären Komponenten des Immunsystems hat uns neue Möglichkeiten für klinische Eingriffe eröffnet. Sie ermöglichen Immuntherapien über die Prophylaxe hinaus sowie therapeutische Maßnahmen. Heute geht unser Wissen über Immunität weit über die Erkenntnisse bezüglich der Schutzfunktion gegen Infektionskrankheiten hinaus. Wir wissen, dass das Immunsystem den Wirt nicht nur gegen Mikroorganismen schützt, sondern dass es auch darauf

spezialisiert ist, veränderte Zellantigene zu überwachen und aufzuspüren, sowie schädliche Veränderungen in Körpergeweben und -organen zu erkennen und zu beseitigen. Dennoch sind die genauen Mechanismen, durch die das Immunsystem von verschiedenen Mikroorganismen dauerhaft unterminiert wird – wodurch latente und chronische Infektionen auftreten – noch nicht in vollem Umfang erforscht.

Die Forschungsprogramme des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung im Bereich Infektion und Immunität bauen auf der Grundlagenforschung im Bereich Infektionskrankheiten und Immunität auf. An der Schnittstelle dieser beiden Bereiche erwarten wir das größte Entwicklungspotenzial für neue Substanzen und Strategien zur Prävention und Behandlung von Krankheiten. Das Hauptziel des Programms besteht darin, die der Ausbildung von Infektionskrankheiten zugrundeliegenden Mechanismen zu verstehen. Dazu sind Grundlagenforschung an Modellorganismen und ihrer Pathogenität sowie eine genaue Analyse des Immunitätsmechanismus erforderlich. Unser Ziel ist das Verständnis der molekularen und zellulären Vorgänge, die während einer Infektion auftreten, der Mechanismen, auf deren Grundlage bestimmte Mikroorganismen eine Krankheit auslösen, sowie der Grundprinzipien der Abwehrmechanismen, die der Wirt anwendet, um Infektionen zu widerstehen bzw. diese unter Kontrolle zu halten. Dieses Wissen wird dann verwendet, um neue Strategien und Werkzeuge zur Behandlung und Verhinderung von Infektionskrankheiten zu entwickeln.



*Infektionskrankheiten weltweit: Todesfälle pro Jahr*

Quelle: PathoGenoMik Report 2003

#### Themen des Forschungsprogramms

- Mikroorganismen
- Pathogenese
- Entzündung und Immunität
- Prävention und Therapie



## 01 Mikrobielle Pathogenität

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Abteilung für Medizinische Mikrobiologie | [gsc@helmholtz-hzi.de](mailto:gsc@helmholtz-hzi.de)

Trotz der Verfügbarkeit einer großen Anzahl von Antibiotika und antiviralen Wirkstoffen steigt die Belastung durch Infektionskrankheiten kontinuierlich und beeinträchtigt die Errungenschaften der medizinischen Versorgung. Aufgrund der fortgeschrittenen medizinischen Methoden treten chronisch persistente Infektionen immer öfter zutage und stellen eine Hauptherausforderung für die Mediziner dar. Darüber hinaus sind die zunehmenden Resistenzen der Erreger gegen Antibiotika ein weiterer Grund zur Besorgnis. Besonders in Krankenhäusern werden häufig multi- und panresistente Pathogene identifiziert. Wegen der damit einhergehenden Abnahme der therapeutischen Möglichkeiten ist die Entwicklung alternativer Behandlungsstrategien dringend erforderlich. Um diese Herausforderungen meistern zu können, ist ein detailliertes Wissen über die Pathogenitätsmechanismen von größter Bedeutung. Adhärenz, Invasion, intrazelluläres Überleben, Umgehung der Immunantwort und Persistenz in Biofilmen sind nur einige der Strategien, die von Mikroorganismen zur Etablierung der Infektion im Wirt angewendet werden. Ein weiteres Problem ist die Diversität vieler infektiöser Organismen. Viele bakterielle und virale Spezies haben hunderte von verschiedenen Serotypen mit hoher Antigenvariation, die die Entwicklung effektiver Therapien erschwert. Deshalb muss ein multidisziplinärer Ansatz angewendet werden, um die Pathogenitätsmechanismen von Mikroorganismen umfassend zu verstehen.

Hauptziel dieses Themenbereichs ist eine in die Tiefe gehende Studie der Biologie pathogener Mikroorganismen und ihrer Interaktionen mit der Wirtszelle. Er beinhaltet folgende Forschungsthemen:

### **Untersuchung der Wirt-Pathogen-Interaktionen auf molekularer und zellulärer Ebene**

Im Laufe ihrer Co-Evolution mit dem Wirt haben pathogene Bakterien ausgeklügelte Mechanismen entwickelt, um Wirtszellen und das Immunsystem für ihre Zwecke zu nutzen. Intrazelluläres Überleben, Dissemination im Wirt und Pathogenpersistenz erfordern eine komplexe Serie von Interaktionen mit der Wirtszelle. Ein primäres Ziel ist das Zytoskelett, das an zahlreichen zellulären Funktionen und Prozessen, die von der intrinsischen Dynamik seiner Komponenten, insbesondere dem Aktinsystem, abhängen, beteiligt ist. Eine große Anzahl aktinbindender Proteine, welche die dynamische Reorganisation des Zytoskeletts regulieren, sind beschrieben. Dieser Forschungsbereich befasst sich mit der Aufklärung exakter Signalwege und Prinzipien der Kontrolle der Aktinpolymerisation. Während der zerstörerische Eingriff in das Aktinsystem durch Pathogene schon lange Gegenstand des Interesses ist, ist die Beteiligung des dynamischen mikrotubulären Systems zur bakteriellen Pathogenität als ein aufstrebendes neues und wichtiges Gebiet der Infektionsforschung Bestandteil dieses Topics.

### **Analyse der Biofilmbildung und ihre Regulation**

Die Biofilmbildung durch Bakteriengesellschaften stellt einen wichtigen Prozess in vielen Infektionskrankheiten dar. Biofilme können sich in verschiedenen Organen wie der Lunge, der Mundhöhle, der Harnblase, den Herzklappen sowie an verschiedenen Implantaten entwickeln. Mikroben in Biofilmen sind oft widerstandsfähig gegen die Wirkung von Antiinfektiva und nicht zugänglich für das Immunsystem des Wirtes. Dies führt zu chronischen und potenziell lebensbedrohlichen klinischen Manifestationen. In diesem Forschungsgebiet liegt der Fokus auf der Rolle der Biofilmbildung und bakteriellen Kommunikation in chronischen Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa*. Dieses Topic behandelt auch die Rolle des *Quorum Sensing* in der Biofilmbildung durch Oralstreptokokken.

### Identifikation neuer Virulenzfaktoren pathogener Bakterien

Pathogene Mikroorganismen produzieren eine Vielfalt von Virulenzfaktoren mit diversen Funktionen in Prozessen wie Adhärenz, Invasion, intrazellulärem Überleben, Umgehung der Immunantwort und bakterieller Kommunikation. Ihre funktionelle Charakterisierung wird nicht nur zum Verständnis der Pathogenität beitragen, sondern auch aussichtsreiche Kandidaten für die Entwicklung von Impfstoffen, Diagnostika und neuen Therapeutika identifizieren. Fibronektin, Kollagen und Plasminogen sind wichtige Bestandteile der extrazellulären Matrix und bekannt dafür, direkt an Wirt-Pathogen-Interaktionen beteiligt zu sein. Fibronektin-bindende Proteine pathogener Bakterien sind wichtige Faktoren in Adhärenz, Invasion und intrazellulärem Überleben. Kollagenbindung an Bakterien spielt eine Rolle in bestimmten Autoimmunmanifestationen, und die durch bakterielle Proteine induzierte Aktivierung von Plasminogen ist ausschlaggebend in der Gewebsinvasion. Der Hauptfokus dieses Forschungsfeldes liegt auf den Virulenzfaktoren von Streptokokken, insbesondere denen, die mit extrazellulären Matrixkomponenten interagieren.

### Analyse bakterieller Virulenz mittels Proteomics

Der Modellorganismus *Listeria monocytogenes* wird in diesem Forschungsthema genutzt, um die zeitliche und räumliche Dynamik von Wirt-Pathogen-Interaktionen auf Proteinebene aufzuklären. Speziell wird das Effektor-vermittelte Wirtszellsignalling mittels qualitativer Phosphokinomanalyse studiert. Weil das Voranschreiten vom ersten Erwerb von *P. aeruginosa* bis zur nachhaltigen Kolonisierung der Lunge von Patienten mit Zystischer Fibrose (CF) direkt mit der Überlebensrate korreliert, wird in Kooperation mit der Ambulanz der Medizinischen Hochschule Hannover ein hochsensitiver Immunoproteom-Workflow zur Identifizierung diagnostischer und prognostischer antigener Marker etabliert. Des Weiteren untersucht das Projekt Signaltransduktionsprozesse, die für das bakterielle Pathogen *P. aeruginosa* und Epithelzellen von CF-Patienten spezifisch sind.

### Strukturelle Analyse von Proteinen, die an Wirt-Pathogen-Interaktionen beteiligt sind

Die Aufklärung von Wirt-Pathogen-Interaktionen unter atomarer Auflösung liefert mechanistische Einsichten, die der Entwicklung neuer Ansätze zum Eingriff in den Infektionsprozess dienen. Die 3D-Strukturen mikrobieller Virulenzfaktoren und – wenn bekannt – ihrer Komplexe mit Wirtszellinteraktionspartnern und Rezeptoren werden mit Hilfe der etablierten Techniken der Röntgenkristallographie und der NMR-Spektroskopie mit hoher Auflösung bestimmt. Der Hauptschwerpunkt liegt auf Virulenzfaktoren, die zu mikrobieller Adhärenz und Invasion und zum Umbau des Wirtszellzytoskeletts beitragen, sowie auf Komponenten und Effektoren von Type-III-Sekretionssystemen, Schlüssel-Genregulatoren mikrobieller Virulenz und Häm- und Eisenaufnahmesystemen.

Die oben genannten Forschungsfelder werden von einem multidisziplinären Team aus 14 Wissenschaftlern auf Projektebene bearbeitet. Diese Wissenschaftler gehören zu verschiedenen Abteilungen und Forschungsgruppen des HZI und bringen eine breitgefächerte Expertise mit. Die Höhepunkte der auf Projektebene gewonnenen Ergebnisse sind in den folgenden Projektberichten beschrieben.

## 01.1 Strukturanalyse von Virulenzfaktoren

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dirk Heinz | Abteilung Molekulare Strukturbiologie | dirk.heinz@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Davide Ferraris | Dr. Joop van den Heuvel | Dr. Björn Klink | Dr. Jörn Krauß | Nick Quade | Maïke Rochon | Ulrich Wiesand | Thomas Heidler | Dr. Victor Wray | Jun.-Prof. Hartmut Niemann (Universität Bielefeld)

Charakteristisch für viele pathogene Mikroorganismen ist die Nutzung sogenannter Virulenzfaktoren, um gezielt die Kontrolle über bestimmte Wirtszellvorgänge während der Infektion zu erlangen. Ziel dieses Projektes ist die Strukturanalyse mikrobieller Virulenzproteine über Röntgenkristallographie bzw. Kernmagnetresonanzspektroskopie (NMR), um möglichst genau zu verstehen, wie diese Proteine während der Infektion mit ihren Wirtszellrezeptoren wechselwirken. Die auf diese Weise erhaltenen Komplexstrukturen sollten auch den Weg zu neuen Strategien zur Therapie mikrobieller Infektionskrankheiten eröffnen.

### Rezeptor-Tyrosinkinase Signalwege und Bakterieninvasion

Das Bakterium *Listeria monocytogenes* ist ein Lebensmittelpathogen, das in Neugeborenen, älteren Menschen und anderen immungeschwächten Individuen die sogenannte Listeriose, eine systemische Krankheit mit einer hohen Mortalitätsrate, auslösen kann. Die einzigartige Fähigkeit des invasiven Bakteriums die verschiedenen natürlichen Wirtszellenbarrieren zu überwinden, hängt im Wesentlichen von zwei Invasionsproteinen ab: den Internalinen A und B (InlB), die sich auf der Bakterienoberfläche befinden. InlB interagiert dabei spezifisch mit der Rezeptor-Tyrosinkinase Met, um die Aufnahme des Bakteriums zu erzwingen. Met ist der endogene Zellrezeptor für den Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF), wodurch ihm eine wichtige Rolle beim Zellwachstum, bei der Zellmigration und der Krebsmetastasierung zukommt. Die von uns kürzlich aufgeklärte Kristallstruktur des Komplexes aus InlB und Met (Abb. 1) zeigt erstmals bei atomarer Auflösung, wie das bakterielle Protein den Met-Signalweg nutzt. InlB ermöglicht eine Met-Oligomerisierung und damit eine Rezeptoraktivierung, indem es die flexible Ektodomäne des Rezeptors zur Einnahme einer starren Konformation zwingt. Obwohl InlB ein funktionelles Abbild von HGF darstellt, interagiert es mit Met auf völlig andere Art und Weise, was dessen Promiskuität gegenüber verschiedenen Proteinliganden demonstriert.

### Die exakte Nadellänge des Typ III-Sekretionssystems

Gram-negative pathogene Bakterien, wie beispielsweise der

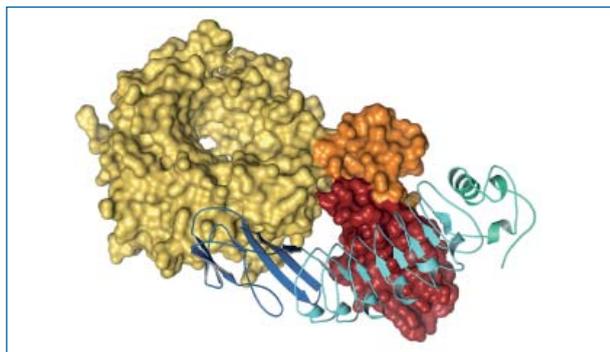


Abb. 1. Struktur des InlB-Met-Komplexes. Die Met-Domänen sind als Oberflächenraster (gelb bis rot) und die InlB-Domänen als Diagramm (grün bis blau) dargestellt.

Pest-verursachende Erreger *Yersinia pestis*, verfügen über ein sogenanntes Typ III-Sekretionssystem (T3SS) oder Injektisom, eine nadelähnliche Proteinmaschine, welche während der Infektion die Übertragung von Virulenzfaktoren durch die Wirtszellmembran ermöglicht. Das Innenmembranprotein YscU ist wichtig für den Aufbau des Injektisoms von *Yersinia enterocolitica* und erfährt während dieses Prozesses eine ungewöhnliche Autoproteolyse an einem konservierten Tetrapeptid-Sequenzmotiv. Mutationen an diesem Motiv verhindern die Autoproteolyse und führen zur Einstellung des Proteinexports und zur Entstehung längerer Nadelphänotypen. Anhand der Struktur einer ungespaltenen YscU-Variante (Abb. 2) wird erkennbar, wie das Protein seine Selbstspaltung katalysiert, indem es für eine optimale Reaktionsgeometrie für den nukleophilen Angriff einer reaktiven Asparagin-Seitenkette auf die zu spaltende Peptidbindung sorgt.

### Strukturvergleiche an viralen Virulenzfaktoren

Mit NMR wurde die Struktur des Pferdeanämievirus Gag-Proteins p9 ermittelt, um sie mit der Struktur des humanen HIV-1 p6 zu vergleichen. Die Strukturunterschiede liegen in den sogenannten „Late-Domain“-Motiven, die mit den Proteinen des für die Virusknospung erforderlichen endosomalen Sorting-Komplexes interagieren. Bei Vergleichsstudien mit den beiden synthetischen Peptidpaaren von PB1-F2, das den Influenza-A-Virusisolaten der „Spanischen Grippe“ und der „Vogelgrippe“ entspricht, wurden Strukturunterschiede zu einigen unserer kürzlich veröffentlichten Daten über das ursprüngliche H1N1-Isolat festgestellt. Solche Unterschiede scheinen die Pathogenese der viralen und sekundären, bakteriellen Pneumonie zu beeinflussen.

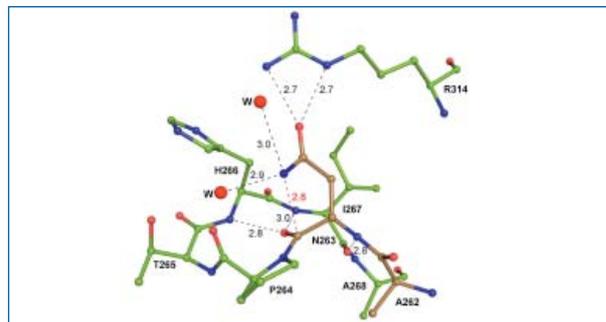


Abb. 2. Selbstspaltung von YscU. Die Seitenkette von <sup>263</sup>Asn ist so angeordnet, dass sie den eigenen Carbonylkohlenstoff angreifen kann.

Wiesand,U., Sorg,I., Amstutz,M., Wagner,S., van den Heuvel,J., Lührs,T., Cornelis,G. & Heinz,D.W.(2009) Structure of the type III secretion recognition protein YscU from *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Molecular Biology* **385**, 854-866.

Niemann,H.N., Jäger,V., van den Heuvel,J., Schmidt,S., Ferraris,D., Gherardi,E. & Heinz,D.W. (2007) Structure of the receptor tyrosine kinase Met in complex with the *Listeria* invasion protein InlB. *Cell* **130**, 235-246.

Bruns,K., Studtucker,N., Sharma,A., Fossen,T., Mitzner,D., Eissmann,A., Tessmer,U., Henklein,P., Wray,V. & Schubert,U. (2007) Structural characterization and oligomerization of PB1-F2, a pro-apoptotic influenza A virus protein. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 353-363.



## 01.2 Pathogenese von chronischen *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen

PROJEKTLEITERIN | Prof. Dr. Susanne Häußler | Nachwuchsgruppe Chronische *Pseudomonas* Infektionen | sus@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Andrea Blanka | Andreas Dötsch | Vanessa Jensen | Mathias Müsken | Yusuf Nalca | Jörg Overhage | Claudia Pommerenke | Juliane Schmidt | Sebastian Schulz | Caroline Zaoui

Die Erfolge der modernen Medizin werden zunehmend durch opportunistische bakterielle Infektionen beeinträchtigt. Bei chronischen Infektionen schließen sich die Erreger häufig in sogenannten Biofilmen zusammen. So sind sie sehr wirksam vor Angriffen des Immunsystems oder vor Antibiotika geschützt. Außerdem verschafft das Leben in der Population den Bakterien zusätzliche Mechanismen der Anpassung, die über eine übliche Reaktion auf Stresssituationen auf Einzelzellebene weit hinausgehen. Sie profitieren dabei insbesondere von ihrer Diversität und von Kooperation.

**Diversität erleichtert das Überleben** *Pseudomonas aeruginosa* ist der dominante pathogene Erreger der chronischen Infektion der Lunge von Mukoviszidose-Patienten. Obwohl die meisten Patienten mit nur einem *P. aeruginosa* Klon kolonisiert sind, finden wir verschiedene bakterielle Morphotypen in der Lunge. Diese Diversität scheint eine große Rolle bei der Persistenz des Keims und der Ausbildung einer chronischen Infektion zu spielen. Wir wollen die molekularen Mechanismen aufklären, die der Generierung dieser Diversität zugrunde liegen.

**Mutation und Selektion – Schlüssel für die Entstehung von Diversität** Bei Mukoviszidose-Patienten mit einer chronischen *P. aeruginosa* Infektion der Lunge finden wir gehäuft sogenannte „Small Colony Variants“ (SCVs), die besonders effizient Biofilme ausbilden.

Der biofilmbildende SCV Phänotyp ist charakterisiert durch die Expression des „Chaperone Usher Pathway“ (*cupA*) Genklusters. *CupA* kodiert für bakterielle Fimbrien und wird über eine Modulation eines bakteriellen Signalmoleküls, des zyklischen di-GMP (c-di-GMP), reguliert. Um die Mutationen zu identifizieren, die der Entstehung des SCV Phänotyps zugrunde liegen, haben wir in Zusammenarbeit mit Affymetrix einen *P. aeruginosa*-Genomarray entwickelt.

Mit diesem Array sind wir durch eine vergleichende Hybridisierung chromosomaler DNA zweier *P. aeruginosa* Stämme in der Lage, einzelne Basenaustausche erfolgreich zu identifizieren. In Zukunft wollen wir so klinisch relevante adaptive Mutationen identifizieren, die in *P. aeruginosa* unter *in vitro* Biofilmwachstumsbedingungen und *in vivo* im Laufe einer chronischen Infektion entstehen. Das Wissen um die Genotypen, die zu unterschiedlichen Infektionsstadien selektioniert werden, soll uns helfen, neue erfolgsversprechende Therapiestrategien zu entwickeln.

**Interbakterielle Kommunikation spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung bakterieller Diversität** *P. aeruginosa* produziert neben zwei gut charakterisierten Homoserinlaktone-Signalmolekülen ein drittes interbakterielles Signalmolekül, das Pseudomonas Quinolone Signal (PQS). PQS reguliert in Abhängigkeit von der Zelldichte – ebenso wie die Homoserinlaktone – Virulenzfaktoren und ist essenziell für die Etablierung von *P. aeruginosa* Biofilmen. Wir haben außerdem zeigen können, dass PQS eine wichtige Rolle bei der Entstehung der morphologischen Diversität unter Biofilmbedingungen spielt. PQS ist ein sekundäres Prooxidant und kann über eine Aktivierung der Fentonreaktion Sauerstoffradikale produzieren. Diese schädigen die DNA, es kommt zu Doppelstrangbrüchen, die nur unzureichend repariert werden. Die Folge ist die Entstehung von genetischen Varianten, die unter Biofilmbedingungen selektioniert werden.

Die Untersuchung der Verbindung von interbakterieller Kommunikation und der Entstehung von bestimmten Biofilm-Phänotypen wird eine interessante zukünftige Herausforderung sein.



Prof. Susanne Häußler und Yusuf Nalca analysieren Ergebnisse des Wachstums von *Pseudomonas aeruginosa*. Foto: HZI, Gramann

Dötsch,A., Pommerenke,C., Bredenbruch,F., Geffers,R. & Häußler,S. (2009) Evaluation of a microarray-hybridization based method applicable for discovery of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *Pseudomonas aeruginosa* genome. *BMC Genomics* **10**(1),29.

Häußler,S. & Becker,T. (2008) The pseudomonas quinolone signal balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations. *PLoS Pathogens* **4**(9), e1000166.

Meissner,A., Wild,V., Simm,R., Rohde,M., Erck,C., Bredenbruch,F., Morr,M., Römling,U. & Häußler,S. (2007) *Pseudomonas aeruginosa cupA* encoded fimbriae expression is regulated by a GGDEF and EAL domain dependent modulation of the intracellular level of cyclic diguanylate. *Environmental Microbiology* **9**, 2475-2485.

Jensen,V., Löns,D., Zaoui,C., Bredenbruch,F., Meissner,A., Dieterich,G., Münch,R. & Häußler,S. (2006) RhIR Expression in *Pseudomonas aeruginosa* Is Modulated by the Pseudomonas Quinolone Signal via PhoB-Dependent and -Independent Pathways. *Journal of Bacteriology* **188**, 8601-8606.



## 01.3 Virulenzfaktoren von Streptokokken & Pneumokokken

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Abteilung für Medizinische Mikrobiologie | gsc@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Silva Amelung | Vanessa Barroso | Dr. Simone Bergmann | Dr. Katrin Dinkla | Dr. Marcus Fulde | Dr. Christine Gillen | Andreas Itzek | Simran Jeet Kaur | Melanie Lüttge | Dr. Andreas Nerlich | Dr. Patric Nitsche-Schmitz | Silvana Reißmann | Priv.-Doz. Dr. Manfred Rohde | Dr. Vivek Sagar | Dr. Martina Sanderson-Smith | Dr. Susanne Talay

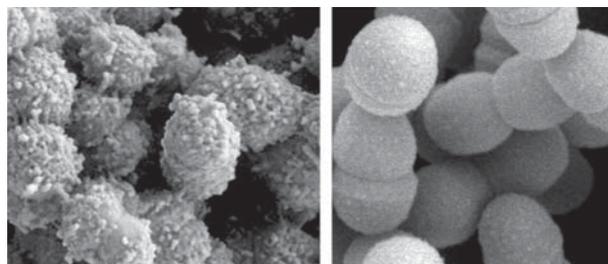
Gruppe A Streptokokken (GAS) und Pneumokokken verursachen ein breites Spektrum von akuten Infektionen und Folgeerkrankungen beim Menschen. Gruppe C und G Streptokokken werden zudem seit kurzem mit Akutem Rheumatischem Fieber in Verbindung gebracht. Oralstreptokokken können Karies verursachen. Sie können aber auch – trotz Antibiotikabehandlung – zu lebensbedrohlichen systemischen Infektionen führen, besonders bei immunsupprimierten Patienten. Im Jahr 2008 wurden Streptokokkeninfektionen und deren Folgeerkrankungen in die Liste der vernachlässigten Infektionskrankheiten aufgenommen. Die Identifizierung sowie die strukturelle und funktionelle Charakterisierung ihrer Pathogenitätsfaktoren ist Voraussetzung für die Entwicklung neuer Kontrollstrategien.

**Mechanismen invasiver Streptokokkeninfektionen** Die meisten invasiven Bakterieninfektionen rufen normalerweise nur minimale Symptome hervor. Der global verteilte GAS-Klon M1T1 verursacht jedoch die seltenen, aber lebensbedrohlichen Syndrome: Nekrotisierende Fasziitis und Toxisches Schocksyndrom. Mutationen im *control of virulence regulatory sensor kinase* (*covRS*)-Operon dieser GAS werden mit diesen schweren invasiven Infektionen in Verbindung gebracht. Sie verhindern die Expression einer Cysteinprotease (*SpeB*) mit breiter Spezifität und erlauben die Rekrutierung und Aktivierung humanen Plasminogens auf der Bakterienoberfläche. Die dabei aktivierte Protease Plasmin spielt eine entscheidende Rolle in der Initiation invasiver GAS-Erkrankungen. Mit Hilfe eines humanisierten Plasminogen-Mausmodells haben wir gezeigt, dass die Fähigkeit, Plasminogen zu binden und Plasminaktivität auf der GAS-Oberfläche zu akkumulieren, entscheidend für die Virulenz ist.

**Identifikation eines Oktapeptidmotives** Akutes Rheumatisches Fieber ist eine Autoimmunerkrankung, die als Folge von Streptokokkeninfektionen entsteht. Ein Mechanismus der rheumatogenen Streptokokkenstämme ist die Bildung eines autoantigenen Komplexes mit humanem Kollagen IV. Wir konnten zeigen, dass die Bildung von Kollagenkomplexen während der Streptokokkeninfektion von einem Oktapeptidmotiv abhängt, das in kollagenbindenden M- und M-ähnlichen Proteinen verschiedener beta-hämolytischer Streptokokkenspezies vorkommt. Mäuse, die mit dem kollagenbindenden Motiv immunisiert wurden, entwickeln hohe Serumtiter der Antikollagen-Antikörper. In Seren von Patienten mit Rheumatischem Fieber ging eine solche Kollagen-Autoimmunantwort mit einer spezifischen Reaktivität gegen kollagenbindende M-Proteine einher.

**Streptokokkeninduzierte Signaltransduktion in Endothelzellen** Wir haben die Aufnahme von *S. pyogenes* Typs M3 in Endothelzellen aus humaner Nabelschnur analysiert, um die Signalfaktoren zu identifizieren, die für die frühen Schritte des Aufnahmeprozesses nötig sind. Wir haben entdeckt, dass Protein-Tyrosinkinasen (PTKs) der Src-Familie und die kleine GTPase Rac1 essentiell für die Initialisierung sind. Src PTKs werden als Antwort auf Typ M3 Streptokokken aktiviert. Außerdem konnten wir zeigen, dass die kleine GTPase Rac1 in infizierten Zellen aktiviert wird und mit F-Aktin am Eintrittsort der Bakterien akkumuliert. Zusätzlich konnten wir erstmalig die Akkumulation des *actin nucleation complex* Arp2/3 an der Eintrittsstelle invadierender Streptokokken zeigen.

**Diagnostischer Marker für Anginosus Streptokokken** Obwohl Streptokokken der Anginosus Gruppe (*S. milleri*) als signifikante Humanpathogene bekannt sind, steht die Aufklärung ihrer Epidemiologie noch aus. Wir haben einen neuen Marker für die Spezies *S. anginosus* und *S. constellatus* identifiziert und liefern eine schnelle und verlässliche PCR-Methode zur hochspezifischen Unterscheidung dieser Spezies von anderen Mitgliedern des Genus. Das Markergen kodiert für ein Oberflächenprotein, das für die Entwicklung eines kostengünstigen und genauen Schnelltests geeignet sein kann. Dieser würde die Diagnose verbessern und damit zu gezielter Therapie führen.



Ein Oktapeptid, PARF (AXYLZZLN), aggregiert humanes Kollagen und trägt damit zur Entstehung von Akutem Rheumatischem Fieber bei. Die Abbildung zeigt die Aggregation von Kollagen auf der Streptokokkenoberfläche (links) im Vergleich zu kollagenfreien Streptokokken (rechts). Foto: HZI, Rohde

Walker,M.J., Hollands,A., Sanderson-Smith,M.L., Cole,J.N., Kirk,J.K., Henningham,A., McArthur,J.D., Dinkla,K., Aziz,R.K., Kansal,R.G., Simpson,A.J., Buchanan,J.T., Chhatwal,G.S., Kotb,M. & Nizet,V. (2007) Dnase-mediated resistance to neutrophil killing provides selection pressure for a genetic and phenotypic switch promoting invasive group A streptococcal infection. *Nature Medicine* 13, 981-985.

Dinkla,K., Nitsche-Schmitz,D.P., Barroso,V., Reissmann,S., Johansson,H.M., Frick,I.M., Rohde,M. & Chhatwal,G.S. (2007) Identification of a streptococcal octa-peptide motif involved in acute rheumatic fever. *Journal of Biological Chemistry* 282, 18686-18693.



## 01.4 Systembiologie der Pseudomonaden

**PROJEKTLEITER** | Prof. Dr. Vitor A. P. Martins dos Santos | Arbeitsgruppe System- und Synthetische Biologie | vds@helmholtz-hzi.de

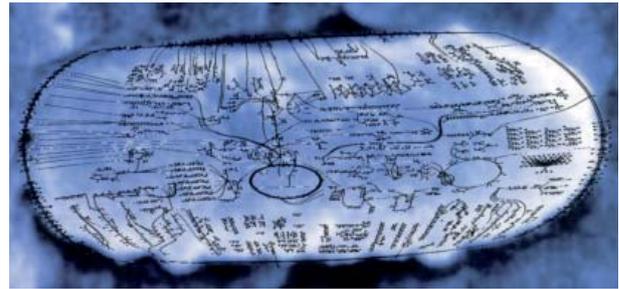
**PROJEKTMITARBEITER** | Dr. Piotr Bielecki | Miguel Godinho | Bianka Karge | Carolyn Lam | Audrey Leprince | Gurudutta Panda | Sandra Placzek | Ignacio Poblete Castro | Dr. Jacek Puchalka | Dr. Maria Suárez | Dr. Christoph Ulmer | Joost Van Duuren

Die neuesten Entwicklungen bei der Hochdurchsatzanalyse-technik ermöglichen uns einen Einblick in die Art und Weise, wie ein Organismus sein Genom unter unterschiedlichsten Umgebungsbedingungen nutzt. Wie können wir diese Erkenntnisse verwenden, um Interventionsstrategien gegen Pathogene zu entwickeln und die biotechnologischen Fähigkeiten relevanter Mikroorganismen zu nutzen? Es ist zwar wichtig, die Struktur der einzelnen Gene und Proteine zu verstehen, aber um die Zellfunktionen zu durchschauen müssen wir jedes Gen in seinem dynamischen Kontext betrachten. Das erfordert die Betrachtung vieler ineinandergreifender Komponenten unter Zuhilfenahme von effizienten Modellersystemen.

**Pseudomonaden als Modell-Mikroorganismen** *Pseudomonas aeruginosa* ist ein lebensbedrohliches und opportunistisches Pathogen. Die durch dieses Bakterium ausgelösten Infektionen sind multifaktoriell und kombinatorisch. Es ist bekannt, dass dieses Bakterium globale, miteinander verflochtene Eigenschaften besitzt, die zu einer guten Vermehrung unter vielen verschiedenen Umgebungsbedingungen führen. Es ist noch nicht bekannt, was für ein Genomsatz für diese pathogene Eigenschaft verantwortlich ist. Das nicht pathogene *P. putida* ist ein anpassungsfähiger Mikroorganismus, der für die Biotechnologie von großer Bedeutung ist. Unser Ziel ist es herauszufinden, wie die Genome des *P. aeruginosa* und des *P. putida* deren Eigenschaften im Kontext der jeweiligen Umgebungs- und Wirtsbedingungen bestimmen.

**Genome bestimmen das Verhalten** Um einen Einblick in die Genomprogramme zu gewinnen, die für die Infektion verantwortlich sind, haben wir eine umfangreiche, vergleichende Genomuntersuchung durchgeführt und eine statistisch relevante Anzahl von *P. aeruginosa*-Genen erzeugt, von denen anzunehmen ist, dass sie auf spezifische Weise an der Pathogenese beteiligt sind. Obwohl ein umfangreicher Basisgensatz bei verschiedenen Infektionsszenarien immer vorkam, wurden kleinere Teilmengen differenziell exprimiert. Zudem wurde durch Computeranalyse eine große Anzahl neuer potenzieller Virulenzgene des *P. aeruginosa* entdeckt.

Wir haben eine Computerplattform zum Abruf heterogener Daten entwickelt. Unter Verwendung annotierter Genomsequenzdaten, biochemischer Informationen und Abstammungsspezifischen Wissens haben wir ein vorläufiges bedingungsabhängiges Genom-Skalen-Modellersystem für *P. aeruginosa* und *P. putida* entwickelt. Die Netzwerke



Bildliche Darstellung des rekonstruierten Genom-skalierten metabolischen Netzwerks von *Pseudomonas aeruginosa*

umfassen zwischen 650 und 950 Gene, entsprechend 10 bis 15% des Genoms dieser Bakterien. Vorläufige Ergebnisse zeigen, dass die Anzahl extremer Signalwege, die das metabolische Potenzial von *P. aeruginosa* repräsentieren, bedeutend höher ist als die für *P. putida*. Das ist eindeutig eine akute Systemeigenschaft, die allein auf der Grundlage eines linearen Vergleichs von Genlisten nicht hätte vorhergesagt werden können.

**Informative Systeme und Modelle** Das Erstellen von metabolischen und regulatorischen Plänen liefert eine Grundlage zur Untersuchung der Folgen von Veränderungen am Genotyp und zur Erforschung der Phenotyp- und Genotyp-Beziehungen. Letztlich wird mit dieser Analyse der gesamte metabolische Bereich möglicher Flussverteilungen und metabolischer Wechselwirkungen innerhalb des Netzwerks definiert. Ein direkter Vergleich dieses "phenotypischen Bereichs" beider Bakterien kann möglicherweise bei der Identifizierung von "Orphan-Genen", evolutionären Merkmalen und genetischen Plastizitäten hilfreich sein. Solche Modelle werden angewandt, um die informativsten „knockouts“ und die sinnvollsten Designs für Experimente zu ermitteln, die für die Erforschung des Verhaltens dieser Bakterien in verschmutzter Umwelt und innerhalb ihres Wechselwirkungsbereichs mit dem infizierten Wirt von Bedeutung sind.

Puchałka, J., Oberhardt, M.A., Godinho, M., Bielecka, A., Regenhardt, D., Timmis, K.N., Papin, J.A. & Martins dos Santos, V.A.P. (2008) Genome-scale reconstruction and analysis of the *Pseudomonas putida* KT2440 metabolic network facilitates applications in biotechnology. *PLoS Computational Biology* **4**(10), 1-18.

Oberhardt, M.A., Puchałka, J., Fryer, K.E., Martins dos Santos, V.A.P. & Papin, J.A. (2008) Genome-scale metabolic network analysis of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Bacteriology* **190**(8), 2790-2803.

Bielecki, P., Glik, J. & Martins dos Santos, V.A.P. (2008) Towards understanding *Pseudomonas aeruginosa* burn wound infections by profiling gene. *Biotechnology Letters* **30**(5), 777-902.



## 01.5 Mikrobielle Kommunikation

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Irene Wagner-Döbler | Arbeitsgruppe Mikrobielle Kommunikation | [iwd@helmholtz-hzi.de](mailto:iwd@helmholtz-hzi.de)

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Helena Sztajer | Dr. Brigitte Kunze | Dr. Wei Wang | Andre Lemme | Xiaoli Xue | Ina Buchholz | Jürgen Tomasch

Bakterien synthetisieren kleine, frei diffundierende Signalmoleküle, sogenannte Autoinducer, die wichtige physiologische Eigenschaften in Abhängigkeit von ihrer Konzentration regulieren. Zum Beispiel wird das Leuchten und die Produktion von Toxinen bei Bakterien der Gattung *Vibrio* nur dann induziert, wenn die Zelldichte über einem bestimmten Wert, dem sogenannten Quorum, liegt. Diese Art der Kommunikation zwischen Zellen einer Population heißt daher *Quorum Sensing*. Sie steuert bei vielen Pathogenen die Expression von Virulenzfaktoren und die Bildung von Biofilmen. Das Verständnis der Mechanismen des *Quorum Sensing* eröffnet neue Möglichkeiten, Infektionen zu beeinflussen und potenzielle Alternativen für Antibiotika zu entwickeln.

**Quorum sensing und Biofilmbildung bei dem Kariesbakterium *Streptococcus mutans*** *Streptococcus mutans* ist ein Bestandteil von Zahnplaque und einer der wichtigsten Auslöser von Karies. Seine Virulenzeigenschaften, einschließlich der Bildung von Biofilmen, werden durch *Quorum Sensing* kontrolliert. Wir haben einen Genom-Microarray für *S. mutans* entwickelt, der alle 1950 Gene des Bakteriums enthält. Durch Profilierung des Transkriptom konnten wir zum ersten Mal Gene identifizieren, die durch das universelle Bakteriensignalmolekül Autoinducer-2 reguliert werden. Die Funktion vieler dieser Gene ist unbekannt. Sie werden nun kloniert und exprimiert, um die kodierten Proteine zu untersuchen, die als neue Targets für die Hemmung von *S. mutans* Biofilmen und damit der Kariesprävention dienen könnten.

**Quorum Sensing in *Roseobacter*** Die *Roseobacter* Gruppe ist eine phylogenetisch kohärente, physiologisch heterogene Gruppe von Alphaproteobakterien, die bis zu 25% aller Bak-

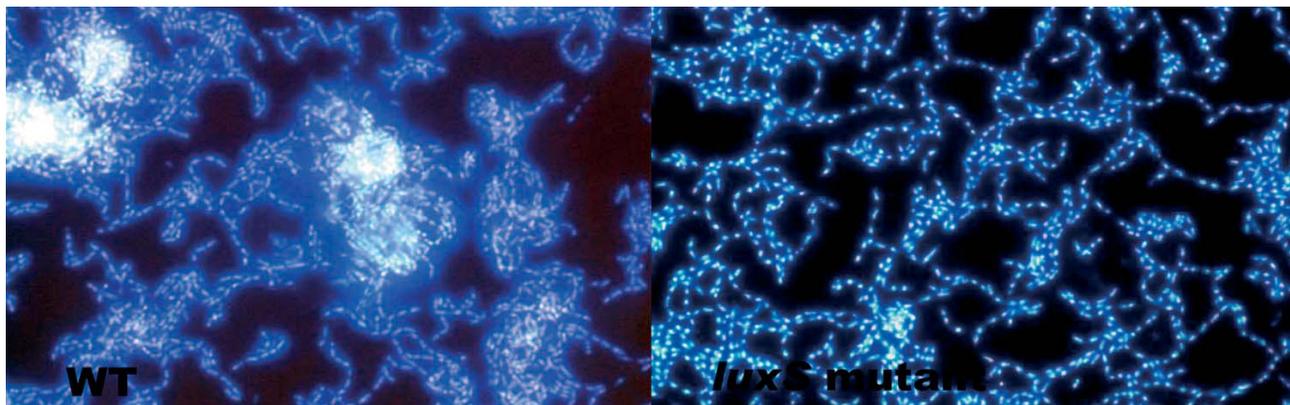
terien in marinen mikrobiellen Gemeinschaften ausmachen kann. Sie spielt eine große Rolle für die globalen Kohlenstoff- und Schwefelkreisläufe, die das Klima beeinflussen. Wir untersuchen die Ökologie dieser Organismen durch Arbeiten an repräsentativen Vertretern in Kultur, aufbauend auf der Sequenzierung vollständiger Genome. Dabei haben wir viele neue *Quorum Sensing* Signalmoleküle entdeckt, deren regulatorische Funktion noch unbekannt ist und durch funktionelle Genomanalysen aufgeklärt werden soll.

**Suche nach Inhibitoren für *Quorum Sensing*** Mit Hilfe von Bioassays, die auf *Quorum Sensing* Signalmechanismen beruhen, haben wir kleine chemische Moleküle identifiziert, mit denen die mikrobielle Kommunikation gestört werden kann. Sie wurden aus verschiedenen biologischen Materialien isoliert: Aus den leicht flüchtigen Verbindungen, die von Bakterien, Spinnen und Reptilien ausgeschieden werden, sowie aus den Kulturüberständen von Myxobakterien. Hemmstoffe werden auch von Alphaproteobakterien produziert, die auf den Oberflächen von marinen Seescheiden, Moostierchen und Schwämmen leben. Wir sind nun dabei, diese Inhibitoren aus Kulturüberständen zu isolieren und ihre Wirkmechanismen aufzuklären.

Bodor, A., Thiel, V., Schulz, S. & Wagner-Döbler, I. (2008) Potential for *luxS* related signalling in marine bacteria and production of autoinducer-2 in the genus *Shewanella*. *BMC Microbiology*, 8, 13.

Sztajer, H., Lemme, A., Vilchez, R., Schulz, S., Geffers, R., Yip, C.Y.Y., Levesque, C.M., Cvitkovitch, D. & Wagner-Döbler, I. (2008) Autoinducer-2 regulated genes in *Streptococcus mutans* UA159 and global metabolic effect of the *luxS* mutation. *Journal of Bacteriology* 190, 401-415.

Wagner-Döbler, I., Thiel, V., Eberl, L., Allgaier, M., Bodor, A., Meyer, S., Ebner, S., Hennig, A., Pukall, R. & Schulz, S. (2005) Discovery of complex mixtures of novel longchain quorum sensing signals in free-living and host-associated marine Alphaproteobacteria. *ChemBioChem* 6(12), 2195-2206.



Unterschiede in den Biofilmformationen eines *Streptococcus mutans* Wildtypstammes (links) und einer Knock-out-Mutante, die im AI-2 gesteuerten Quorum Sensing System (*luxS* Mutante) defekt ist. Foto: HZI, Sztajer



## 01.6 Molekulare Mechanismen des intrazellulären Transports, des Überlebens und der Persistenz von Streptokokken

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Manfred Rohde | Abteilung für Mikrobielle Pathogenität | mro@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Claudia Preuß

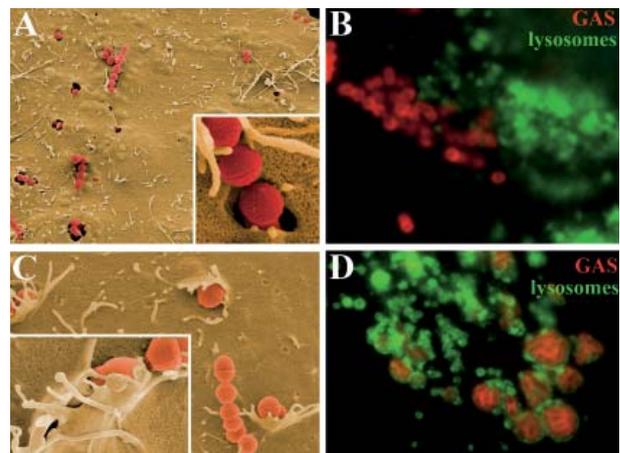
*Streptococcus pyogenes*, der Gruppe A Streptococcus (GAS), ist der Hauptverursacher von Streptokokken-Infektionen beim Menschen. Diese reichen von leichten bis zu schweren, sogar lebensbedrohlichen Infektionen, wie z.B. der nekrotisierenden Fasziiitis. Streptokokken können auch rezidivierende Infektionen, wie z.B. Erysipel und Tonsillitis, verursachen. Dieses Phänomen wurde als „carrier-Status“ der Streptokokkeninfektion beschrieben. Es wird davon ausgegangen, dass Streptokokken in einer sicheren ökologischen Nische überleben können, höchstwahrscheinlich innerhalb der eukaryontischen Zellen. Dies ermöglicht, dass GAS nicht nur intrazellulär Überleben kann, sondern auch einer längeren Antibiotika Behandlung widerstehen kann. Die Untersuchung des „carrier-Status“ der Streptokokken wurde in der Vergangenheit mehr oder weniger vernachlässigt. Über die beteiligten Mechanismen und Faktoren ist nicht viel bekannt.

**Invasions- und Überlebensmechanismen der Streptokokken der Gruppe A mit SfbI-Expression** Es konnte nachgewiesen werden, dass die Fibronectin-bindenden Proteine der Streptokokken eine wichtige Rolle bei der Adhäsion und Invasion spielen. Das Streptokokken-Fibronectin-Bindungsprotein (SfbI) aus Streptokokken der Gruppe A ist z.B. durch Bildung eines neuen Kompartiments mit der Bezeichnung Caveosom am intrazellulären Überleben der Streptokokken beteiligt. SfbI benutzt dazu Fibronectin als Brückenmolekül zur Bindung an  $\alpha_5\beta_1$ -Integrine. Aufgrund der Bindung von mehreren Fibronectinmolekülen an ein einzelnes SfbI-Proteinmolekül kommt es zur Integrin-Klusterbildung mit darauf folgender Auslösung einer Signalkaskade, die zur Aggregation von Caveolae um die adhärennten Streptokokken führt. Durch Fusion der Caveolae bildet sich eine große Einstülpung, durch die die Streptokokken in die Wirtszelle eindringen (siehe Abb.1, A). Durch die Nutzung dieses Caveolae-vermittelten Weges umgehen die SfbI-tragenden Streptokokken den lysosomalen Abwehrmechanismus der Wirtszelle, da es zu keiner Fusion mit Lysosomen kommt (siehe Abb.1, B).

**Invasionsmechanismus des SfbI-Mutantenstammes** Im Gegensatz zu den SfbI-exprimierenden Streptokokken, weist der SfbI-Mutantenstamm einen anderen, durch die Bildung von Membranausstülpungen gekennzeichneten, morphologisch unterschiedlichen Invasionsmechanismus auf (siehe Abb.1, C). Im Inneren der Wirtszelle folgen die Streptokokken dann dem klassischen, endozytischen Weg. Das bedeutet, dass Phagosomen, die Streptokokken enthalten, anschließend mit Lysosomen zu Phagolysosomen verschmelzen (siehe Abb.1, D). In der Folge bedeutet das für die intrazellulären Streptokokken, dass sie jetzt mit dem Abwehrmechanismus der Wirtszelle konfrontiert werden. Sie müssen dieser möglichen Vernichtung ausweichen, um überleben zu können.

**GfbA, das Fibronectin-Bindungsprotein A der Streptokokken der Gruppe G (GGS)** Die GfbA-exprimierenden

Streptokokken der Gruppe G verfügen über einen anderen Invasionsmechanismus als SfbI-exprimierende GAS-Stämme, obwohl ähnliche Mengen Fibronectin wie bei den SfbI-tragenden Stämmen gebunden werden. Die GfbA-vermittelte Invasion führt durch die Bildung von Membranausstülpungen bei bis zu 90% aller eindringenden Streptokokken zur Aufnahme in die Wirtszelle. Selten lässt sich die Bildung von Einstülpungen beobachten. Die GfbA-exprimierenden Streptokokken folgen – wie die SfbI-Mutanten-Stämme – dem klassischen, endozytischen Weg. Daher lässt sich eine Fusion mit Lysosomen zu Phagolysosomen feststellen. Die heterologe Oberflächenexpression des GfbA-Proteins in den nicht pathogenen *S. gordonii* hat gezeigt, dass allein GfbA für den andersartigen morphologischen Invasionsmechanismus verantwortlich ist. Die Sequenzierung der GfbA-Gene hat ergeben, dass nur der C-terminale Teil eine starke Ähnlichkeit mit SfbI aufweist.



*Verschiedene Invasionsmechanismen von Streptokokken A. SfbI-exprimierende Streptokokken dringen in Wirtszellen durch die Ausbildung großer Einstülpungen ein und vermeiden so die intrazelluläre Fusion mit Lysosomen; B. Streptokokken sind rot eingefärbt, während Lysosomen mit Lamp-1 gekennzeichnet sind grün; C. Im Unterschied zur SfbI-veranlassten Invasion können SfbI-Mutanten durch die Formation von Membranausstülpungen das Eindringen bewirken und D. Gehen somit eine Verbindung mit intrazellulären Lysosomen zu Phagolysosomen ein. Foto: HZI, Rohde*

von Köckritz-Blickwede, M., Goldmann, O., Thulin, P., Heinemann, K., Norrby-Teglund, A., Rohde, M. & Medina, E. (2008) Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood* 111, 3070-3080

Gillen, C.M., Courtney, H.S., Schulze, K., Rohde, M., Wilson, M.R., Timmer, A.M., Guzman, C.A., Nizet, V., Chhatwal, G.S. & Walker, M.J. (2008) Opacity factor activity and epithelial cell binding by the serum opacity factor protein of *Streptococcus pyogenes* are functionally discrete. *Journal of Biological Chemistry* 283, 6359-6366

Goldmann, O., Sastalla, I., Wos-Oxley, M., Rohde, M. & Medina, E. (2009) *Streptococcus pyogenes* induces oncosis in macrophages through the activation of an inflammatory programmed cell death pathway. *Cellular Microbiology* 11, 138-155



## Pathogenese

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Werner Müller | Abteilung für Experimentelle Immunologie | [werner.muller@manchester.ac.uk](mailto:werner.muller@manchester.ac.uk)

Pathogene befallen ihren Wirt und führen zu Erkrankungen. Dieses einfache, generelle Prinzip ist verbunden mit einer Vielzahl möglicher Pathogene, seien es Viren, Bakterien oder Parasiten. Diese Variabilität schlägt sich auch in den unterschiedlichen Erkrankungen nieder. Ein Pathogen kann einerseits kurzzeitiges Unwohlsein zur Folge haben, kann aber andererseits innerhalb weniger Tage zum Tode führen oder uns bis zum Ende unseres Lebens begleiten.

Im Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung arbeiten mehrere Arbeitsgruppen auf dem Gebiet der Pathogeneseforschung. Das Forschungsgebiet beleuchtet eine Vielzahl von potenziellen Krankheiten mit den unterschiedlichsten Ausprägungen. Wir versuchen, möglichst grundlegende Mechanismen der Pathogenese aufzuklären. Also Mechanismen, die von mehr als nur einem Pathogen genutzt werden, auch wenn jedes einen eigenen Weg gefunden hat, in unseren Körper zu gelangen. Bei der Analyse dieser Mechanismen ist in der Vergangenheit klar geworden, dass Pathogene bestehende Signalwege in unserem Körper nutzen und für ihre eigenen Bedürfnisse verwenden oder modifizieren. Es wurde auch klar, dass Veränderungen genau dieser Signalwege durch andere Ereignisse zu Krankheiten wie Autoimmunität oder Krebs führen können.

Die Pathogeneseforschung betreiben wir auf den unterschiedlichsten Ebenen. Veränderungen im Proteinnetzwerk werden in der Arbeitsgruppe von Lothar Jänsch mit Hilfe der Proteomforschung analysiert. Die Signalwege der Infektion werden durch das gezielte Ausschalten von Genprodukten mit Hilfe der sogenannten Anti-Sense RNA-Technologie in Zelllinien oder aber durch gezieltes Ausschalten der Gene auf Ebene der DNA untersucht. Die Gruppen von Theresia Stradal und Klemens Rottner verwenden diesen experimentellen Ansatz. Beide nutzen dabei die neuesten Mikroskoptechnologien, um die Invasion von Pathogenen auf Einzelzell-niveau *in vitro* zu beobachten.

Während die oben genannten Arbeitsgruppen auf der Ebene einzelner Zellen arbeiten, basiert die Arbeit der Gruppen von Eva Medina, Werner Müller und Klaus Schughart auf *in-vivo*-Modellen. Sie analysieren unterschiedliche Mausmutanten aus verschiedenen Inzuchtstämmen, um die Wirkung der Pathogene in einem intakten Organismus zu studieren. Dieser Weg ist wichtig, da in der Kulturschale immer nur ein sehr kleiner Ausschnitt der komplexen Abläufe der Wirt-Pathogen-Interaktion untersucht werden kann.

Die Arbeitsgruppe von Eva Medina sucht nach Genen, die die Anfälligkeit für den septischen Schock in Mäusen kontrollieren. Hierzu werden verschiedene Mauslinien miteinander verglichen, Stämme, die einen septischen Schock bekommen, mit Stämmen, die dies nicht tun. Durch diese Art der Analyse hat die Arbeitsgruppe Genorte im Genom der Maus gefunden, die den Verlauf der Sepsis steuern. Sobald diese Genorte genauer analysiert wurden, werden Ärzte in der Zukunft vielleicht in der Lage sein, Patienten über eine Genanalyse in individuelle Risikogruppen einzuteilen und so eine spezifische und optimierte Therapie anzubieten.

Die Arbeitsgruppe von Werner Müller untersucht Infektionen bei genetisch modifizierten Mausmutanten, bei denen bestimmte Gene, die bei der Abwehr von Infektionen durch den Wirt eine Rolle spielen, fehlen. Die untersuchten Gene beeinträchtigen die Funktion von Makrophagen und T-Lymphozyten. Die dabei verwendeten Infektionsmodelle beinhalten Infektionen mit Bakterien

und Parasiten. Die Untersuchungen auf der Grundlage dieser Infektionsmodelle sind in eine spezielle Infrastruktur eingebettet, die sogenannte „Infection Challenge Platform“. Diese Infrastruktur wurde in Zusammenarbeit mit dem Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN) aufgebaut. Die Abteilung „Experimentelle Immunologie“ wird jetzt von Jochen Hühn geleitet. Seine Arbeitsgruppe befasst sich derzeit mit dem Thema „Bildungs- und Funktionseigenschaften von Foxp3+-exprimierenden, regulatorischen T-Zellen“ (siehe auch „Neue Projektgruppen 04“).

Die Arbeitsgruppen von Klaus Schughart und Eva Medina untersuchen sogenannte „recombinant inbred strains“, um die Anfälligkeit gegenüber Infektionen zu erforschen. Während die Experimente von Werner Müller in genetisch einheitlichen Mauskohorten durchgeführt werden, repräsentieren die „recombinant inbred strains“ in ihrer Gesamtheit eine viel größere genetische Vielfalt. Durch diese Vielfalt sind diese Mäuse viel näher an der Populationssituation des Menschen, in der jedes Individuum seine individuelle Genzusammensetzung besitzt – mit Ausnahme eineiiger Zwillinge. Das Ziel dieser Untersuchungen ist die Identifikation sogenannter „modifier“-Gene. Diese Gene sind nicht direkt an den Signalwegen während der Infektion beteiligt, regulieren aber mehrere dieser Wege und beeinflussen so indirekt unsere Empfindlichkeiten gegenüber Infektionserkrankungen. Auf der einen Seite ist die Analyse der „recombinant inbred strains“ viel aufwendiger als die Analyse von Inzuchtlinien, die Antworten jener reflektieren jedoch viel besser, was wir in Patienten beobachten. In wenigen Jahren wird die sogenannte zweite Generation der „recombinant inbred strains“ zur Verfügung stehen, die es den Wissenschaftlern erlauben wird, etwa eine Million unterschiedlicher aber genau definierter Mausgenotypen zu untersuchen – eine Aufgabe, die sehr aufwendig ist, aber ein großes Potenzial birgt.

Die Arbeitsgruppe von Christiane Ritter analysiert strukturelle und mechanistische Aspekte funktioneller Amyloide. Diese faserartigen Proteinaggregate stehen sowohl mit schwerwiegenden Erkrankungen durch Protein-Fehlfaltungen als auch mit nützlichen Zellfunktionen in Zusammenhang. Als Analyseverfahren zur Ableitung der Faltung der Amyloidfibrillen wenden sie erfolgreich eine Kombination von Mutagenesestrategien, des „Quenched Hydrogen Exchange“, der mit Hilfe des Kernspinresonanzverfahrens (NMR) gemessen wird, und anderer spektroskopischer Verfahren an.

## 02.1 Molekulare Mechanismen von Wirtszell-Pathogeninteraktionen

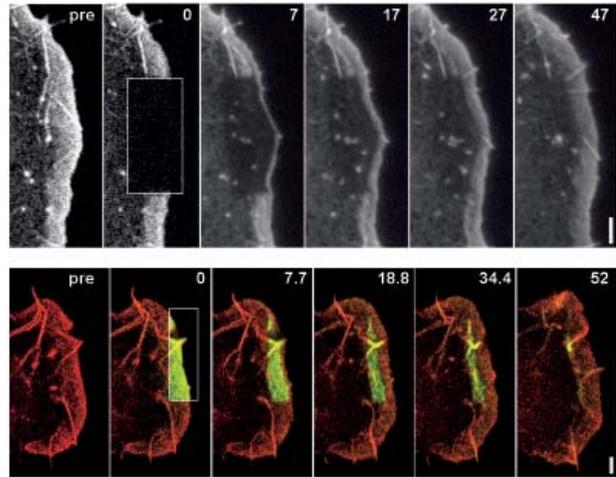
PROJEKTLEITER | Dr. Klemens Rottner | Arbeitsgruppe Zytoskelett-Dynamik | kro@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Jennifer Block | Tanja Bosse | Dr. Frank Lai | Dr. Markus Ladwein | Margit Schloen | Dr. Malgorzata Szczodrak

Ziel dieses Projektes ist, die genauen molekularen Mechanismen zu untersuchen, die die Reorganisation des Aktinzytoskeletts bei verschiedenen Arten von Motilitätsprozessen und Interaktionen verschiedener Pathogene mit ihren Wirtszellen steuern.

Die Aktinpolymerisation wird durch Proteinkomplexe katalysiert, die die Nukleation von Aktinfilamenten steuern, wie z.B. der Arp2/3-Komplex oder die Formine. Zu den wichtigsten Aktinregulatoren gehören die Aktivatoren des Arp2/3-Komplexes, z.B. Komplexe der WASP- und WAVE-Familie, die „downstream“ der Rho-GTPasen Cdc42 und Rac1 agieren können. Jüngste Untersuchungen haben gezeigt, welche Rolle diese Moleküle bei der InlB-vermittelten Invasion von *Listeria monocytogenes* in die Wirtszelle spielen. Diese benutzen einen Wirtszellsignalweg „downstream“ der Aktivierung der Rezeptor-Tyrosin-Kinase c-Met. Die genetische Deletion von Cdc42 und damit kombinierte Inhibitoruntersuchungen haben gezeigt, dass sowohl diese Rho-GTPase als auch die Phospholipid-Kinase PI3-Kinase bei der Rac1-Aktivierung kooperieren, wobei die Interaktion von Rac1 mit dem WAVE-Komplex für die InlB-induzierte Listerien-Invasion essenziell ist. Im Gegensatz dazu war der Cdc42-Effektor N-WASP nicht an den Cdc42-Funktionen „downstream“ des c-Met Signalweges beteiligt. Dies war deshalb überraschend, da N-WASP verschiedene andere Arten von Pathogen-Wirtszellinteraktionen steuert – wie z.B. die intrazelluläre Motilität von Shigellen oder die durch pathogene *E. coli* induzierte Pedestal-Bildung. Dies verdeutlicht einmal mehr die selektive Rolle von Cdc42 in der Rac1-Aktivierung bei der InlB-induzierten Listerieninvasion.

Weiterhin haben wir damit begonnen, räumliche und zeitliche Aspekte der Nukleation von Aktinfilamenten im Lamellipodium präzise zu untersuchen. Unter Verwendung modernster Bildgebungsverfahren wie FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) und Fotoaktivierung (siehe Abbildung) gelang es uns nachzuweisen, dass das Wachstum und die Nukleation von Aktinfilamenten sowie die Aktivierung des Arp2/3-Komplexes auf eine räumlich sehr begrenzte Region an der Schnittstelle zwischen dem schiebenden Aktinfilamentnetzwerk und der Plasmamembran beschränkt sind. Diese Befunde widersprechen vor allem der Vorstellung einer über das gesamte Lamellipodium hin verteilten Aktinnukleation, beispielsweise vermittelt durch ADF/Cofilin, aber auch einer bedeutenden Rolle des im gesamten Lamellipodium angereicherten Cortactin, dem auch eine Funktion bei der Arp2/3-Komplexaktivierung zugesprochen wird.



Representative Beispiele für FRAP (fluorescence recovery after photobleaching – Wiederherstellung der Fluoreszenz nach Fotobleiche) (oben, Balken: 2  $\mu$ m) von Aktin in Lamellipodia von motilen BI6-F1 Melanomzellen. Rot im unteren Bild entspricht RFP-angehängtem Aktin als Kontrolle. Man beobachtet die besondere Wiederherstellung des Aktinnetzwerkes im Vordergrund (geändert aus Lai et al., 2008, *EMBO Journal* 27(7), 982-992).

Darüber hinaus konnten wir zu Untersuchungen beitragen, die eine hohe Flexibilität und Reorganisation des Aktinnetzwerkes im Lamellipodium belegten. Diese Befunde sind unvereinbar mit dem gängigen Modell eines starren lamellipodialen Aktinnetzwerkes bestehend aus einer Vielzahl von Aktinfilament-Verzweigungen (branches).

Bosse,T., Ehinger,J., Czuchra,A., Benesch,S., Steffen,A., Wu,X., Schloen,K., Niemann,H.H., Scita,G., Stradal,T.E.B., Brakebusch,C. & Rottner,K. (2007) Cdc42 and PI3K drive Rac-mediated actin polymerization downstream of c-Met in distinct and common pathways. *Molecular and Cellular Biology* 27(19), 6615-28.

Koestler,S.A., Auinger,S., Vinzenz,M., Rottner,K. & Small,J.V. (2008) Differentially oriented populations of actin filaments generated in lamellipodia collaborate in pushing and pausing at the cell front. *Nature Cell Biology* 10(3), 306-13.

Lai,F.P.L., Szczodrak,M., Block,J., Mannherz,H.G., Stradal,T.E.B., Dunn,G.A., Small,J.V. & Rottner,K. (2008) Arp2/3-complex interactions and actin network turnover in lamellipodia. *EMBO Journal* 27(7), 982-92.



## 02.2 Analyse der Proteinnetzwerke früherer Wirt-Pathogen-Interaktionen

PROJEKTLEITER | Dr. Lothar Jänsch | Arbeitsgruppe Zelluläre Proteomforschung | lja@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Uwe Kärst | Dr. Josef Wissing | Dr. Tobias Reinl | Dr. Manfred Nimtz | Sebastian König | Zofia Magnowska | Susanne Freund | Alexander Iphöfer | Evelin Dornbusch | Kirstin Jurrat | Maxi Scheiter

Fokus der Arbeitsgruppe Zelluläre Proteomforschung ist die Analyse fundamentaler Signaltransduktionsereignisse, die für humanpathogene Infektionsprozesse sowie die Aktivierung und Kontrolle der adaptiven Immunantwort des Wirtes wichtig sind. Zellbiologische, biochemische, massenspektrometrische und bioinformatische Arbeitsmodule werden entwickelt und kombiniert. Das Ziel: Eine quantitative Analyse der Expression, Lokalisation, Interaktion und insbesondere der posttranslationalen Modifikation (PTM) von Proteinen in primären und immortalisierten humanen Zellen.

**Methoden** Konzepte der quantitativen und chemischen Proteomforschung werden zur Identifizierung zellulärer „Targetproteine“ und für proteomische Studien von Signalnetzwerken eingesetzt. Hierzu werden niedermolekulare Moleküle aus der therapeutischen Wirkstoffforschung optimiert und nach einer Immobilisierung als „Fallen“ für Bindungspartner genutzt. In Kombination mit Chromatographie- und MS-Verfahren ermöglicht dies die Aufklärung transientser Strukturmodifikationen an Signalkomponenten, wie sie im Fall der Phosphorylierung an Proteinkinasen sowohl deren Aktivitäten als auch die molekularen Interaktionen mit ihren Substratmolekülen koordiniert. Die statistische Auswertung quantitativer Peptiddaten erfolgt auf der Basis der iTRAQ™-Technologie, wodurch die Prozesse auch in primären humanen Zellen und Geweben quantitativ beobachtet werden können.

**Phosphorylierungsabhängige Signalwege im Invasionsprozess von *Listeria monocytogenes*** Das Bakterium *L. monocytogenes* verursacht in immunkompromittierten Patienten schwere Erkrankungen sowie vorgeburtliche Infektionen. Die Virulenzfaktoren InlA und InlB induzieren durch Wechselwirkung mit dem Adhäsionsprotein E-Cadherin (InlA) und der Rezeptor-Tyrosinkinase c-Met (InlB) die Invasion der Wirtszelle. Die Signalübertragungswege werden durch Kinase-katalysierte Proteinphosphorylierungen kontrolliert. Durch die Identifizierung und Quantifizierung InlA-abhängiger phosphorylierter Substratproteine wurde ein funktionelles Netzwerk von Proteinkinasen im E-Cadherin-Signalweg abgeleitet. Eine direkte Analyse dynamischer Phosphorylierungsvorgänge an Kinasen konnte weltweit erstmalig am InlB-aktivierten c-Met-Signalweg demonstriert werden. Dabei wurden neue Signalkomponenten der listeriellen Invasion entdeckt, die auch in dem durch den humanen Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF) kontrollierten physiologischen Met-Signalweg bisher nicht beschrieben wurden. Funktionelle Studien dieser Kinasen

analysieren daher ihren Beitrag zur Invasion, sowie ihre Bedeutung für motogene und mitogene zelluläre Prozesse.

### T-Zell-Antigenrezeptor vermittelte Signaltransduktion

T-Lymphozyten sind essenziell für die Regulation des Immunsystems. Die zellulären Prozesse und Effektorfunktionen von T-Zellen sind dabei unmittelbar vom Aktivierungsstatus der Signalwege abhängig. Quantitative Phosphokinomanalysen an verschiedenen regulatorischen T-Zellen zeigen neue Komponenten der CD3/CD28-abhängigen Signalwege auf. Weiterhin vergleichen wir CD3/CD28-induzierte Signalnetzwerke von effektorischen und regulatorischen T-Zellen. Expression und Phosphorylierungsstatus von rund 100 Kinasen wurden bereits untersucht. Es wurden neue Signalkomponenten und Phosphorylierungsstellen in regulatorischen T-Zellen identifiziert, welche nun hinsichtlich ihrer Rolle zur Bildung und Funktion suppressorischer T-Zellen in Mensch und Maus untersucht werden.



Kirstin Minkhart untersucht Proben unterm Mikroskop.

Foto: HZI, Krämer

Hundertmark,C.; Fischer,R.; Reinl,T.; Klawonn,F. & Jänsch,L. (2009) MS-specific noise model reveals the potential of iTRAQ in quantitative proteomics. *Bioinformatics* **25**, 1004-1011.

Wissing,J., Jänsch,L., Nimtz,M., Dieterich,G., Hornberger,R., Keri,G., Wehland,J. & Daub,H. (2007) Proteomics analysis of protein kinases by target class-selective prefractionation and tandem mass spectrometry. *Molecular and Cellular Proteomics* **6**(3), 537-47.

Baumgärtner,M., Kärst,U., Gerstel,B., Loessner,M., Wehland,J. & Jänsch,L. (2007) Inactivation of Lgt allows systematic characterization of lipoproteins from *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology* **189**(2),313-324.

Reinl T., Nimtz, M., Hundertmark, C., Johl, T., Kéri, G., Wehland, J., Daub, H. & Jänsch, L. (2009) Quantitative phosphokinome analysis of the Met pathway activated by the invasive InlB from *Listeria monocytogenes*. *Molecular and Cellular Proteomics*, im Druck.



## 02.3 Signaltransduktion und Aktindynamik

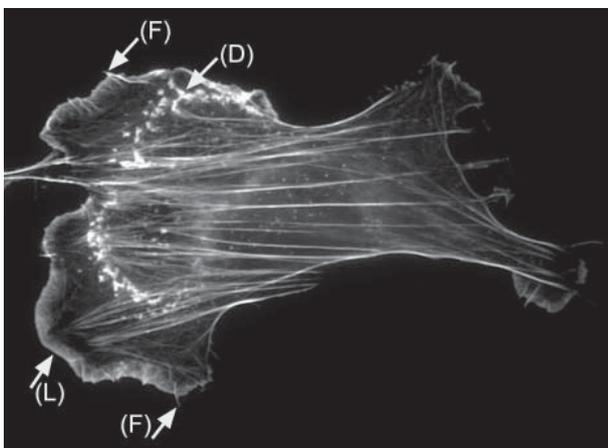
PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Theresia E.B. Stradal | Arbeitsgruppe Signaltransduktion und Motilität | ths@helmholtz-hzi.de

PROJEKZMITARBEITER | Jan Hänisch | Kai Städing | Stefanie Weiß | Kathrin Schloen | Kai Schlüter

Zahlreiche zelluläre Funktionen und Prozesse sind von dynamischen Veränderungen des Aktinzytoskeletts abhängig. Hierzu zählen alle Arten der Zellbewegung. Der ständige dynamische Umbau dieses Zellskeletts wird durch eine Vielzahl von Aktinbindeproteinen reguliert. Die genauen Abläufe der räumlich und zeitlich streng regulierten Aktinpolymerisation sowie die Signalwege, die zum Umbau des Aktinskeletts führen, sind jedoch noch weitgehend unbekannt.

Ein wichtiger Faktor für die Neubildung von Aktinfilamenten ist der Arp2/3-Komplex, der von sogenannten „Nucleation Promoting Factors“ (NPFs) aktiviert wird. Die bekannteste Gruppe der NPFs ist die WASP/Scar-Proteinfamilie, welche wiederum über Signale wie den sogenannten kleinen GTPasen gesteuert wird. Die kleinen GTPasen der Rho-Familie sind für die Übertragung von extrazellulären Stimuli bei Aktinneubildungen von großer Bedeutung. Die Strukturen, auf die wir uns mit unserer Forschung konzentrieren, sind Aktin-basierte Vorschübe an der Zellperipherie. Diese werden unterteilt in die eher flachen und breiten Lamellipodien und 'ruffles' (kleine Auffaltungen), die durch die GTPase Rac reguliert werden, sowie die fingerförmigen Filopodien, deren Bildung unter anderem durch die GTPase Cdc42 ausgelöst wird.

Dynamische Veränderungen des Aktinzytoskeletts, die denen bei der Zellwanderung ähneln, spielen eine wichtige Rolle bei Wirt-Pathogen-Interaktionen.



Ein wandernder Fibroblast breitet seine verschiedenen Aktinstrukturen entsprechend seiner Bewegung aus. L (Lamellipodium), D (dorsale zirkuläre Auffaltungen), F (Filopodium).

**Lamellipodien und WAVE** WAVE-Proteine, Mitglieder der WASP/Scar-Familie, sind für die Lamellipodienbildung über die GTPase Rac von großer Bedeutung. Der Signalweg zur WAVE-Aktivierung ist jedoch indirekt, da Rac1 nicht direkt an WAVE binden kann, um das Signal zu übertragen. Dies war für uns der Startpunkt, nach den fehlenden Bindegliedern zu suchen. Wir konnten zeigen, dass vier Proteine, Sra-1 (Spezifisch an Rac-assoziiertes Protein 1), Nap1 (Nck-assoziiertes Protein 1), Brick1 und Abi-Proteine (Abl-kinase Interaktoren) in der Lage sind, Rac mit WAVE-Proteinen zu koppeln. Inzwischen steht fest, dass der entstehende Proteinkomplex, der ubiquitäre WAVE-Komplex, für die Bildung von Lamellipodien durch Rac essenziell ist. Unsere derzeitige Forschung konzentriert sich auf die molekularen Regulationsmechanismen des WAVE-Komplexes.

**Filopodien sind nicht abhängig von WAVE- und Arp2/3-Komplexen** Wir konnten zeigen, dass der WAVE-Komplex für die Bildung von Filopodien nicht erforderlich ist. Um zu klären, ob der Arp2/3-Komplex bei diesem Prozess eine Rolle spielt, haben wir seine Expression durch RNAi unterdrückt und festgestellt, dass die Bildung von Filopodien – wiederum im Gegensatz zu den Lamellipodien – nicht betroffen ist. Dieser Befund widerspricht früheren Modellen der Filopodienbildung, denen ein untrennbares Zusammenspiel von Lamellipodien und Filopodien zugrunde lag. Nachdem also Filopodien über einen anderen Mechanismus der Aktinpolymerisation gebildet werden, versuchen wir zurzeit, die beteiligten Moleküle zu identifizieren. Wir konnten bisher nachweisen, dass das Formin-Protein mDia2/DRF3 grundsätzlich in der Lage ist, Aktin zu filopodienartigen Strukturen zu polymerisieren. Mit diesem Protein lassen sich jedoch nicht alle Arten von Filopodien erklären, da es nicht in allen Zelltypen vorkommt. Daher haben wir begonnen, Proteine mit potenziell ähnlichen Aktivitäten systematisch zu untersuchen.

Block,J., Stradal,T.E., Hänisch,J., Geffers,R., Köstler,S.A., Urban,E., Small,J.V., Rottner,K. & Faix,J. (2008) Filopodia formation induced by active mDia2/Drf3. *Journal of Microscopy* **231**(3), 506-517.

Derivery,E, Fink,J., Martin,D., Houdusse,A., Piel,M., Stradal,T.E., Louvard,D. & Gautreau,A. (2008) Free Brick1 is a trimeric precursor in the assembly of a functional wave complex. *PLoS ONE* **3**(6), e2462.

Beutling,U., Städing,K., Stradal,T. & Frank,R. (2008) Large-scale analysis of protein-protein interactions using cellulose-bound peptide arrays. *Advances in Biochemical Engineering, Biotechnology* **110**, 115-152.

Weiss,S.M., Ladwein,M., Schmidt,D., Ehinger,J., Lommel,S., Städing,K., Beutling,U., Disanza,A., Frank,R., Jänsch,L., Scita,G., Gunzer,F., Rottner,K. & Stradal,T.E.B. (2009). IRSp53 links the enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) effectors Tir and EspFU for actin pedestal formation. *Cell Host & Microbe* **5**(3), 244-258.

Faix,J., Breitsprecher,D., Stradal,T.E.B., & Rottner,K. (2009). Filopodia: complex models for simple rods. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **41**(8-9), 1656-1664.



## 02.4 Die angeborene Immunreaktion auf *Streptococcus pyogenes* in einem experimentellen Infektionsmodell

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Eva Medina | Arbeitsgruppe Infektionsimmunologie | [eme@helmholtz-hzi.de](mailto:eme@helmholtz-hzi.de)

PROJEKTMITARBEITER | Oliver Goldmann | Jens Abel | Christina Ziegler | Daniela Bruhn

*Streptococcus pyogenes* ist ein wichtiges Humanpathogen, das eine Vielzahl von Krankheiten verursacht, die von milden Infektionen, z.B. der Haut, bis hin zu schweren Infektionsverläufen, z.B. Sepsis, reichen. Die Untersuchung der Immunkomponenten, die für die Verteidigung des Wirts gegen das Pathogen erforderlich sind, ist ein wichtiger Bestandteil dieses Forschungsgebiets. Wir haben die Bedeutung von Makrophagen, einem wichtigen Zelltyp der angeborenen Immunität für die Kontrolle einer Infektion mit *S. pyogenes*, aufgezeigt. Hierbei haben wir die komplexe Reaktion von Mausmakrophagen auf *S. pyogenes* auf der Genexpressionsebene untersucht.

Mehr als 400 Gene wurden als differenziell regulierte Gene charakterisiert. Viele der hochregulierten Gene kodierenden Moleküle sind sowohl an der Immunreaktion und Entzündungsprozessen beteiligt, darüber hinaus auch an der Transkription, Signalkaskaden, der Apoptose, dem Zellzyklus, dem Elektronentransport sowie der Zelladhäsion. Von besonderem Interesse war dabei die Hochregulierung sowohl von entzündungsfördernden Zytokinen, die typisch für die klassische Aktivierung der Makrophagen sind (M1 Phänotyp), z.B. Tumornekrosefaktor Alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin 1 (IL-1) und IL-6, als auch die Induktion von Mediatoren, die mit der alternativen Makrophagenaktivierung (M2 Phänotyp) assoziiert sind, wie dem IL-1-Decoy-Rezeptor und IL-10. Zudem wurde die Expression der induzierten Stickoxidsynthase (iNOS) in *S. pyogenes* infizierten Zellen nicht induziert. Statt dessen konnten wir eine Induktion der Arginase, eines Enzyms, welches mit iNOS um das Substrat Arginin konkurriert und das am alternativen Aktivierungsweg beteiligt ist, in mit *S. pyogenes* infizierten Zellen zeigen.

Mittels der Mikroarray-basierten Genexpressionsanalyse konnten wir erstmalig nachweisen, dass *S. pyogenes* in Makrophagen ein atypisches Aktivierungsprogramm auslöst, das über einige, jedoch nicht alle Merkmale der klassischen oder alternativen Phänotypaktivierung verfügt. Die Mikroarray-Daten deuten auch darauf hin, dass die bakterizide Wirkung von Makrophagen gegen *S. pyogenes* durch die NADPH Oxidase in den Phagosomen vermittelt wird, dessen Gen, *p47phox*, in infizierten Zellen hochreguliert war. Tatsächlich war die *in vivo*- und *in vitro*-Eliminierung von *S. pyogenes* bei Nichtvorhandensein der funktionalen NADPH Oxidase (*p47phox*<sup>-/-</sup>) stark vermindert, jedoch nicht bei Fehlen der iNOS (*iNOS*<sup>-/-</sup>). Das Verständnis dafür, wie Makrophagen auf molekularer Ebene auf *S. pyogenes* reagieren, kann neue Ansätze für die Entwicklung neuer therapeutischer Konzepte bieten.



*Streptococcus pyogenes* infiziert eine dendritische Zelle.

Foto: HZI, Rohde

Dendritische Zellen zählen ebenfalls zu den Immunzellen, auf die *S. pyogenes* in der Schleimhaut des Atmungstraktes oder in der Haut zuerst trifft. Daher haben wir untersucht, welche Rolle dendritische Zellen bei der Infektion mit *S. pyogenes* spielen. Hierzu wurden CD11c-Diphtherie-Toxin (DT) Rezeptor transgene Mäuse (DTR) verwendet, in denen CD11c<sup>high</sup>-Zellen (konventionelle DCs) durch eine Behandlung mit geringen Dosen an DT *in vivo* vorübergehend eliminiert werden können. Durch die Verwendung des CD11c-DTR Mausmodells konnten wir nachweisen, dass die Ablation von dendritischen Zellen zu einer Verstärkung der *S. pyogenes*-Infektion führt - ein Hinweis auf die Schutzfunktion dendritischer Zellen bei der Infektion mit diesem Pathogen. Desweiteren führte die Eliminierung der dendritischen Zellen zur vollständigen Aufhebung der Interleukin-12 (IL-12)-Produktion. Dieses Zytokin bietet in einem Mausmodell für Hautinfektionen nachweislich einen beträchtlichen Schutz gegen eine tödliche Infektion mit *S. pyogenes*. Insgesamt belegen unsere Studien nachhaltig, dass dendritische Zellen eine zentrale Rolle für die Verteidigung des Wirts gegen eine Infektion mit *S. pyogenes* spielen.

Goldmann,O., von Köckritz-Blickwede,M., Höltje,C., Chhatwal,G.S., Geffers,R., & Medina,E. (2007) Transcriptome analysis of murine macrophages in response to infection with *Streptococcus pyogenes* reveals an unusual activation program. *Infection and Immunity* 75, 4148-4157.

Loof,T.G., Rohde,M., Chhatwal,G.S., Jung,S., & Medina,E. (2007) The contribution of dendritic cells to host defenses against *Streptococcus pyogenes*. *The Journal of Infectious Diseases* 196, 1794-1803.

Loof,T., Goldmann,O., & Medina,E. (2008) Immune recognition of *Streptococcus pyogenes* by dendritic cells. *Infection and Immunity* 76, 2785-2792.

## 02.5 Systemgenetik von Infektion und Immunität

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Klaus Schughart | Abteilung für Infektionsgenetik | kls@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Bastian Pasche | Dr. Manuela Heßmann | Dr. Nuno Viegas | Dr. Heike Kollmus | Barkha Bhatnagar | Paulina Blazéjewska | Harong Chen | Haiya Wu | Dr. Ursula Frischmann

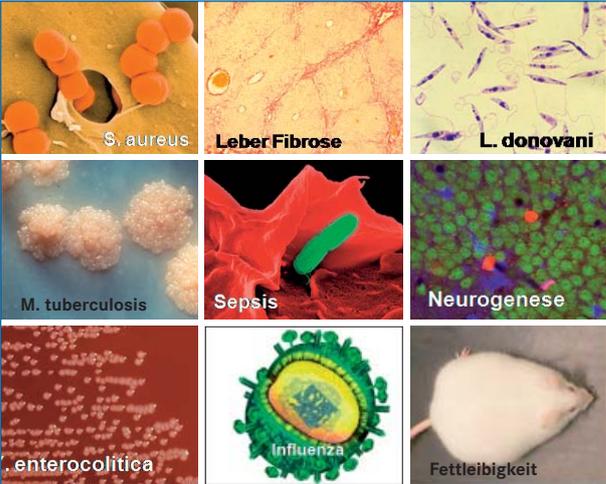
Ziel unserer Forschung ist die Beschreibung komplexer, genetischer Netzwerke, die für die Empfindlichkeit gegenüber Infektionskrankheiten oder die Regulation des Immunsystems verantwortlich sind. Hierzu wurden umfangreiche phänotypische Untersuchungen an experimentellen Mauspopulationen durchgeführt. Diese genetisch gut definierten experimentellen Populationen bestehen aus Inzucht-Mausstämmen mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund. In diesen Untersuchungen lassen sich phänotypische Merkmale oder Genexpressionsmuster mit genetischen Variationen korrelieren. Auf diese Weise können Genombereiche ermittelt werden, welche die phänotypischen Merkmale bzw. die regulatorischen Interaktionen von Genen steuern. Diesen Ansatz bezeichnet man als "Systemgenetik". Wir wenden sie auf Mäuse an, um die grundlegenden molekularen Mechanismen zweier für den Menschen wichtige Krankheitsbilder zu verstehen: Schwere Erkrankungen nach Infektion mit dem Influenza-A-Virus und die Regulation des Immunsystems mittels regulatorischer T-Zellen.

**Empfindlichkeit des Wirts gegenüber Infektionen mit dem Influenzavirus** Jedes Jahr verursachen Infektionen mit dem Influenza-A-Virus deutschlandweit etwa 2 Millionen schwere Krankheitsfälle, von denen je nach Saison 8.000 bis 30.000 tödlich verlaufen. Wir haben eine Reihe verschiedener Inzucht-Mausstämme infiziert und deutliche Unterschiede bei deren Reaktion auf die Influenza-A-Viren H1N1 und H7N7 festgestellt. Drei der Inzuchtmausstämme sind stark empfänglich gegenüber der Infektion, während die meisten anderen Stämme das Virus erfolgreich bekämpfen können. Zurzeit werden umfangreiche Vergleiche anhand der Pathologie, des Krankheitsverlaufes, der Immunreaktion und der Genexpression in den Lungen der empfänglichen und weniger empfänglichen Mausstämme durchgeführt. Zusätzlich analysieren wir Faktoren der Wirtsempfindlichkeit gegenüber Infektionen mit dem Influenzavirus bei verschiedenen rekombinanten Inzucht-Mausstämmen und interspezifischen rekombinanten kongenen Stämmen. Dadurch können wir weitere Genombereiche identifizieren, die zur Empfindlichkeit oder zur Resistenz beitragen, und die zugrundeliegenden Gen-regulatorischen Netzwerke entschlüsseln.

**Von einzelnen Gen-Interaktionen zu regulatorischen Netzwerken** Wenn das Immunsystem einer Infektion ausgesetzt ist, muss es seinen Verteidigungsmechanismus streng kontrolliert aktivieren. Eine Immunantwort, die den Angreifer unschädlich macht aber das Wirtsgewebe verschont, erfordert eine komplexe Interaktion zwischen Effektor-T-Zellen und regulatorischen T-Zellen (Treg). Wir analysieren auf Genomebene die Expressionsprofile in Treg- und naiven T-Zellen in verschiedenen rekombinanten Inzucht-Mausstämmen und stellen einen Zusammenhang zwischen der Stärke der Genexpression und der genetischen Varianz her. Wir haben auf diese Weise verschiedene „expression Quantitative Trait Loci“ (eQTL) identifiziert, die an der Regulation von wichtigen Genen beteiligt sein könnten und somit den Differenzierungszustand der Tregs aufrecht erhalten. Zurzeit untersuchen

wir die Rolle und die molekularen Funktionen der fraglichen Regulatorgene.

**Ein weltweites Netzwerk für Systemgenetik und Infektionsforschung** Unsere Tätigkeit ist eng in nationale und internationale Forschungsnetzwerke eingebunden: Das deutsche Netzwerk für Systemgenetik (GeNeSys) wird von unserer Abteilung koordiniert. Wir sind Mitglied des FluResearchNet, einem deutschen Netzwerk für Influenzaforschung, des Nationalen Genomforschungsnetzwerkes (NGFN), des EU-Projektes CASIMIR, des EU-ESFRI Konsortiums Infrafrontier sowie des PTR-Programms am Institute Pasteur. Zudem werden diese Arbeiten durch Forschungsstipendien des Helmholtz-Chinese-Scholarship-Council und der Georg-Christoph-Lichtenberg-Stiftung gefördert.



Guus Smit, Sabine Spijker (Amsterdam) | Mouse strain resource  
 Eva Medina (Braunschweig) | *Staphylococcus aureus* infection susceptibility  
 Stefan Ehlers (Borstel) | *Mycobacterium tuberculosis* infection susceptibility  
 Reinhard Hoffmann (Munich) | *Yersinia enterocolitica* infection susceptibility  
 Werner Solbach & Thomas Laskay (Lübeck) | *Leishmania major* infection susceptibility  
 Roland Lang (Munich) | Susceptibility to sepsis  
 Klaus Schughart | Susceptibility to influenza A  
 Gudrun Brockmann (Berlin) | Susceptibility to obesity  
 Frank Lammert (Bonn) | Susceptibility to liver fibrosis  
 Gerd Kempermann (Dresden) | Adult neurogenesis  
 Reinhard Hoffmann (Munich) | Expression analysis  
 Klaus Schughart | Bioinformatics resource | Coordinator

**GeNeSys**  
 German Network  
 for Systems Genetics

Zehn Partner von deutschen & holländischen Universitäten und Forschungseinrichtungen haben ein virtuelles Institut – GeNeSys – etabliert, bei dem Mäuse von der gleichen genetischen Referenzpopulation, den BXD-Satz von rekombinanten Inzuchtstämmen, auf verschiedene phänotypische Eigenschaften hin untersucht werden.

Schughart, K. & Schlender, H. (2007) Das Zusammenspiel der Gene. *BIOspektrum - special edition for the Biotechnica 2007*, Vol. 13, 8-10.

Schughart, K. & Churchill, G. (2007), 6th Annual Meeting of the Complex Trait Consortium. *Mammalian Genome* 18, 683-685.

Srivastava B., Blazéjewska P., Heßmann, M., Bruder, D., Geffers, R., Muel S., Gruber, A. D., & Schughart, K. (2009) The genetic background of the host strongly influences the response to influenza A virus infections in mice. *PLoS ONE*, 4, e4857.



## 02.6 Die Biologie der Immunantwort

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Werner Müller | Abteilung für Experimentelle Immunologie | werner.muller@manchester.ac.uk

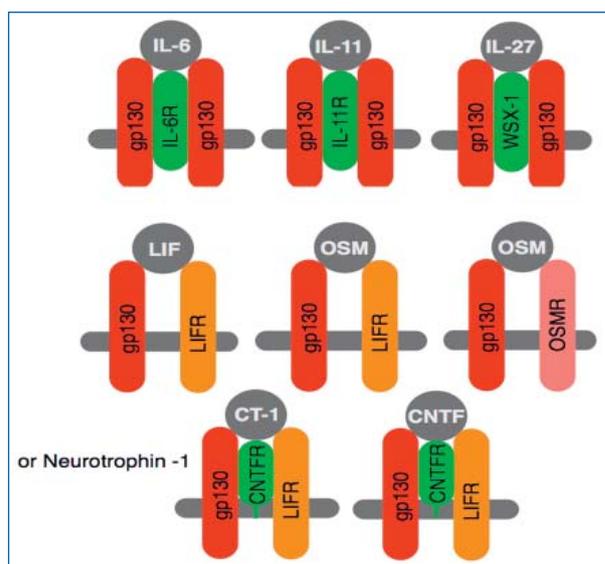
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Angela Schippers | Dr. Ursula Frischmann | Nicolas Fasnacht | Marina Greweling | Annika Kochut | Karina Nawrath | Fabio Pisano | Mandy Reichenbach

**Analyse des zytokinen Netzwerks** Zytokine bilden die Hauptelemente der regulatorischen Netzwerke des Immunsystems. Sie werden von Zellen des Immunsystems produziert und beeinflussen seine Entwicklung, Differenzierung und Funktion. Die Abteilung für Experimentelle Immunologie analysiert dieses regulatorische Netzwerk durch konditionelles „Gen-Targeting“ in Mäusen. Mit dieser Methode lassen sich Mausgene durch die Verwendung des von dem P1-Phage abgeleiteten Rekombinasesystems Cre/Loxp zelltypspezifisch deaktivieren.

**Interleukin-10 und regulatorische T-Lymphozyten** Interleukin-10 ist ein wichtiges entzündungshemmendes Zytokin, das die entzündungsfördernde Immunreaktion im Körper kontrolliert. Die Deaktivierung des Interleukin-10 führt zu einer entzündlichen Darmerkrankung bei Mäusen. Unlängst wurde nachgewiesen, dass bestimmte Interleukin-10-Genallele die Suszeptibilität gegenüber Morbus Crohn beim Menschen erhöhen. Durch eine konditionelle Gendeaktivierung haben wir gezeigt, dass Interleukin-10 von den T-Lymphozyten produziert werden muss, um eine entzündlichen Darmerkrankung zu verhindern.

T-Lymphozyten lassen sich in mehrere Untergruppen unterteilen. Die Elemente einer der T-Zellenuntergruppen heißen regulatorische T-Lymphozyten. Diese Untergruppe ist durch die Expression bestimmter spezifischer Zelloberflächenmarker und eines Haupttranskriptionsfaktors mit der Bezeichnung FoxP3 gekennzeichnet. In Zusammenarbeit mit Alexander Rudensky (Seattle) wurden Mäuse gezüchtet, bei denen nur die regulatorischen T-Lymphozyten nicht in der Lage sind, Interleukin-10 zu produzieren. Solche Mutanten entwickeln genauso eine entzündliche Darmerkrankung wie Mausmutanten mit vollständigem IL-10-Defekt und mit T-Zellen-spezifischem IL-10-Defekt. Durch dieses Experiment ist eine eindeutige Verbindung zwischen der regulatorischen Funktion des regulatorischen T-Lymphozyten und dem Zytokin Interleukin-10 hergestellt.

**Gp130 und regulatorische T-Lymphozyten** Gp130 ist die Hauptsignalisierungskomponente einer Gruppe von Zytokinen, die als Interleukin-6-Zytokinfamilie bezeichnet wird. Sie entfaltet ihre Aktivität nicht nur innerhalb des Immunsystems, sondern hat auch eine große Auswirkung auf nahezu alle Organsysteme des Körpers, einschließlich des Herzens, Gehirns und der Leber. Innerhalb des Immunsystems ist das Interleukin-6 an der Differenzierung der normalen T-Zellen zu einer neuen T-Lymphozytenuntergruppe mit der Bezeichnung Th17-Lymphozyten beteiligt. Wenn wir das gp130-Gen im T-Lymphozyten deaktivieren, können wir die Bildung von Th17-Zellen verhindern und die Zahl der regulatorischen T-Lymphozyten erhöhen. Durch diese Verschiebung in den T-Lymphozytenuntergruppen



© EU-GENE 2008

wird die Reaktion des Immunsystems auf die Infektion verändert. Mit Parasiten infizierte Mäuse mit dem Interleukin-10-Defekt sind nicht in der Lage, die Infektion abzuwehren. Teilweise ist das auf eine sehr starke Immunreaktion zurück zu führen, da sie eine sehr aktive Th17-Lymphozytenuntergruppe erzeugen.

**Gp130, die Leber und Arteriosklerose** Gp130, anfänglich als ein auf Immunzellen exprimiertes Molekül identifiziert, wird an allen Körperzellen exprimiert und interagiert mit vielen Elementen der Interleukin-6-Zytokinfamilie. Durch Verwendung einer zelltypspezifischen Gendeaktivierung konnten wir es an Zellen außerhalb des Immunsystems entfernen. In Zusammenarbeit mit Bernhard Schieffer (Hannover) wurde das gp130-Molekül in Hepatozyten deaktiviert, die den Hauptzelltyp der Leber darstellen. Dadurch sind die Hepatozyten nicht mehr in der Lage, eine akute Phasenreaktion - d.h. eine Reaktion auf einen entzündlichen Prozess im Körper - zu generieren. Solche Mutanten erkranken nicht mehr an Arteriosklerose, auch wenn sie mit einer ungesunden, stark fetthaltigen Nahrung versorgt und in einem genetischen arteriosklerosefördernden Hintergrund gehalten werden. Durch die Deaktivierung des gp130-Moleküls in Leberzellen verhinderten wir eine entzündliche Reaktion in dem Endothelium der Herzerarterie und die Mäuse blieben gesund. Betrachtet man das Genom vieler menschlicher Individuen, kann man tatsächlich eine Untergruppe von Patienten ausmachen, die ein besonderes Allel des gp130-Gens in sich tragen und dadurch ein erhöhtes Arterioskleroserisiko haben.



## 02.7 Strukturelle und mechanistische Analyse funktioneller Amyloide

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Christiane Ritter | Arbeitsgruppe Makromolekulare Infektionen | cri07@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Alexander Eberth | Agnes Zimmer | Madhu Nagaraj

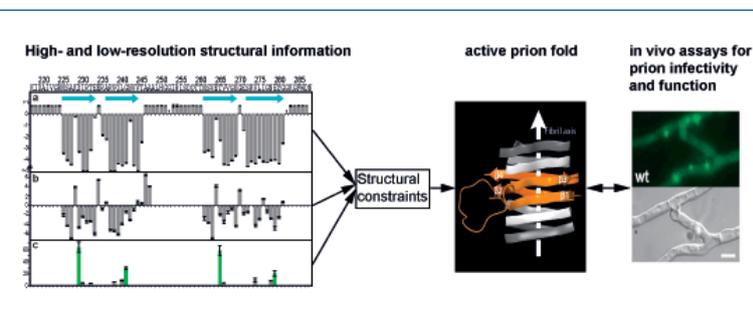
Amyloide sind geordnete Proteinfasern (sog. Fibrillen), die sowohl mit schweren Krankheiten – durch Proteinfehlfaltung ausgelöst – als auch mit nützlichen Zellfunktionen in Zusammenhang stehen. In den letzten Jahren wurden amyloidbildende Proteine in bakteriellen und Pilzpathogenen gefunden. Dort stellt die Amyloidkonformation die natürliche Form der jeweiligen Proteine dar, und ist die strukturelle Grundlage für unterschiedliche zelluläre Funktionen. Besonders interessant für die Infektionsforschung ist dabei die Bildung von Amyloid-“Hüllen” auf den Zelloberflächen von Bakterien und Pilzen. Sie können deren Überleben in unterschiedlichen Umgebungen erleichtern, sowie ihr Anhaften an inerten Oberflächen und Wechselwirkungen zwischen den Mikrobenzellen oder mit Wirtsproteinen vermitteln. Funktionelle Amyloide haben dieselben Strukturmerkmale wie Amyloide, die mit Krankheiten wie Alzheimer, Parkinson oder Prionenkrankheiten in Zusammenhang stehen. Sie sind jedoch nicht toxisch, und ihre Funktionen können direkt im Ausgangsorganismus untersucht werden. Sie sind daher vielversprechende, neue Systeme für die Untersuchung allgemeiner Aspekte der Amyloidbildung. Der Schwerpunkt unserer Forschung liegt dabei auf der Aufklärung der strukturellen und mechanistischen Grundlage dieser Funktionen für ausgewählte bakterielle und Pilzamyloide.

**Instrumente zur Bestimmung der Struktur von Amyloidfibrillen** Hochauflösende, strukturelle Informationen über natürlich vorkommende Amyloide sind sehr rar, da aufgrund der Größe und nichtkristallinen Struktur der Fibrillen etablierte Strukturanalysetechniken nur einge-

schränkt nutzbar sind. Daher haben wir eine neue, allgemein anwendbare Methode erarbeitet, bei der die Struktur der Amyloidfibrillen über Kernmagnetresonanzspektroskopie (NMR), Festkörper-NMR, weitere spektroskopische Techniken sowie mit Hilfe von Mutagenesestrategien ermittelt werden kann. Mit dieser Methode haben wir zuvor die infektiöse Topologie des Pilzprionproteins HET-s sowie die Struktur der Alzheimer-A-beta(1-42)Fibrillen bestimmt.

**Curli: eine Virulenz-verstärkende Amyloidhülle** Curli ist die wichtigste Proteinkomponente der extrazellulären Matrix, die *Enterobacteriaceae*, wie z.B. *E. coli* und *Salmonella typhimurium*, produzieren. Curli-Fibrillen sind an der Adhäsion an biotischen und abiotischen Oberflächen und an der Bildung von Biofilmen beteiligt. Ihre Interaktion mit spezifischen Wirtsproteinen ermöglicht das Eindringen der Bakterien in die Wirtszellen und führt zu Entzündungen und Sepsis. Die Biogenese von Curli ist auch mechanistisch interessant, da *in vivo* die Fibrillenbildung der Hauptkomponente von Curli, CsgA, erst durch das homologe Protein CsgB initiiert wird. Um die Funktionalitäten von CsgA und CsgB zu verstehen, analysieren wir die Strukturen, die Kinetik der Fibrillenbildung und die thermodynamische Stabilität der von beiden Proteinen gebildeten Fibrillen.

**HET-s: ein funktionelles Prion aus Fadenpilzen** Einige der heute bekannten Amyloide sind in der Lage, sich *in vivo* selbst zu replizieren, und stellen damit Prionen (infektiöse Proteine) dar. Um die molekularen Grundlagen für die Infektiosität von Amyloiden zu verstehen, untersuchen wir die biophysikalischen Eigenschaften des funktionellen Prionproteins HET-s aus dem Fadenpilz *Podospora anserina*, sowie die Eigenschaften eines homologen Proteins aus *Fusarium graminearum*. Der Zusammenhang zwischen Struktur und Funktion konnte für die HET-s Amyloidfibrillen bereits aufgeklärt werden. Aus unseren aktuellen Daten geht hervor, dass das funktionelle HET-s Prion eine robuste, durch die Evolution optimierte Struktur bildet. Das steht in deutlichem Gegensatz zu krankheitsbezogenen Amyloiden, bei denen oftmals Punktmutationen zu einer völlig anderen Fibrillenmorphologie führen.



Bestimmung der 3D-Topologie von HET-s(218-289) Fibrillen. Die Strukturinformationen wurden erhalten durch Bestimmung der Wasserstoffaustauschraten mit Lösungs-NMR (a), durch Analyse der sekundären chemischen Verschiebungen von C<sup>α</sup> und C<sup>β</sup> in Festkörper-NMR Experimenten (b), und durch Fluoreszenzmarkierungstudien an Cystein-Varianten (c)

Luhers,T., Ritter,C., Adrian,M., Riek-Loher,D., Bohrmann,B., Dobeli,H., Schubert,D. & Riek,R. (2005) 3D structure of Alzheimer's amyloid  $\beta$ (1-42) fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **102**(48), 17342-17347.

Ritter,C., Maddelein,M.L., Siemer,A.B., Luhers,T., Ernst,M., Meier,B.H., Saupe,S. & Riek,R. (2005) Correlation of structural elements and infectivity of the HET-s prion. *Nature* **435**, 844-848.

Siemer,A.B., Ritter,C., Ernst,M., Riek,R. & Meier,B.H. (2005) High-resolution solid-state NMR spectroscopy of the prion protein HET-s in its amyloid conformation. *Angewandte Chemie International* **44**, 2441-2444.



## Entzündung und Immunität

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Hansjörg Hauser | Bereich Molekulare Biotechnologie | hha@helmholtz-hzi.de

Zu den ersten Reaktionen des Immunsystems auf eine Infektion gehören die angeborene Verteidigungsaktivierung und die Entzündung. Diese Vorgänge wiederum sind Voraussetzung für die Einleitung der spezifischen, oftmals lang andauernden, adaptiven Immunantwort. Die Reaktionen werden von den befallenen Zellen selbst ausgelöst und dann durch eine Vielzahl von Leukozyten und Lymphozyten koordiniert. Dafür zuständige Mediatoren bestehen zum einen aus Komponenten mit geringem Molekulargewicht, wie z.B. aus Prostaglandinen oder kleinen Proteinen, wie Zytokinen, zum anderen aus Molekülen, die für die Interaktionen zwischen den Zellen zuständig sind. Letztlich sind Zellen des Immunsystems, wie T-Zellen und deren Mediatoren oder Antikörperproduzierende B-Zellen, für die Beseitigung der Pathogene zuständig. Somit befasst sich das Thema "Entzündung und Immunität" mit den Prozessen, die zu unmittelbaren Verteidigungsreaktionen und zu einem langfristigen Schutz führen. Dabei geht es auch um die negativen Auswirkungen solcher Reaktionen, wie den toxischen Schock und die Autoimmunität, und um einen noch nicht erforschten Einfluss auf die Onkogenese und die Tumorüberwachung.

In den "Pathogeninduzierten Wirtsreaktionen" wird das Verhältnis von Struktur und Aktivität bei Pathogenrezeptoren und die Rolle der *Lipid Rafts* als Eintritts- oder Austrittsstelle für Pathogene untersucht. Die Analyse von TLR2,6 und NALP3 mit Röntgenkristallographie dient dem Verständnis der Interaktion zwischen Ligand und Rezeptor. Die untersuchten biologischen Folgevorgänge umfassen die durch Pathogene, PAMPs oder bei Entzündungsreaktionen ausgelöste intrazelluläre Signalisierung.

Einen Schwerpunkt im Rahmen dieses Themas bildet die Erforschung der Induktion und Signalisierung durch Interferone vom Typ I. Dabei stellte sich heraus, dass Online-Reporter, die die Überwachung der IFN- $\beta$ -Induktion, d.h. der Induktion von IFN-stimulierten Genen, ermöglichen, und ein Reporter, der den in Mauszellen eingeführten positiven Rückkopplungskreis der IFN-Sekretion überwacht, die Hauptinstrumente zur Entdeckung neuer Merkmale des Systems sind. IFNs werden nicht nur von Viren induziert, sondern auch in geringerem Maße durch Bakterien und PAMPs, wie TLR2 und 4. Weiterhin wurde festgestellt, dass IFN- $\beta$  in nicht infizierten Mäusen in geringen Mengen produziert wird. Mäuse, bei denen diese konstitutive IFN-Produktion fehlt, sind bei der T-Zellen-Stimulation ineffizient und weisen höhere Angiogeneseraten in Tumoren auf. Diese neuen Methoden ermöglichen auch die Untersuchung der Lokalisierung und Dynamik von Vorgängen während der Virus- und Biofilm-induzierten IFN-Produktion. Ein Schwerpunkt der derzeitigen Untersuchungen ist die Erstellung eines zeitauflösenden Modells des IFN-Netzwerkes. Das wird mit Hilfe von systembiologischen Methoden erreicht und beinhaltet die Implementierung relevanter mathematischer und bioinformatischer Verfahren zur Modellierung der regulatorischen Netzwerke. Inhalt der ersten Aktivitäten ist die Untersuchung der Interferonregulierung in T-Zellen.

Eine unserer Arbeitshypothesen sagt aus, dass die Signalisierungsmediatoren und -mechanismen bei einer Entzündung als Zielstruktur für die Vorbeugung und Therapie von Entzündungs- und Infektionskrankheiten verwendet werden können. Daher werden Signaltransduktionswege, die für die Infektion und Entzündung relevant sind, wie z.B. TNF- $\alpha$ , IL-1- und Toll-ähnliche Rezeptoren, in Zellkulturen und Tiermodellssystemen untersucht. Wir haben die Funktion des zentralen Mediators für Entzündungssignale TAK1 am inflammatorischen Mausmodell für die rheumatoide Arthritis bewertet und konnten zeigen, dass die systemische TAK1-Targeting-Strategie mit Hilfe der RNAi-Technologie eine nützliche Funktion zur Linderung von rheumatoiden Arthritis-symptomen ist.

Es wurde auch eine erfolgreiche, Intrabody-vermittelte Strategie zur Beeinflussung von Toll-ähnlichen rezeptorvermittelten Signalwegen für die Behandlung von Entzündungskrankheiten anhand eines Mausmodells demonstriert.

Es bestehen drei Projekte, die sich mit den Wechselbeziehungen von Infektion, Onkogenese und Tumorüberwachung befassen.

- 1) Bakterien, die Mäusen mit einem Tumor injiziert werden, sammeln sich speziell im Tumor an und lassen den Tumor teilweise schrumpfen. Der Abbau von Granulozyten, die von der Bakterieninvasion angezogen werden, könnte dies verstärken. Bei vollständiger Tumorrückbildung wurde eine Antitumor-Immunreaktion detektiert.
- 2) Die Seneszenzüberwachung wird in einem Mausmodell für chronische Hepatitis untersucht. Erste Ergebnisse zeigen, dass das zelluläre Seneszenzprogramm das Tumorstadium gemeinsam mit dem angeborenen Immunsystem begrenzt. In Folgestudien wird der Mechanismus, durch den alternde Zellen und genetische Läsionen erkannt und zerstört werden, untersucht. Dabei wird auch die Bedeutung der "Seneszenzüberwachung" für die Suppression der Hepatokarzinogenese untersucht.
- 3) Infektionen und Entzündungen führen zur Stimulierung der IRF-1-Aktivität. Dieser Transkriptionsfaktor induziert in Tumoren eine ungewöhnlich schnelle Immunreaktion und die Eliminierung des Tumors. Diese Reaktion schützt die Mäuse vor der Genese durch dieselben Tumore und unterbindet die Metastasierung.

Die Funktion der T-Zellen und Mesenchymzellen bei der Infektion und Autoimmunität ist Teil der Untersuchungen zur Erforschung der "immunregulatorischen Netzwerke". Eine Zielstellung ist die Analyse der Basismechanismen, die der Induktion und Regulierung der Schleimhaut-T-Zellenreaktionen in Verbindung mit Autoimmunerkrankungen zugrunde liegen. Es wurde mit Untersuchungen zur Erforschung der Aufrechterhaltung bzw. des Zusammenbruchs der peripheren T-Zellen-Toleranz während einer bakteriellen oder viralen Infektion begonnen. Die Aufklärung der Funktion der T-regulatorischen Zellen, von denen die Entscheidungen hinsichtlich Toleranz, Anergie, Autoimmunität oder Verteidigung abhängen, ist Teil dieser Untersuchung.

Zu den Verfahren der Systembiologie gehören die Entwicklung und Implementierung von mathematischen und bioinformatischen Methoden, die für die Modellierung regulatorischer Netzwerke relevant sind. Im vergangenen Jahr wurden mehrere Stipendienanträge für dieses neue Gebiet bewilligt. Damit beginnt der Aufbau eines Netzwerkes zwischen der Helmholtz-Gesellschaft und dem nahe gelegenen FORSYS Zentrum in Magdeburg und der Europäischen Gemeinschaft. Ziel ist die Anwendung auf die Untersuchung der Interferonregulierung und der Treg-Zellbiologie sowie die Erforschung der *Pseudomonas aeruginosa* und *putida* in Verbindung mit Umwelt und Wirt. Diese Untersuchungen sollen letztlich dazu verwendet werden, mathematische Beschreibungen, Modellierungen und Simulationen der wichtigsten Vorgänge zu entwickeln, die an der Infektion und der Immunreaktion beteiligt sind – mit dem Ziel neue Behandlungsstrategien zu entwickeln.



## 03.1 Strukturanalyse des angeborenen Immunsystems

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Wolf-Dieter Schubert | Arbeitsgruppe Molekulare Wirt-Pathogen Interaktionen | wds@helmholtz-hzi.de | jetzt: Dept. Biotechnology, Univ. Western Cape, RSA

PROJEKTMITARBEITER | Lilia Polle | Nils Kuklike | Edukondalu Mullapudie | Uwe Wengler

In der Arbeitsgruppe „Molekulare Wirt-Pathogen Interaktionen“ (MHPI) des Bereiches Strukturbiologie (SB) konzentrieren wir uns auf die molekularen Aspekte der Verteidigungsstrategien des angeborenen Immunsystems, sowie auf die molekularen Strategien pathogener Organismen, den Menschen zu infizieren.

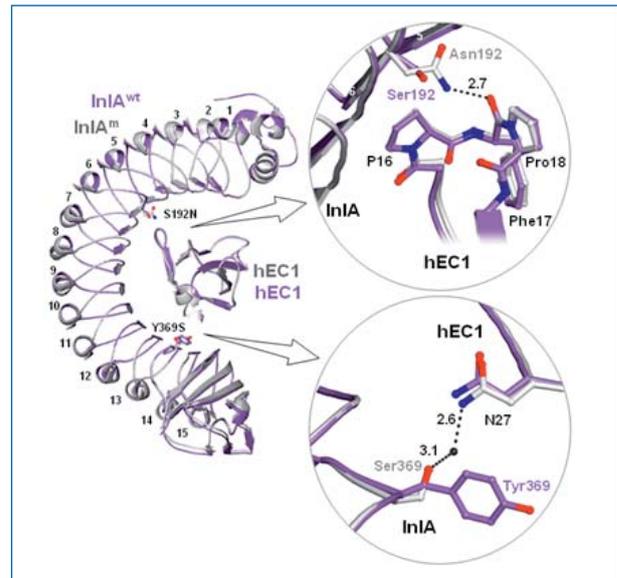
**Ein neues Mausmodell zur Untersuchung der menschlichen Listeriose** Das Bakterium *Listeria monocytogenes* wird durch kontaminierte Nahrungsmittel übertragen. Es infiziert den Menschen, indem es die menschliche Darmbarriere überwindet. Wie und auf welchem Weg es dies erreicht, blieb lange Zeit unklar, da Infektionen im Menschen zumeist erst erkannt und diagnostiziert werden, wenn bereits der gesamte Körper betroffen ist. Zudem fehlte ein geeignetes Tiermodell, um die Infektion im Menschen zu simulieren.

Vor einiger Zeit haben wir das Invasionsprotein Internalin A (InIA) des Bakteriums *L. monocytogenes* strukturell untersucht. Dieses Protein ist allein für die listerielle Invasion der menschlichen Darmschleimhaut verantwortlich. Unsere Raumstruktur dieses Faktors sowie dessen Komplex mit seinem humanen Rezeptor E-Cadherin zeigten unter anderem, dass der Aminosäurerest Prolin16 des humanen E-Cadherins für die gegenseitige Erkennung ausschlaggebend ist. In murinem E-Cadherin ist dieser Rest durch ein Glutamat ersetzt, eine größere und zudem negativ geladene Aminosäure gegenüber dem kleineren und wasserabweisenden Prolin. Der Austausch verhindert die Erkennung des murinen E-Cadherins durch InIA und unterbindet folglich den ersten Schritt der listeriellen Infektion in der Maus.

Die detaillierte Analyse des InIA/E-Cadherin-Komplexes ergab, dass nicht alle Aminosäuren von InIA optimal mit dem E-Cadherin wechselwirken. Wir ersetzten folglich ausgewählte Aminosäuren mit geeigneteren Resten und untersuchten den Einfluss auf die gegenseitige Bindungsaffinität der beteiligten Proteine. Für alle vorgeschlagenen Punktmutationen konnten wir eine erhöhte Affinität für E-Cadherin feststellen. Durch die Kombination zweier Punktmutationen (S192N/Y369S) konnten wir die Affinität sogar auf das 5000-fache des Wildtypproteins erhöhen.

Interessanterweise ist dieses veränderte InIA in der Lage, murines E-Cadherin zu erkennen und zu binden. Die zusätzlichen Kontaktstellen kompensieren demnach die ungünstige Wechselwirkung des murinen Glutamats16. Durch Integration der Punktmutationen in das Genom von *L. monocytogenes* konnten wir einen Stamm etablieren, der der Theorie nach die ersten Schritte der humanen Listeriose in der Maus simulieren sollte.

Entsprechende Infektionsstudien zeigen, dass der neue *L. monocytogenes* Stamm nach oraler Verabreichung Liste-



Veränderungen am Internalin A (InIA) können seine Affinität zum humanen als auch murinen E-Cadherin (hEC1) steigern.

riose-ähnliche Symptome in der Maus auslöst. Außerdem konnten wir erstmals den Infektionsweg der Listerien im Menschen aufzeigen: zunächst infiziert *L. monocytogenes* die Darmzotten spitzen, bevor tiefere Gewebeschichten befallen werden. Erst mit einer Verzögerung von zwei Tagen werden Lymphknoten, Milz und Leber massiv befallen, so dass es zur systemischen Ausbreitung der Bakterien kommt.

Durch unsere Untersuchungen auf der Ebene einzelner Atome und die detaillierte Analyse der InIA/E-Cadherin Protein-Protein-Interaktion sind wir also in der Lage gewesen, das listerielle Invasionsprotein InIA molekular zu verändern, diese Änderung genetisch auf das Bakterium *L. monocytogenes* zu übertragen und folglich die Infektivität für das murine System zu etablieren. Uns ist es auf diese Weise gelungen, ein Kleintierinfektionsmodell zu etablieren und die frühen Stadien der Darminfektion zu untersuchen. Unser Modell wird derzeit genutzt, um unser Verständnis über die Invasionsmechanismen dieses Keims und die Reaktion des humanen Immunsystems zu vertiefen.

Bublitz, M., Polle, L., Holland, C., Heinz, D.W., Nimtz, M. & Schubert, W.-D. (2009) Structural basis for autoinhibition and activation of Auto, a virulence-associated peptidoglycan hydrolase of *L. monocytogenes*. *Molecular Microbiology* 71, 1509–1522.

Wollert, T., Pasche, B., Rochon, M., Deppenmeier, S., van den Heuvel, J., Gruber, A.D., Heinz, D.W., Lengeling, A. & Schubert, W.-D. (2007) Extending the host range of *Listeria monocytogenes* by rational protein design. *Cell* 129, 891–902.

Schubert, W.-D., Urbanke, C., Ziehm, T., Beier, V., Machner, M.P., Domann, E., Wehland, J., Chakraborty, T. & Heinz, D.W. (2002) Structure of internalin, a major invasion protein of *Listeria monocytogenes*, in complex with its human receptor E-cadherin. *Cell* 111, 825–836.



## 03.2 IFN-abhängige Wirtsreaktionen auf die Infektion unter Verwendung von transgenen Reporter- Mausmodellen

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Gerhard Gross | Abteilung für Genregulation und Differenzierung | ggr@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Thomas Böldicke | Priv.-Doz. Dr. Andrea Hoffmann | Lucas Kemper | Dr. Katjana Klages | Dr. Mario Köster | Dr. Andrea Kröger | Antje Ksienzyk | Sandra Laggies | Berit Neumann | Dr. Julia Pulverer | Ulfert Rand | Dr. Virginia Seiffart | Dr. Sandra Shahab-Osterloh

Das angeborene Immunsystem ist die erste Verteidigungslinie gegen virale, bakterielle und Pilzinfektionen. Nach der Infektion initiieren spezifische Rezeptoren ein intrazelluläres Signalnetzwerk, das zur Produktion des Typ I Interferons (IFN) und der entzündungsfördernden Zytokine führt, die die angeborene antivirale Immunreaktion vermitteln. Bei der Bindung des Typ I IFN vermittelt der aktivierte Rezeptorkomplex die Tyrosinphosphorylierung der Signalisierungsmoleküle STAT1 und STAT2, was zur Dimerbildung und nachfolgender Ansammlung im Nukleus führt. IFN kann durch angeborene oder adaptative Immunreaktionen direkt oder indirekt auf Zellen einwirken.

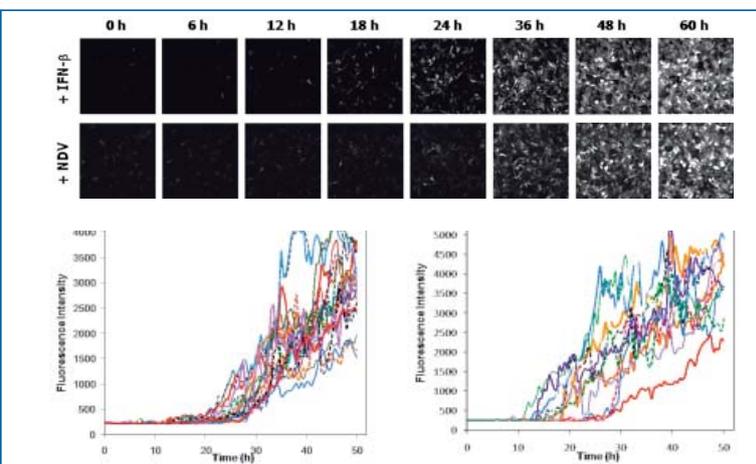
Zur Analyse der IFN-Signalisierungsnetzwerke in Einzelzellen haben wir Hauptmarker, die die nacheinander ablaufenden Schritte der IFN-Induktion und -Reaktion repräsentieren, mit Reportergenen kombiniert. Wir haben *Bacterial Artificial Chromosomes* (BAC) verwendet und die Kodierungsabschnitte von verschiedenen Genen durch Gen-encodierende fluoreszente oder biolumineszente Reporter ersetzt. So wurden BAC-Konstrukte erzeugt, in denen der gesamte Folgeabschnitt des Gens intakt bleibt. Mit dieser Technologie haben wir Reportersysteme zur Online-Überwachung der Signaltransduktion und Geninduktion der Reaktion des Typ I IFN erarbeitet. Durch die Untersuchung dieser Zellen mit der zeitaufauflösenden Fluoreszenzmikroskopie haben wir quantitative Informationen über die Kinetik der IFN-Aktivität in Einzelzellen (s. Abb.) gewonnen. Weiterhin wird

sie zur Klassifizierung verschiedener Phasen des Infektionsprozesses und zur Unterscheidung zwischen autokrinen und parakrinen Aktivitäten des IFN verwendet.

Um die Aktivität des IFN *in vivo* zu bestimmen, haben wir ein transgenes BAC-Mausmodell erstellt, das Interferon-induzierte Mx2 Gen-Loci und Luziferase als Markergene enthält. Mit einem biolumineszenten Bildgebungssystem wurde eine makroskopische Analyse der Interferonaktivität im gesamten Organismus durchgeführt, wobei die *in-vivo*-Kinetik der IFN-abhängigen Induktion der Luziferase-Expression in der lebenden Maus visualisiert wurde. Durch unsere Arbeit können weiterführende Fragen der räumlich-zeitlichen Dynamik der Interferonreaktion und der Ermittlung der zellulären Zielstrukturen dieser Reaktionen innerhalb des gesamten Organismus bei einer viralen Infektion beantwortet werden.

Zudem wurden neuartige Reporter-Zelllinien für die Interferone vom Typ I und Typ II erstellt. Diese Zellen werden jetzt für eine exakte Quantifizierung der Typ I Interferone und Hochdurchsatzscreenings von Bibliotheken verwendet, um neue Agonisten, Verstärkersubstanzen und Antagonisten des Interferonsystems zu ermitteln. Bei einem ersten Screening der Familie der Vioprolide wurde festgestellt, dass sie mit der Zellreaktion auf das Typ I IFN interferieren. Gemessen wurde dies durch Mx2-gesteuerte Luziferase-Geninduktion.

Das IFN-Netzwerk ist ein leistungsfähiges, angeborenes Verteidigungssystem, das wirksam die Virusinfektion in Säugetierzellen kontrolliert. Die Integration des Einzelprozesses, der das Gesamtnetzwerk beeinflusst, wurde jedoch noch nicht erreicht. Die Feinabstimmung der IFN-Induktion und -Reaktion ist ein Ergebnis verschiedener Rückkopplungskreise. Die induzierten Produkte sind verantwortlich für neue Phentypen und beeinflussen die nächste Ebene der IFN-Signalisierung. Die parakrine Kopplung zwischen den Zellen ist ein wesentlicher, zur Bildung räumlicher Muster führender Aspekt. Ziel unseres Verfahrens ist es, die räumlich-zeitliche Dynamik des Typ I IFN unter Verwendung genetischer Techniken zu analysieren, die eine genaue Lebendzellbild Darstellung der IFN-Signalisierung *in vitro* und *in vivo* und eine quantitative Bildanalyse ermöglichen. Damit wird ein mathematisches Modell der zugrunde liegenden Reaktions-Diffusions-Prozesse möglich.



NIH3T3-Zellen, die den rekombinanten BAC Mx2-tdTomato enthalten, wurden mit IFN $\beta$  stimuliert bzw. mit dem Newcastle Disease Virus infiziert. Anschließend wurde die Expression des Reportergens tdTomato mittels Time-Lapse-Mikroskopie über einen Zeitraum von 60 Stunden aufgenommen. In Einzelzellen wurde die tdTomato-Fluoreszenzintensität quantifiziert und grafisch gegen die Zeit aufgetragen.

Bochtler, P., Kröger, A., Schirmbeck, R. & Reimann, J. (2008) Type I IFN-induced, NKT cell-mediated negative control of CD8 T cell priming by dendritic cells. *Journal of Immunology* 181(3), 1633-1643.

Winkel, A., Stricker, S., Tylzanowski, P., Mundlos, S., Gross, G. & Hoffmann, A. (2008) Wnt-dependent interaction of Ror2 with TAK1 Modulates Canonical Wnt-signalling. *Cellular Signalling* 20(11), 2134-2144.

Ramsauer, K., Farlik, M., Zuplvoitz, G., Seiser, C., Kröger, A., Hauser, H. & Decker, T. (2007) Distinct modes of action applied by transcription factors STAT1 and IRF1 to initiate transcription of IFN-gamma-inducible gbp2 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104, 2849-2854



### 03.3 Epigenetische Prinzipien der Genregulation

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jürgen Bode | Arbeitsgruppe Epigenetische Regulationsmechanismen | juergen.bode@mh-hannover.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Manfred Wirth | Dr. André Oumard | Sandra Broll | Dr. Junhua Qiao | Sören Turan | Stefanie Binus | Lijing Sun | Dr. Melita Vidakovic | Dr. Angela Gluch

Unsere Arbeiten beinhalten die funktionale Organisation und die differentielle Regulation genomischer Loci mit Einfluss auf Wirt-Pathogen-Interaktionen und Entzündungsprozesse. Es handelt sich vornehmlich um die Gencluster der Typ I-Interferone in Mensch und Maus sowie um das Poly(ADP-ribose)polymerase (PARP-1)-Gen.

Diese Studien haben das humane IFN- $\alpha$ 2-Gen als zweites ‚immediate-early‘ Interferongen neben huIFN- $\beta$  ausgewiesen – basierend auf den analogen Signaturen von huIFN- $\beta$  und huIFN $\alpha$ 2 im SIDD-Profil. Die dort identifizierten ‚base-unpairing elements‘ (UEs) beinhalten ein funktionelles YY1/YY2 Konsensusmotiv, dessen biologische Wirkung sich nur in dieser Kombination entfaltet. Weiterhin haben alle IFN- $\alpha$  Gene am 3‘ Ende eine destabilisierte Transkriptions-Terminationsstelle, Teil einer eigenständigen Chromatindomäne mit konstitutiven ‚scaffold/matrix attachment regions‘ (S/MARs).

PARP-1 ist als Reparaturenzym für ss- und dsDNA Strangbrüche bekannt. Kürzlich wurden zudem Kontrollfunktionen der Chromatinstruktur und von Transkriptionsprozessen entdeckt. PARP-1-Inhibitoren wirken entzündlichen Prozessen entgegen und beeinflussen Regelkreise, denen wir nachgegangen sind: innerhalb eines ‚autoregulatory circuit‘ bindet PARP an ein Konsensusmotiv sowie an ein Promoter-nahes S/MAR-Element, wodurch es seine eigene Expression limitiert.

Die strukturelle Bedeutung von S/MARs erstreckt sich auch auf Enhancer- und Replikationsfunktionen, die zur Chromatin-Öffnung und -Aktivität beitragen. Auf der Grundlage des S/MAR-Elementes am 5‘Terminus der huIFN- $\beta$ -Domäne konnte ein neuartiges Vektorsystem entwickelt werden: selbst-replizierende, nicht-virale ‚Minicircles‘ (MCs). Die Größenreduktion des Ausgangsvektors, eines ‚Parentalplasmids‘, von 5,4 auf 3,3 kb steigerte nicht nur die Stabilität, sondern auch die Klonierungskapazität des resultierenden Episoms (>10kb). Verschiedene MCs ließen sich ‚Seite an Seite‘ etablieren und ermöglichen die regulierbare Expression von Antikörpern und anderer Proteine aus mehreren Untereinheiten.

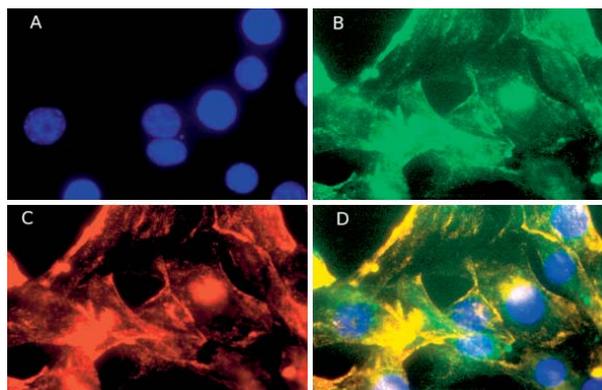
Damit, vor allem aber weil MCs dem System durch Herabregulierung der Transkriptionsleistung wieder entzogen werden können, ließen sich neue Werkzeuge für die Gentherapie, Biomedizin, zur Herstellung transgener Tiere und für die Grundlagenforschung schaffen. Unsere Arbeiten ermöglichten die Beteiligung am Exzellenzcluster „REBIRTH“ und am SFB738 „Optimierung konventioneller und innovativer Transplantate“ - gemeinsam mit Gruppen an der MHH.

Seit 1994 entwickeln wir Tests zur Ermittlung der biologischen Aktivitäten genomischer Isolatoren (‚insulators‘), darunter S/MARs. Ein neuartiger Ansatz betrifft ein ‚recombinase-mediated cassette exchange‘ (RMCE-) Verfahren. RMCE erlaubt die gezielte Integration beliebiger Expressionskassetten an definierten genomischen Orten. Junhua Qiao hat kürzlich eine neue Variante entwickelt, mit der der Kassettenaustausch mit 80%iger Ausbeute gelingt. Kombiniert mit

S/MARs lässt sich die Expressionsleistung der Integrate um eine Größenordnung steigern. Diese einzigartige Technik wird nicht von willkürlichen Integrationsereignissen begleitet und erfordert weder die gleichzeitige Einführung eines Selektionsgens, noch von Plasmidanteilen. Dadurch wird Abwehrreaktionen der Wirtszelle vorgebeugt.

Sören Turan hat sieben neue, vollständig funktionale FRT-Varianten entwickelt, die Wege zu RMCE-, ‚Multiplexing‘-Protokollen eröffnen: die Methode ermöglicht das parallele Anlegen unterschiedlicher genomischer ‚Adressen‘, die je einen ‚targeting‘-Vektor aufnehmen können. Multiplexing-RMCE ist zu einem weiteren Beitrag für das REBIRTH Programm gereift und ermöglicht die gezielte Anlage von Zelllinien, die Modifikation von Stammzellen (ES und iPS) und die rationale Erzeugung transgener Tiere.

Aspekte lentiviraler Resistenz und der Infektiosität von gamma-Retroviren und Lentiviren bearbeiten wir kontinuierlich weiter. Neue Studien behandeln die retrovirale Integration, den Proteintransport und den Aufbau der Virushülle, um Zielstrukturen zu ermitteln, die zu verbesserten therapeutischen Ansätzen und Impfstoffen führen können. Vielversprechend: das Protein Caveolin, das am Transport und der Positionierung des retroviralen Gag-Proteins (MLV) beteiligt ist. Zudem spielt Caveolin eine Rolle bei Prozessen, die zur Resistenz des HIV-Homologen SIV führen, sowie in der späten Phase der Replikation des Influenza-Virus.



*Cav1 Positionierung an neu synthetisiertem MLV Gag Protein. Kolokalisierung (D; gelb in der Bedeckung von A-C) von MLV-Gag (B; grün) und Caveolin-1 (C; rot) in NIH3T3 Zellen, an Lipid Rafts (Lipidflöße) der Plasmamembran. Foto: HZI*

Linnemann,A.K, Platts,A.E., Doggett,N., Gluch,A., Bode,J. & Krawetz,S.A. (2007) Genome-wide identification of nuclear matrix attachment regions: an analysis of methods. *Biochemical Society Transactions* 35, 612-617.

Gluch,A., Vidakovic,M. & Bode,J. (2008) Scaffold/matrix Attachment Regions (S/MARs): Relevance for Disease and Therapy, Protein-Protein Interactions as New Drug Targets In: Handbook of Experimental Pharmacology 186 (Klussmann E., Scott JD eds) Springer Verlag, pp 67-103

Marella,N.R.V., Zeitz,M.J., Malyavantham,K.S., Pliss,A., Matsui,S., Goetze,S., Bode,J., Raska,I. & Berezney,R. (2008) Organization of the Type I IFN Gene Cluster in the Human Osteosarcoma Cell Line MG63. *Chromosome Research* 16, 1177-1192



## 03.4 Zelluläre Modelle für die Infektion

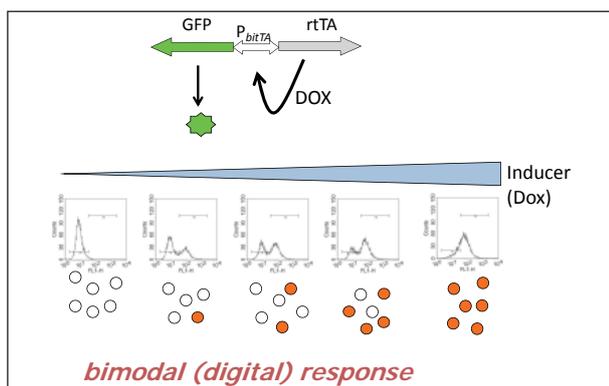
**PROJEKTLEITER** | Dr. Dagmar Wirth | Arbeitsgruppe Modellsysteme für Infektion und Immunität | [dkl@helmholtz-hzi.de](mailto:dkl@helmholtz-hzi.de)

**PROJEKTMITARBEITER** | Dr. Tobias May | Prof. Dr. Peter Paul Müller | Dr. Kristina Nehlsen | Dr. Pamela Riemer | Dr. Roland Schucht | Dr. Upneet Sandhu | Dr. Herbert A. Weich | Nadine Sündermann | Leonor Norton | Lacramioara Botezatu | Milada Butueva | Stephanie Sievers

Zur Lösung komplexer Aufgabenstellungen im Bereich Infektion und Immunität sind häufig komplexe Modellsysteme mit regulierbaren Eigenschaften erforderlich. Wir entwickeln solche Modelle durch Kombination verschiedener zuvor entwickelter Strategien, die eine vorhersagbare genetische Modifizierung von Zellen und Mäusen sowie eine streng kontrollierte Expression von Transgenen erlauben.

**Stochastische Expression mit Hilfe von autoregulierten Feedback-Modulen** Um zelluläre Genregulierungsmuster nachzuahmen, haben wir synthetische Module entwickelt, die eine Kontrolle der transgenen Expression durch Induktoren wie z.B. Doxycyclin (Dox), ermöglichen. Es wurden Module zur graduellen und stochastischen Expression entwickelt. Die stochastische Expression wurde durch Anwendung eines neuen, autoregulierten positiven Feedback-Moduls realisiert, das durch Dox kontrolliert wird. Wir konnten zeigen, dass die Dox-Konzentration im Medium die Wahrscheinlichkeit der Expression des Transgens in einer Population von genetisch identischen Zellen bestimmt, nicht aber die Höhe der Expression. Diese Module wurden erfolgreich mit Hilfe stochastischer Werkzeuge mathematisch beschrieben.

**Kontrollierte Zellexpansion** Die Immortalisierung von Zellen erlaubt die unbegrenzte Expansion von homogenen



Stochastische Expression von synthetischen Expressionskassetten: Mittels eines Dox-abhängigen synthetischen Moduls wurde eine autoregulierte positive Feedback-Schaltung aufgebaut. Dieses Modul wurde in das Genom von NIH3T3 Zellen integriert. Bei steigender Konzentration des Induktors Dox schalten die Zellen die GFP Expression stochastisch an, was mittels Durchflusszytometrie auf Zellebene visualisiert werden kann. Damit führt dieses autoregulierte positive Feedback-Modul zu einem bimodalen Expressionsphänotyp.

Zellpopulationen. Immortalisierte Zelllinien spiegeln jedoch die Eigenschaften ihrer primären Ausgangszellen nur teilweise wider, was u.a. auf die permanente Expression der immortalisierenden Gene zurückgeführt wird. Wir haben autoregulierte Expressionsmodule zur kontrollierten Expression von immortalisierenden Genen verwendet. Die Expansion von verschiedenen Zelltypen aus Maus und Mensch wurde nach lentiviraler Transduktion von Expressionsmodulen erreicht, die die kontrollierte Expression von immortalisierenden Genen erlauben. Dabei findet die Vermehrung dieser konditional immortalisierten Zellen ausschließlich in Anwesenheit von Dox statt, während die Zellproliferation in Abwesenheit von Dox komplett zum Stillstand kommt. Fibroblasten, Endothelzellen und Gingivazellen wurden mit Hilfe dieser Methode erfolgreich expandiert. Hervorzuheben ist, dass hierbei die spezifischen Eigenschaften des entsprechenden Gewebes erhalten blieben. Für die expandierten Endothelialzellen konnten verschiedene Eigenschaften *in vitro* bestätigt werden, so z.B. die Expression von CD31 und CD34-Oberflächenmarkern, die Fähigkeit, acetyliertes LDL aufzunehmen und die Ausbildung Gefäß-ähnlicher Strukturen *in vitro*. Derzeit werden die *ex vivo* expandierten Zellen hinsichtlich der Gefäßneubildung *in vivo* untersucht.

**Modelle für die akute und chronische Entzündung** Basierend auf den o.g. Techniken werden Mausmodelle für akute und chronische Entzündungen entwickelt. Dabei wird die Bildung von Blut- und Lymphgefäßen untersucht. Zudem werden Lymphozyten, die Signalmoleküle zur Gefäßneubildung freisetzen, und deren Interaktion mit den Endothelzellen analysiert.

**Interaktion kontrolliert expandierter Zellen mit mikrobiellen Biofilmen** Wir haben mit Dox kontrolliert expandierte Zellen eingesetzt, um Interaktionen mit oralen mikrobiellen Biofilmen zu erforschen. Die Genexpressionsanalyse zeigte nur geringe Auswirkungen des mikrobiellen Biofilms auf die Genexpressionsmuster. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass orale mikrobielle Biofilme *in vitro* eine begrenzt entzündungsfördernde Wirkung haben.

May, T., Eccleston, L., Herrmann, S., Hauser, H. J., Goncalves, J., & Wirth, D. (2008) Bimodal and hysteretic expression in mammalian cells from a synthetic gene circuit. *PLoS ONE* 3, e2372

Wirth, D., Norton, L., Riemer, P., Sandhu, U., Schucht, R., & Hauser, H. (2007) Road to precision: recombinase based targeting technologies for genome engineering. *Current Opinion in Biotechnology* 18, 411-419.

May, T., Hauser, H., & Wirth, D. (2007) In vitro expansion of tissue cells by conditional proliferation. *Methods in Molecular Biology* 140, 1-15.

Norgall, S., Papoussi, M., Roessler, J., Schweigerer, L., Wilting, J., & Weich, H. A. (2007) Elevated expression of VEGFR-3 in lymphatic endothelial cells from lymphangiomas. *BMC Cancer* 7, 105.



## 03.5 Mukosale Immunität und Entzündung

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Dunja Bruder | Arbeitsgruppe Immunregulation | dbr@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Marcus Gereke | Milena Tosiek | Julia Schiller | Andreas Jeron | Sabine Stegemann

Die Arbeitsgruppe Immunregulation beschäftigt sich mit den Mechanismen der Induktion und Regulation T-Zell-vermittelter Autoimmunität. Wir haben transgene Mausmodelle für akute und chronische Erkrankung der Lunge, für Kolitis und Typ 1 Diabetes etabliert, mit denen wir diese Krankheitsbilder immunologisch charakterisieren können. Wir wollen die komplexen zellulären und molekularen Vorgänge bei Autoimmunerkrankungen besser verstehen und Ansätze zur therapeutischen Modulation des Immunsystems zu entwickeln. Ein weiterer Aspekt ist der Einfluss von Infektionen auf den Verlauf von Autoimmunerkrankungen.

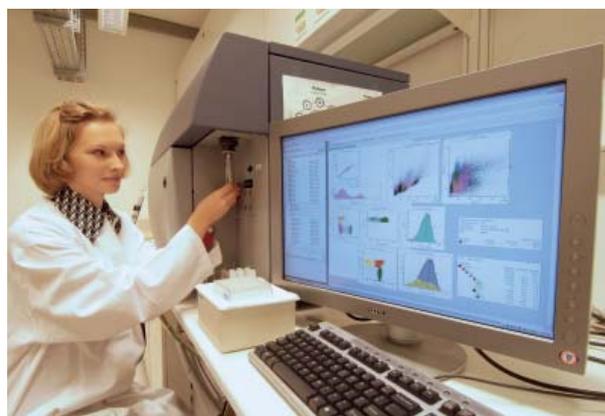
Zur Untersuchung CD4<sup>+</sup> T-Zell-vermittelter Reaktivität gegen Selbstantigene in der Lunge haben wir ein transgenes Mausmodell generiert. Es basiert auf der Expression des Influenza Hämagglutinins in alveolaren Typ II Epithelzellen (AECII) der Lunge. Erkennen HA-spezifische CD4<sup>+</sup> T-Zellen in der Lunge das Antigen, führt das zu einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung. In ihrem Verlauf greifen Toleranzmechanismen, die eine unkontrollierte Zerstörung des Lungengewebes verhindern. Die chronische Antigenstimulation in der Lungenschleimhaut führt zur Induktion Foxp3<sup>+</sup> regulatorischer T-Zellen (Treg). Später hat sich ergeben, dass die Antigen exprimierenden AECII Zellen direkt sowohl an der Induktion, als auch der Regulation autoreaktiver CD4<sup>+</sup> T-Zellantworten in der Lunge beteiligt sind. AECII Zellen sekretieren Faktoren, die nicht nur die Proliferation von CD4<sup>+</sup> T-Zellen inhibieren, sondern auch in einem z.T. TGF- $\beta$ -abhängigen Mechanismus die Differenzierung naiver CD4<sup>+</sup> T-Zellen in Foxp3<sup>+</sup> Treg unterstützen. AECII Zellen sind aufgrund ihres starken Einflusses auf die Funktion von T-Zellen ein Bindeglied zwischen angeborener und erworbener Immunität bei Erkrankung der Lunge (Marcus Gereke).

In einem ähnlichen Mausmodell für Autoimmunität in der Lunge ignorieren die selbstreaktiven CD8<sup>+</sup> T-Zellen das HA-Antigen in der Lungenschleimhaut zunächst. Diese Toleranz wird durchbrochen, wenn die Mäuse mit Influenza A infiziert werden, eine bakterielle Infektion durch LPS Applikation simuliert wird, CD4<sup>+</sup> T-Zellhilfe gegeben wird oder die Foxp3<sup>+</sup> Treg aus der Maus entfernt werden. Dabei kommt es zu einer massiven CD8<sup>+</sup> T-Zell-Aktivierung und Immunpathologie in der Lunge. Dies zeigt, wann Selbsttoleranz bei einer Veranlagung zu Autoimmunität verloren gehen kann und Autoimmunerkrankungen initiiert werden können.

Vergleiche von Mäusen mit und ohne chronische Lungenerkrankungen zeigten, dass Influenzainfektionen in kranken Mäusen anders verlaufen als in gesunden. Dies ist besonders interessant, da Atemweginfektionen bei Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen wie COPD und Asthma deren

Gesundheitszustand verschlechtern. Infektionen beeinflussen wesentlich die periphere Toleranz in der Lunge. Zudem dominiert das Zulassen einer effektiven adaptiven Immunantwort über dem Schutz vor Autoimmunität.

Ein weiterer Themenschwerpunkt: chronische Infektion und Treg. Dazu haben wir aus chronisch mit *Bordetella bronchiseptica* und *Helicobacter hepaticus* infizierten Mäusen Treg isoliert und die Genexpression analysiert. Die Datenanalyse, deren Ziel die Identifizierung Pathogen-spezifischer Treg-Marker ist, läuft derzeit. Diese Marker würden den gezielten Eingriff in die T-Zellantwort bei persistierenden Infektionen erlauben. Pathogen-spezifische Tregs könnten entfernt / blockiert werden und würden eine effiziente Erregerabwehr wieder zulassen (Andreas Jeron). Ein weiteres Projekt ist die Entwicklung einer therapeutischen Vakzinierung gegen Hepatitis C Virus (HCV). HCV Infektionen verlaufen häufig chronisch und stellen die Hauptursache für das Leberzellkarzinom dar. Wir etablieren derzeit gemeinsam mit Thomas Pietschmann, Twincore, eine therapeutische Vakzinierung gegen HCV, die auf dem *in vivo*-Targeting von HCV Antigenen zu Dendritischen Zellen beruht (Julia Schiller).



Dr. Milena Tosiek untersucht Immunzellen mittels eines Durchflusszytometers FACSCanto Foto: HZI, Bierstedt

Gereke,M., Jung,S., Buer,J., & Bruder,D. (2009) Type II alveolar epithelial cells present antigen to CD4<sup>+</sup> T cells and are capable to induce Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 179, 344-355.

Srivatava,B., Błażejewska,P., Heßmann,M., Bruder,D., Geffers,R., Muel,S., Gruber,A.D. & Schughart,K. (2009) The genetic background of the host strongly influences the response to influenza A virus infections in mice. *PLoS ONE* 4(3), e4857.

Stegemann,S., Dahlberg,S., Kröger,A., Gereke,M., Bruder,D., Henriques-Normark,B. & Gunzer,M. (2009) Increased susceptibility for superinfection with *Streptococcus pneumoniae* during influenza virus infection is not caused by TLR7-mediated lymphopenia. *PLoS ONE* 4(3), e4840.

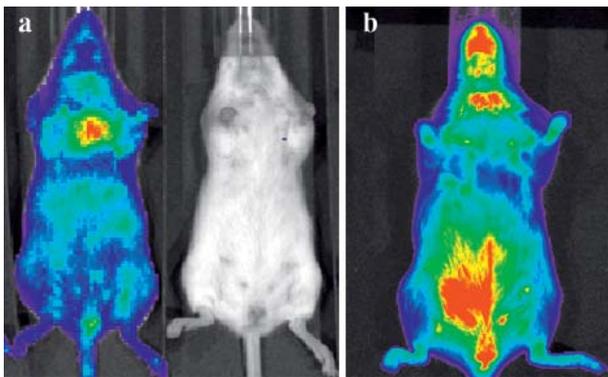


## 03.6 Immuneffektoren: Moleküle, Zellen und Mechanismen

PROJEKTLEITER | Dr. Siegfried Weiß | Arbeitsgruppe Molekulare Immunologie | siw@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Nicole Dietrich | Dr. Sandra Düber | Dr. Anne Endmann | Dr. Nelson Gekara | Dr. Jadwiga Jablonska | Katja Kochrübe | Sara Leschner | Dr. Stefan Lienenklaus | Dr. Holger Löbner | Marcin Lyszkiewicz | Dr. Bishnudeo Roy | Swati Shukla | Evgeniya Solodova | Nuno Viegas | Dr. Kathrin Westphal | Kathrin Wolf | Natalia Zietara

Unser Immunsystem setzt sich aus mehreren Verteidigungslinien zusammen. Dabei stellen sogenannte Typ I-Interferone mit ihren wichtigsten Vertretern IFN- $\beta$  und IFN- $\alpha$  eine der ersten Linien dar. Sie wurden auf Grund ihrer antiviralen Eigenschaften entdeckt. Inzwischen ist aber klar, dass sie auch bei vielen anderen Infektionen induziert werden und auch bei normalen physiologischen Vorgängen eine wichtige Rolle spielen. Um dieses hoch komplexe System besser zu verstehen, haben wir eine Reportermaus generiert. Die vornehmlichste Eigenschaft dieser Maus ist, dass sie das Reporterenzym Luziferase unter der Kontrolle des IFN- $\beta$  Promoters trägt. Dadurch ist es möglich, die Induktion von IFN- $\beta$  sowohl in Gewebe- oder Zellhomogenaten zu verfolgen aber auch durch nicht-invasives *in-vivo*-Imaging. Dabei wird ausgenutzt, dass sich ein lumineszierendes Gewebe auf der Haut der Maus abbildet und mit einer sensitiven Kamera detektiert werden kann (Abb. 1). Mit dieser Maus konnten wir zeigen, dass das IFN- $\beta$ -Gen auch ohne Infektionen bereits in einigen Geweben aktiviert vorliegt. Da das IFN-System über einen *Feed-forward Loop* aktiviert wird, wird dadurch vermutlich gewährleistet, dass das ganze System, wenn nötig, schnell aktiviert werden kann. Überraschenderweise war die höchste konstitutive Expression im Thymus zu finden. Die konstitutive Expression von IFN- $\beta$  besitzt offensichtlich



*Nicht-invasives in-vivo-Imaging von IFN- $\beta$  Reporter-mäusen. a) eine nicht behandelte Reportermaus, die Luziferase unter dem Promoter von IFN- $\beta$  exprimiert, wurde mit dem Substrat Luziferin injiziert, betäubt und die spontane Lichtemission mit dem IVIS 200 Gerät gemessen. Auffällig ist das hohe Signal im Thoraxbereich, das vom Thymus emittiert wird. Rechts sieht man eine Kontrollmaus, die keine Luziferase exprimiert. b) Expression von IFN- $\beta$  wurde durch Verabreichung von poly:I:C in einer Reportermaus induziert. Nach sechs Stunden wurde Luziferin injiziert und die Maus im IVIS 200 vermessen. Man kann eine deutlich stärkere Lumineszenz im Vergleich zur spontanen Expression feststellen. Die hauptsächliche Expression scheint in der Leber und im Darmbereich stattzufinden. Die Sensitivität wurde im Vergleich zu a) um den Faktor 100 reduziert.*

auch eine wichtige physiologische Bedeutung. So waren Dendritische Zellen von IFN- $\beta$ -ko-Mäusen nicht in der Lage, T-Zellen effizient zu stimulieren. Wir konnten dies auf einen Defekt in der Expression der Hitzeschockproteine Hsp70.1 und Hsp70.3 zurückführen, die von IFN- $\beta$  reguliert werden. IFN-Gene spielen auch eine große Rolle bei der Abwehr von Tumoren. Sie werden therapeutisch in der Klinik bei bestimmten Krebsarten verwendet. Interessanterweise wuchsen B16 Melanome in den IFN- $\beta$ -ko-Mäusen wesentlich schneller als in normalen Mäusen. Wir konnten dies auf die verbesserte Bildung von Blutgefäßen im Tumor in Abwesenheit von IFN- $\beta$  zurückführen. Dabei konnten wir zeigen, dass IFN- $\beta$  die Expression verschiedener Blutgefäß-bildender Faktoren inhibiert. Somit stellt IFN einen wesentlichen Bestandteil des Überwachungssystems des Körpers gegen Krebs dar.

Viele Bakterien, wie die von uns benutzten *Salmonella typhimurium*, besitzen die erstaunliche Eigenschaft, sich in festen Tumoren anzureichern. Sie können somit genutzt werden, um therapeutische Moleküle direkt im Tumor zu exprimieren und damit das gesunde Gewebe weitgehend zu schonen. Um die Effizienz der Tumorkolonisierung steigern zu können, haben wir das Einwandern der Bakterien in einen festen murinen Tumor detailliert untersucht. Dabei ergab sich, dass die Bakterien vermutlich nicht aktiv in den Tumor einwandern, da immobile Mutanten und Mutanten, in denen das chemotaktische System inaktiviert worden war, ebenfalls Tumore effizient kolonisieren konnten. Vielmehr zeigte sich, dass die Bakterien die Sekretion von dem Tumornekrosis Faktor- $\alpha$  auslösen, was zu einem starken Einstrom von Blut in den Tumor führt. Dadurch werden die Bakterien passiv in den Tumor geschwemmt. An der Stelle des Bluteinstroms sterben die Tumorzellen ab, und es entsteht eine große Nekrose, in der die Bakterien sich vermehren und ausbreiten können. Schließlich werden durch die Bakterien, aber vermutlich auch durch die absterbenden Zellen, neutrophile Granulozyten angelockt, die eine Barriere um die nekrotischen Bereiche formieren und eine weitere Ausbreitung der Bakterien in die noch lebenden Teile des Tumors verhindern. Entfernen dieser Barriere führt zu einer wesentlichen Verstärkung des therapeutischen Potenzials der Bakterien. Mit diesen Erkenntnissen sind wir auf dem Weg zu einer klinischen Anwendung dieser Tumorthherapie einen großen Schritt weiter.

Loessner,H., Endmann,A., Leschner,S., Westphal,K., Rohde,M., Miloud,T., Haemmerling,G., Neuhaus,K. & Weiss,S. (2007) Remote control of tumor targeted *Salmonella enterica* serovar Typhimurium-L-arabinose as inducer of bacterial gene expression in vivo. *Cellular Microbiology* 9, 1529-1537.

Gekara,N.O. & Weiss,S. (2008) Mast cells initiate early anti-Listeria host defenses. *Cellular Microbiology* 10, 225-236.

Westphal,K., Leschner,S., Jablonska,J., Loessner,H. & Weiss,S. (2008) Containment of tumor colonizing bacteria by host neutrophils. *Cancer Research* 68, 2952-2960.



## 03.7 Bioinformatik zellulärer Netzwerke

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. An-Ping Zeng | Arbeitsgruppe Systembiologie | aze@tuhh.de

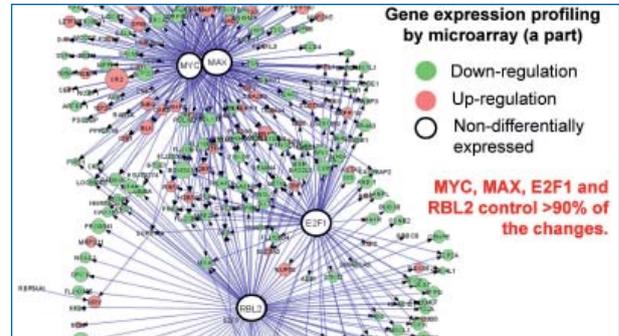
PROJEKTMITARBEITER | Feng He | Dr. Yuanhua Liu | Dr. Michael Stelze | Dr. Jibin Sun | Dr. Ping Zheng

**Modellierung und Analyse genomweiter metabolischer Netzwerke** Bioreaktionsdatenbanken sind eine Voraussetzung für die Rekonstruktion und Analyse metabolischer Netzwerke (MN). Wir haben unsere Bioreaktionsdatenbank durch Verdopplung der Reaktionsanzahl aktualisiert und dabei die Daten in Bezug auf Reversibilität, Verbindungspaare, Umlaufmetaboliten und Spontanreaktionen gründlich überarbeitet. Durch diese Aktualisierung konnte die Qualität der Rekonstruktion metabolischer Netzwerke deutlich verbessert werden, wie anhand der drei Beispielorganismen *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* und *Homo sapiens* gezeigt wurde.

Ein genomweites metabolisches Netzwerk ist in der Regel sehr groß und komplex. Frühere Studien haben gezeigt, dass solche Netzwerke hierarchisch und modular aufgebaut sind. Insbesondere wurde eine sogenannte modulare Kern-Peripherie-Struktur für metabolische Netzwerke postuliert. Wir haben einen Parameter mit dem Namen „Kernbereichskoeffizient“ zur quantitativen Bewertung der Kern-Peripherie-Struktur des metabolischen Netzwerkes vorgeschlagen, der auf dem Konzept der nähebasierten Zentralität von Metaboliten sowie auf einem neu definierten Parameter, der Netzwerkkapazität, basiert. Diese Methode kam bei der Untersuchung genomweiter metabolischer Netzwerke von fünf repräsentativen Organismen, *Aeropyrum pernix*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* und *H. sapiens*, zum Einsatz.

**Modellierung und Analyse von Regulationsnetzwerken** Eine früher postulierte Methode für das „Reverse Engineering“ eines Gennetzwerkes kam bei der Untersuchung von oxydativem Stress bei *Pseudomonas aeruginosa* unter eisenlimitierenden Bedingungen zum Einsatz. Dazu wurden dynamische Zeitreihendaten von genomweiten Genexpressionen experimentell unter streng kontrollierten physiologischen Bedingungen ermittelt und analysiert, um die bei der oxydativen Stressreaktion beteiligten Hauptregulatoren zu bestimmen.

In Zusammenarbeit mit Dr. M. Wirth untersuchten wir die Genexpressionsprofile einer menschlichen, mit dem Simiane Immundefizienz-Virus (SIV) infizierten CD4<sup>+</sup> T-Zelllinie, um das regulatorische Netzwerk zu erforschen, das zur Resistenz der CD4<sup>+</sup> T-Zellen gegenüber dem durch das SIV-induzierten Zellsterben führt. Zu diesem Zweck wurde eine neue netzwerk- und wissensbasierte Methode zur Ermittlung von Stoffwechsel- und Regulationswegen und Unternetzwerken postuliert, die für die Resistenz gegenüber dem durch das SIV-induzierte Zellsterben mitverantwortlich sind. Mit dieser Methode lassen sich stark betroffene, interaktive Molekülketten bestimmen, die die Aktivitäten von nicht differentiell exprimierten Regulatoren beeinflussen, was eine Identifizierung sogenannter



Identifizierung von nicht-differentiellen exprimierten Genen als „versteckte“ Schlüsselregulatoren durch die Anwendung einer neuen netzwerk- und wissensbasierten Methode. Dies könnte für humane CD4<sup>+</sup> T-Zellen mit dem Simian-Immundefizienz-Virus gezeigt werden.

‘versteckter’ Hauptregulatoren (Abbildung) ermöglicht. Die Untersuchung hat ergeben, dass die Resistenz gegenüber SIV-1-induziertem Zellsterben ein komplexer Mehrkomponentenprozess ist, an dem Unternetzwerke beteiligt sind, die in unterschiedlich frühen Phasen der Virusreplikation aktiv sind.

**Stochastische Modellierung der Dynamik synthetischer Gennetzwerke** Die Entwicklung synthetischer Genregulationsnetzwerke bzw. -kreisläufe stößt bei der Grundlagenforschung und der therapeutischen Anwendung auf immer größeres Interesse. Die Kontrolle der Genexpression ist wesentlich für die Anwendung synthetischer Genkreisläufe. Die Arbeitsgruppe von Dr. D. Wirth erstellte einen positiven, selbstregulierenden Feedback-Kreislauf, der auf dem Tet-System beruht. Überraschenderweise wurde bei einzelnen Klonen mit demselben Genregulationskreislauf, die nach dem Zufallsprinzip in das Genom integriert worden waren, eine stark heterogene Induktionseffizienz beobachtet. Desweiteren war für eine vollständige Induktion eine lange Induktionszeit erforderlich. Um die Effizienz und Vorhersagbarkeit des selbstregulierenden Systems erklären und verbessern zu können, haben wir ein stochastisches Modell entwickelt, anhand dessen sich die Induktionsdynamik von Zellen mit dem synthetischen Genkreislauf beschreiben lässt. Bei dem Modell wurde davon ausgegangen, dass die chromosomalen Positionierungseffekte einen wichtigen Parameter bilden.

da Silva, M.R., Ma, H. & Zeng, A.-P. (2008) Centrality, Network Capacity, and Modularity as Parameters to Analyze the Core-Periphery Structure in Metabolic Networks. *Proceedings of the IEEE Systems Biology* 96(8), 1411-1420.

He, F., Buer, J., Zeng, A.-P. & Balling, R. (2007) Dynamic cumulative activity of transcription factors as a mechanism of quantitative gene regulation in multi-regulator transcriptional regulatory motifs. *Genome Biology* 8, R181.

Sun, J., Liu, X., Rinas, U. & Zeng, A.-P. (2007) Metabolic peculiarities of *Aspergillus niger* disclosed by comparative metabolic genomics. *Genome Biology* 8, R182.



## Prävention und Therapie

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Abteilung für Vakzinologie und Angewandte Mikrobiologie | [cag@helmholtz-hzi.de](mailto:cag@helmholtz-hzi.de)

Ein Drittel aller jährlich weltweit auftretenden Todesfälle werden von Infektionskrankheiten verursacht. Zudem sind Mikroorganismen für mindestens 15% aller neuen Krebserkrankungen verantwortlich und sind in der Pathogenese vieler chronischer nicht-infektiöser Erkrankungen involviert. Weiterhin stellt das weltweite Auftreten multiresistenter Bakterienstämme ein wachsendes Problem dar. Daher ist die Entwicklung neuer Ansätze zur Bekämpfung mikrobieller Pathogene besonders wichtig. Das Hauptziel in diesen Bereichen ist die Entwicklung neuer Werkzeuge und Strategien, um ansteckenden Krankheiten vorzubeugen, sie zu diagnostizieren und zu behandeln.

Gegenstand des Projektes "Antigentransportsysteme und Vakzine" ist die Entwicklung von Werkzeugen und Strategien, um den Transport von Vakzinantigenen vor allem über die Schleimhäute zu verbessern, und die anschließende Nutzung dieser Werkzeuge und Strategien um Impfstoffkandidaten gegen spezifische Krankheiten zu generieren. So wurden neue Adjuvans-Kandidaten entwickelt, indem bereits existierende Moleküle verbessert wurden oder neue Molekülgruppen entdeckt wurden. Tatsächlich hat das neu entwickelte pegylierte und wasserlösliche Derivat des alpha-Galaktosylceramid eine stärkere Wirkung als Adjuvans als die entsprechende parentale Verbindung. Weitere Arbeiten haben gezeigt, dass der bakterielle, sekundäre Botenstoff Bis-(3',5')-cyclo-dimerisches Guanosinmonophosphat eine starke Wirkung als Adjuvans besitzt, wenn er systemisch oder auch über die Schleimhäute verabreicht wird. Desweiteren wurde ein durch Acetylsalicylsäure (ASS) aktivierter Kontrollschalter in abgeschwächten Salmonellen implementiert, wodurch eine exakt geregelte *in vivo*-Expression der Zielgene nach der bakteriellen Infektionen möglich ist. So reduzierte sich in Mäusen mit Tumoren das Tumorstadium signifikant, wenn sie Salmonellen erhielten, die ein Expressionsmodul trugen, das für das 5-Fluorocytosin (FC)-konvertierende Enzym Cytosindeaminase kodiert, und dies durch Gabe von ASS aktiviert wurde.

Ziel des Projekts "Therapeutische Zellvakzine" ist die Entwicklung von Strategien, um die bei persistierenden Infektionen und Krebs vorhandenen Mechanismen, dem Immunsystem zu entkommen, zu durchbrechen. Zu diesem Zweck wurden Werkzeuge zur Erforschung der Wechselwirkungen zwischen Effektorzellen, regulatorischen Zellen und Zielzellen entwickelt. Zu diesen Techniken gehören hochauflösende 3D-Bilddarstellungsverfahren und Mausmodelle, um T-Zellaktivierung, Toleranz und Autoimmunität zu untersuchen. Auch wurden Antigen-präsentierende Zellen durch adenovirale Vektoren, die für Antigene und immunmodulatorische Moleküle kodieren, modifiziert, um so die Antigenpräsentation zu verbessern. Um die Übertragung der Grundlagenforschung in entsprechende Zelltherapien zu erleichtern, wurden unter Verwendung eines geschlossenen, integrierten Beutelsystems flexible und stabile cGMP-gemäße Verfahren zur Produktion von adenoviral modifizierten dendritischen Zellen erarbeitet.

Das Projekt "Intrazellulärer Phagosomentransport und Immunität" befasst sich mit dem Mechanismus, durch den das *Mycobacterium tuberculosis* die Phagosomreifung hemmt und die Zerstörung durch Makrophagen verhindert. Dazu wird der intrazelluläre Transport von nicht-pathogenen und pathogenen Mykobakterien in Makrophagen untersucht, um die Proteine zu identifizieren, die am Vesikeltransport bei einer Infektion mit dem Mykobakterium beteiligt sind. Diese Proteine sind wahrscheinlich an dem durch die Lysosomen vermittelten Zerstörungsprozess sowie an den molekularen Vorgängen beteiligt, die die Verbindung zwischen angeborener und adaptiver Immunreaktion herstellen. Langfristiges Ziel dieses Projekts ist, neue Ziele für die Entwicklung prophylaktischer oder therapeutischer Maßnahmen zu identifizieren.

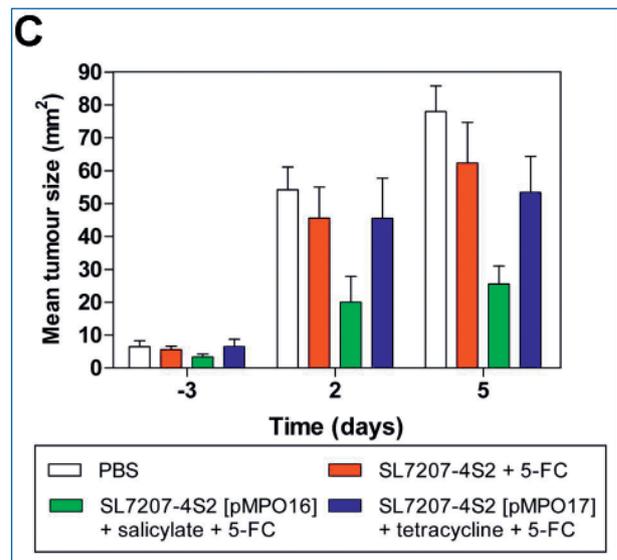
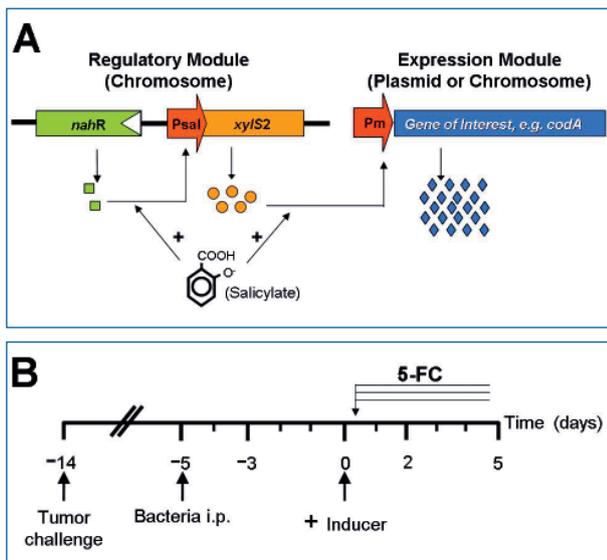
Im Rahmen des Projektes “Molekulare Mechanismen der Hepatitis-C-Virus Infektion und HCV Replikation” werden die Wechselwirkungen zwischen Virus und Wirt untersucht, die für die Replikation des Hepatitis-C-Virus (HCV) maßgebend sind. Diese Untersuchungen sollen dabei helfen, neue Angriffsziele für Medikamente zu definieren und Screening-Tests zur Identifizierung von Molekülen zu implementieren, die diese Wechselwirkungen stören. Ein spezieller Fokus dieser Arbeit ist die Charakterisierung der entscheidenden Faktoren, die den engen Wirtstropismus von HCV bestimmen. Weiterhin werden zellbasierte Hochdurchsatz-Screening-Systeme entwickelt, um HCV-spezifische Inhibitoren unter Verwendung der HZI-Substanzbibliotheken zu identifizieren. Diese Screenings beziehen sich auf den vollständigen viralen Replikationszyklus, einschließlich des Eindringens des Virus, der RNA-Replikation und der Produktion neuer Viren.

Das Projekt “Molekulardiagnose von mikrobiellen Pathogenen” befasst sich mit Umweltbakterien und -viren, die Infektionen auslösen können, und damit, wie das Wachstum dieser Mikroorganismen in der natürlichen und anthropogen veränderten Umwelt kontrolliert wird. Dabei liegt der Schwerpunkt auf Trinkwasserversorgungssystemen (DWSS) von der Trinkwasserquelle bis zum Wasserhahn. Mit dem Projekt werden die folgenden Hauptfragen angesprochen: (i) Wie beeinflusst der Wechsel der Jahreszeiten die bakterielle Mikroflora im Trinkwasser, (ii) Welcher Teil dieser Mikroflora überlebt eine Chlorierung, und (iii) Welche speziellen Gruppen von bakteriellen Pathogenen kommen in einem DWSS vor und wie werden sie vom Wechsel der Jahreszeiten und durch die Chlorierung beeinflusst. Desweiteren wurde eine *Multi-Loci-Variable-Number-of-Tandem-Repeats*-Analyse (MLVA) entwickelt. Diese hoch auflösende Genotypisierungstechnik ermöglicht eine Hochdurchsatzanalyse von klinischen und Umweltisolaten von *Vibrio parahaemolyticus*. Dabei können alle wesentlichen Klone einschließlich der pandemischen unterschieden werden.

Die Schwerpunkte in der Antiinfektiva-Forschung sind die Identifizierung und Struktur-/Funktionsanalyse von neuen aktiven Substanzen sowie die Klärung ihrer Wirkmechanismen. Dazu werden mikrobielle Extrakte und kombinatorische Substanzbibliotheken eingesetzt, um nach kleinen Molekülen mit antiinfektiver Wirkung zu suchen. Diese Arbeiten bilden die “Chemical Pipeline” des HZI. Im Rahmen des Projektes “Mikrobielle Diversität und Erforschung von Naturprodukten” wurde das biosynthetische Potential neuartiger Gruppen von Myxobakterien untersucht. Durch die Annotation des Genoms von *Sorangium cellulosum* konnten neue Gencluster identifiziert werden, die für Sekundärmetaboliten kodieren. Durch die Mutagenese von Polyketid- und Peptidsynthasen konnten Schlüsselgene identifiziert werden, die an dem biosynthetischen Stoffwechselweg von Sekundärmetaboliten beteiligt sind. Es wurden Screenings eingeführt, die dazu dienen, Substanzen zu finden, welche in der Lage sind, mit dem *Quorum Sensing* und der Biofilmbildung zu interferieren. Die Schwerpunkte der Projekte “Medizinische Chemie der Antiinfektiva” und “Entwicklung von neuartigen Antibiotika aus natürlichen Quellen” bilden die Synthese von Naturprodukten und das Design von entsprechenden Analoga. Diese Projekte umfassen die chemische Synthese von neuartigen Antibiotika, wie z.B. Korallopyronin, Chlorotonil und Chondramid. Zu diesem Zweck wird ein interdisziplinärer Ansatz an der Schnittstelle zwischen organischer Synthese, Biochemie und Strukturbiologie verfolgt, um die gegenseitige Abhängigkeit zwischen Konformation und biologischer Funktion zu untersuchen. Die pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften der Leitstrukturen werden dann durch die Gesamtsynthese von Analoga und Derivaten optimiert.

Das Projekt "Chemische Biologie von Infektionskrankheiten" erforscht mit Hilfe von niedermolekularen Substanzen die Mechanismen der Infektionsabläufe. Mit spezifischen Test- und Screeningtechnologien lassen sich bioaktive Substanzen aus den chemischen Repertoires auswählen und analysieren. Die Ergebnisse sollen zur Entdeckung neuer Antibiotika, chemotherapeutischer Modulatoren und Immunmodulatoren führen. Protein-Protein-Interaktionen sind wichtige Vorgänge innerhalb von Signalwegen und Proteinkomplexen, sind jedoch für die Medikamentenentwicklung schwer zugänglich. Mit Hilfe der Peptid-SPOT-Array-Technologie lassen sich Peptidfragmente identifizieren, die zentral für die Interaktion der Proteine sind. In Hochdurchsatz-Tests können dann niedermolekulare Verbindungen gesucht werden, die mit dem Peptid um die Bindung konkurrieren. Dies wurde erfolgreich eingesetzt, um Bindungsproteine für die RNA-Polymerase des Influenzavirus zu finden – die in der Lage waren, das Viruswachstum zu inhibieren. Es wurde desweiteren ein zellbasierter Fluoreszenz-Reporter-Assay verwendet, um nach Substanzen zu suchen, die die intrazelluläre Konzentration des Zellzyklusregulators p27 erhöhen. Es wurde ein zyklisches Peptid gefunden, das ein hochselektiver Proteasomhemmer ist und eine deutliche Antitumorwirkung aufweist.

*Candida albicans* ist eines der wichtigsten Pathogene in Verbindung mit nosokomialen Pilzinfektionen, insbesondere bei Patienten mit einer Immunschwäche. Deshalb wurden im Rahmen des Projektes "Identifizierung von molekularen Zielstrukturen von Antiinfektiva" Histidinkinasen (HK) von *C. albicans* als potentielle Zielstrukturen ausgewählt. Untersuchungen mit Einzelgendetionsmutanten zu chemischen und genetischen Interaktionen haben gezeigt, dass unter den HK lediglich CaNik1 wichtig für die Aktivität der fungizidalen Naturprodukte Ambrutizin VS-3 und Jerangolid war. Eine Deletionsmutante der HK CHK1 zeigte ebenfalls eine verminderte Virulenz. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse kommen CaNik1 und CHK1 als mögliche Medikamentenzielstrukturen bei künftigen Untersuchungen in Frage.



Der Einsatz eines Kontrollschalters basierend auf dem Regulationsmodul *nahR/Psal::xylS2* erlaubt eine regulierbare Expression von Zielgenen in *Salmonellen*. (A) Schematische Darstellung des Kontrollschalters. (B) Experimentelles Design um die Salicylsäure-abhängige in vivo-Expression des 5-Fluorocytosin (5-FC)-konvertierenden Enzyms Cytoindesaminase (CD) innerhalb von Tumorzellen zu validieren. (C) Tumorwachstum in unbehandelten Mäusen (PBS) und in Tieren die entweder mit unveränderten Bakterien behandelt wurden (SL7207-4S2), oder mit Bakterien, die zusätzlich Vektoren kodierend für CD trugen. Die Expressionskontrolle von CD erfolgte dabei über Salicylsäure (pMPO16) bzw. über Tetracycline (pMPO17) (weitere Details s.u. 04.6, S. 90)



## 04.1 Mikrobielle Vielfalt und die Entdeckung neuer Naturstoffe

**PROJEKTLEITER** | Prof. Dr. Rolf Müller | **Arbeitsgruppe Mikrobielle Wirkstoffe** | Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland – HIPS | rom@helmholtz-hzi.de | rom@mx.uni-saarland.de

**PROJECT MEMBERS** | Dr. Klaus Gerth | Dr. Herbert Irschik | Dr. Rolf Jansen | Ing. Wolfgang Kessler | Ing. Heinrich Steinmetz

Im Herbst 2007 zeigte die Markteinführung eines Epothilon-derivats zur Behandlung von Brustkrebs erneut die Bedeutung der Wirkstoffe aus Myxobakterien für die Gesundheitsforschung. Gleichzeitig beweist sie, dass eine fermentative Produktion mit Myxobakterien industriell nutzbar und ökonomisch sinnvoll sein kann. Eine Expression der biosynthetischen Gencluster in heterologen Wirten wäre eine alternative Möglichkeit, an der ebenfalls gearbeitet wird. Für die Molekularbiologie der Myxobakterien war die Sequenzierung und Annotation eines Sorangiengenoms ein Meilenstein. Dabei wurde das bisher größte bekannte Bakteriengenom gefunden. Die Annotation zeigte, dass viel mehr Gene für die Sekundärstoffsynthese vorliegen, als bisher angenommen wurde. Die Erkundung der Biodiversität durch Isolierung unbekannter Myxobakterien ist ein weiterer wichtiger Schwerpunkt für die Entdeckung neuer Antiinfektiva in der Zukunft.

**Biodiversität** Mit den Myxobakterien „verwandte“ Mikroorganismen kann man durch Vergleiche der 16S rDNA in Datenbanken finden. Sequenzen aus dem Metagenom terrestrischer und mariner Standorte bilden neue Äste in einem gemeinsamen Stammbaum. Wird ein neues Potential für die Sekundärstoffproduktion erschlossen, wenn solche Bakterien isoliert werden? An dieser Fragestellung wird intensiv gearbeitet. So wurden in den vergangenen Jahren immer wieder „Myxobakterien“ isoliert, die nicht in das traditionelle System passten. Erste chemische Untersuchungen der Metabolite aus ihren Kulturextrakten bestätigen nun diese Erwartung: es wurden neue Antibiotika gefunden und ihre Strukturen aufgeklärt. Weitere antibakteriell wirksame Verbindungen befinden sich in der chemischen Bearbeitung.

**Molekularbiologie** Peptidsynthetasen und Polyketidsynthetasen sind die wichtigsten Enzymkomplexe für die Sekundärstoffsynthese bei Myxobakterien. Um die dafür verantwortlichen Gencluster zu finden, wird versucht, die Biosynthese gezielt zu unterbrechen. Für Thuggacin wurden solche Mutanten durch Transposonmutagenese hergestellt, während die Leupyrrinsynthese über homologe „knockouts“ ausgeschaltet werden konnte. Myxobakterien besitzen neben den exprimierten auch sogenannte „ruhende Gencluster“ der Sekundärstoffsynthese. Wir sind dabei, diese zu detektieren und zu exprimieren, um so neue Wirkstoffe zu finden.

**Screeningmodelle** Während sich in der Vergangenheit die Suche nach Antiinfektiva auf Hemmstoffe des Wachstums beschränkte, liegt jetzt der Schwerpunkt auf der Suche nach

Metaboliten, die die Pathogenität von Krankheitserregern beeinflussen. Der Schlüssel hierbei sind „two component signal transduction“ Systeme. Diese komplexen, globalen Regulationssysteme interferieren mit „multi drug resistance“, mit „quorum sensing“ und so letztendlich auch mit Biofilmbildung und Virulenz. Metabolite, die an hochkonservierte Bereiche dieser Enzymkomplexe binden, könnten Wirkstoffe mit breitem Wirkungsspektrum sein. Zwei hierfür interessante Metabolite aus gleitenden Bakterien konnten isoliert und in ihren Strukturen aufgeklärt werden.

**Chemie** Bei den Arbeiten mit dem Elansolidproduzenten wurde aus Kulturextrakten ein neues Elansolid isoliert, das sich in das bekannte Elansolid A irreversibel umwandelt. Die Strukturaufklärung ergab die gleiche Konstitution für beide Elansolide. Da beide Substanzen sich in identische Ringöffnungsprodukte umwandeln lassen, haben wir es hier mit einem ungewöhnlichen Fall eines Naturstoffs zu tun, der in zwei Konformationen existiert. Die strukturellen Details werden mit Hilfe der NMR-Spektroskopie und durch Modellierung der Strukturen untersucht.



Birte Trunkwalter und Prof. Rolf Müller analysieren Myxobakterien unter dem Mikroskop. Foto: HZI, Gramann

Mukhopadhyay, J., Das, K., Ismail, S., Koppstein, D., Jang, M., Hudson, B., Sarafianos, S., Tuske, S., Patel, J., Jansen, R., Irschik, H., Arnold, E. & Ebricht, R.H. (2008) The RNA Polymerase „Switch Region“ is a Target for Inhibitors. *Cell* **135**(2), 295-307.

Feklistov, A., Mekler, V., Jiang, O., Westblade, L.F., Irschik, H., Jansen, R., Mustaev, A., Ebricht, R.H. & Darst, S.A. (2008) Rifamycins do not function by allosteric modulation of binding of Mg<sup>2+</sup> to the RNA polymerase active center. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **105**, 14820-14825.

Gerth, K., Steinmetz, H., Höfle, G. & Jansen, R. (2008) Chlorotoniol A, a macrolide with a unique gem-dichloro-1,3-dione functionality from *Sorangium cellulosum*, So ce1525. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 600-602.

Schneiker, S., Perlova, O., et al. (including Gerth, K., Sasse, F., Blöcker, H., Müller, R.) (2007) Complete genome sequence of the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Nature Biotechnology* **25**, 1281-1289.



## 04.2 Medizinische Chemie von Antiinfektiva

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Markus Kalesse | Abteilung für Medizinische Chemie | mka05@helmholtz-hzi.de | markus.kalesse@oci.uni-hannover.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Jutta Niggemann | Dr. Nicole Horstmann | Inga Degenhardt | Nicola Rautzenberg

Im Rahmen dieses Projektes werden chemische Synthesen für Antibiotika entwickelt. Über die Generierung von Derivaten und Analoga soll das biologische Profil der Leitstrukturen verbessert werden, um eine detaillierte Aussage über Struktur-Aktivitätsbeziehungen zu erhalten. Die Identifizierung der pharmakophoren Gruppen über den entwickelten Syntheseweg ist zudem ein Werkzeug für das „Chemical Genocis“. Zusätzlich sollen die dabei entwickelten neuen Synthesemethoden für Automatisierungsplattformen wie etwa die SPOT- oder PASS-Flow-Synthese eingesetzt werden.

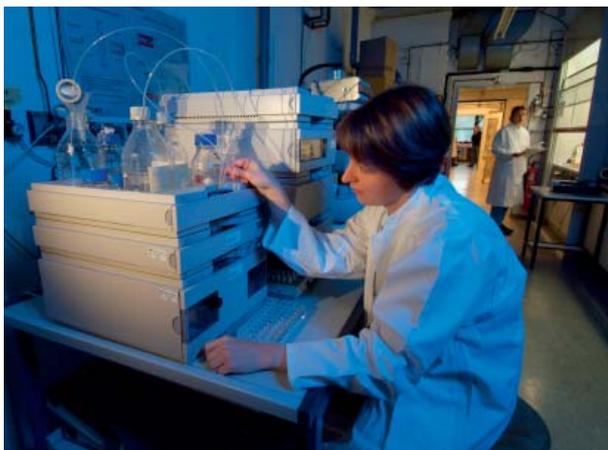
**Synthese von Corallopyronin, Chlorotonil und Chondramid** Zur Generierung verbesserter Antibiotika ist ein genaues Verständnis der molekularen Strukturen unerlässlich. Hier spielt die Unterscheidung in pharmakophore Gruppen und Strukturelemente, die für eine selektive Adressierung des Targets verantwortlich sind, eine zentrale Rolle. Die Naturstoffe Corallopyronin, Chlorotonil und Chondramid sind vielversprechende Vertreter potentieller Antibiotika bzw. anti-Tumorverbindungen. Erste Ergebnisse zeigen, dass bei allen drei Verbindungen Weiterentwicklungen notwendig sind, um das medizinische

Potential zu erschließen. Dazu ist es sowohl notwendig eine Totalsynthese zu entwickeln, als auch eingehende Untersuchungen der Struktur-Aktivitätsbeziehungen vorzunehmen.

Bei den Chondramiden wurden bereits erste Derivate synthetisiert und zusammen mit den SAR-Daten publiziert. Diese deuten darauf hin, dass der polyketidische Teil des Moleküls für die Einstellung der aktiven Konformation des Tripeptides notwendig ist. Weitere Derivate sollen synthetisiert werden, um ein umfassendes Bild der SAR-Daten zu erhalten.

Ein ähnliches Bild ergibt sich für das Corallopyronin. Auch hier gibt es erste Vorstellungen vom Wirkmechanismus und den pharmakophoren Gruppen. Ausgehend von diesen Ergebnissen sollen die *in vivo* Aktivitäten durch die Synthese unnatürlicher Derivate verbessert werden.

Für das Chlorotonil stellt sich die Herausforderung, wasserlösliche Derivate zu synthetisieren, die trotz der Veränderungen noch das gewünschte Wirkprofil enthalten. Ein weiteres Projekt beschäftigt sich mit der Strukturaufklärung und Synthese von Chivosazol. Das Antibiotikum Chivosazol besaß 10 unbekannte Chiralitätszentren. Nachdem die 10 Chiralitätszentren aufgeklärt werden konnten, besteht nun die Aufgabe, die Struktur durch eine Synthese abzusichern und gleichzeitig einen synthetischen Zugang zu veränderten Derivaten zu ermöglichen. Nachdem in diesem Jahr die Synthese des nördlichen Teils erfolgreich beendet werden konnte, richtet sich unser Augenmerk auf die Synthese des südlichen Segmentes und die Kupplung beider Fragmente.



Larissa Jundt isoliert Sekundärmetaboliten mittels HPLC.

Foto: HZI, Bierstedt

Janssen,D., Abert,D., Jansen,R., Müller,R. & Kalesse,M. (2007) Chivosazole A - Elucidation of the full absolute and relative configuration. *Angewandte Chemie* **119**, 4985-4988.

Eggert,U., Diestel,R., Sasse,F., Jansen,R., Kunze,B. & Kalesse,M. (2008) Chondramide C: Synthesis, Configurational Assignment and First SAR Studies. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 6478-6482.

Rahn,N. & Kalesse,M. (2008) The First Total Synthesis of Chlorotonil. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 597-599.



## 04.3 Entwicklung neuer Antibiotika aus natürlichen Quellen

**PROJEKTLEITER** | Prof. Dr. Dirk Menche | **Nachwuchsgruppe Struktur und Funktion von Antibiotika** | [dirk.menche@oci.uni-heidelberg.de](mailto:dirk.menche@oci.uni-heidelberg.de)

**PROJEKTMITARBEITER** | Wiebke Ahlbrecht | Fatih Arikan | Dr. Nicole Horstmann | Dr. Herbert Irschik | Dr. Rolf Jansen | Jun Li | Pengfei Li | Sven Rudolph | Dr. Florenz Sasse | Heinrich Steinmetz

Die auserlesene und vielfältige Architektur von Naturstoffen liefert eine reichhaltige Quelle für Entdeckungen in der Antiinfektionsforschung: ob diese genutzt werden, um biologische Mechanismen zu untersuchen oder als Grundlage für die Entwicklung pharmazeutischer Wirkstoffe dienen – Naturstoffe ziehen besondere Aufmerksamkeit auf sich. Forschung innerhalb dieses Projektes fokussiert auf verschiedene Aspekte der Naturstoffchemie, von der Naturstoffisolierung und der Entwicklung neuer Syntheseverfahren bis hin zur Naturstoffsynthese und dem Design von Analoga.

Polyketide sind eine besonders interessante Klasse von Naturstoffen mit einer extrem großen Bandbreite an biologischen Aktivitäten und pharmazeutischen Eigenschaften. Polyketid-Antibiotika, antifungische Substanzen, Zytostatika, antiparasitisch wirkende Verbindungen und natürliche Insektizide sind in kommerzieller Nutzung. Zu bekannten aktuellen Beispielen gehören die Archazolide, hochpotente Inhibitoren von ATPasen des Vakuolentyps (V-ATPasen), Etnangien, ein Makrolid-Antibiotikum, das RNA-Polymerase inhibiert und Rhizopodin, welches mit Aktin interagiert und durch spezifische Bindung an einige kritische Stellen des G-Aktins die Bildung des Aktinzytoskeletts verhindert. Ein interdisziplinärer Ansatz an der Schnittstelle zwischen organischer Chemie, Biochemie und Strukturbiologie wurde initiiert, um im Detail die Zusammenhänge von Konformation und biologischer Funktion dieser potenten natürlichen Antibiotika zu untersuchen. Auf der Grundlage eines innovativen Ansatzes haben wir kürzlich die relative Stereochemie und Grundzustandskonformation dieser Polyketide durch Hochfeld-NMR-Studien in Kombination mit Molekulardynamiksimulationen aufgeklärt. Neben konventionellen Techniken wie konformationsbasierter Konfigurationsanalyse (von CH- und HH-dipolaren Kopplungen) und NOE Experimenten in Kombination mit „Molecular Modelling“, wurden auch die Analyse von residualen dipolaren Kopplungen sowie Genom-basierte Methoden angewendet. Dieses Verständnis der 3D Struktur ermöglicht eine gezielte Totalsynthese und gestattet das Design vereinfachter Analoga und ein Verständnis der SAR-Daten.

Darüber hinaus haben wir konvergente und insbesondere modulare Strategien zur Synthese dieser komplexen Polyketide entwickelt. Dies beinhaltet die Entwicklung neuer Methoden zum stereoselektiven Aufbau der charakteristischen Anordnungen von Methyl- und Hydroxyl-tragenden stereogenen Zentren. Kürzlich kulminierte die Anwendung dieser Methoden in der ersten Totalsynthese der Archazolide. Darüber hinaus wurde das Design equipotenter Analoga mit verbessertem biologischen Profil und/oder vereinfachter Grundstruktur etabliert. Dies sollte die weitere Entwicklung dieser vielversprechenden Makrolid-Antibiotika begünstigen.



Tatjana Arnold bei der Qualitätskontrolle isolierter und aufgereinigter Substanzen. Foto: HZI, Bierstedt

Arikan, F., Li, J. & Menche, D. (2008) Diastereodivergent Aldol Reactions of  $\beta$ -Alkoxy Ethyl Ketones: Modular Access to (1,4)-syn and -anti Polypropionates. *Organic Letters* **10**, 3521-3524.

Menche, D., Arikan, F., Perlova, O., Horstmann, N., Ahlbrecht, W., Wenzel, S. C., Jansen, R., Irschik, H. & Müller, R. (2008) Stereochemical Determination and Complex Biosynthetic Assembly of Etnangien, a Highly Potent RNA-Polymerase Inhibitor from the Myxobacterium *Sorangium Cellulosum*. *Journal of the American Chemical Society* **130**(43), 14234-14243.

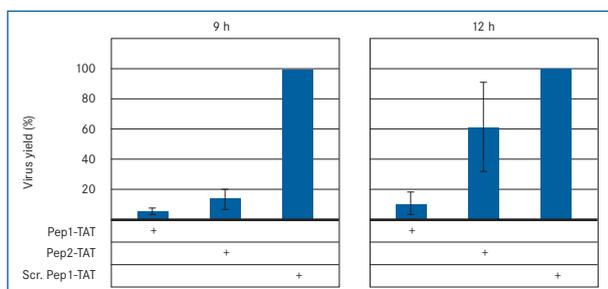
## 04.4 Chemische Biologie von Infektionskrankheiten

PROJEKTLEITER | Dr. Ronald Frank | Abteilung für Chemische Biologie | rfr@helmholtz-hzi.de

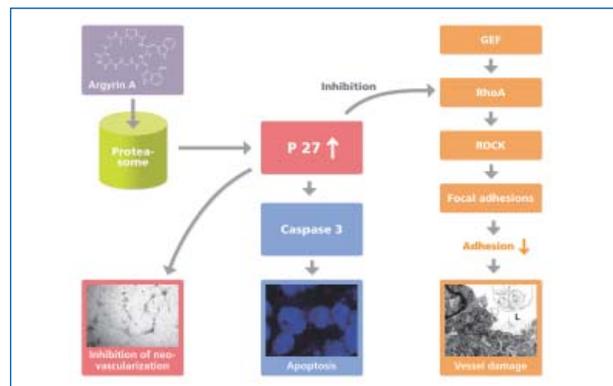
PROJECT MEMBERS | Jihat Al-Qudsi | Ulrike Beutling | Randi Diestel | Dr. Raimo Franke | Dr. Bernd Hofer | Fardous Kaneer | Denis Koska | Michael Mrosek | Dr. Irina Nickeleit | Dr. Mahtab Nourbakhsh | Dr. Marc Reboll | Dr. Florenz Sasse | Galina Sergeev | Dennis Schwab | Dr. Dr. Werner Tegge | Dr. Peter Washausen | Marina Wöhl

Zentrales Ziel dieses Projektes ist die Aufklärung der molekularen Mechanismen infektiöser Prozesse durch den Einsatz niedermolekularer Wirkstoffe. Mittels Entwicklung spezieller Testsysteme und Screeningtechniken werden bioaktive Substanzen aus chemischen Bibliotheken selektiert und analysiert. Die Ergebnisse dieser Analysen sollen zu neuen Antibiotika, Chemotherapeutika und Immunmodulatoren führen. Das Wissen über ihre Wirkmechanismen eröffnet neue therapeutische Wege. Als Teil der "Chemischen Pipeline" haben wir eine Infrastruktur für das HTS (Hochdurchsatzsuche) eingerichtet, die uns eine systematische Suche nach neuen infektionshemmenden Substanzen ermöglicht. Unser Bestand von derzeit etwa 90 000 Proben beinhaltet eine einzigartige Sammlung von Naturstoffen, die aus Myxobakterien (siehe P04.1) isoliert wurden. Die Infrastruktur steht über das deutsche ChemBioNet ([www.chembionet.de](http://www.chembionet.de)) auch externen Forschern und für andere Anwendungen zur Verfügung.

**Inhibitoren von Protein-Protein-Interaktionen** Protein-Protein-Interaktionen sind wichtige Vorgänge bei Signalwegen und der Ausbildung von Proteinkomplexen. Ihre selektive Inhibition ist jedoch ein schwieriges Thema bei der Medikamentenentwicklung. Sie werden durch flache, große Interaktionsflächen vermittelt, die kleine Moleküle nicht gut binden können. Daher nutzen wir unsere Peptid-SPOT-Untersuchungsmethode, um zunächst Peptidfragmente zu identifizieren, die jeweils von einem Partner eines Protein-Protein-Interaktionspaares für die Bindung an den anderen Partner genutzt werden. Diese Peptidbinder werden dann als Surrogatliganden in Hochdurchsatz-Kompetitionstests verwendet. Auf diese Weise suchen wir nach kleinen Molekülen, die mit dem Peptid um die Bindung konkurrieren können. Diese Methode haben wir erfolgreich auf eine Untereinheit der trimeren RNA-Polymerase des Influenzavirus angewendet. Wenn man die Peptidbinder in die infizierten Zellen einbringt, können sie die Virusvermehrung bremsen. Im Rahmen des integrativen EU-Projektes FLUINHIBIT wurden



Reduktion der Vermehrung des Influenza A Virus in infizierten MDCK-Zellen nach Behandlung mit synthetischen Peptiden die von der PB1-Untereinheit der viralen RNA-Polymerase abgeleitet sind. Die PB1-Peptide sind jeweils mit einem kurzen TAT-Peptid verbunden, welches eine Durchdringung der Zellmembran und eine zelluläre Aufnahme vermittelt. Ein Peptid mit der gleichen Zusammensetzung der Aminosäuren wie Pep1 aber anderer Sequenz (Scr.Pep1) dient als negative Kontrolle.



Krebszellen zeigen verschiedene phänotypische Reaktionen nach Inhibition der Proteasomen durch Behandlung mit Argiryn A. Der zentrale Regulator des Zellzyklus, p27kip1, wird nicht mehr abgebaut, was zu den drei gezeigten Auswirkungen führt; alle wirken synergistisch dem Wachstum von soliden Tumoren entgegen.

mit einem peptidbasierten Competitionstest im ELISA-Format erste Treffersubstanzen identifiziert.

**Ein myxobakterieller zyklischer Peptidmetabolit ist ein hochselektiver Proteasominhibitor und eine potente Antitumorleitsubstanz** In Zusammenarbeit mit der Forschergruppe von Prof. Dr. N. Malek an der Medizinischen Hochschule Hannover wurde ein zellbasierter Fluoreszenz-Reporter-Assay verwendet, um nach Substanzen zu suchen, die die intrazelluläre Konzentration des Zellzyklusregulators p27 erhöhen können. Neben anderen kleinen organischen Molekülen, wurde hierbei eine einzigartige, zyklische Heptapeptidstruktur mit ungewöhnlichen Aminosäurebausteinen (HZI150006, Argiryn A) entdeckt, die ein potentes, positives Effektmolekül darstellt. Weitere Untersuchungen bestätigen eine hochspezifische, zu einem verminderten Abbau von p27-führende Hemmung aller drei katalytischen Aktivitäten des eukaryotischen Proteasoms. Die intrazelluläre Verstärkung von p27 bewirkt einen Wachstumsstopp bzw. eine Apoptose in vielen Tumorzelllinien. HZI150006 bremsst das Wachstum von soliden Tumoren in *in-vivo*-xenotransplantierten Mausmodellen bei einer wesentlich niedrigeren Dosis und Toxizität als der zugelassene Proteasominhibitor Bortezomib. Eine Weiterentwicklung von HZI150006 erfolgt im Rahmen des Projektes "TransMedLab", finanziert durch eine BioProfile-Förderung. Die zentrale zelluläre Funktion des Proteasoms legt andere akademische und therapeutische Anwendungen von HZI150006 nahe, einschließlich der Behandlung von bakteriellen und viralen Infektionen.

Ghanem,A., Mayer,D., Chase,G., Tegge,W., Frank,R., Kochs,G., García-Sastre,A. & Schwemmler,M. (2007) Peptide-mediated interference with the influenza A virus polymerase. *Journal of Virology* **14**, 7801-7804.

Nickeleit,I., Zender,S., Sasse,F., Geffers,R., Brandes,G., Sörensen,I., Steinmetz,H., Kubicka,, Carlomagno,T., Menche,D., Buer,J., Gossler,A., Manns,M.P., Kalesse,M., Frank R. & Malek,N.P. Argiryn A – a p27kip1 stabilizing drug with potent anti-proliferative and anti-angiogenic activity. *Cancer Cell* **14**, 23-35.



## 04.5 Identifizierung molekularer Angriffspunkte von Antiinfektiva

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Ursula Bilitewski | Arbeitsgruppe Biologische Systemanalyse | ubi@helmholtz-hzi.de

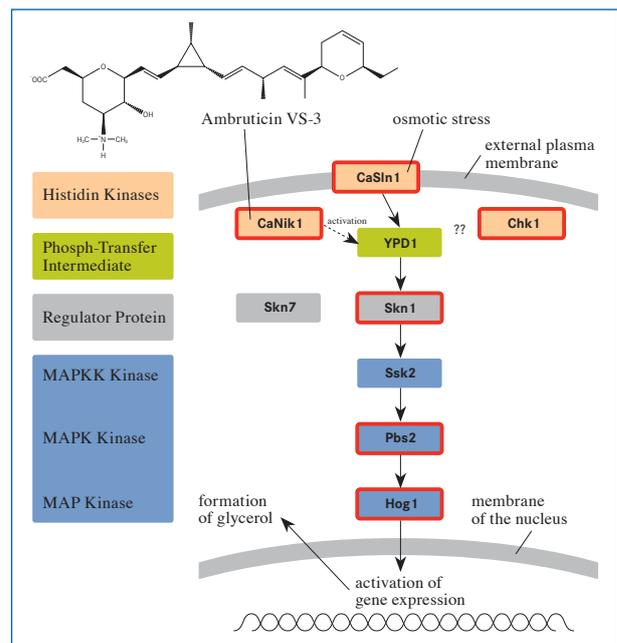
PROJEKTMITARBEITER | Janine Wesolowski | Nina Klippel | Dörthe Sokolis | Shuna Cui | Rabeay Hassan | Anna Buschart | Anja Köhler

Infektionskrankheiten werden zunehmend durch resistente, kommensale oder persistente Organismen verursacht. Bei kommensalen und persistenten Organismen existieren Wirt und Pathogen lange Zeit nebeneinander, ohne dass es zu einer Erkrankung kommt. Treten jedoch besondere Bedingungen auf, wie zum Beispiel eine Krankheit, in deren Folge die Funktionsfähigkeit des Immunsystems beeinträchtigt ist, kann es zum Ausbruch von Infektionen durch diese Organismen kommen. Das aus Wirtszellen und Pathogenen bestehende Gesamtsystem wird bislang bei der Suche nach Antiinfektiva kaum berücksichtigt. Seine Analyse verspricht die Identifizierung neuer molekularer Angriffspunkte für Wirkstoffe, so dass es im Mittelpunkt unserer Untersuchungen steht, die wir derzeit auf *Candida albicans* als Pathogen und Makrophagen und Epithelzellen als Wirtszellen fokussiert haben.

**Histidinkinasen von *C. albicans* als potenzielle Angriffspunkte für Wirkstoff** Bakterielle Histidinkinasen (HK) sind die Proteine, mit denen die Organismen Umgebungsbedingungen erkennen und sich an sie anpassen. In einfachen Eukaryoten (z.B. Pilzen) wurden sie ebenfalls vereinzelt gefunden, während sie in tierischen Zellen nicht vorkommen. In *C. albicans* wurden bislang drei HK beschrieben, von denen CaSn1 homolog zur einzigen HK aus *Saccharomyces cerevisiae* ist. Diese ist an der Erkennung und Abwehr von osmotischem Stress beteiligt. *C. albicans* besitzt als zweite HK CaNik1, von der es homologe Proteine in pflanzenpathogenen Pilzen gibt. Wir konnten durch chemisch-genetische Interaktionsstudien zeigen, dass von den drei HK nur diese essenziell für die Wirkung der fungiziden Naturstoffe Ambruticin VS-3 und Jerangolid ist und dass diese Wirkung über den osmotischen Stressabwehr-Signalweg vermittelt wird. Durch Klonierung des entsprechenden Gens konnten wir diese Aktivität auf *S. cerevisiae* übertragen und damit nachweisen, dass CaNik1 essenziell für die Wirkung der ausgewählten Naturstoffe ist. Über die dritte HK, CHK1, war bislang bekannt, dass ihre Deletion zu einer verringerten Virulenz von *C. albicans* führt. Wir konnten eine deutlich höhere Phagozytoseeffizienz von Makrophagen und Neutrophilen für diese Mutante beobachten und dies auf eine veränderte Glukanstruktur der Zellwand zurückführen. Die Zusammenhänge zwischen CHK1 und der Zusammensetzung der Zellwand sind jedoch noch nicht bekannt. Auf der Grundlage unserer bisherigen Daten sollen die Untersuchungen zur Eignung der beiden HKs CaNik1 und CHK1 als Angriffspunkte für Wirkstoffe fortgesetzt werden.

**Signalwege in Makrophagen und Epithelzellen** Makrophagen und Epithelzellen stellen eine erste Barriere für eindringende Pathogene dar. Sie werden durch Bestandteile der bakteriellen Zellmembran, aber auch durch Zytokine, die von anderen Immunzellen abgegeben werden, aktiviert. Diese Aktivatoren lösen über Wechselwirkungen mit Rezeptoren auf der Oberfläche der Wirtszellen intrazelluläre Signal-

kaskaden aus, die zur Regulation der Immunabwehr durch Phagozytose der Pathogene und Sekretion weiterer Zytokine und Stickstoffmonoxid (NO) führen. Wir analysieren die Struktur der Reaktionsnetzwerke über die Wirkung spezifischer Inhibitoren auf Zytokin- und NO-Konzentrationen, sowie den Phosphorylierungszustand ausgewählter Proteine. Da einige der Kaskaden über die Aktivität des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B reguliert werden, haben wir Reporterzellen hergestellt, um seine Aktivität auf einfache Art erfassen zu können. Dadurch sollen die Komponenten der Reaktionsnetzwerke ermittelt werden, die beim Wechsel vom kommensalen zum pathogenen Zustand ihren Aktivitätszustand ändern.



Signaltransduktionskaskade, die in *Candida albicans* durch osmotischen Stress bzw. über Fungizide, wie Ambruticin VS-3, aktiviert werden. Ausgangspunkt sind die Histidinkinasen CaSn1 bzw. CaNik1. Die Struktur dieser Kaskade wurde über die Behandlung von Deletionsmutanten mit Ambruticin VS-3 und der Quantifizierung des gebildeten Glycerins ermittelt. Die verwendeten Deletionsmutanten waren unter anderem die CaNik1-, CaSn1-, CHK1-, Ssk1-, Pbs2- und die Hog1-Mutante.

J. Behnsen, P. Narang, M. Hasenberg, F. Gunzer, U. Bilitewski, N. Klippel, M. Rohde, M. Brock, A.A. Brakhage, M. Gunzer, The environmental dimensionality controls the interaction of phagocytes with the pathogenic fungi *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*, PLOS Pathogens, 3 (2) (2007) e13

N. Klippel, U. Bilitewski, Phagocytosis assay based on living *Candida albicans* for the detection of effects of chemicals on macrophage function, Anal. Lett., 40 (2007) 1400 – 1411

J. Wesolowski, R.Y.A. Hassan, S. Hodde, C. Bardroff, U. Bilitewski, Sensing of oxygen in microtiterplates: a novel tool for screening drugs against pathogenic yeasts, Anal. Bioanal. Chem. 391 (2008) 1731 – 1737



## 04.6 Antigentransportsysteme und Impfstoffe

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Abteilung für Vakzinologie und Angewandte Mikrobiologie | [cag@helmholtz-hzi.de](mailto:cag@helmholtz-hzi.de)

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Pablo D. Becker | Dr. Jenifer Debarry | Dr. Thomas Ebensen | Dr. Barbara Fucs | Miriam Nörder | Peggy Riese | Libanova Rimma, | Kirsten Scholz | Dr. Kai Schulze | Sebastian Weissmann | Tetyana Yevsa | Dr. Beata Zygmunt

Das Hauptziel dieses Projektes ist die Entwicklung von Werkzeugen und Strategien zur Verbesserung des Transports von Impfstoffantigenen, insbesondere über die Schleimhäute, und ihre anschließende Nutzung bei der Herstellung von Impfstoffkandidaten gegen bestimmte Krankheiten.

**Durch Aspirin ausgelöste Genexpression** Systeme, die eine exakt geregelte Expression von prokaryotischen Genen ermöglichen, sind entscheidend für die Erforschung von Genfunktionen *in vivo* und die Nutzung rekombinanter Bakterien für die gezielte Expression therapeutischer Moleküle. Dazu haben wir in abgeschwächte Salmonellen einen Kontrollschalter eingebaut, der durch Acetylsalicylsäure (ASS) aktiviert wird (Abb. s. Seite 84). Damit lässt sich eine exakt gesteuerte *in-vivo*-Expression der Zielgene nach einer bakteriellen Infektion als Reaktion auf das Salizylat erzielen, die *ex vivo* zu 20-150fachen Induktionsraten führt. Der Kontrollschalter wurde zudem sowohl *in vitro* als auch *in vivo* durch ASS wirksam aktiviert, wenn sich Bakterien in eukaryotischen Zellen ansiedelten. Um diesen Kontrollschalter zu überprüfen, haben wir mit einem Tumor befallene Mäuse mit Salmonellen behandelt, die entweder auf einem Chromosom oder einem Plasmid ein Expressionsmodul trugen, das für das 5-Fluorocytosin (FC)-konvertierende Enzym Cytosindeaminase (CD) kodiert. Die Aktivierung durch ASS vor der Gabe von 5-FC führte zu einer deutlichen Reduzierung des Tumorwachstums sowohl im Vergleich zu den Kontrollgruppen als auch im Vergleich zu Mäusen, denen Bakterien verabreicht wurden, in denen die CD-Expressionskontrolle durch ein Tetrazyklin-aktiviertes System erfolgte. Diese Ergebnisse belegen den Nutzen des Kontrollschalters zur selektiven Aktivierung der Genexpression während einer bakteriellen Infektion. Diese Methode soll zum einen funktionelle Untersuchungen ermöglichen, die die Rolle bakterieller Gene während des Infektionsprozesses aufklären und zum anderen die Implementierung von Bakterien-basierten Therapien gestatten.

**Verbesserung des Transports von Antigenen über die Schleimhaut** Der Einsatz von Adjuvantien stellt eine erfolgreiche Methode zur Stimulation von Immunreaktionen nach einer mukosalen Impfung, sprich über die Schleimhäute, dar. Frühere Arbeiten führten zur Entwicklung des TLR2-Agonisten MALP-2 und entsprechender Derivate als mukosale Adjuvantien. Allerdings ist ein einziges Molekül mit genau definierten immunmodulierenden Eigenschaften nicht ausreichend, um alle Anforderungen der Vakzinologie

zu erfüllen. Deshalb haben wir unser Forschungsprogramm mit dem Ziel erweitert neue Adjuvanskandidaten zu identifizieren. Hierfür werden zum einen vorhandene Moleküle bzw. Adjuvansgruppen verbessert und zum anderen neue aktive Molekülgruppen gesucht. So wurde ein pegyliertes Derivat des alpha-Galactosylceramids (alphaGalCerMPEG) hergestellt. Dieses ist wasserlöslich und behält sowohl die Spezifität für CD1d als auch die stimulierenden Eigenschaften in Bezug auf dendritische Zellen *in vitro* bei. Eine intranasale Impfung hat gezeigt, dass alphaGalCerMPEG eine stärkere Wirkung als Adjuvans entfaltet als die ursprüngliche Verbindung. In Verbindung mit hohen antigen-spezifischen Antikörpertitern konnten auch Th2- und sIgA-Antworten sowohl an lokalen als auch an peripheren Schleimhauteffektorstellen festgestellt werden.

Weitere Arbeiten haben gezeigt, dass der bakterielle, sekundäre Botenstoff bis-(3',5')-cyclo-di-Guanosinmonophosphat (cdiGMP) ebenfalls eine starke Wirkung als Adjuvans hat. Mäuse, die  $\beta$ -Galactosid ( $\beta$ -Gal) mit cdiGMP erhielten, wiesen einen Anti- $\beta$ -Gal IgG-Titer im Serum auf, der 512-fach höher als der der Kontrollgruppe war, sowie sIgA in Lunge und Vagina. Die Profile der sekretierten Zytokine deuten auf die Induktion einer dominanten Th1-Reaktion hin. Des Weiteren wurden *in vivo* CTL-Antworten bei C57Bl6-Mäusen beobachtet, die mit Ovalbumin und cdiGMP immunisiert worden waren. Die erzielten Ergebnisse deuten darauf hin, dass diese beiden neuen Moleküle vielversprechende Werkzeuge für die Entwicklung von mukosalen Impfstoffen sind.

Royo,J.L., Becker,P.D., Camacho,E.M., Cebolla,A., Link,C., Santero,E. & Guzmán,C.A. (2007) *In vivo* gene regulation in *Salmonella* spp. by a salicylate-dependent control circuit. *Nature Methods* **4**, 937-942.

Ebensen,T., Link,C., Riese,P., Schulze,K., Morr,M., & Guzmán,C.A. (2007) A pegylated derivative of alpha-galactosylceramide exhibits improved biological properties. *Journal of Immunology* **179**, 2065-2073.

Ebensen,T., Schulze,K., Riese,P., Morr,M., & Guzman,C.A. (2007). The bacterial second messenger c-diGMP exhibits promising activity as a mucosal adjuvant. *Clinical and Vaccine Immunology* **14**, 952-958.

Fiorentini,S., Riboldi,E., Facchetti,F., Avolio,M., Becker,P.D., Guzman,C.A., Sozzani,S., & Caruso,A. (2008). HIV-1 matrix protein p17 induces human plasmacytoid dendritic cells to acquire a migratory immature cell phenotype. *Proceedings National Academy of Sciences USA* **105**, 3867-3872.



## 04.7 Therapeutische zelluläre Vakzine

PROJEKTLEITER | Dr. Werner Lindenmaier | Abteilung für Regulation und Differentiation | wli@helmholtz-hzi.de

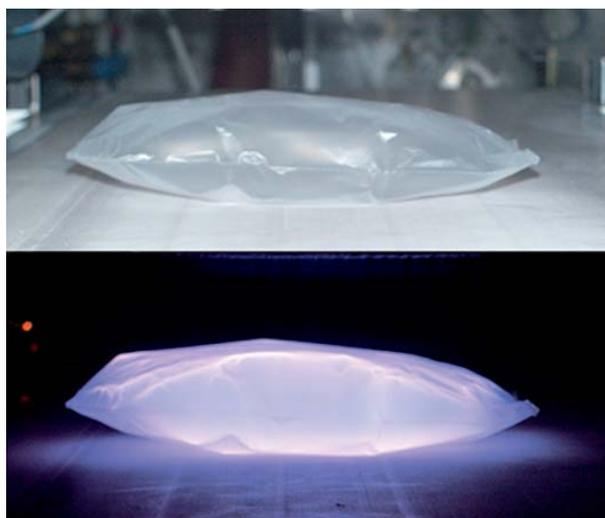
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Kurt E. J. Dittmar | Dr. Wilhelm Meyring | Dr. Oliver Schön | Dr. Nadia Zghoul | Claudia Preuß | Ellen Kuppe

Neben der Bekämpfung akuter Infektionen, erkennt und eliminiert die zelluläre Immunantwort persistent infizierte Zellen und Tumorzellen. Persistierende Krankheitserreger und Tumorzellen haben jedoch Mechanismen entwickelt, mit denen sie der Immunabwehr entkommen. Unser Ziel ist, die zelluläre Immuntherapie auch für solche Krankheiten nutzbar zu machen. Ausweich- und Abwehrmechanismen zu überwinden und ein Überschießen der Immunantwort zu kontrollieren setzt ein besseres Verständnis der Interaktionen zwischen regulatorischen Zellen und Effektorzellen voraus. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf der Interaktion zwischen den antigenpräsentierenden dendritischen Zellen (DC) und den spezifischen Effektor- und Memory-T-Zellen. Wenn die Wirksamkeit der Zelltherapie im Tiermodell erwiesen ist, müssen für die therapeutische Anwendung arzneimittelgerechte Verfahren zur Herstellung der Zellen entwickelt werden.

**Zelluläre Interaktionen** Die hochkomplexen und dynamischen Interaktionen, die zu Aktivierung und Inaktivierung der zellulären Immunantwort führen, finden besonders in spezialisierten Organen statt (z.B. in Lymphknoten, Milz und im lymphatischen Gewebe der Schleimhäute). Für die gleichzeitige Darstellung verschiedener Zelltypen und die dreidimensionale Rekonstruktion lymphatischer Organe haben wir Färbeprotokolle und Software-Tools entwickelt. Das dynamische Verhalten in normalem und infiziertem Gewebe wird mit Hilfe konfokaler Laserscanningmikroskopie analysiert, Zell- und Gewebsstrukturen mit Elektronenmikroskopie (M. Rohde und H. Lünsdorf, HZI).

**Funktionelle Analyse in Mausmodellen:** Um den Einfluss der verschiedenen Zellen auf die Immunantwort zu verstehen, haben wir ein transgenes Mausmodell etabliert, das eine detaillierte Untersuchung der Immunantwort gegen das Modellantigen erlaubt. Die Mäuse wurden mit adeno-viral modifizierten dendritischen Zellen, die Antigenvarianten exprimierten, und spezifischen T-Zellen behandelt. Dendritische Zellen waren nur dann in der Lage die Toleranz gegen das Modellantigen zu durchbrechen und eine spezifische Immunantwort auszulösen, wenn T-Zellen mit entsprechenden antigenspezifischen Rezeptoren vorhanden waren.

**Humane Zellen für die Therapie:** Für die reproduzierbare, flexible und GMP-konforme Herstellung von genetisch modifizierten autologen dendritischen Zellen haben wir ein Verfahren mit Zellkulturbeuteln etabliert. Von der Abnahme der Patientenzellen durch Apherese über Zellisolierung, Differenzierung, adenoviralen Gentransfer und Ausreifung bis zum eingefrorenen Endprodukt bleibt das Kultursystem



Beschichtung von Beuteloberflächen mit dem Atmosphärendruck-Plasmaverfahren. Oben: Beutel vor der Beschichtung, unten: Beutel während der Beschichtung, Lichtaussendung durch Plasma. Foto: HZI

komplett geschlossen. Bisher nur für die Kultivierung nicht adhärenter Zellen geeignet, konnten wir gemeinsam mit dem Fraunhofer Institut für Schicht- und Oberflächentechnik, Braunschweig, und anderen Partnern (<http://www.vdivde-it.de/innonet/>) die Beutel optimieren. Dielektrische Barrierenentladung (s. Abb.) verändert die Beuteloberfläche, so dass auch adhären wachsende Zellen, z.B. immunregulatorische MSC, in einem Beutelsystem kultivierbar sind. Dies könnte zahlreiche weitere Anwendungen im Bereich der Immuntherapie oder der regenerativen Medizin ermöglichen.

Ma,B., Zimmermann,T., Rohde,M., Winkelbach,S., He,F., Lindenmaier,W., & Dittmar,K.E.J.\*. (2007) Use of autostitch for automatic stitching of microscope images. *Micron* 38, 492-499.

Ma,B., Lin,Z., Winkelbach,S., Lindenmaier,W., & Dittmar,K.E.J.\*. (2008) Automatic registration of serial sections of mouse lymph node by using Image-Reg. *Micron* 39, 387-396.

Spanholtz,T., Maichle,A., Niedworok,C., Stoesselhuber,B.M., Kruger,S., Wedel,T., Aach,T., Middeler,G., Hellwig-Burgel,T., Bader,A., Krenzel,S., Muller,O.J., Franz,W.M., Lindenmaier,W., & Machens,H.G. (2009) Timing and targeting of cell-based VEGF165 gene expression in ischemic tissue. *Journal of Surgical Research* 151, 153-162.



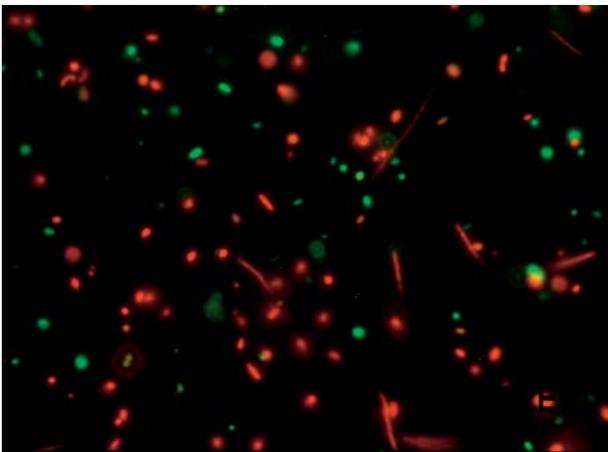
## 04.8 Molekulare Diagnostik mikrobieller Krankheitserreger

PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Manfred Höfle | Molekulare Diagnostik mikrobieller Krankheitserreger | mho@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Ingrid Brettar | Dr. Erika Harth Chu | Joesphin Draheim | Karsten Henne | Leila Kalisch

Die molekulare Diagnostik mikrobieller Krankheitserreger (Pathogene) stellt ein neues Teilgebiet im Topic „Prävention und Therapie“ dar. Im Fokus stehen dabei Bakterien und Viren aus der Umwelt und die Frage nach den Prozessen, die diese Pathogene in der natürlichen und der anthropogenen Umwelt beeinflussen. Oft sind von Menschen geschaffene Einrichtungen, wie Kläranlagen, Trinkwasserversorgungssysteme und Krankenhäuser, ein entscheidendes Reservoir für infektiöse Bakterien. Im Projekt untersuchen wir derzeit Trinkwasserversorgungssysteme vom Ursprung bis zum Wasserhahn. Wir konzentrieren uns auf drei Hauptfragen: 1) Wie wirkt sich der Jahreszeitenverlauf auf die Trinkwassermikroflora aus, 2) Welcher Teil der Trinkwassermikroflora ist nach der Chlorierung noch lebensfähig und 3) Welche spezifischen Pathogene kommen im Trinkwasserversorgungssystem vor, und wie werden sie durch Chlorierung und jahreszeitlichen Verlauf beeinflusst.

**Bakterielle Pathogene im Wasser** Die Hauptursache für unser eingeschränktes Wissen über Bakterien im Trinkwasser ist der unsichere Nachweis durch konventionelle, kulturabhängige Techniken. Nahezu alle im öffentlichen Gesundheitswesen angewandten Überwachungssysteme basieren auf diesen konventionellen Nachweismethoden. Auch befinden sich viele pathogene Erreger der Umwelt in einem so genannten VBNC-Zustand (lebend aber nicht kultivierbar) und können, obwohl sie infektiös sind, durch herkömmliche Methoden nicht ermittelt werden. Um diese Einschränkung zu umgehen und Bakterien ohne vorherige Kultivierung detektieren zu können, wurde deshalb im



Epifluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Trinkwassermikroflora nach Färbung mit dem Live/Dead BacLight Kit (Molecular probes, Invitrogen). In Grün: lebende Zellen, in Rot: geschädigte oder tote Zellen. Foto: HZI

letzten Jahrzehnt aus Umweltproben extrahierte DNA zur direkten Probenanalyse eingesetzt. Der saisonale Zyklus des Trinkwasserversorgungssystems der Stadt Braunschweig wurde über einen Zeitraum von 2 Jahren mit Hilfe eines Nukleinsäure- (DNA/RNA)-basierten Ansatzes untersucht. Unter Verwendung von SSCP *community-fingerprints* wurde gezeigt, dass saisonale Veränderungen in der gesamten Zusammensetzung der Trinkwassermikroflora auftraten. Einige Spezies kamen dabei nur im Sommer oder im Winter vor; viele der bakteriellen Schlüsselspezies (mehrheitlich unkultivierte Bakterien) blieben allerdings konstant. Die Ermittlung des lebend/tot-Status der Trinkwassermikroflora durch Fluoreszenzfarbstoffe zeigte, dass etwa 50% aller Zellen nach der Chlorierung noch am Leben waren (siehe Bild). SSCP-*fingerprints* der lebenden Bakterien zeigten, dass diese Fraktion im Jahresverlauf in ihrer Zusammensetzung relativ konstant blieb. Zudem konnten zwei pathogene Bakteriengattungen in mehreren Teilen des Trinkwasserversorgungssystems nachgewiesen werden: *Legionella* und *Helicobacter*.

**Bakterielle Pathogene in Lebensmitteln** Nahrung ist neben Wasser ein weiterer wichtiger Infektionspfad. *Vibrio parahaemolyticus* ist ein Nahrungsmittelpathogen, das hauptsächlich durch den Genuss von rohen Muscheln erworben wird. Es bewirkt schwere Durchfallerkrankungen in dem Pazifik angrenzenden Ländern wie z.B. Japan, Chile und Peru. Wir haben eine *Multi-Loci Variable Number of Tandem Repeat-Analytik* (MLVA) entwickelt, mit der eine Hochdurchsatzanalyse von klinischen und Umweltisolaten von *V. parahaemolyticus* möglich ist. Die Methode wurde mit verschiedenen Stämmen von *V. parahaemolyticus* aus Klinik und Umwelt validiert. Wir konnten zeigen, dass diese hochauflösende Genotypisierungsmethode eine Unterscheidung der wichtigsten, sogar pandemischen Klone ermöglicht. Dieses neue Diagnostikwerkzeug ermöglicht den schnellen Nachweis von *V. parahaemolyticus*-Klonen. Es leistet damit einen wertvollen Beitrag zur Prävention von Lebensmittelinfektionen mit pandemischem Potenzial.

Brettar, I., Guzmán, C.A. & Höfle, M.G. (2007) Human pathogenic micro-organisms in the marine environment - an ecological perspective. CIESM Reports No. 31, Marine Sciences and public health - some major issues. Geneva, September 2006, p. 59-68. (<http://www.ciesm.org/online/monographs/Geneva.html>)

Höfle, M.G. & Brettar, I. (2007) Ein molekularbiologischer Blick in unser Trinkwasser - Mikrobielle Diagnostik für Umweltproben. *Bioforum* 3, 2-4

Brettar, I. & Höfle, M.G. (2008) Molecular assessment of bacterial pathogens - a contribution to drinking water safety. *Current Opinion in Biotechnology* 19, 274-280

Henne, K., Kahlisch, L., Draheim, J., Brettar, I. & Höfle, M.G. (2008) Polyvalent fingerprint based molecular surveillance methods for drinking water supply systems. *Water Practice & Technology: Water Supply - WSTWS* 8(5), 531-536



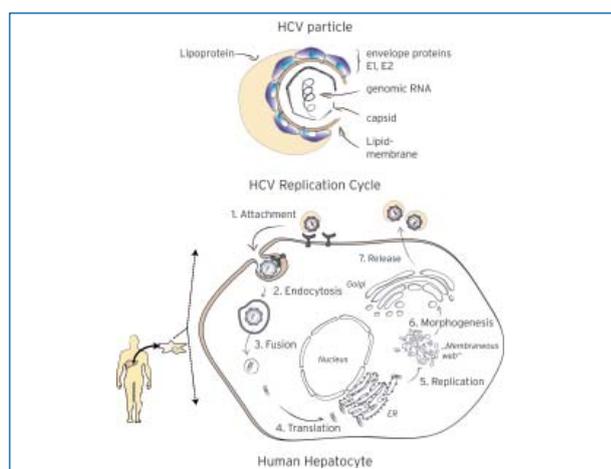
## 04.9 Molekulare Infektions- und Replikationsmechanismen des Hepatitis-C-Virus

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Thomas Pietschmann | Twincore – Abteilung für Experimentelle Virologie | tpi07@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Eike Steinmann | Dr. Nicolas Menzel | Dr. Sandra Ciesek | Christiane Brohm | Julia Bitzegeio | Juliane Gentsch | Sibylle Haid | Martina Friesland | Dorothea Bankwitz | Ilka Wappler

Das Hepatitis-C-Virus (HCV) ist ein sehr variables RNA Virus, das eine chronische Infektion verursacht, die mit schweren Leberschäden einhergeht. In Anbetracht von weltweit etwa 130 Millionen chronisch infizierten Menschen und alleine in Deutschland ca. 500.000 HCV Virusträgern, ist die HCV Infektion eine der Hauptursachen für Lebererkrankungen. Zurzeit stehen weder therapeutische noch prophylaktische Impfstoffe zur Verfügung. Darüber hinaus ist die auf Interferon basierende antivirale Therapie durch eine unzureichende Ansprechrate und starke Nebenwirkung gekennzeichnet. Klinische Tests mit HCV-Enzyminhibitoren haben gezeigt, dass Resistenzmutationen die Wirksamkeit dieser antiviralen Substanzen einschränken. Daher werden dringend neue Substanzen mit antiviraler Wirkung, anderer Wirkungsweise und genotypübergreifender Aktivität benötigt, um eine Kombinationstherapie zur effektiven Kontrolle der Virusreplikation und Resistenz zu implementieren.

**Charakterisierung der Virus-Wirt-Interaktionen** Durch eine Analyse der Voraussetzungen für die HCV-Replikation und -Infektion in menschlichen Zellen haben wir begonnen, wichtige molekulare Interaktionen zwischen viralen Proteinen und Wirtsfaktoren zu untersuchen. Auf diese Weise sollen neue Medikamentenzielstrukturen ermittelt und Screening-



Schematische Darstellung des Viruspartikels und des HCV Replikationszyklus. Die Interaktion des HCV mit Rezeptoren auf der Zelloberfläche führt zur Aufnahme des Virus in die Wirtszelle. Das Virusgenom gelangt mit Hilfe eines durch einen niedrigen pH-Wert ausgelösten Fusionsprozesses in das Zytoplasma der Zelle. Dort etablieren virale Proteine membrangebundene Replikase Komplexe, die das HCV Genom vermehren. Nachkommenviren werden an intrazellulären Membranen aufgebaut und aus der Zelle geschleust.

tests zur Identifizierung von Molekülen implementiert werden, durch die sich diese Interaktionen verhindern lassen.

Wie alle Viren ist auch HCV ein rein intrazellulärer Parasit, der sich nur in permissiven Wirtszellen vermehren kann. Durch seine einfache genetische Struktur und die begrenzte Kodierungsfähigkeit hängt die Vermehrung des HCV stark von Proteinen und molekularen Maschinen der Wirtszelle ab. Einerseits vermittelt ein präzise abgestimmtes Zusammenspiel zwischen viralen Proteinen und Wirtszellfaktoren die Vermehrung in permissiven Zellen; andererseits verhindert das Fehlen entscheidender Wirtsfaktoren die Ausbreitung des Virus auf andere Gewebe oder Spezies und bestimmt so den viralen Tropismus. Ein besonderes Augenmerk legen wir auf die Charakterisierung solcher Faktoren, die den engen Tropismus des HCV bedingen. Wir verwenden diesen Ansatz, um die wesentlichen Mechanismen der Virus-Wirt-Interaktion zu ermitteln und um einen Beitrag zur Entwicklung von Kleintiermodellen für die Analyse der Replikation und Pathogenese des Virus zu leisten (weitere Abb. s. S. 131).

### Identifizierung von neuartigen antiviralen Substanzen

Zusammen mit der Abteilung Chemische Biologie entwickeln wir unter Verwendung der Substanzbibliothek des HZI zellbasierte Hochdurchsatz-Screening-Systeme zur Identifizierung HCV-spezifischer Inhibitoren. Wichtig ist, dass der Test so aufgebaut ist, dass der komplette virale Replikationszyklus untersucht wird. So können prinzipiell Wirkstoffe identifiziert werden, die ein virales oder zelluläres Ziel blockieren und mit jeder beliebigen Phase des viralen Lebenszyklus interferieren. Wir haben einen dualen Reporter-Gen-Test entwickelt, mit dem die Messung der HCV-Replikation, Infektion und Virusproduktion in kultivierten Hepatomzellen parallel zur Lebensfähigkeit der Zelle möglich ist. Durch diesen Aufbau kann man spezifische Hemmungen des HCV von einer indirekten Blockade der Virusvermehrung durch Zytotoxizität unterscheiden. Die beim Screening identifizierten Leitstrukturen werden hinsichtlich ihrer Art der Inhibition und der angesprochenen Zell- oder Viruszielstruktur charakterisiert. Die Kenntnis der Wirkmechanismen soll die weitere Entwicklung für die klinische Anwendung erleichtern und unser Verständnis der HCV-Replikationsmechanismen verbessern.

Steinmann,E., Penin,F., Kallis,S., Patel,A.H., Bartenschlager,R., & Pietschmann,T. (2007) Hepatitis C Virus p7 Protein Is Crucial for Assembly and Release of Infectious Virions. *PLoS Pathogens* 3, e103.

Pietschmann,T., Kaul,A., Koutsoudakis,G., Shavinskaya,A., Kallis,S., Steinmann,E., Abid,K., Negro,F., Dreux,M., Cosset,F.L. & Bartenschlager,R. (2006) Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103, 7408-7413.

Wakita,T., Pietschmann,T., Kato,T., Date,T., Miyamoto,M., Zhao,Z., Murthy,K., Habermann,A., Krausslich,H.G., Mizokami,M., Bartenschlager,R. & Liang,T.J. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nature Medicine* 11, 791-796.



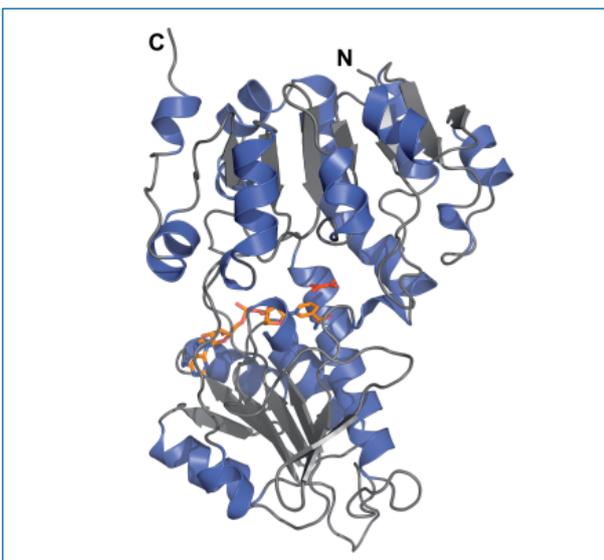
## GENOM- UND GESUNDHEITSFORSCHUNG

PROGRAMMSPRECHER | Prof. Dr. Dirk Heinz | Bereich Strukturbiologie | [dirk.heinz@helmholtz-hzi.de](mailto:dirk.heinz@helmholtz-hzi.de)

Krankheiten sind häufig das Ergebnis des komplexen Wechselspiels zwischen Genen und Umweltfaktoren. Neben genetisch bedingten Defekten oder Erbanlagen tragen insbesondere Faktoren wie Alter, Lebensweise und Umweltbelastungen zu Krankheitsprozessen bei. Genomweite Untersuchungen und vertiefte Analysen der genetischen Information sind daher unverzichtbare Elemente, um die Beziehungen zwischen Genotyp und Phänotyp verstehen zu lernen und zu prognostischen und diagnostischen Zwecken in der Gesundheitsvorsorge zu nutzen. Von besonderer Bedeutung ist weiterhin die Funktion einzelner Gene in der Zelle, ihre Wechselwirkungen in Zellverbänden und zellulären Netzwerken, ihre epigenetische Steuerung, sowie ihre Regulation auf der Ebene der Translation.

In der vergleichenden Genomforschung werden modellgestützte experimentelle Verfahren mit informationsgestützten Computerverfahren und theoriebasierten Dateninterpretationen verbunden. Diese Techniken kommen u. a. bei der detaillierten Annotation vollständiger Bakteriengenome und dem Vergleich klinischer Isolate des humanpathogenen Bakteriums *Mycobacterium tuberculosis* zur Anwendung.

Zudem werden die spezifischen Wechselwirkungen zwischen Genprodukten, d.h. Proteinen und ihren Liganden, über chemisch-synthetische Ansätze untersucht. Hier führen das Design und die Herstellung synthetischer Mimetika mit diskontinuierlichen Bindungsstellen zu neuartigen Inhibitoren, die z. B. Wechselwirkungen zwischen Viren und Wirtszellen unterbinden.



3D-Struktur der Alanin Dehydrogenase, eines der wichtigsten Zielmoleküle für die Entwicklung neuer Therapeutika gegen latente Tuberkulose. (*J. Mol. Biol.* 377:1161-1173 ) (s.S. 96)



## 01 Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen

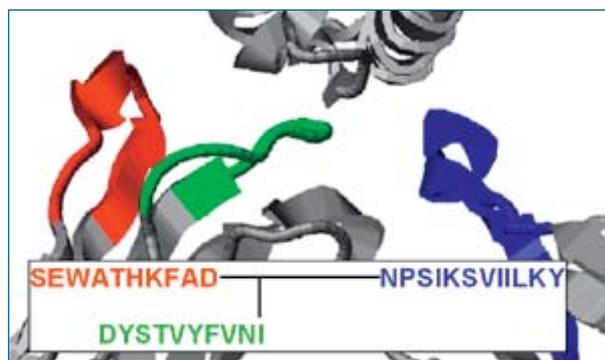
PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jutta Eichler | Arbeitsgruppe Konformationelle Protein-Ligand-Interaktionen | [jutta.eichler@medchem.uni-erlangen.de](mailto:jutta.eichler@medchem.uni-erlangen.de)

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Kalle Möbius | Enge Sudarman

Die spezifischen Wechselwirkungen von Proteinen mit ihren Liganden sind die molekulare Grundlage der durch Proteine vermittelten biologischen Prozesse. Die Erforschung dieser Interaktionen auf molekularer und atomarer Ebene ist ein wichtiger Schritt hin zur Modulation von Proteinfunktionen durch gezielte Beeinflussung der zugrundeliegenden Bindungsereignisse. Das Design und die Herstellung von Molekülen, die auf Grund ihrer molekularen Architektur konformationell definierte funktionelle und Bindungsstellen von Proteinen nachahmen können, ist eine vielversprechende Strategie für die Erforschung und das Verständnis von Proteinstruktur und -funktion. Neben ihrer grundlegenden wissenschaftlichen Bedeutung sind solche Bindungsstellen-Mimetika auch Kandidaten für verschiedene biomedizinische Anwendungen, insbesondere als Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen.

Die funktionellen und Bindungsstellen von Proteinen sind oft nicht in kurzen, kontinuierlichen Abschnitten der Aminosäuresequenz lokalisiert, sondern in sequenziell von einander entfernten Fragmenten, die erst durch Proteinfaltung in räumliche Nähe zueinander gebracht werden. Synthetische Mimetika solcher diskontinuierlicher Bindungsstellen sollten daher auch konformationell eingeschränkt und/oder sequenziell diskontinuierlich sein.

Dieses Konzept beruht auf der Verwendung zusammengesetzter und gerüstgestützter Peptide, in denen die Bindungsstellenfragmente der Proteine präsentiert werden. Wir haben eine Reihe von Synthesemethoden zur Herstellung strukturell diverser zusammengesetzter bzw. gerüstgestützter Peptide entwickelt und für die Herstellung synthetischer Mimetika der Bindungsstellen unterschiedlicher biomedizinisch relevanter Proteine angewendet. Beispielsweise von Interaktionsdomänen (hYAP WW- und Mena EVH1-Domäne) des Zytokinrezeptors gp130 sowie des viralen Hüllproteins HIV-1 gp120. Diese Moleküle werden nun auf ihre Fähigkeit getestet, die entsprechenden Protein-Ligand-Interaktionen auch in einem biologisch relevanten Kontext, etwa in zellbasierten Tests zu beeinflussen. Zur Erforschung der strukturellen Mimikry von Proteinbindungsstellen durch die synthetischen Mimetika untersuchen wir auch die Raumstruktur von Komplexen dieser Moleküle mit den entsprechenden Proteinliganden.



Synthetische Nachahmung der Bindungsstelle des Zytokinrezeptors gp130 für virales Interleukin-6 (vIL-6). Solche mimetischen Moleküle sind in der Lage, die Interaktion zwischen gp130 und vIL-6 sowie die vIL-6-induzierte Proliferation zytokinabhängiger gp130-exprimierender Zellen zu hemmen.

Eichler, J. (2008) Peptides as protein binding site mimetics. *Current Opinion in Chemical Biology* 12, 707-713.

Sudarman, E., Bollati-Fogolin, M., Hafner, M., Müller, W., Scheller, J., Rose-John, S. & Eichler, J. Synthetic Mimetics of the gp130 Binding Site for Viral Interleukin-6 as Inhibitors of the vIL-6 - gp130 Interaction. *Chemical Biology & Drug Design* 71, 494-500.

Taussig, M.J., et al (including Eichler, J., Frank, R.) Proteome Binders: planning a European resource of affinity reagents for analysis of the human proteome. *Nature Methods* 4, 13-17.



## 02 Erstellung und Nutzung von DNA-Sequenzdaten

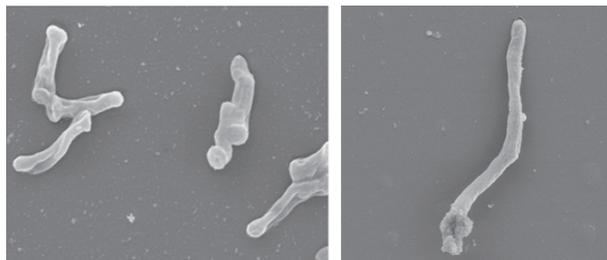
PROJEKTLEITER | Dr. Helmut Blöcker | Department of Genome Analysis | hbl@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Sabin Bhujii | Dr. Michael Böcher | Dr. Igor Deyneko | Ayssar Elamin | Michael Jarek | Yulia Kalybaeva | Dr. Rosa Martínez | Dr. Gabriele Nordsiek | Maren Scharfe | Dr. Oliver Schön | Prof. Dr. Mahavir Singh | Dr. Matthias Stehr

**Sequenzanalyseprojekte** Die Sequenzierung und Analyse der Primärstruktur von DNA ist eine Basistechnik der modernen biologischen Grundlagenforschung. Unsere Arbeit beinhaltet die vergleichende Sequenzanalyse von klinischen Isolaten aus pathogenen Organismen, wie z.B. *Mycobacterium tuberculosis*. Im Fokus stehen Gene, die an der Virulenz, Persistenz, Antibiotikaresistenz und Wirtspräferenz beteiligt sind.

Zurzeit führen wir eine vollständige Sequenzierung und Funktionsanalyse des Schimpansen-X-Chromosoms durch. Diese Studie führte zu einem niedrigeren Transitions-/Transversionsverhältnis (3,88), als zuvor geschätzt wurde (4,31). Wir haben Genombereiche vom Pferd, Schwein und Rind analysiert, die unter dem Verdacht stehen, krankheitsassoziiert zu sein. Zudem haben wir bakterielle Lebensgemeinschaften im Mäusedarm und den Einfluss der Ernährung auf die Zusammensetzung der Darmflora (Metagenomik) analysiert. Die ausführliche Annotation einer Reihe von Bakteriengenomen ist bereits erfolgt. Durch die Implementierung zweier DNA-Sequencer (Illumina/Solexa) der neuesten Generation, können wir genomanalytische Arbeiten sowohl quantitativ als auch qualitativ ausweiten. Für ein RNAi-Screening mit komplexen Bibliotheken, insbesondere negatives Selektionsscreening, haben wir das "Deep sequencing" zur Dekonvolution der shRNA in komplexen shRNA-Bibliotheken etabliert (mit der AG Zender).

**Mykogenome** Die durch *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) hervorgerufene Tuberkulose (TB) ist eine Krankheit, die weltweit jährlich etwa 2.000.000 Todesfälle verursacht. Im EU-Projekt „NEW TB DRUGS“ haben wir mehrere Zielstrukturen für die Therapie und Diagnose der latenten Tuberkulose und mehrfach-resistenter (MDR) Bakterienstämme analysiert. Die Alanin-Dehydrogenase (AlaDH) ist eine potenzielle Zielstruktur für neue TB-Medikamente. Als Grundlage für eine rationelle Wirkstoffentwicklung wurde die 3D-Struktur der AlaDH gelöst. Der Wirkstoffvorläufer Pyrazinamid (PZA, wird durch PZase aktiviert) ist eines der wichtigsten Medikamente für die Kurzzeit-Chemotherapie, da es auch bakterizid gegen dormante Erreger wirkt, und somit auch gegen latente Tuberkulose wirksam ist. Um eine PZA-Resistenz der Mtb-Stämme vorherzusagen, haben wir Mutationen in den PZase-Genen von über 100 klinischen Stämmen analysiert und mehrere neue Mutationen identifiziert, die zu einem Verlust der PZase-Aktivität führen. Im Rahmen des EU-Projektes „Fastest TB“ suchen wir nach neuen, für die TB-Diagnose geeigneten Antigenen. Einige werden zurzeit getestet. Weitere Probleme der Tuberkuloseforschung und Impfstoffentwicklung für armutsbedingte Krankheiten (PRD) werden im Rahmen der EU-Projekte



In *Mycobacterium smegmatis* führt die Überexpression von 85A (links) zur Änderung der Zellmorphologie gegenüber dem Wildtyp (rechts). Elektronenmikroskopische Aufnahme (SEM) von Manfred Rohde, Abt. Mikrobielle Pathogenität (MPAT). Foto: HZI, Rohde

„FAST-XDR-DETECT“ und „Transvac“ bearbeitet. Letzteres ist die europäische Plattform für Impfstoffentwicklung für HIV, TB und Malaria.

**Neuartige Bioinformatiktechnologie** Wir erproben weiterhin die Anwendungsmöglichkeiten der Signaltheorie auf die funktionsorientierte Analyse von Biomolekülen. Mit Hilfe physikalisch-chemischer Eigenschaften wollen wir Ähnlichkeiten, Homologien und Analogien ermitteln und die Ergebnisse im Nasslabor bestätigen. Die Software "FeatureScan" ist über <http://genome.helmholtz-hzi/featurescan> frei erhältlich. Unser System ermöglicht die Ermittlung merkmalsabhängiger Ähnlichkeiten auch dann, wenn buchstabenbasierte Vergleiche scheitern.

Bei der Analyse von Klonen aus dem Genom der *Salmonella typhimurium* (mit der AG Weiß) haben wir Promotoren und entsprechende Gene identifiziert, die in Dickdarmkrebszellen in hochregulierter Form vorliegen. Dabei wurde eine signifikante Tendenz in den Funktionsklassen der Gene beobachtet. Zurzeit läuft eine umfassende Analyse. Bei der Analyse des menschlichen Genoms haben wir nach sehr kleinen potenziellen Peptiden gesucht. Wir gehen davon aus, dass einige solcher kleinen Einheiten als Regulatoren in der Proteinmodifizierung oder als adaptive Bausteine funktionieren können. (weitere Abb. s.S. 94)

Whelan,A.O., Wright,D.C., Chambers,M.A., Singh,M., Hewinson,R.G., & Vordermeier,H.M. (2008) Evidence for enhanced central memory priming by live *Mycobacterium bovis* BCG vaccine in comparison with killed BCG formulations. *Vaccine* 26, 166-173.

Wang,Y., Bergmeier,L.A., Stebbings,R., Seidl,T., Whittall,T., Singh,M., Berry,N., Almond,N., & Lehner,T. (2009) Mucosal immunization in macaques upregulates the innate APOBEC 3G anti-viral factor in CD4(+) memory T cells. *Vaccine* 27, 870-881.

Wieten,L., Berlo,S.E., Ten Brink,C.B., van Kooten,P.J., Singh,M., van der,Z.R., Glant,T.T., Broere,F., & van,E.W. (2009) IL-10 is critically involved in mycobacterial HSP70 induced suppression of proteoglycan-induced arthritis. *PLoS ONE* 4, e4186.



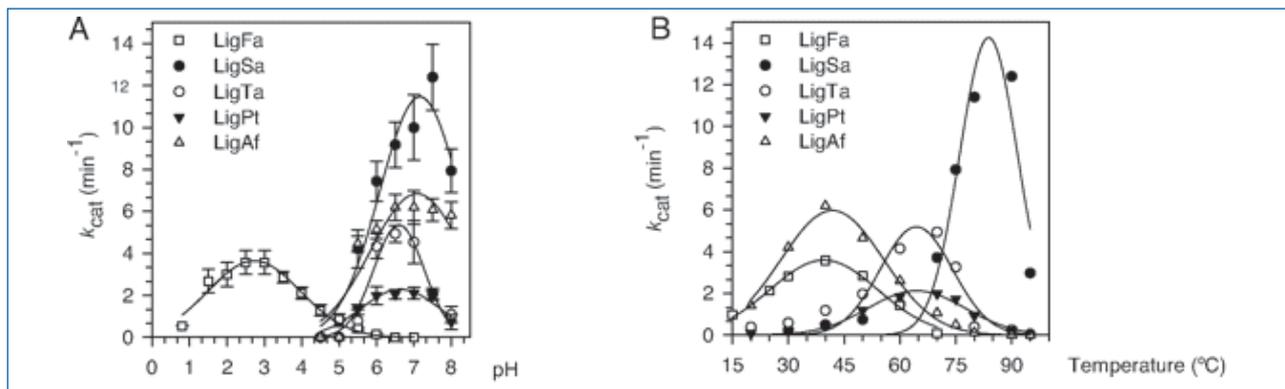
## GENE, UMWELT UND GESUNDHEIT

PROGRAMMSPRECHER | Dr. Wolf-Rainer Abraham | Arbeitsgruppe Chemische Mikrobiologie | wab@helmholtz-hzi.de

Mikroorganismen sind allgegenwärtig. Da sie weitaus extremere Umweltbedingungen tolerieren als höhere Organismen, definieren ihre Lebensräume auch die Biosphäre dieses Planeten. Mit ihren Aktivitäten haben Mikroorganismen großen Einfluss auf globale 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 Menschheit aus: Sie sind für die Mehrzahl der Krankheiten und Todesfälle verantwortlich, liefern Medikamente zur Behandlung von Krankheiten, und tragen entscheidend dazu bei, die Umwelt von organischen Abfallstoffen zu befreien. Die Biotechnologie bedient sich in weiten Bereichen der Mikroorganismen und ihrer Produkte. Um von den positiven Aspekten der Mikroorganismen stärker profitieren zu können und die negativen Auswirkungen so gering wie möglich zu halten, müssen wir erforschen, 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 in komplizierten, vielgestaltigen, dynamischen Lebensgemeinschaften. Deren Mitglieder treten untereinander in Wechselbeziehungen und nutzen auf komplexen Wegen gemeinsam die verfügbaren Ressourcen. Diese Wechselwirkungen und die Interaktionen mit anderen Lebewesen und unbelebten Bestandteilen der Umwelt bestimmen die Aktivität einer Lebensgemeinschaft. Allgemeine Erkenntnisse über solche Wechselbeziehungen besitzen wir bisher nicht.

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



Die Aktivität von LigFa und anderen untersuchten Ligasen in Abhängigkeit vom pH-Wert (Abb. 2 von K. N. Timmis' Beitrag, s. folgende Seite).



## 01 Mikroorganismenvielfalt

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Kenneth N. Timmis | Arbeitsgruppe Umweltmikrobiologie | kti@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Sagrario Arias Rivas | Dr. Mónica Bassas Galia | Agata Bielecka | Dr. Tatyana Chernikova | Dr. Thorben Dammeyer | Prof. Dr. Peter Golyshin | Dr. Olga Golyshina | Dr. Oleg Kotsyurbenko | Dr. Taras Nechitaylo | Dr. Gabriella Molinari | Olivier Ngatchou Djao | Dr. Daniela Näther | Dr. Andrew Oxley | Dr. Maria Ramos-Jerz | Kateryna Selezska | Dr. Johannes Sikorski | Dr. Dieco Würdemann | Montri Yasawong | Dr. Yu Bo

*Ferroplasma acidiphilum* ist eine azidophile Eisen(II)-oxidierende Mikrobe. Das Archaeon hat eine bemerkenswerte phylogenetische Position, spezielle physiologische Eigenschaften sowie geochemische und biotechnologische Bedeutung. Mit ihm lassen sich die Mechanismen der Säurebeständigkeit und, vermutlich am interessantesten, der evolutionäre Ursprung untersuchen. Mit einem pH-Optimum von 1,7 ist *F. acidiphilum* eine der am stärksten azidophilen Mikroben, die bis heute bekannt sind.

Enzyme aus *F. acidiphilum* haben *in vitro* ein niedriges pH-Aktivitätsoptimum. Durch Screening einer Genom-expressionsbibliothek von *F. acidiphilum* haben wir drei  $\alpha$ -Glukosidasen mit pH-Optima zwischen 1,5–3,5 entdeckt. Die Analyse dieser  $\alpha$ -Glukosidasen zeigte keine signifikante Ähnlichkeit mit bekannten Glykosidhydrolasen und deckte neuartige Mechanismen für die Glycosidierung und Transglycosidierung auf. Zudem ist Eisen für die Aktivität dieser Enzyme notwendig.

Zelluläre Vorgänge von *F. acidiphilum* sind von dem Eisen-Protein geprägt: eine genomweite Analyse zeigte, dass 86% der *F. acidiphilum*-Proteine Eisenmetallproteine sind. Viele dieser Proteine sind „Housekeeping“-Proteine, die normalerweise kein Eisen enthalten, und in den meisten Fällen auch keine anderen Metallionen. Eine Quantifizierung des Metallgehalts einzelner Polypeptide hat gezeigt, dass Eisen in Proteinen von *F. acidiphilum* auf spezifische Weise gebunden ist. Eisen ist maßgeblich für die Aufrechterhaltung der dreidimensionalen Proteinstruktur und somit der Aktivität der Proteine von *Ferroplasma* verantwortlich - eine Funktion, die wir als „Eisenniet“ bezeichnen. *F. acidiphilum* verfügt über einen einzigartigen Eisen-Protein-dominierten Zellmechanismus und eine einzigartige biochemische Phylogenie.

Die DNA-Ligase von *Ferroplasma* hat das niedrigste pH-Wertoptimum aller Ligasen (2,5-3,0). Gereinigte DNA-Ligase (LigFa) von *Ferroplasma* hat eine tiefpurpurne Farbe (Abb. 1) und enthält zwei Eisen(III)-Zentren. Das sind einzigartige Eigenschaften für einen Organismus. Mit der Erhöhung des pH-Werts der Enzymlyösung kommt es gleichzeitig zu einer Verminderung der Aktivität (Abb. 2, s.S.97), zum Eisenverlust und zum Verlust der tiefroten Färbung (Abb. 1). Die Reduzierung der Eisen(III)-Atome zu Eisen(II)-Atomen führt zu einer 80%igen Verringerung der katalytischen Aktivität

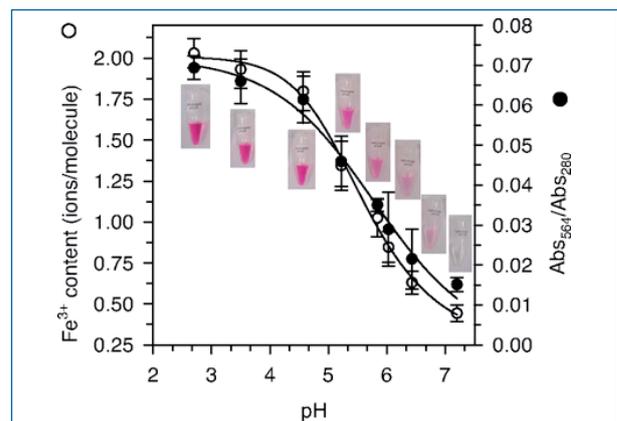


Abb. 1. Der Eisen (III)-Gehalt, die Purpurfarbe und ein niedriges pH-Aktivitätsoptimum sind miteinander verbundene Charakteristika von LigFa.

sowie der DNA-Substratbindung, und zur Verschiebung des pH-Aktivitätsoptimums (5,0) zum neutralen Milieu. Der Eisengehalt und das niedrige pH-Wertoptimum sind daher miteinander gekoppelte Funktionen bei diesem Protein, das an der Organisation und Stabilisierung der 3-D-Struktur beteiligt ist.

Durch die besonderen Eigenschaften der LigFa und einiger anderer *Ferroplasma*-Proteine, die zur Zeit untersucht werden, und damit auch aufgrund des weitgehend einzigartigen, Eisen-Protein-dominierten Stoffwechselmechanismus von *F. acidiphilum* ergibt sich ein Potential für neue biotechnologische Anwendungen, neue Einsichten in den Mechanismus der Säureverträglichkeit von Organismen und, was besonders interessant ist, für neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Evolution des Lebens in der Urzeit und dessen mögliche Entstehung auf Flächen, die reich an Eisen und Schwefel sind.

Ferrer,M., Golyshina,O.V., Beloqui,A., Golyshin,P.N. & Timmis,K.N. (2007) The cellular machinery of *Ferroplasma acidiphilum* is iron-protein-dominated. *Nature* **445**, 91-94.

Ferrer,M., Golyshina,O.V., Beloqui,A., Böttger,L.H., Andreu,J.M., Polaina,J., De Lacey,A.L., Trautwein,A.X., Timmis,K.N. & Golyshin,P.N. (2008) A purple acidophilic di-ferric DNA ligase from *Ferroplasma*. *Proceedings of the National Academy of Sciences the USA* **105**, 8878-8883.

Hallsworth,J.E., Yakimov,M.M., Golyshin,P.N., Gillion,J.L.M., D'Auria,G., de Lima Alves,F., La Cono,V., Genovese,M., McKew,B.A., Hayes,S.L., Harris,G., Giuliano,L., Timmis,K.N. & McGenity,T.J. (2007) Limits of life in MgCl<sub>2</sub>-containing environments: chaotropy defines the window. *Environmental Microbiology* **9**, 801-813.



## 02 Metabolische Vielfalt

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

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Howard Junca | Dr. Ramiro Vilchez | Macarena Marin | Dr. Hannes Nahrstedt | Dr. Melissa Wos

**Projekt Metabolische Diversität** Ziel des Projekts ist ein Verständnis der Funktion mikrobieller Lebensgemeinschaften unter *in-situ*-Bedingungen. Hierbei konzentrieren wir uns auf mit dem Menschen assoziierte Gemeinschaften und Interaktionen mit Pathogenen, basierend auf Kenntnissen und Methoden, die im Rahmen der Charakterisierung mikrobieller Gemeinschaften in kontaminierten Umwelten gewonnen wurden.

**Von Stämmen zu Gemeinschaften** Substituierte Furanone sind natürliche Produkte, die Moleküle des *Quorum Sensing*, entsprechende Inhibitoren und eine Vielzahl sekundärer Pflanzenmetabolite umfassen, aber auch zentrale Zwischenprodukte des mikrobiellen Aromatenstoffwechsels darstellen. Wir konnten nun erstmalig die Funktion eines Proteins einer bisher nicht charakterisierten Proteinfamilie nachweisen. Diese metallabhängige Hydrolase des Stammes *Pseudomonas reinekei* MT1 katalysiert die Umwandlung von Lactonen des Aromatenstoffwechsels.

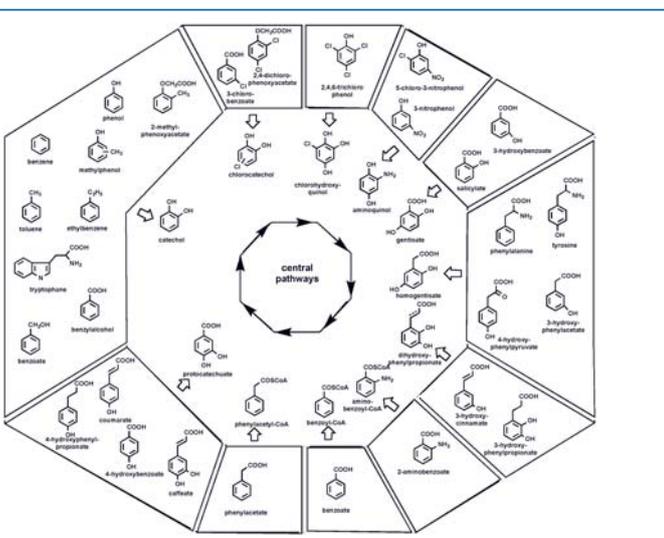
Die Verfügbarkeit vollständiger Genomsequenzen ermöglicht die rationale Nutzung von mikrobiellen Fähigkeiten. Wir haben nun die durch *in-silico*-Analyse vorhergesagten mit den aktuellen Abbaueigenschaften des Stammes *Cupriavidus necator* JMP134 aber auch von *Bordetella petrii* verknüpft und hierdurch neue Erkenntnisse über das metabolische Netz in einzelnen bakteriellen Spezies gewonnen. Genarrays zur schnellen Kontrolle der Diversität und Anzahl

katabolischer Gene wurden erfolgreich entwickelt. Hierdurch konnte das Vorkommen spezifischer Dioxygenasen in kontaminierten Umwelten nachgewiesen werden. Dieses wurde durch genetische Fingerprintmethoden sowie einen „metagenomischen“ Ansatz verifiziert. Diese Analysen ergaben ein neuartiges Bild der katabolischen Diversität in kontaminierten Umwelten, da nach kultivierungsabhängigen Studien als wichtig vermutete Unterfamilien von Genen nicht beobachtet wurden. Die Analyse der Genprodukte wies auf komplementäre metabolische Fähigkeiten und eine gemeinsame Nutzung der Kohlenstoffressourcen durch die Wirte der entsprechenden Gene hin und ergab somit neue Erkenntnisse über Nahrungsnetze in komplexen Gemeinschaften.

**Mit dem Menschen assoziierte Gemeinschaften** Gallengangstents sind Katheter, die eingesetzt werden, um Blockierungen des Gallengangs zu beheben. Typischerweise verstopfen diese wiederum durch Biofilme und müssen dann ausgetauscht werden. Unsere Arbeiten ergaben ein detailliertes Bild über die Identität der Organismen, die diese Biofilme bilden, ihre Ko-Besiedlungseigenschaften und die Variation in der Zusammensetzung in Abhängigkeit von Patient und Hospital.

Die Nasenhöhlen stellen das Hauptreservoir für *Staphylococcus aureus* im Menschen dar. Die Übertragung erfolgt durch direkten Kontakt mit Trägern. Es ist jedoch erstaunlich wenig über die Zusammensetzung der nasalen mikrobiellen Gemeinschaft und Interaktionen zwischen deren Mitgliedern bekannt. Wir haben jetzt diese Zusammensetzung in mehreren Individuen aufgeklärt.

Zudem untersuchen wir, inwieweit genetische Faktoren oder die Ernährung die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften, z.B. im Darm beeinflussen, und wollen klären, ob solche Änderungen die Anfälligkeit gegenüber Infektionen beeinflussen. Um die mikrobielle Gemeinschaft des Menschen darzustellen, haben wir die Effektivität ihrer Etablierung in keimfreien Mäusen und Ratten quantifiziert. Vergleiche zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Wirten, erlauben aber nun eine detaillierte Untersuchung in spezifischen genetischen Hintergründen und unter verschiedenen Umwelteinflüssen.



*Überblick über Abbaufähigkeiten von C. necator* JMP134 für aromatische Verbindungen. Aromatische Verbindungen werden durch eine Vielzahl peripherer Reaktionen zu zentralen Zwischenprodukten umgewandelt, die wiederum durch zentrale Abbauewege zu Intermediaten des Tricarbonsäurezyklus umgewandelt werden.

Pérez-Pantoja, D., De la Iglesia, R., Pieper, D.H. & González, B. (2008) Metabolic reconstruction of aromatic compounds degradation from the genome of the amazing pollutant-degrading bacterium *Cupriavidus necator* JMP134. *FEMS Microbiology Reviews* **32**, 736-794

Cámara, B., Marín, M., Schlömann, M., Hecht, H.J., Junca, H. & Pieper, D.H. (2008) trans-Dienelactone hydrolase from *Pseudomonas reinekei* MT1, a novel zinc-dependent hydrolase. *Biochemical Biophysical Research Communications* **376**(2), 423-428

Gross, R., Guzman, C.A., Sebahia, M., Martins dos Santos, V.A.P., Pieper, D.H., Koenig, R., Lechner, M., Bartels, D., Buhrmester, J., Choudhuri, J.V., Ebensen, T., Gaigalat, L., Herrmann, S., Larisch, C., Link, S., Linke, B., Meyer, F., Mormann, S., Nakunst, D., Rückert, C., Schneiker-Bekel, S., Schulze, K., Vorhölter, F.J., Yevsa, T., Engle, J.T., Goldman, W.E., Pühler, A., Göbel, U.B., Goesmann, A., Blöcker, H., Kaiser, Ö. & Martínez-Arias, R. (2008) The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetellae*. *BMC Genomics* **9**, 449



## 03 Biofilm-Lebensgemeinschaften in Umwelt und Gesundheit

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

PROJEKTMITARBEITER | Andreia B. Estrela | Ahmed Gebreil | Marcela G. Heck | Dr. Heinrich Lünsdorf | Dr. Alexandre J. Macedo | Dr. Sonja Pawelczyk | Esther Surges

Dieses Projekt verfolgt das Ziel, Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen in Biofilmen als Funktionseinheiten besser zu verstehen und durch Erkundung der Artenvielfalt von Mikroben und deren Zusammenwirken neue Wege zu ihrer Kontrolle zu finden. Mit unseren Forschungsarbeiten wollen wir das Wissen über mikrobielle Lebensgemeinschaften in der Umwelt mit Untersuchungen klinischer Biofilm-Gemeinschaften verbinden.

**Stoffflüsse in einem mikrobiellen Konsortium ...** Das Wissen, welche Bakterien in einer mikrobiellen Gemeinschaft vorkommen, reicht gewöhnlich nicht aus, die Aktivitäten dieser Gemeinschaft zu verstehen. Ein wichtiger Schritt zur Beantwortung der Frage, wer welche Aufgabe in der Gemeinschaft hat, ist die Untersuchung der Nutzung des Substrates durch die unterschiedlichen Bakterienarten. Wir haben dazu ein Verfahren optimiert, welches mit dem stabilen, also nicht-radioaktiven Kohlenstoff-Isotop  $^{13}\text{C}$  arbeitet. Hierzu werden der Gemeinschaft  $^{13}\text{C}$ -markierte Substrate zugesetzt und der Einbau der Markierung in Biomoleküle, hier Fettsäuren, untersucht. Fettsäuren wurden deshalb gewählt, weil diese zur Unterscheidung einzelner Bakterienarten benutzt werden können. Da dies nicht immer der Fall ist, haben wir eine Methode entwickelt, bei der einzelne Bakterienarten über spezifische Antikörper gefärbt werden. Die so gefärbten Bakterien werden in einem Zellsortier von den nicht gefärbten Bakterien abgetrennt. Es ist uns gelungen, die Analytik der Isotopenmarkierung so empfindlich zu machen, dass wir noch 100 Millionen Bakterienzellen auf ihren Einbau der  $^{13}\text{C}$ -Isotopen untersuchen können. Das Sortierverfahren ist deutlich schneller als die bisher verwendeten Methoden und so konnten wir nicht nur die Einbauraten des Substrates in die Fettsäuren, sondern auch die Geschwindigkeit des Einbaus



An der Oberfläche eines mit Teerprodukten belasteten Baches bei Waldau hat sich ein weißer Biofilm gebildet, der aus einer Gemeinschaft vieler unterschiedlicher, schadstoffabbauender Bakterien besteht Foto: HZI, Abraham

bestimmen. In einer Schadstoff-abbauenden, mikrobiellen Gemeinschaft konnten wir zeigen, dass Zwischenprodukte, die für eine Bakterienart giftig sind, von einer anderen genutzt und so entgiftet werden. Interessanterweise zeigten sich dabei deutliche Unterschiede in der Geschwindigkeit und der Stärke des Einbaus der Markierung in den verschiedenen Bakterienarten, die die Toleranz der Gemeinschaft gegenüber hohen Schadstoffkonzentrationen erklären können.

**... und in komplexen bakteriellen Gemeinschaften** Dieses Wissen wurde angewandt, um Interaktionen in komplexen mikrobiellen Gemeinschaften zu untersuchen. Die Studien zum Schicksal des Methans in Reisfeldern und in der sibirischen Tundra wurden fortgesetzt. Hier analysierten wir Proben des Max-Planck-Instituts für terrestrische Mikrobiologie in Marburg auf den Einbau des stabilen Isotops  $^{13}\text{C}$  aus Methan und konnten so zum Verständnis des Flusses dieses schädlichen Klimagases in der Umwelt beitragen. Die Aufforstung von Grasland wird als ein Mittel propagiert, um den  $\text{CO}_2$ -Gehalt der Erdatmosphäre durch erhöhte Biomasseproduktion zu binden. Innerhalb derselben Kooperation konnte nun gezeigt werden, dass die mikrobiellen Gemeinschaften beim Abbau des Methans in aufgeforsteten Gebieten in der sibirischen Tundra nicht an Aktivität verlieren. Trotzdem aber wird dreimal weniger Methan abgebaut als im Grasland. Wir konnten zeigen, dass die Ursache dafür der Rückgang der Methan-abbauenden Bakterien bei den aufgeforsteten Gebieten ist. Insgesamt ist die Kohlenstoffbilanz bei der Aufforstung positiv, da die Zunahme der Fixierung des Kohlendioxids die Reduktion des Methanabbaus bei weitem überwiegt.

Um die  $\text{CO}_2$ -Fixierung ging es auch bei einem ganz anderen Habitat, nämlich der Ostsee. Hier konnten wir in Zusammenarbeit mit der Universität Rostock nachweisen, dass in der tiefen Ostsee beim Übergang vom sauerstoffhaltigen zu sauerstofflosem Wasser eine signifikante Fixierung des Kohlendioxids durch Bakterien erfolgt. Die Messung des  $^{13}\text{C}$ -Isotopengehalts der Fettsäuren von Bakterien entlang dieses Gradienten erlaubte uns abzuschätzen, dass etwa  $\frac{1}{4}$  des Kohlenstoffs aus dieser  $\text{CO}_2$ -Fixierung kommt. Unseres Wissens ist es uns hier erstmalig gelungen, solche Effekte unmittelbar an Umweltproben zu zeigen.

Shrestha, M., Abraham, W.-R., Shrestha, P.M., Noll, M. & Conrad, R. (2008) Activity and composition of methanotrophic bacterial communities in planted rice soil studied by flux measurements, analyses of pmoA gene and stable isotope probing of phospholipid fatty acids. *Environmental Microbiology* 10, 400-412.

Glaubitz, S., Lueders, T., Abraham, W.-R., Jost, G., Jürgens, K. & Labrenz, M. (2009)  $^{13}\text{C}$ -isotope analyses reveal that chemolithoautotrophic Gamma- and Epsilon-proteobacteria feed a microbial food web in a pelagic redoxcline of the central Baltic Sea. *Environmental Microbiology* 11(2), 326-337

Menyailo, O.V., Hungate, B.A., Abraham, W.-R. & Conrad, R. (2008) Changing land use reduces soil  $\text{CH}_4$  uptake by altering biomass and activity but not composition of high-affinity methanotrophs. *Global Change Biology* 14, 2505-2419.



## 04 Gemeinschaften von pathogenen Bakterien

PROJEKTLEITER | Dr. Wolf-Rainer Abraham | Arbeitsgruppe Chemische Mikrobiologie | [wab@helmholtz-hzi.de](mailto:wab@helmholtz-hzi.de)

PROJEKTMITARBEITER | Andreia B. Estrela | Marcela G. Heck | Dr. Heinrich Lünsdorf | Dr. Alexandre J. Macedo | Dr. Sonja Pawelczyk | Esther Surges

In der Umwelt kommen Bakterien zumeist nicht als Reinstämme vor, sondern leben in Gemeinschaften. Dieses Projekt geht der Frage nach, wie sich pathogene Bakterien in der Umwelt verhalten und wie sie mit nicht- oder fakultativ pathogenen Bakterien im menschlichen Körper umgehen.

**Pathogene Bakterien in der Umwelt** Bakterien, die Menschen infizieren, müssen irgendwann den menschlichen Körper verlassen und sind dann einer komplett anderen Umgebung ausgesetzt. Wie leben und überleben sie dort? In Zusammenarbeit mit der Universität von São Paulo haben wir diese Frage am Rio Tieté untersucht. Er fließt durch die 25-Millionen-Stadt São Paulo und nimmt dort sehr viele ungeklärte, Fäkalien enthaltende Abwässer auf. Daher ist dieser Fluss im Stadtgebiet von São Paulo extrem verschmutzt und enthält viele humanpathogene Bakterien. Wir haben Proben unterhalb des Stadtgebietes bis zu einer Entfernung von 100 km stromabwärts von São Paulo genommen und gefunden, dass die Anzahl humanpathogener Bakterien stark abnimmt. Bereits 30 km außerhalb der Großstadt können nur noch vereinzelt Pathogene nachgewiesen werden. Interessanterweise nimmt auch die Antibiotika-Resistenz aller im Fluss vorkommenden Bakterien über diese 100 km signifikant ab.

In der Mikrobiologie zeigt sich immer deutlicher, dass es keinen prinzipiellen Unterschied zwischen Bakterien gibt, die zu Infektionen führen und solchen, die in der Umwelt leben. Wir konnten dies bei einem aus einer Blutprobe in Schweden isolierten, bisher unbekanntem Bakterium zeigen. Wir haben es als eine neue Art innerhalb der Gattung *Phenylobacterium* identifiziert. Diese Gattung ist bisher lediglich als Schadstoffabbauer und aus Umweltproben bekannt. Unser neu beschriebenes Bakterium, *Phenylobacterium haemophilum*, passt aber sehr gut zu ähnlichen Bakterienarten, die aus Süßwasserproben in Nordamerika isoliert wurden, und zeigt damit die enge Verwandtschaft von Arten aus sehr verschiedenen Lebensräumen.

**Diversität von Biofilmgemeinschaften auf Herzschrittmachern** Wenn sich Biofilme auf Implantaten bilden, kommt es zu Infektionen bei Patienten - soweit zumindest das bisherige Verständnis von Biofilminfektionen. Wir sind der Frage nachgegangen, ob sich Biofilmgemeinschaften auch auf Implantaten von Patienten ohne Infektionsanzeichen nachweisen lassen. In Zusammenarbeit mit der MHH wurden dazu Herzschrittmacher, die Patienten wegen Erschöpfung der Batterien explantiert wurden, auf mikrobielle Biofilme untersucht. Mittlerweile haben wir über 150 solcher Aggregate untersucht, die im Schnitt etwas über 5 Jahre im Patienten waren. Bei 47,2% haben wir bakterielle DNA nachweisen können. In den meisten Fällen wurde - analog zu Beobachtungen von Umweltproben - nicht nur eine Bakterienart, sondern es wurden fast immer Bakteriengemeinschaften festgestellt. Bei der Untersuchung der 16S rRNA Gensequenzen dieser Bakterien stellten wir fest, dass die meisten dieser Bakterien untypisch für klinische Aggregatinfektionen sind. Nur bei 3,7% der Patienten wurden Staphylokokken gefunden, die dann auch im Untersuchungszeitraum Infektionssymptome bei den untersuchten Patienten auslösten. Offenbar gibt es Biofilmgemeinschaften im Menschen, die selbst keine erkennbaren Symptome auslösen, aber Reservoir für die Ansiedlung pathogener Keime bilden, die zu Infektionen führen.

Abraham,W.-R. (2006) Controlling the biofilm formation of Gram-positive pathogenic bacteria. *Current Medicinal Chemistry* **13**, 1509-1524.

Abraham,W.-R. Macedo,A.J., Gomes,L.H. & Tavares,F.C.A. (2007) Occurrence and resistance of bacteria along the Tieté River in Brazil. *CLEAN - Soil, Air, Water* **35**, 339-347.

Abraham,W.-R., Macedo,A.J., Lünsdorf,H., Fischer,R., Pawelczyk,S., Smit,J. & Vancanneyt,M. (2008) Phylogeny by a polyphasic approach of the order *Caulobacterales*, proposal of *Caulobacter mirabilis* sp. nov. *Phenylobacterium haemophilum* spec. nov. and *Phenylobacterium conjunctum* sp. nov., and emendation of the genus *Phenylobacterium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **58**, 1939-1949.

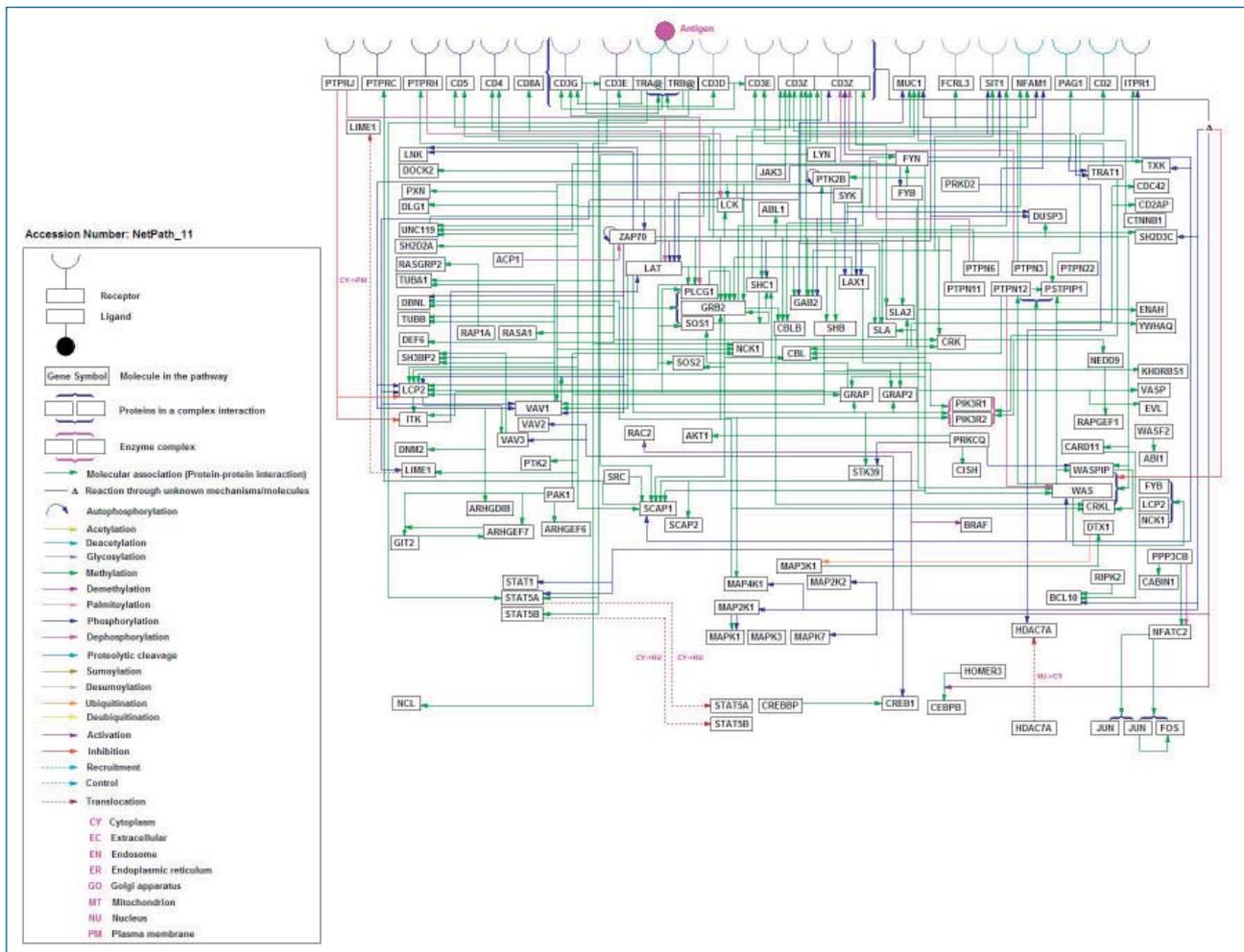
Pichlmaier,M., Marwitz,V., Kühn,C., Niehaus,M., Klein,G., Bara,C., Haverich,A. & Abraham,W.-R. (2008) High prevalence of asymptomatic bacterial colonisation of rhythm management devices. *EUROPACE* **10**, 1067-1072.



Der Tieté-Fluss in São Paulo, Brasilien, erhält Abwässer von weit über 1 Million Bewohnern der Stadt São Paulo. Deshalb ist der Tieté mit vielen pathogenen Bakterien verseucht. Diese weisen völlig andere Empfindlichkeiten gegenüber Antibiotika auf als jene von der Elbe. Hierbei könnte aber die Verwendung unterschiedlicher Antibiotika auch eine Rolle spielen. Foto: HZI, Abraham

## Technologie-Plattformen

Für die wissenschaftlichen Projekte des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung 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 des HZI mit anderen Helmholtz-Forschungszentren, Universitäten, außeruniversitären Forschungseinrichtungen und der Industrie. Die wichtigsten Plattformen sind im Folgenden näher beschrieben.



Der Stoffwechselweg der T-Zellrezeptor-Signalkaskaden (Abb. 2 von R. Geffers' Beitrag, s.S. 105).



## 01 Tierexperimentelle Einheit

LEITER | Dr. Hermann Riedesel | Arbeitsgruppe Tierexperimentelle Einheit | hri07@helmholtz-hzi.de

Die zentrale Aufgabe der Tierexperimentellen Einheit ist die Bereitstellung und Sicherstellung einer zeitgemäßen und bestmöglichen Versorgung der erforderlichen Versuchstiere. Sie erfolgt unter Berücksichtigung der wissenschaftlichen Bedürfnisse des HZI und der gültigen deutschen und europäischen Tierschutzbestimmungen. Die Tierexperimentelle Einheit besteht aus 15 Tierräumen mit einer Gesamtkapazität von 4000 Käfigen, was einer Haltungskapazität von 10.000 Mäusen entspricht. Diese Tierräume verteilen sich auf 3 Gebäude (K, T und D) und bieten 390 m<sup>2</sup> Tierhaltungsfläche. Am HZI werden ausschließlich Labormäuse gehalten, die in einzeln belüfteten Käfigsystemen in 3 spezifiziert-pathogenfreien (SPF)-Barriereeinheiten untergebracht sind. Eine dieser Barrieren ist als S2-Tierhaltungseinheit nach dem Gentechnikgesetz registriert und für Infektionsexperimente vorgesehen. Momentan haben wir einen Bestand von ungefähr 10.000 Mäusen, die sich auf etwa 350 verschiedene Mausstämme bzw. gentechnisch veränderte Mauslinien verteilen. Der Gesundheitsstatus der Tiere, der vierteljährlich mit einem Anzeigertierprogramm erhoben wird, entspricht vollständig den FELASA Empfehlungen. Im Tierhaus arbeiten 1 Tierarzt, 1 Tierhausmanager, 1 Tierpflegemeisterin, 15 Tierpfleger bzw. -pflegerinnen und 4 Servicekräfte.

Folgende Dienstleistungen werden angeboten:

- Grundversorgung der Mäuse
- Zuchtbetreuung und Kolonienmanagement (entsprechend den Anweisungen der wissenschaftlichen Nutzer)
- Mithilfe bei der Durchführung von Versuchen (Substanzapplikation, Entnahme von Blut- oder Gewebeproben, Immunisierungen)
- Gesundheitsüberwachung
- Tierbestellungen
- Organisation von nationalen und internationalen Maustransporten inklusive Quarantänisierung und hygienische Sanierung importierter Linien
- *In-vitro*-Fertilisation zur Rettung, zur schnellen Vermehrung und zur Sanierung von Mauslinien
- Kryokonservierung von Mausembryonen und Betreiben einer Embryobank (momentan 58 Linien)
- Tierpflegeausbildung für die Fachrichtung Klinik und Forschung (9 Auszubildende)
- Tätigkeit des Tierschutzbeauftragten für etwa 40 Versuchsvorhaben
- Versuchstierkundliche Beratung und Weiterbildung
- Transgene Dienstleistungen wie DNA-Pronukleus- und ES-Zell-Injektionen (ab 2009 mit Aufbau einer Transgen-Einheit)

2009 wurde der Tierhausneubau mit 520 m<sup>2</sup> Tierraumfläche fertig gestellt. Er hat eine Kapazität von 8000 Käfigen und bietet Platz für 20.000 Mäuse. In dieser Anlage befindet sich

eine S3-Einheit mit etwa 1000 Käfigen und integrierter Laborfläche für Infektionsexperimente. Alle Tierräume sind mit Gleitregal-Käfigsystemen ausgestattet, die eine hohe Belegungsdichte der Räume gewährleisten. Dieses neue Gebäude wird die Maushaltungskapazität verdreifachen und wird dringend benötigt, um die derzeitigen Platzprobleme zu beheben, die die Maus-basierte Forschung am HZI derzeit limitieren. Aufgrund technischer Probleme mit der Lüftungsanlage wird dieses neue Gebäude erst Ende 2009 in Betrieb gehen.

Am Twincore Hannover wurde 2008 mit der Renovierung der Tierhaltung mit einer Kapazität von 2100 Käfigen begonnen. Die Übergabe dieser Anlage ist für Ende 2009 geplant. Während des Umbaus wurde eine Interimstierhaltung geschaffen, um den wissenschaftlichen Nutzern biomedizinische Dienstleistungen anbieten zu können



Das neue Maushaus. Foto: HZI, Krämer



Viele neue Maukäfige werden für ihre neuen Bewohner vorbereitet. Foto: HZI, Krämer



## 02 Instrumentelle Analytik

LEITER | Dr. Victor Wray | Arbeitsgruppe Biophysikalische Analytik | vwr@helmholtz-hzi.de

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

Diese Plattform dient der Aufklärung dreidimensionaler Strukturen aller Arten von Naturstoffen und verfügt über das Instrumentarium zur Massenspektrometrie (MS), Kernresonanzspektroskopie (NMR), Röntgenkristallographie, Proteinsequenzierung, Elektronenmikroskopie und konfokalen Lasermikroskopie.

### Massenspektrometrie und Kernresonanzspektroskopie

Bei den meisten Naturstoffen mit kleinem Molekulargewicht lässt sich die gesamte Struktur routinemäßig durch Einsatz einer Kombination aus Massenspektrometrie und Kernresonanzspektroskopie aufklären. Die direkte Analyse großer, intakter Biomoleküle, wie Proteine, Oligonukleotide und komplexer Kohlenhydrate erfolgt routinemäßig mit MALDI- und ESI-MS. Ein großer Vorteil der Massenspektrometrie besteht darin, dass dieses Verfahren auch bei kleinsten Mengen komplexer Verbindungen die entsprechenden Informationen liefert. Bei der Identifizierung und Charakterisierung von Proteinen kommen automatisierte Mikrotechniken der Massenspektrometrie zum Einsatz. Es werden 2D-Gels und "gellose" Techniken der "Proteomik" angewendet, wobei die Bestimmung des Molekulargewichts

ihrer proteolytischen Fragmente mit Hilfe von MALDI/TOF-MS/MS und HPLC-ESI-MS/MS erfolgt. Die Sekundär- und Tertiärstruktur von Peptiden und Proteinen lässt sich aufklären, wenn ordnungsgemäß gekennzeichnete Materialien ( $^{15}\text{N}$  und  $^{13}\text{C}$ ) zur Verfügung stehen. Dabei kommt die mehrdimensionale NMR-Spektroskopie zum Einsatz.

**Röntgenkristallographie** Der Schwerpunkt der Röntgenkristallographie liegt auf der Strukturanalyse von Proteinen. Ein Pipettierroboter und ein Röntgengerät mit Flächendetektor und Drehanode stehen für Kristallisationsversuche und Datenerfassung zur Verfügung. Die Messung hochauflösender Daten und die Phasenbestimmung mittels anomaler Dispersion erfolgen unter Einsatz externer Synchrotron-einrichtungen.

**Elektronenmikroskopie** Diese Technik wird zur Visualisierung der Anhaftung und Invasion einer Vielzahl von Pathogenen an bzw. in Wirtszellen verwendet. Es wurden individuelle Probenpräparationsprotokolle für die Durchführung von Untersuchungen mit Hilfe hochauflösender Feldemissionsrasterelektronenmikroskopie (FESEM) erstellt, die bei der Aufklärung bestimmter Invasionswege von Pathogenen in ein und derselben Wirtszelle zum Einsatz kommen. Desweiteren wurden FESEM-Methoden entwickelt, die eine Immunlokalisierung von Pathogenitätsfaktoren nicht nur auf der bakteriellen Zelloberfläche, sondern auch an der Berührungsfläche zwischen bakterieller und Wirtszellenmembran ermöglichen. Es wurden verschiedene Präparationsverfahren entwickelt, durch die eine Visualisierung der Bindung von extrazellulären Matrixproteinen an der Zelloberfläche möglich ist. Es konnte gezeigt werden, dass das Kryo-FESEM-Verfahren das Mittel der Wahl für die Untersuchung derartiger Interaktionen ist. Darüber hinaus wird die Elektronenmikroskopie für die Untersuchung der Quartärstruktur von Proteinen durch Negativfärbetechniken, sowie für die Untersuchung hochauflösender Elementlokalisierungen eingesetzt.



Das neue Bruker Ultraschall 600 Plus NMR (links), das neue Zeiss Libra 120 Transmissionselektronenmikroskop (rechts).

Fotos: HZI

Wang, Y., Edrada-Ebel, R., Tsevegsuren, N., Sendker, J., Braun, M., Wray, V., Lin, W., & Proksch, P. (2009) Dihydrostilbene derivatives from the Mongolian medicinal plant *Scorzonera radiata*. *Journal of Natural Products* 72, 671-675.

Xu, J., Kjer, J., Sendker, J., Wray, V., Guan, H., Edrada, R., Lin, W., Wu, J., & Proksch, P. (2009) Chromones from the endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. isolated from the chinese mangrove plant *Rhizophora mucronata*. *Journal of Natural Products* 72, 662-665.

Zelena, K., Zorn, H., Nimtz, M., & Berger, R.G. (2009) Heterologous expression of the msp2 gene from *Marasmius scorodoni*. *Archives of Microbiology* 191, 397-402.



## 03 Genexpressionsanalyse

LEITER | Dr. Robert Geffers | Abteilung für Zellbiologie | rog@helmholtz-hzi.de

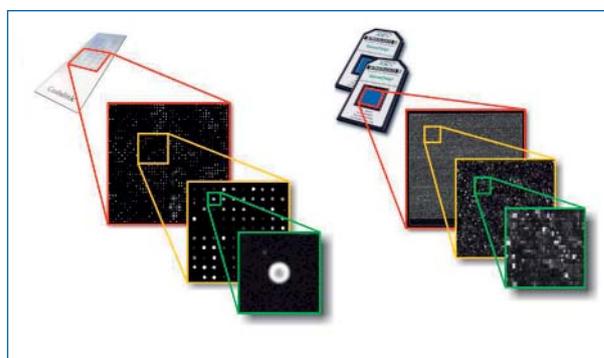
WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | Andreas Jeron

Seit nunmehr acht Jahren bietet die Array Facility Mikroarraytechnologien an, die sowohl von den Forschungsgruppen auf dem Campus des HZIs, als auch externen Forschungsgruppen im Rahmen wissenschaftlicher Kooperationen intensiv genutzt werden. Mikroarrays wurden in der Vergangenheit hauptsächlich zur Genexpressionsanalyse eingesetzt. Hierbei stellt die Array Facility sowohl „State of the Art“-Technologien wie z.B. die Affymetrix Analyse Plattform „GeneChip“ als auch modernste Geräte zur Herstellung eigener Mikroarrays zur Verfügung. Hinsichtlich der veränderten Einsatzgebiete der Arraytechnologien für genomische und epigenomische Fragestellungen wurden neue Methoden in der Array Facility entwickelt und für die Routine etabliert. Gegenwärtig kann die Genexpression von 40-50.000 Transkripten (Genen) mit einem Mikroarray gemessen werden. Neu hinzugekommen sind sogenannte DNA Tiling Arrays, mit denen z.B. DNA-Erkennungssequenzen DNA-bindender Proteine bestimmt werden können. Ebenso eignet sich der „Tiling Array“ für die Untersuchung genomweiter DNA-Methylierungsmuster, die nachweislich einen entscheidenden Einfluss auf die Genregulation bzw. Dysfunktion bestimmter Gene haben. Insbesondere für die Tumordiagnostik werden SNP-Arrays und Array-CGH (Mikroarrays für die vergleichende Genomanalyse) eingesetzt, um die Ursachen genetischer Instabilitäten bei der Tumorentwicklung zu studieren.

**Service** Die Array Facility bietet Expressions- und Genomanalyse als Service für Forschergruppen am HZI sowie für deren Kooperationspartner an. Bei der Entwicklung und Herstellung der Themenarrays berät die Array Facility hinsichtlich der Auswahl geeigneter Chemikalien und bestmöglicher Versandoptionen. Die Herstellung der Arrays wird durch die Array Facility unter Verwendung von Qualitätsstandards sichergestellt. Außerdem werden für die Anwendung optimierte Protokolle zur Verfügung gestellt. Zusätzlich zur Arrayherstellung und Probenverarbeitung werden bei Bedarf Datenanalyse, Datenaufbewahrung und Dateninterpretation angeboten, die den internationalen Standards angepasst sind und somit einen Austausch der Daten mit anderen Mikroarraydaten gewährleisten.

**Forschung...** Im Laufe zahlreicher interner und externer Kooperationen wurden Analysen zu den Bereichen Tumorentwicklung und -typisierung, Pathogen-Wirt-Interaktionen (Streptokokken, Pseudomonaden und Mykobakterien) und zur Immunbiologie durchgeführt.

**... und Entwicklung** Im Laufe der Entwicklung und Verbesserung selbst konfigurierbarer Mikroarrays wurden mit Forschergruppen des HZI und der MHH mehrere neue Themenchips entwickelt. Weitere Arrayentwicklungen sind für die Zukunft geplant.



Chips für die Array Facility. Foto: HZI

TrehanPati,N., Geffers,R., Sukriti, Hissar,S., Riese,P., Toepfer,T., Buer,J., Kumar,M., Guzman,C.A. & Sarin,S.K. (2009) Gene expression signatures of peripheral CD4+ T cells clearly discriminate between patients with acute and chronic hepatitis B infection. *Hepatology* **49**, 781-790.

Quentmeier,H., Geffers,R., Jost,E., Macleod,R.A., Nagel,S., Rohrs,S., Romani,J., Scherr,M., Zaborski,M. & Drexler,H.G. (2008) SOCS2: inhibitor of JAK2V617F-mediated signal transduction. *Leukemia* **22**, 2169-2175.

INickeleit,I., Zender,S., Sasse,F., Geffers,R., Brandes,G., Sörensen,I., Steinmetz,H., Kubicka., Carlomagno,T., Menche,D., Buer,J., Gossler,A., Manns,M.P., Kalesse,M., Frank R. & Malek,N.P. Argyrin A - a p27kip1 stabilizing drug with potent anti-proliferative and anti-angiogenic activity. *Cancer Cell* **14**, 23-35.



## 04 Peptidsynthese

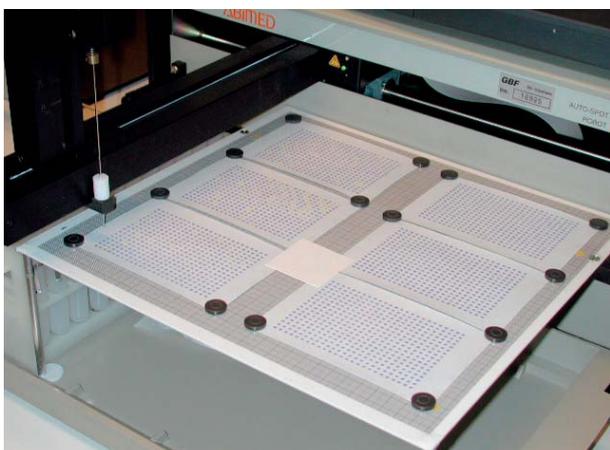
LEITER | Dr. Dr. Werner Tegge | Abteilung für Chemische Biologie | wte@helmholtz-hzi.de

WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | Dr. Ronald Frank

Seit ihrer Einrichtung als Serviceeinheit im Jahr 1990 stellt die Plattform synthetische Peptide in löslicher Form und immobilisiert in Form von Arrays für viele verschiedene HZI-Projekte her. Für die Synthese, Charakterisierung und Reinigung der Produkte werden moderne Spezialgeräte eingesetzt. Durch eigene Forschungsprojekte wird das methodische Repertoire kontinuierlich aktualisiert und erweitert. In diesem Zusammenhang wurden u.a. entwickelt:

- neue Methoden für die Erzeugung von Peptidarrays (u.a. die SPOT Methode)
- Methoden für die Herstellung von phosphorylierten und thiophosphorylierten Peptiden
- die Verwendung von neuen biokompatiblen Syntheseträgern
- neue, selektiv spaltbare Peptidlinker
- Methoden für die Erzeugung von Bibliotheken aus linearen und zyklischen Peptiden
- Methoden für die Verwendung von löslichen und immobilisierten Peptiden in biologischen Tests

**Lösliche Peptide** Inzwischen wurden in der Plattform über 3.000 lösliche Peptide mit Längen von zwei bis über fünfzig Aminosäuren hergestellt. Lösliche Peptide werden standardmäßig durch HPLC und Massenspektrometrie charakterisiert. Falls erforderlich, werden weitere Untersuchungen durch Aminosäureanalyse, Proteinsequenzierung und spezielle massenspektrometrische Methoden und NMR im HZI-Bereich Strukturbiologie durchgeführt.



*Methodenentwicklungen für parallele Kombinatorische Chemie Synthese Screens beruhen auf der SPOT-Synthese, die auf Zellulosemembranen durchgeführt wird. Foto: HZI, Bierstedt*

In Abhängigkeit von der geplanten Verwendung und der benötigten Qualität der Produkte werden Reinigungen durchgeführt. Dies geschieht in der Regel durch präp. HPLC. Für spezielle Anwendungen bietet die Plattform Peptidmodifikationen an, wie Fluoreszenz-Markierung, Phosphorylierung, Biotinylierung, Fettsäurekonjugation, Verzweigungen und Zyklisierungen.

**SPOT-Arrays** In der Plattform werden immobilisierte Peptide in Form von Arrays für die empirische und systematische Suche nach Liganden hergestellt. Für das erfolgreiche Design solcher Arrays ist ein tiefgehendes Verständnis der biologischen Fragestellung essenziell. Dies wird durch einen intensiven Austausch und eine enge Zusammenarbeit mit den Nutzern gewährleistet. Die SPOT-Arrays werden durch halbautomatische und vollautomatische Verfahren auf Zellulosemembranen und anderen polymeren Trägern erzeugt. Pro Jahr werden ca. 15.000 Peptide und Peptidgemische mit diesen Methoden generiert und u.a. für Untersuchen von Protein-Protein-Interaktionen und Enzym-Substrat-Affinitäten eingesetzt.

Tegge, W., Bautsch, W. & Frank, R. (2007) Synthesis of cyclic peptides and peptide libraries on a new disulfide linker. *Journal of Peptide Science* **13** (10), 693-699.

Ghanem, A., Mayer, D., Chase, G., Tegge, W., Frank, R., Kochs, G., García-Sastre, A. & Schwemmler, M. (2007) Peptide-mediated interference with the influenza A virus polymerase. *Journal of Virology* **181**(14), 7801-7804.

Sharma, R.K., Reddy, R.P., Tegge, W. and Jain, R.: "Discovery of Trp-His and His-Arg Analogues as New Structural Classes of Short Antimicrobial Peptides"; *Journal of Medicinal Chemistry* 2009, in press.

Beutling, U., Städtig, K., Stradal, T. and Frank, R. (2008) Large-scale analysis of protein-protein interactions using cellulose-bound peptide arrays. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **110**, 115-152.



## 05 Histologie-/Pathologie-Plattform

LEITER | Prof. Dr. Klaus Schughart | Abteilung für Infektionsgenetik | kls@helmholtz-hzi.de

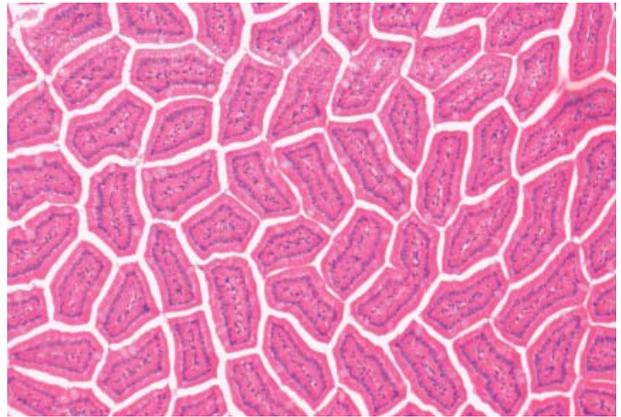
WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | Priv.-Doz. Dr. Reinhard von Wasielewski

Die Histologie-/Pathologie-Plattform wurde am HZI als zentrale Serviceeinheit eingerichtet. Sie ist Anlaufstelle für verschiedene Projekte und Forschungsgruppen, die histologische Arbeiten und pathologisches Fachwissen benötigen.

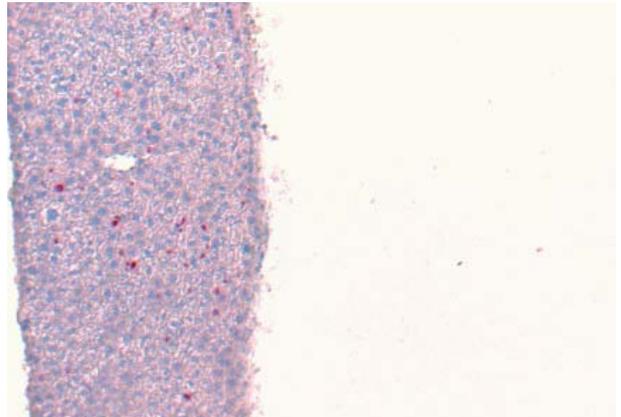
Viele Forschungsprojekte am HZI beschäftigen sich zurzeit mit der Durchführung von Infektionsexperimenten an Mäusen und mit der Untersuchung der Wirtsabwehr bei genetisch unterschiedlichen Mausstämmen und Mutantenslinien. Die Histologie-/Pathologie-Plattform bietet einen zentralen, maßgeschneiderten Service und die gesamte, erforderliche Infrastruktur aus einer Hand. Die Wissenschaftler des HZI können entweder den gesamten Service, von der Einbettung, dem Schneiden, dem Färben und der Archivierung der Gewebeproben bis hin zur Bewertung durch einen Pathologen, in Anspruch nehmen oder die vorhandene Infrastruktur nutzen und einige Arbeiten selbst ausführen.

Erfahrene Pathologen stellen ihr Fachwissen zur Verfügung und bieten Hilfe bei der Planung von Experimenten und der Auswertung der Ergebnisse an. Sie sind zu festen Zeiten am HZI vor Ort oder können bei Bedarf kontaktiert werden. Die Einheit arbeitet hier eng mit dem Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover (TiHo) und dem Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin zusammen.

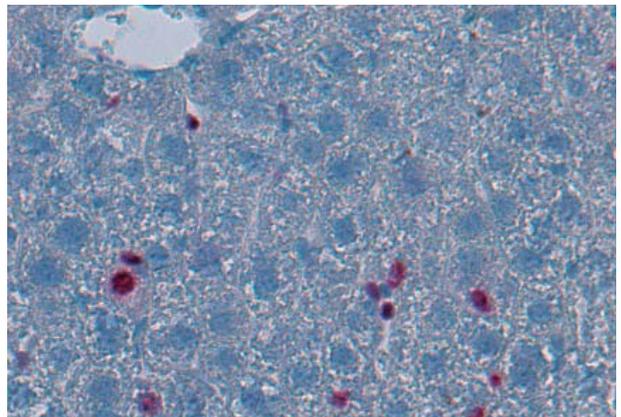
Zurzeit werden Paraffinschnitte und histochemische Einfärbungen routinemäßig durchgeführt. Es stehen Kryostaten zur Verfügung, und es wird eine Reihe von immunhistochemischen Analysen angeboten, mit deren Hilfe die Ermittlung der Immunzellen während der Infektion und Entzündung bei der Maus möglich ist.



Darm einer nicht-infizierten Maus, HE-angefärbt. Foto: HZI



Mausleber (10-fach vergrößert) Ki67-angefärbt. Foto: HZI



Mausleber (50-fach vergrößert) Ki67-angefärbt. Foto: HZI



## 06 Proteinexpression

LEITER | Dr. Joop van den Heuvel | Arbeitsgruppe Rekombinante Proteinexpression | [jvh@helmholtz-hzi.de](mailto:jvh@helmholtz-hzi.de)

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER | Dr. Konrad Büssow | Dr. Volker Jäger | Prof. Dr. Ursula Rinas

Die als Arbeitsgruppe organisierte Plattform Rekombinante Proteinexpression (RPEX) ist eine essentielle Einrichtung des Bereichs Strukturbiochemie hinsichtlich der Produktion ultrareiner Proteine für die hochauflösende Strukturanalyse. In der AG RPEX sind die vier wichtigsten Expressionssysteme etabliert worden: *E. coli*, *Pichia pastoris*, das Baculovirus-Expressionssystem in Kombination mit Insektenzellen sowie verschiedene Säugerzellkulturen. Das ermöglicht nicht nur die Herstellung von "einfachen Proteinen", sondern auch von herausfordernden Proteinen mit komplizierten Modifikationen oder Proteinkomplexen.

### Die neue Anlage für die Kultivierung tierischer Zellen

Seit 2007 besteht eine neue Zellkulturanlage für die Herstellung von Proteinen aus Insekten- und Säugerzellkulturen. Die Anlage umfasst mehrere Kultivierungsstationen, die variabel mit Zellkulturreaktoren von 1,6 bis 6 Liter Arbeitsvolumen betrieben werden können. Hiermit können die steigenden Anforderungen an die routinemäßige Herstellung von Proteinen im Bereich von 10-50 mg erfüllt werden. Zur Reinigung endogener, niedrig exprimierter, rekombinanter Multiproteinkomplexe wurde zusätzlich ein 30-Liter-Bioreaktor in Betrieb genommen. Er ermöglicht die Herstellung von Protein im Pilotmaßstab durch die Verwendung mehrerer hundert Liter Nährmediums im Perforationsmodus. Sämtliche Systeme enthalten alles, was für einen ständigen Medienaustausch (interne Membranperforation oder externe Querstrommikrofiltration) und für die darauf folgenden Proteinreinigungsschritte notwendig ist. Die neue Downstream-Pilotanlage erlaubt die Reinigung von Protein aus großen Volumina bei hohen Flussraten von 25-400 ml/min. Diese Anlage wurde 2009 erfolgreich eingesetzt, um mehrere 100 mg des humanen Wachstumsfaktors HGF aus insgesamt 170 Litern Zellkultur für die anschließende Kristallisation zu reinigen.

**Serviceleistungen** In Zusammenarbeit mit dem Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) in Berlin-Buch wurde im Jahre 2007 ein Proteinproduktionsverbund zur groß angelegten Produktion und Reinigung von Proteinproben (PSPF, Protein Sample Production Facility) eingerichtet. Dieses Gemeinschaftsprojekt der HGF hat als Hauptziel die Unterstützung der Strukturbiochemiker in Deutschland, in dem der wesentliche Engpass, die Proteinherstellung, für die hochauflösende Strukturanalyse mit Röntgenkristallographie oder NMR-Spektroskopie beseitigt wird. Diese war bislang häufig limitiert durch das Fehlen geeigneter Expressionssysteme mit ausreichender Produktivität, fehlende apparative Ausstattung und fehlendes Know-how für eine Produktion im halbertechnischen Maßstab. Die PSPF bietet

die Möglichkeit ein schnelles Scale-up mit eukaryontischen Expressionssystemen bei einer Produktivität von 0.5-3 mg/L Kulturvolumen durchzuführen.

Die unterstützenden Leistungen der PSPF werden entweder auf Basis einer Kompensation der entstandenen Kosten oder in Form einer wissenschaftlichen Zusammenarbeit angeboten. Zurzeit werden 50% der Kapazität der Anlage für interne HZI-Projekte genutzt. Seit 2007 wurden insgesamt 29 externe und 5 interne PSPF-Projekte bearbeitet, von denen sechzehn bereits erfolgreich abgeschlossen wurden.

Darüber hinaus bietet die Anlage Schulungsmöglichkeiten zum Thema Proteinexpression in Insekten- und Säugerzellensysteme für externe Wissenschaftler. Dieser Technologietransfer macht eine praktische Mitarbeit der Wissenschaftler an der „Upstream“-Phase der Proteinproduktion und -isolierung möglich.

**Forschung** Der Schwerpunkt unserer Forschung liegt zurzeit auf der Neuentwicklung und Implementierung von schnellen eukaryontischen Produktionssystemen, die speziell für die Anforderungen strukturbiochemischer Fragestellungen geeignet sind. Wir haben sowohl unter Verwendung des Baculovirus-Expressionssystems als auch von rekombinanten stabilen Säugerzelllinien erfolgreich verschiedene Fragmente des cMet-Rezeptors, verschiedene Formen vom Hepatozyten-Wachstumsfaktor HGF und den IGF1-Rezeptor erzeugt. Mehrere Kooperationsprojekte zur Analyse von einzelnen Proteinen und der Multiproteinkomplexe WAVE und  $\gamma$ -Tubulin Small Complex, werden zurzeit in unserem Hause bearbeitet.

Lizenzierte neuartige Technologien, die die schnelle transiente Expression von rekombinanten Proteinen in entweder Säuger- oder Insektenzellkulturen in Suspension und ohne Zugabe von Serum ermöglichen, wurden erfolgreich etabliert und mit Hilfe der Durchflusszytometrie und Fluoreszenzmikroskopie sowie diverser weiterer analytischer Methoden hinsichtlich verschiedener Prozessparameter (z.B.: Kultivierungsgefäße, Zellkulturmedien, Sauerstoffeintrag und diverse andere Parameter) weiter optimiert.

Schliephake,H., Zghoul,N., Jäger,V., van,G.M., Zeichen,J., Gelinsky,M., & Wulfig,T. (2008) Effect of seeding technique and scaffold material on bone formation in tissue-engineered constructs. *Journal of Biomedical Mater. Res A* **90A**, 429-437.

Visser,R., Arrabal,P.M., Becerra,J., Rinas,U., & Cifuentes,M. (2009) The effect of an rhBMP-2 absorbable collagen sponge-targeted system on bone formation *in vivo*. *Biomaterials* **30**, 2032-2037.

Wiesand,U., Sorg,I., Amstutz,M., Wagner,S., van den Heuvel,J., Lührs,T., Cornelis,G.R., & Heinz,D.W.\*. (2009) Structure of the type III secretion recognition protein YscU from *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Molecular Biology* **385**, 854-866.

## Neue Projektgruppen

Das HZI hat jungen Forschern mit sehr guten Ideen die Möglichkeit gegeben, ihre Forschung im HZI durchzuführen, wenn das Ziel ihrer Forschungsarbeiten sich im Rahmen der kommenden F&E-Ziele des Zentrums lag. Seit 2007 haben einige neue Projektgruppen mit ihrer Arbeit am HZI begonnen. Während der kommenden 5 Jahre werden sie versuchen neue Wege in der Forschung zu gehen und entsprechend hervorragende Ergebnisse zu präsentieren. Die ersten Resultate und weitere Ideen dieser neuen Projektgruppen werden auf den nächsten Seiten vorgestellt.



*Das Gründerzentrum während der Eröffnungszeremonie nach der Umgestaltung des Interieurs (Juni 2009). Etliche neue Projektgruppen führen in Räumen des Gründerzentrums ihre Forschungsarbeiten durch. Foto: HZI, Dornbach*

---



## 01 Chronische Infektionen und Krebs

PROJEKTLEITER | Dr. Lars Zender | Nachwuchsgruppe Chronische Infektionen und Krebs | lze08@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Daniel Dauch | Marina Pesic | Ramona Rudalska | Tae-Won-Kang

Das Hepatozelluläre Karzinom (HCC) stellt weltweit den fünfthäufigsten Tumor dar, ist jedoch aufgrund fehlender Therapieoptionen die dritthäufigste Krebstodesursache. Die Ausbildung eines Leberzellkarzinoms (HCC) ist fast immer mit einer chronischen Hepatitis infolge einer Infektion mit dem Hepatitis B- oder C-Virus, einer Lebensmittelvergiftung mit Aflatoxin, Alkoholmissbrauch oder Stoffwechselstörungen verbunden, die zur Ablagerung von Kupfer oder Eisen in der Leber führen. Eine chronische Entzündung der Leber führt zu Leberzirrhose, einer Präkanzerose für die Ausbildung eines Leberzellkarzinoms. Das HCC gilt als primär chemoresistenter Tumor und chirurgische Therapieoptionen kommen nur für wenige Patienten in Frage. Um neue, gezielte Therapieoptionen gegen das HCC zu finden, bedarf es deshalb einer detaillierten Untersuchung der molekularen Grundlagen der Hepatokarzinogenese.

Für neue therapeutische Strategien ist es dringend erforderlich, die molekularen Vorgänge der Entstehung des Leberzellkarzinoms genau zu beschreiben. Wir haben ein neues Mausmodell entwickelt und onkogenomische Transspeziesvergleiche als einen neuen Algorithmus für eine schnellere Erkennung und Validierung von Krebsgenen bei Leberzellkarzinomen etabliert. Durch den beschriebenen Algorithmus konnten cIAP1 und Yap als Co-driver-Gene des menschlichen 11q22 bzw. des murinen 9qA1 Amplikons identifiziert und validiert werden. Vor kurzem haben wir die Machbarkeit des *in-vivo*-RNAi-Screening für die Identifizierung neuer Tumorsuppressorgene nachgewiesen. Wir konnten mehr als zehn neue Tumorsuppressorgene identifizieren und funktionell validieren. Zur Durchführung von Multiplex-RNAi-Screens, insbesondere für die Durchführung von Negativselektionsscreens, wurde Illumina/Solexa Deep Sequencing zur Dekonvolution von komplexen shRNA-Bibliotheken etabliert.

Mutationen, die zu einer ungehemmten Zellproliferation führen, sind Voraussetzungen für die Tumorentwicklung. Es haben sich jedoch im Verlauf der Evolution eine Reihe von Tumorsuppressormechanismen entwickelt, die einer unkontrollierten Proliferation entgegenwirken. Während die "Intrinsische Tumorsuppression" Ausgleichsvorgänge gegen unkontrolliertes Zellwachstum durch zelleigene

Programme beschreibt (z.B. Apoptose oder Seneszenz), wird die "Extrinsische Tumorsuppression" auch als "Tumor Surveillance" bezeichnet. Sie beinhaltet die Erkennung und Eradizierung von Zellen mit onkogenen Mutationen durch das angeborene oder adaptive Immunsystem.

Interessanterweise werden viele senescente Zellen in zirrhotischen Lebern gefunden, was darauf hinweist, dass die Seneszenz als anti-Tumorbarriere dem Übergang von einer chronischen Leberschädigung zu einem Leberzellkarzinom entgegenwirkt. Bisher wurde angenommen, dass die Seneszenz der Tumorgenese durch Einleitung eines permanenten Zellzyklusarrestes entgegenwirkt. In neueren Untersuchungen verwendeten wir konditionale RNA-Interferenz zur bedingten Regulierung des p53 Tumorsuppressors in einem Mosaik-Mausmodell des Leberzellkarzinoms. Die primäre Antwort auf p53 war nicht die Apoptose, sondern zelluläre Seneszenz, welche mit einer Differenzierung und der Hochregulierung verschiedener inflammatorischer Zytokine einherging. Dieses Programm löste zudem eine angeborene Immunreaktion gegen die Tumorzellen *in vivo* aus und führte zu vollständigen Tumorremissionen. Somit zeigen unsere Daten, wie das Seneszenzprogramm mit dem angeborenen Immunsystem zusammenarbeiten kann, um das Tumorwachstum zu begrenzen. Ein genaueres Verständnis dieses Zusammenwirkens hat das Potenzial, neue Möglichkeiten der Tumorprävention und Therapie zu ermöglichen.

---

Zender,L., Xue,W., Zuber,J., Semighini,C.P., Krasnitz,A., Ma,B., Zender,P., Kubicka,S., Luk,J.M., Schirmacher,P., McCombie,W.R., Wigler,M., Hicks,J., Hannon,G.J., Powers,S. & Lowe,S.W. (2008) An oncogenomics-based *in vivo* RNAi screen identifies tumor suppressors in liver cancer. *Cell* **135**(5), 852-864.

Xue,W.\*, Zender,L.\*, Miething,C., Dickins,R.A., Hernando,E., Krizhanovsky,V., Cordon-Cardo,C. & Lowe,S.W. (2007) Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature* **445**(7128), 656-660. (\*=gleicher Beitrag)

Zender,L., Spector,M.S., Xue,W., Flemming,P., Cordon-Cardo,C., Silke,J., Fan,S.T., Luk,J.M., Wigler,M., Hannon,G.J., Mu,D., Lucito,R., Powers,S. & Lowe,S.W. (2006) Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenomic approach. *Cell* **125**(7), 1253-1267.



## 02 Strukturelle Charakterisierung von Faktoren der Pathogenabwehr

PROJEKTLEITER | Dr. Konrad Büsow | Arbeitsgruppe Rekombinante Proteinexpression | kb07@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Sonja Wilke

An der Abwehr von Krankheitserregern nimmt eine Vielzahl von Proteinen teil. Die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur von Proteinen durch Röntgenstrukturanalyse liefert wichtige Informationen über ihre Funktionsweise. Bei vielen menschlichen Proteinen waren Strukturuntersuchungen bisher nicht möglich, weil sie nicht in größeren Mengen rein hergestellt werden konnten. Das ist jedoch die Voraussetzung, um Proteinkristalle zu züchten und Röntgenbeugungsdaten aufzunehmen.

Proteine werden für Röntgenstrukturuntersuchungen meistens in Bakterien hergestellt. Die Bakterien werden gentechnisch so verändert, dass sie das jeweilige Zielprotein in großen Mengen produzieren. Das Verfahren ist schnell und preiswert. Allerdings lassen sich viele menschliche Proteine, die an der Abwehr von Krankheitserregern beteiligt sind, so nicht herstellen. In Bakterien werden die notwendigen Prozessierungsschritte nicht ausgeführt, die diese Proteine in ihre biologisch aktive Form überführen.

Kultivierte tierische Zellen sind bei der Herstellung von Proteinen für die Röntgenstrukturuntersuchung eine Alternative zu Bakterien. Meistens werden Insektenzellen eingesetzt, die mit gentechnisch veränderten Baculoviren infiziert werden. Aber auch Säugerzelllinien leisten gute Dienste, besonders bei Proteinen, die in ihrer natürlichen Umgebung aus den Zellen ausgeschleust werden und sich in der extrazellulären Flüssigkeit oder auf der Zellaußenseite befinden.

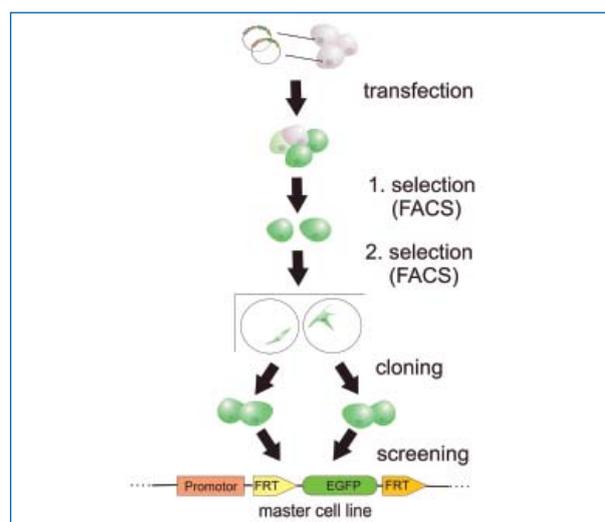
Diese ausgeschleusten Proteine, beispielsweise Antikörper oder Zytokine, sind oftmals durch Disulfidbrücken stabilisiert und tragen Kohlenhydratketten auf ihrer Oberfläche. Um sie für die Röntgenstrukturanalyse herzustellen, bietet sich die Hamster-Zelllinie CHO-Lec 3.2.8.1 an. Bei ihr führen Mutationen dazu, dass die Kohlenhydratketten klein und einheitlich ausfallen und die produzierten Proteine deshalb gut kristallisierbar sind.

Nachteilig ist, dass die Herstellung einer gentechnisch veränderten CHO-Lec-Zelllinie nach Standardmethoden ungefähr ein Jahr erfordert. Durch den Einsatz eines neuen Verfahrens konnten wir den Zeitaufwand schon stark reduzieren. Dieses Verfahren basiert auf einem fluoreszierenden Reportergen, GFP, das es ermöglicht, gentechnisch veränderte CHO-Lec-Zellen mit besonders guten Produktionseigenschaften mit der Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung (FACS) zu klonieren. Mit dieser Methode haben wir Produktionszelllinien für den Hepatozyten-Wachstumsfaktor HGF in nur vier Monaten kloniert. Die Struktur des Komplexes aus HGF mit seinem Rezeptor, dem Produkt des c-Met Onkogens, ist von

großem wissenschaftlichen Interesse aufgrund seiner Rolle bei der Krebsentstehung und weil pathogene Listerien durch Andocken an den c-Met-Rezeptor in Wirtszellen eindringen können. Unsere Zelllinien schaffen die Voraussetzung, HGF in der erforderlichen Menge und Form für Kristallisationsexperimente herzustellen.

Die Kassettenaustauschtechnologie (RMCE) ermöglicht es, die Herstellung von Produktionszelllinien noch weiter zu beschleunigen. RMCE erlaubt es, über ortsgerichtete Rekombination ein Markergen wie GFP gegen ein beliebiges anderes Gen auszutauschen. Ein Verfahren, das nur wenige Wochen in Anspruch nimmt. Wir haben die Klonierung einer GFP-Zelllinie über Zell-Sortierung mit RMCE kombiniert und konnten den Kassettenaustausch in CHO-Lec-Zellen bereits erfolgreich demonstrieren.

Nachdem eine verbesserte Klonierungstechnologie für CHO-Lec-Zellen etabliert wurde, soll das Verfahren nun angewandt werden, um Proteine herzustellen, die bei der Abwehr von Krankheitserregern eine wichtige Rolle spielen und deren Produktion bisher ein Hindernis für Röntgenstrukturuntersuchungen darstellte.



Klonierung einer stabilen GFP-Zelllinie durch Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung Graphik: HZI

Ergin, A., Büsow, K., Sieper, J., Thiel, A., Duchmann, R., & Adam, T. (2007) Homologous high-throughput expression and purification of highly conserved *E. coli* proteins. *Microbial Cell Factories* 6, 18.

Manjasetty, B.A., Turnbull, A.P., Panjikar, S., Büsow, K., & Chance, M.R. (2008) Automated technologies and novel techniques to accelerate protein crystallography for structural genomics. *Proteomics* 8, 612-625.

Sievert, V., Ergin, A., & Büsow, K. (2008) High throughput cloning with restriction enzymes. *Methods in Molecular Biology* 426, 163-173.

## 03 Übertragungsbarrieren für Säugetierprione

PROJEKTLEITER | Dr. Thorsten Lührs | Nachwuchsgruppe Strukturbasierte Infektionsbiologie | tlu07@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Felix Deluweit | Dr. Vandana Gupta

**Die strukturelle Basis von Übertragungsbarrieren für Säugetierprionen** Das Protein des Säugetierprions, PrP<sup>C</sup>, kann seine Konformation von einem monomeren, löslichen in einen aggregierten, übertragbaren Prionenzustand, PrP<sup>Sc</sup>, ändern. Sobald ein Prion in einen suszeptiblen Wirt eingedrungen ist, löst es eine zu einer Prionenerkrankung führende PrP-Konversionskaskade aus (Abb. 1A). Es wurde beobachtet, dass Transspezies-Übertragungsbarrieren mit der Aminosäuresequenz des PrP korrelieren. Andererseits wurden multiple Prionenstämme derselben PrP-Aminosäuresequenz identifiziert, die bei der Wirtsspezies charakteristische Erkrankungen hervorrufen. Wir untersuchen die 3D-Strukturen der Prionen, um die Übertragungsbarriere zwischen Mäusen und Hamstern auf atomarer Ebene und die strukturelle Basis der Prionenstämme in Bezug auf den Prionenwirtsbereich zu verstehen (Abb. 1B). Um unser Ziel zu erreichen, verwenden wir eine Kombination aus NMR von Lösungen bzw. Feststoffen und anderen biophysikalischen Verfahren.

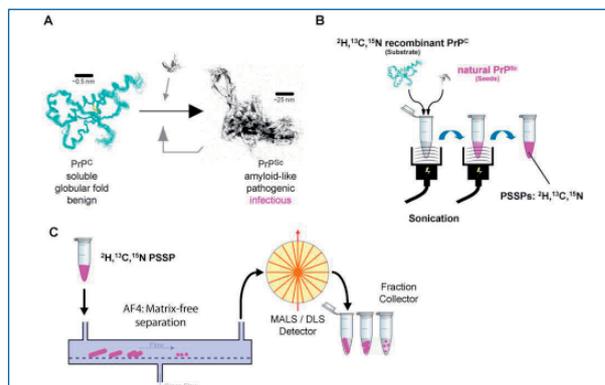
**Übertragungsbarrieren** Zwischen den verschiedenen Säugetierspezies ist die Primärübertragung von Prionen in der Regel unwirksam. Dieser Effekt wird gewöhnlich als 'Speziesbarriere' bezeichnet. Die Aminosäuresequenz von PrP ist unter den Säugetierspezies konserviert: Mäuse entwickeln keine Prionenkrankheit, wenn sie Hamsterprionen ausgesetzt sind. Transgene Mäuse, die sowohl Hamster-PrP als auch Maus-PrP exprimieren, können mit Hamsterprionen infiziert werden, und bauen dann das Hamster-PrP selektiv in die Prionenpartikel ein. Die ausschließliche Expression von chimärem Maus-/Hamster-PrP, mit der Bezeichnung MH2M, macht Mäuse sowohl Hamsterprionen als auch Mausprionen gegenüber suszeptibel. Die dabei entstehenden Prionen übertragen die Krankheit sowohl auf Wildtyp-Hamster als auch auf Wildtyp-Mäuse. Somit ist die Speziesbarriere teilweise durch die primäre Aminosäuresequenz des Prionproteins bestimmt, wobei die Substitution von nur wenigen Aminosäureresten die Prionenübertragungsmuster vollständig verändern kann. Dieses Konzept hat eine große Bedeutung, da ein kausaler Zusammenhang zwischen der beim Menschen vorkommenden Variante der Creutzfeld-Jacob-Krankheit und dem Kontakt mit BSE-Prionen von Rindern besteht.

### Probenaufbereitung von Prionen und Strukturanalyse

Ein größeres Problem stellt die Verfügbarkeit von mit NMR-Isotopen markierten PrP<sup>Sc</sup>-spezifischen PrP-Partikeln (PSSP) dar, bei denen das natürliche PrP<sup>Sc</sup> als Keim und das rekombinante PrP als Substrat verwendet wird. Ein wichtiges Verfahren ist die Konversion von mit Isotopen markiertem (<sup>2</sup>H, <sup>13</sup>C und <sup>15</sup>N) rekombinantem PrP zu PSSPs. Um eine homogene Partikelvorbehandlung zu erreichen, haben wir ein neues Verfahren, die symmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4), entwickelt, das unlängst in der Amyloidforschung eingeführt wurde (Abb. 1C). Mit diesem chromatographieähnlichen Verfahren kann man Partikel nach ihrer Größe trennen, ohne dass eine stationäre Matrix benötigt

wird. Gleichzeitig werden die absoluten hydrodynamischen Eigenschaften der einzelnen Partikelfractionen durch eine vielwinklige und dynamische Lichtstreuung bestimmt. Dieses Verfahren kommt auch zur Charakterisierung des Oligomerisationszustandes anderer Proteine routinemäßig zum Einsatz.

Die Basisverfahren für die Bestimmung der Proteinstruktur sind die NMR von Lösungen und Feststoffen, aber auch andere biophysikalische Verfahren wie Fluoreszenz, FTIR und CD-Spektroskopie. Die gesamte Methode beruht auf unserer früheren Arbeit an der Ermittlung der Amyloid-3D-Strukturen von Alzheimer Aβ(1-42)-Fibrillen (Lührs et al. 2005) und der Bestimmung von funktionellen Faltungen des [Het-s]-Prions (Ritter et al. 2005). Der Vorteil ist, dass diese Methode gegenüber geringen strukturellen Unregelmäßigkeiten der untersuchten Proteinansammlungen unempfindlich ist. So ist es möglich, zu einer "Konsensusstruktur" zu gelangen, die wichtige strukturelle Einblicke liefert.



**Konformationelle Umwandlung des Prion Proteins.** Das celluläre PrP ist ein lösliches globuläres Protein, welches in vielen Geweben der Säuger vorkommt. Durch eine Konversionskaskade wird PrP<sup>C</sup> in eine aggregierte amyloid-ähnliche Konformation überführt, die dann infektiös ist. Im Gegensatz zu konventionellen Amyloidosen kann im Falle der Prionen die Konversionskaskade durch exogenes PrP<sup>Sc</sup> angestoßen werden. (B) In vitro Konversion des rekombinanten PrP<sup>C</sup>. Während der „recombinant protein cyclic misfolding amplification“ (rPMCA) wird rekombinantes PrP<sup>C</sup> unter dem Einfluss von natürlichem PrP<sup>Sc</sup> in PrP<sup>Sc</sup> spezifische PrP Partikel (PSSPs) umgewandelt. Auf diese Weise ist es möglich, isotopenmarkierte PSSPs zu erhalten, die für die strukturell Untersuchung mittels NMR geeignet sind. (C) Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4). PSSPs werden auf den Trennkanal aufgetragen, wo sie dann nach hydrodynamischer Größe getrennt werden. Die Bestimmung der exakten Partikeldimensionen erfolgt mittels eines DLS/MALS Detektors. Einzelne Fraktionen werden für die Strukturuntersuchungen herangezogen.

Vilar, M., Chou, H.T., Lührs, T., Maji, S.K., Riek-Loher, D., Verel, R., Manning, G., Stahlberg, H., & Riek, R. (2008) The fold of alpha-synuclein fibrils. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* **105**, 8637-8642.

Wiesand, U., Sorg, L., Amstutz, M., Wagner, S., van den Heuvel, J., Lührs, T., Cornelis, G.R., & Heinz, D.W.\* (2009) Structure of the type III secretion recognition protein YscU from *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Molecular Biology* **385**, 854-866.



## 04 Entwicklung und funktionelle Eigenschaften von Foxp3<sup>+</sup> regulatorischen T-Zellen

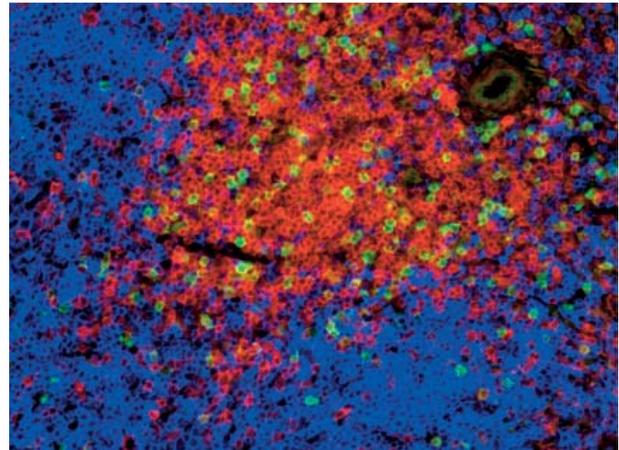
PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jochen Hühn | Abteilung für Experimentelle Immunologie | jhu08@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Sascha Cording | Dr. Stefan Flöß | Dr. Katjana Klages | Julia Polansky

Regulatorische T-Zellen (Tregs) spielen eine zentrale Rolle für die Kontrolle einer Vielzahl von Immunreaktionen und die Aufrechterhaltung von immunologischer Toleranz. CD4<sup>+</sup> Tregs sind durch die Expression des Transkriptionsfaktors Foxp3 gekennzeichnet, der sowohl für die Entstehung der Tregs als auch für deren suppressorische Eigenschaften eine wesentliche Bedeutung hat. Die Mehrzahl der Foxp3<sup>+</sup>-Tregs wird schon während der Reifung der T-Zellen im Thymus gebildet und zeigt Eigenschaften einer stabilen T-Zelllinie. Wir konnten kürzlich zeigen, dass epigenetische Modifikationen im *foxp3*-Gen für die Stabilität der Foxp3-Expression von entscheidender Bedeutung sind (Floess et al., 2007). Ein Ziel dieses Projektes ist das Verständnis der zellulären und molekularen Mechanismen, die zur Entwicklung von stabilen Foxp3<sup>+</sup>-Tregs führen. Ein besonderer Fokus wird dabei auf die Ereignisse gelegt, die im Thymus zu der epigenetischen Modifikation des *foxp3*-Lokus führen.

Foxp3<sup>+</sup>-Tregs reifen nicht nur im Thymus. Es wurde auch beschrieben, dass die Antigenerkennung unter tolerogenen Bedingungen zur *de-novo*-Induktion von Foxp3<sup>+</sup>-Tregs aus konventionellen, naiven T-Zellen führt. Wir konnten zeigen, dass nach oraler Antigengabe insbesondere in dem Leberdrainierenden Lymphknoten eine besonders hohe Frequenz Foxp3<sup>+</sup>-Tregs induziert wird (Siewert et al., 2008). In diesem Projekt wollen wir untersuchen, welche Eigenschaften des Leberdrainierenden Lymphknotens zur effizienten *de-novo*-Induktion der Foxp3<sup>+</sup>-Tregs führen. Zusätzlich wollen wir die Genexpressionsanalyse zur Identifizierung neuer molekularer Marker für die Differenzierung von Thymus-generierten und aus konventionellen T-Zellen *de novo* induzierten Foxp3<sup>+</sup>-Tregs nutzen. Wir wollen herausfinden, zu welchen Anteilen die Gesamtpopulation der in der Peripherie vorkommenden Foxp3<sup>+</sup>-Tregs aus *de-novo*-induzierten Tregs besteht.

Über ihre zentrale Rolle bei der Verhinderung von Autoimmunität hinaus sind Tregs auch an der Kontrolle von Immunreaktionen gegen Nahrungsmittelantigene und die intestinale Mikroflora beteiligt und tragen dadurch wesentlich zur Aufrechterhaltung mukosaler Toleranz und intestinaler Homöostase bei. Wir nehmen an, dass gerade die *de-novo*-induzierten Tregs eine wichtige Rolle für die Toleranz sowohl gegenüber Nahrungsmittelantigenen als auch gegenüber der kommensalen Mikroflora spielen. Diese Hypothese wollen wir in diesem Projekt überprüfen. Zusätzlich wollen wir untersuchen, warum Foxp3<sup>+</sup>-Tregs gerade in der Darmmukosa und den Mukosa-assoziierten lymphatischen Organen eine so starke *in-vivo*-Proliferation aufweisen. Unsere Beobachtung, dass die Reduktion der kommensalen Mikroflora durch antibiotische Behandlung zu einer Reduktion der *in-vivo*-Proliferation der Foxp3<sup>+</sup>-Tregs führt, deutet darauf hin, dass es einen direkten



*Foxp3<sup>+</sup>-positive Zellen in der Milz: Die Zellen wurden durch Fluoreszenz-gekoppelte Antikörper bestimmt. B-Zellen, T-Zellen und Foxp3<sup>+</sup>-Zellen sind jeweils blau, rot und grün gefärbt. Foto: Dr. Eberl, Pasteur Institute, Paris, France. The permission of Dr. Eberl is gratefully acknowledged*

Zusammenhang zwischen der kommensalen Mikroflora und der Treg-Homöostase gibt.

In zahlreichen *in-vivo*-Modellen konnte weiterhin gezeigt werden, dass Foxp3<sup>+</sup>-Tregs eine wichtige Funktion bei der Unterdrückung tumorspezifischer Immunantworten spielen. Mit Hilfe einer transgenen Maus, welche die Detektion und selektive Depletion von Foxp3<sup>+</sup>-Tregs erlaubt (DEREG-Maus = depletion of regulatory T cells; Lahl et al., 2007), wollen wir die Entstehung und Funktion von Foxp3<sup>+</sup>-Tregs im Verlauf von Tumorerkrankungen umfassend aufklären.

Insgesamt erwarten wir von unseren Untersuchungen nicht nur ein besseres molekulares Verständnis von der Entwicklung der Tregs, sondern auch wesentliche Erkenntnisse über ihre *in-vivo*-Eigenschaften, welche uns neue Möglichkeiten für die Induktion und Modulation von Tregs im Rahmen therapeutischer Ansätze eröffnen.

Siewert,C., Lauer,U., Cording,S., Bopp,T., Schmitt,E., Hamann,A. & Huehn,J. (2008) Experience-Driven Development: Effector/Memory-Like alphaE<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cells Originate from Both Naive T Cells and Naturally Occurring Naive-Like Regulatory T Cells. *Journal of Immunology* **180**, 146-155.

Floess,S., Freyer,J., Siewert,C., Baron,U., Olek,S., Polansky,J., Schlawe,K., Chang,H.-D., Bopp,T., Schmitt,E., Klein-Hessling,S., Serfling,E., Hamann,A. & Huehn,J. (2007) Epigenetic control of the *foxp3* locus in regulatory T cells. *PLoS Biol* **5**, e38.

Lahl,K., Loddenkemper,C., Drouin,C., Freyer,J., Arnason,J., Eberl,G., Hamann,A., Wagner,H., Huehn,J.\* & Sparwasser,T.\* (2007) Selective depletion of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells induces a scurfy-like disease. *Journal of Experimental Medicine* **204**, 57-63. \*equally contributed



## 05 Regulation von Virulenzmechanismen, die zur Pathogen-Wirtszell-Interaktion beitragen

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Petra Dersch | Abteilung für Molekulare Infektionsbiologie | pde08@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Katja Böhme | Katharina Herbst | Dr. AnnKathrin Heroven | Tina Kornprobst | Henriette Langhans | Tatjana Stolz | Frank Uliczka | Anna Wagner

Pathogene Bakterien haben hochspezialisierte Mechanismen entwickelt, um sowohl ihr Überleben und ihre Vermehrung im Wirt als auch ihre Verbreitung auf andere Wirte zu sichern. Wichtig ist dabei die Fähigkeit, sich fest an ihre Wirtszellen anzuheften und in diese einzuwandern. Darmbakterien, wie enteropathogene Yersinien, nutzen verschiedene Arten von Außenmembranproteinen, um mit extrazellulären Matrixkomponenten oder bestimmten Wirtszellrezeptoren zu interagieren und ihren Eintritt ins Innere der Zelle zu induzieren. So können Bakterien die intestinale Epithelschicht durchqueren, das darunter liegende Gewebe kolonisieren und sich in tiefer liegenden Organen verbreiten. Im Rahmen unserer Forschungsprojekte charakterisieren wir die Struktur, Funktion und Expression von *Yersinia* Adhäsionsfaktoren, um zu verstehen, wie Darmbakterien das Wirtsgewebe während der Infektion besiedeln.

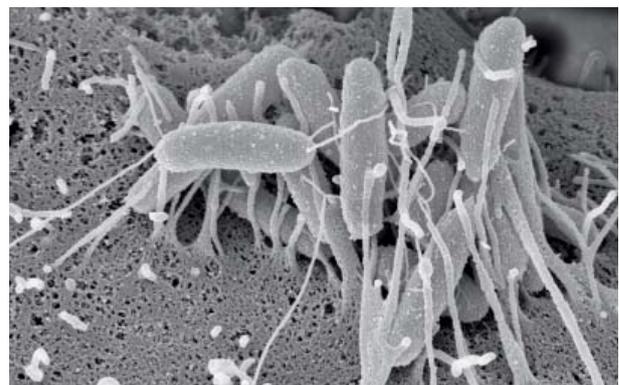
**Molekulare Mechanismen der *Yersinia*-Wirtszellinteraktion** Unsere Arbeiten zeigen, dass die *Y. pseudotuberculosis* Kolonisations- und Invasionsfaktoren YadA und Invasin, die beide mittels  $\beta_1$ -Integrinrezeptoren die Aufnahme der Bakterien in die Wirtszelle vermitteln, sehr ähnliche Signalwege im Inneren der Zelle induzieren. Sie triggern eine Umorganisation des Aktinzytoskeletts, was zur Ausbildung von Pseudopodien führt. Diese umwandern das Bakterium und schließen es in eine membranumschlossene Vakuole ein. Durch die vergleichende Analyse der durch Invasin bzw. YadA induzierten Signaltransduktionswege mit Hilfe pharmakologischer Inhibitoren, "knock-out" Zelllinien und RNA Interferenz konnte gezeigt werden, dass die Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen FAK und Src, die kleinen GTPasen Rac1, Cdc42 und Ras, Akt und weitere bedeutende Proteinkinasen und Zytoskelettkomponenten für die Aufnahme durch beide Adhäsine benötigt werden. Das Ausmaß der Aktivierung und die Reihenfolge der rekrutierten Signalfaktoren sind noch



*Yersinia pseudotuberculosis* sind in humane Epithelzellen eingewandert. Foto: HZI, Rohde

unklar und sollen in Zukunft näher analysiert werden. Es wurden noch weitere Oberflächen-exponierte Proteine in enteropathogenen Yersinien identifiziert, die Homologien zu anderen bakteriellen Adhäsinen aufweisen. Ihr Einfluß auf die Zelladhäsion bzw. Invasion und die Besiedelung von Geweben unterschiedlicher Wirte wird gerade untersucht.

**Regulation der *Yersinia* Adhäsine** Ein großer Teil unserer Forschung zielt darauf hin, die Expression der verschiedenen *Yersinia* Adhäsine während des Infektionsprozesses aufzuklären. Bisher haben wir gezeigt, dass das Invasin auf bestimmte Umweltreize, unter denen die Synthese von YadA reprimiert ist, erfolgt und umgekehrt. Das deutet darauf hin, dass beide Adhäsine für die Besiedelung unterschiedlicher Gewebe und/oder zu unterschiedlichen Zeiten während der Infektion benötigt werden. Wir konnten zudem zeigen, dass die Invasin- und YadA-Expression durch ein komplexes regulatorisches Netzwerk miteinander verknüpft ist. Dies schließt Histon-ähnliche Proteine (H-NS, YmoA), Transkriptionsfaktoren (VirF, RovM, RovA) und posttranskriptionale regulatorische Systeme mit kleinen regulatorischen RNAs und thermosensitiven RNA Strukturen (Thermoswitches) ein. Das komplexe Zusammenspiel zwischen den regulatorischen Komponenten wird auch dafür benötigt, die Expression der *Yersinia* Virulenzfaktoren mit der Adaptation an veränderte Nährstoff- und Stressbedingungen während des Infektionsverlaufs zu koordinieren.



*Yersinia pseudotuberculosis* haben sich auf humanen Epithelzellen angeheftet. Foto: HZI, Rohde

Heroven, A.K., Böhme, K., Rohde, M. & Dersch, P. (2008) A Csr regulatory system, including small non-coding RNAs, regulates the global virulence regulator RovA of *Yersinia pseudotuberculosis* through RovM *Molecular Microbiology* **68**, 1179-1195

Heroven, A.K. & Dersch, P. (2006) RovM, a novel LysR-type regulator of the virulence activator gene *rovA*, controls cell invasion, virulence and motility of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Molecular Microbiology* **62**, 1469-1483.

Heise, T. & Dersch, P. (2006) Identification of a domain in *Yersinia* virulence factor YadA that is crucial for extracellular matrix specific cell adhesion and uptake. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **103**, 3375-3380.



## 06 Intrazellulärer Transport von Phagosomen und Immunität: Erkenntnisse von den Mykobakterien

PROJEKTLLEITER | Dr. Maximiliano G. Gutierrez | Nachwuchsgruppe Biologie der Phagosomen | [mgg08@helmholtz-hzi.de](mailto:mgg08@helmholtz-hzi.de)

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Ianina Conte | Bahram Kasmapour | Achim Gronow

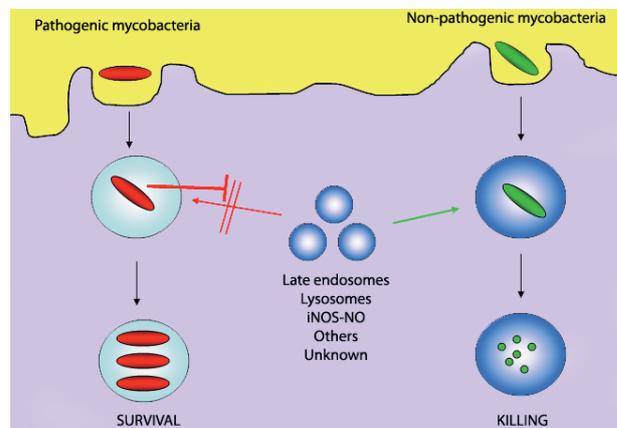
**Phagosome** Bei der Phagozytose umschließen Zellen Partikel und mikrobielle Pathogene. Der Mechanismus der initialen, angeborenen Immunreaktion von Makrophagen gegenüber intrazellulären Pathogenen beinhaltet die Phagozytose. Danach erfolgt das Absterben. Durch Membraneinschluss des Partikels während der Phagozytose entsteht das Phagosom.

Nach der Bildung des Phagosoms, durchläuft diese Organelle eine Reihe von dynamischen Fusions- und Spaltungsvorgängen, durch die die Zusammensetzung der sie begrenzenden Membran und deren Inhalt durch Interaktion mit Komponenten des endozytischen Signalwegs verändert werden. Durch Phagosomreifung wird das Phagosom mit degradativen Eigenschaften versehen, die für seine mikrobizidale Funktion wichtig sind. Zusätzlich werden die mikrobiellen Antigene in den Phagosomen verarbeitet und zur Plasmamembran geleitet, die mit den Molekülen der Klassen I, II und CD1 des Haupthistokompatibilitätskomplexes assoziiert ist, um dann zu den T-Lymphozyten zu gelangen. Man kann das Phagosom als intrazelluläres Kompartiment betrachten, das die Verbindung zwischen angeborenem und adaptivem Immunsystem herstellt. Verschiedene intrazelluläre Pathogene haben gelernt, den normalen Phagosomreifungsvorgang zu ihrem eigenen Nutzen zu unterminieren. Ein Beispiel dafür ist das *Mycobacterium tuberculosis*, der ätiologische Auslöser der Tuberkulose.

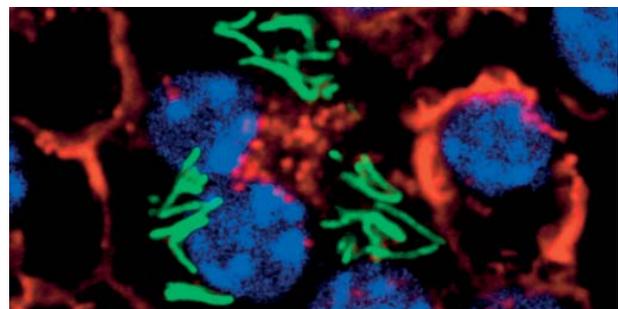
**Mykobakterien** Das wichtigste Merkmal einer Infektion mit *M. tuberculosis* ist die Fähigkeit dieses Pathogens, im Inneren der Phagosome in den Makrophagen zu überleben. Hinzu kommt mit der Blockade der Phagosomreifung eine weitere Fähigkeit. Pathogene Mykobakterien überleben im Inneren der Makrophagen, während nicht-pathogene Mykobakterien von den Makrophagen vernichtet werden. Somit blockieren pathogene Mykobakterien die wesentlichen Abtötungsmechanismen, die durch nicht-pathogene Mykobakterien aktiviert werden. Durch die Untersuchung des Vernichtungsvorgangs nicht-pathogener Mykobakterien wäre es möglich, die im Inneren der Makrophagen aktivierten Vernichtungsmechanismen zu identifizieren.

**Das Projekt** Unsere Forschung konzentriert sich auf die Mechanismen, durch die *M. tuberculosis* die Phagosomreifung stoppt und damit die Vernichtung der Makrophagen verhindert. Wir untersuchen den intrazellulären Transport von nicht-pathogenen und pathogenen Mykobakterien in Makrophagen. Wir haben neuartige Proteine identifiziert, die am Vesikulartransport beteiligt sind, insbesondere an der Phago-Lysosom-Fusion bei einer Infektion mit dem Mykobakterium. Diese Proteine sind höchstwahrscheinlich an dem lysosomal vermittelten Vernichtungsprozess sowie an den molekularen Vorgängen beteiligt, die die Verbindung zwischen angeborener und adaptiver Immunreaktion herstellen.

saDurch unsere Studien gelangt man zu einem besseren Verständnis, wie Makrophagen Mykobakterien und andere infektiöse Pathogene vernichten. Langfristiges Ziel dieses Projekts ist die Identifizierung neuer Zielstrukturen für die Entwicklung von prophylaktischen und therapeutischen Maßnahmen gegen dieses bedeutende menschliche Pathogen. of prophylactic or therapeutic interventions against this important human pathogen.



Intrazellulärer Transport von nicht-pathogenen und pathogenen Mykobakterien innerhalb von Makrophagen. Pathogene Mykobakterien (rot) können nach ihrer Aufnahme in Phagosomen überleben, weil sie die Fusion mit dem endosomalen/lysosomalen Kompartiment blockieren. Im Unterschied dazu werden nicht-pathogene Mykobakterien (grün), wie *M. smegmatis*, abgetötet, weil die Fusion mit dem endosomalen/lysosomalen Kompartiment stattfinden kann.



Knochenmark-Makrophagen infiziert mit dem Bazillus Calmette Guèrin (BCG). Grün: BCG-GFP; rot: Rhodamin-phalloidin; blau: DAPI. Foto: HZI

Gutierrez, M.G., Master, S.S., Singh, S.B., Taylor, G.A., Colombo, M.I. & Deretic, V. (2004) Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell* **119**, 1-20

Gutierrez, M.G., Mishra, B.B., Jordao, M.L., Elliott, E., Anes, E. & Griffiths, G. (2008) NF- $\kappa$ B activation controls lysosome fusion-mediated killing of mycobacteria by macrophages *Journal of Immunology* **181**(4), 2651-2663.

Gutierrez, M.G., Perez Gonzalez, A., Anes, E. & Griffiths, G. (2009) Role of lipids in killing mycobacteria by macrophages: evidence for NF- $\kappa$ B-dependent and -independent killing induced by different lipids *Cellular Microbiology* **11**(3), 406-420.

## DAS PROGRAMM „INFEKTION UND IMMUNITÄT“ IN POF II

Die Forschungsaktivitäten der Helmholtzgemeinschaft gliedern sich in sechs Forschungsfelder, die jeweils mehrere Forschungsprogramme beinhalten. Alle fünf Jahre bewerben sich die HGF-Institute mit den von ihnen konzipierten Forschungsprogrammen in einem kompetitiven Verfahren um Forschungsgelder.

In der ersten Periode der so genannten „Programmorientierten Förderung“ (PoF) war das HZI an insgesamt drei Programmen beteiligt:

1. „Nachhaltige Nutzung von Landschaften“
2. „Vergleichende Genomforschung“
3. „Infektion und Immunität“

In der zweiten Förderphase der HGF (PoF II) hat sich unser Institut ausschließlich auf das Programm „Infektion und Immunität“ konzentriert, das grundlegend umstrukturiert und optimiert wurde. Ziel des Programms ist es, dazu beizutragen, die großen Herausforderungen der Infektionsforschung zu lösen. Basierend auf einer intensiven Grundlagenforschung sollen neue Strategien für die Vorsorge und Therapien gegen Infektionskrankheiten erarbeitet und so ein wesentlicher Beitrag zur öffentlichen Gesundheit geleistet werden. Im Rahmen dieser langfristigen Zielsetzung wurden die einzelnen Forschungsprojekte des HZI in fünf übergeordnete Themenbereiche gegliedert und zusammengefasst:

- Mikrobielle Pathogenese
- Genetische Suszeptibilität und Abwehr des Wirtsorganismus
- Entzündung und Immunität
- Strategien für Vorsorge und Therapie
- Translatorische Infektionsforschung

Ogleich die Einteilung in die genannten Forschungsthemen einen wesentlichen konzeptionellen Aspekt des Programms darstellt, findet ein intensiver Kontakt und Austausch zwischen den einzelnen Themenbereich statt, was wesentlich für den Erfolg des Programms ist.

Der Themenbereich „Mikrobielle Pathogenese“ beschäftigt sich mit der Fragestellung, wie Mikroorganismen Infektionskrankheiten verursachen können. Die Anheftung der Mikroorganismen an die Wirtszellen, das Eindringen und das Überleben in diesen Zellen, die Verteilung der Pathogene in Geweben und die Umgehung des Immunsystems stellen Mechanismen dar, die essenziell für die Ausbildung einer Infektionskrankheit sind.

Die Arbeiten im Themenbereich „Genetische Suszeptibilität und Abwehr des Wirtsorganismus“ zielen auf den infizierten Wirt. Hier soll untersucht werden, welche Faktoren bestimmen, ob ein Organismus anfällig oder resistent für verschiedene Infektionskrankheiten ist. Hierzu werden zunächst genetische und zelluläre Einflussfaktoren in Mausmodellen und später in menschlichen

Populationen (Kohorten) untersucht. Einflüsse wie die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften auf bzw. in den Wirten oder die Ernährung sollen ebenfalls in die Untersuchungen in diesem Themenbereich mit einbezogen werden.

Im Themenbereich „Entzündung und Immunität“ stehen die Prozesse der Immunabwehr gegen Pathogene im Vordergrund des Interesses. Darüber hinaus sollen auch die Mechanismen und Auswirkungen von Fehlregulationen des Immunsystems (z.B. Toxischer Schock, Allergien, Autoimmunerkrankungen) untersucht werden.

Im Themenbereich „Prävention und Therapie“ besteht das wesentliche Ziel darin, Angriffspunkte und entsprechende Substanzen für neue Antiinfektiva und Impfstoffe zu finden. Hierfür werden neue Diagnose- und Immunmonitoring-Verfahren etabliert, neue Impfstrategien entwickelt und neue Substanzen isoliert, charakterisiert und geprüft, die als neuartige Kandidaten für Antiinfektiva in Frage kommen.

Im Themenbereich „Translatorische Infektionsforschung“ werden Aktivitäten des neuen Translationszentrums TWINCORE, das 2008 nahe der Medizinischen Hochschule in Hannover (MHH) etabliert wurde, in das Programm mit eingebunden. In diesem Zentrum, getragen durch MHH und HZI, werden Wissenschaftler des HZI gemeinsam mit klinischen Wissenschaftlern und Klinikern der MHH in sog. „Twinning-Projekten“ an infektionsrelevanten Themen arbeiten.

Um die Ergebnisse der Infektionsforschung möglichst effektiv in greifbare Fortschritte für die Gesundheit der Bevölkerung umzusetzen, arbeiten innerhalb des Programms verschiedene Forschungsdisziplinen eng zusammen. Grundlagenforscher in den Bereichen Mikrobiologie, Zell- und Molekularbiologie sowie Immunologie entschlüsseln die Vorgänge, die bei einer Infektion ablaufen, und schaffen das Basiswissen, um gezielt neue Antiinfektiva und Impfstoffe entwickeln zu können. Vor dem Hintergrund der enormen Komplexität der Prozesse, die ablaufen, wenn ein Pathogen mit dem Wirt in Kontakt kommt und auf verschiedensten Ebenen interagiert, gewinnen systembiologische Ansätze im Programm mehr und mehr an Bedeutung. Die bereits seit einiger Zeit voranschreitenden Arbeiten an Mausmodellen sollen noch weiter intensiviert und durch epidemiologische Forschungsansätze ergänzt werden.

Um die Übertragung der Ergebnisse aus der Grundlagenforschung in die klinische Anwendung zu forcieren, beinhaltet das Programm eine ganze Reihe von Aktivitäten in den Bereichen Chemische Biologie, Naturstoffchemie, Medizinische Chemie und Vakzinologie. Eine potente Strukturbiologie unterstützt die Entwicklung von Wirkstoffen, ist aber auch ein wesentlicher Faktor für die grundlagenorientierten Arbeiten. Durch das neu gegründete Translationszentrum TWINCORE, in dem Grundlagenforscher des HZI direkt mit Klinikern der Medizinischen Hochschule Hannover unter einem Dach zusammenarbeiten, konnte die Komponente der translatorischen Forschung im Programm signifikant gestärkt werden.



# 01 Mikrobielle Pathogenität

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Abteilung für Medizinische Mikrobiologie | [gsc@helmholtz-hzi.de](mailto:gsc@helmholtz-hzi.de)

**Herausforderungen** Trotz der Verfügbarkeit einer großen Anzahl von Antibiotika und antiviralen Wirkstoffen steigt die Belastung durch Infektionskrankheiten kontinuierlich. Chronisch persistierende Infektionen treten immer deutlicher zutage und stellen eine der größten Herausforderungen für die Infektionsmedizin dar. Zunehmende Resistenzen der Erreger gegen Antibiotika sind ein weiterer Grund zur Besorgnis. Wegen der damit einhergehenden Abnahme der therapeutischen Möglichkeiten ist die Entwicklung alternativer Behandlungsstrategien dringend erforderlich. Um diese Herausforderungen meistern zu können, ist ein detailliertes Wissen über die Pathogenitätsmechanismen von größter Wichtigkeit. Der Themenbereich „Mikrobielle Pathogenität“ soll dazu beitragen, diese Aufgaben zu lösen und umfasst drei Hauptforschungsgebiete.

## 1.1 Aufklärung von Pathogenitätsmechanismen

Ziele:

1.1.1 Untersuchung der Wirt-Pathogen-Interaktionen auf molekularer und zellulärer Ebene

1.1.2 Analyse der Biofilmbildung und ihre Regulation

Zusammenfassung: Im Laufe ihrer Co-Evolution mit dem Wirt haben pathogene Bakterien ausgeklügelte Mechanismen entwickelt, um Wirtszellen und Immunsystem für ihre Zwecke zu nutzen. Intrazelluläres Überleben, Dissemination im Wirt und Pathogenpersistenz erfordern eine komplexe Serie von Interaktionen mit der Wirtszelle. Wir werden Wirtszell-Pathogen-Interaktionen auf molekularer und Zellebene anhand von ausgesuchten Mikroorganismen wie *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* und enterohaemorrhagischen *E. coli* untersuchen. Außerdem soll der Mechanismus der Biofilmbildung durch Bakteriengesellschaften, wie *Pseudomonas aeruginosa* und *Streptococcus mutans* einschließen, aufgeklärt werden.

## 1.2 Funktionelle und strukturelle Charakterisierung von Virulenzfaktoren

Ziele:

1.2.1 Identifizierung neuer Virulenzfaktoren pathogener Bakterien

1.2.2 Analyse bakterieller Virulenz mittels Proteomics

1.2.3 Strukturelle Analyse von Proteinen, die an Wirt-Pathogen-Interaktionen beteiligt sind

Zusammenfassung: Pathogene Mikroorganismen produzieren eine Vielfalt von Virulenzfaktoren mit diversen Funktionen in Prozessen wie Adhärenz, Invasion, intrazellulärem Überleben, Umgehung der Immunantwort und bakterieller Kommunikation. Ihre funktionelle Charakterisierung wird nicht nur zum Verständnis der Pathogenität beitragen, sondern auch aussichtsreiche Kandidaten für die Entwicklung von Impfstoffen, Diagnostika und neuen Therapeutika hervorbringen. Wir werden neue Virulenzfaktoren von Streptokokken, Pneumokokken, Listerien und verschiedenen Viren identifizieren und ihre Struktur-Funktions-Beziehung analysieren.

### 1.3 Untersuchung der Pathogendiversität und Epidemiologie

Ziele:

#### 1.3.1 Molekulare Epidemiologie pathogener Bakterien

Zusammenfassung: Ein Hauptproblem bei der Kontrolle von Infektionskrankheiten besteht darin, dass die meisten Pathogene eine hohe Stammdiversität aufweisen. Dies erklärt zumindest teilweise die verschiedenen Krankheitsformen, die durch eine Spezies verursacht werden können. Eine weitere Schwierigkeit liegt in der Zirkulation von Stämmen, die oft große regionale Unterschiede im Antigenprofil und in den Virulenzmerkmalen aufweisen. Molekularepidemiologische Studien werden dringend gebraucht, damit diese Phänomene verstanden und neue regionsspezifische Kontrollstrategien entwickelt werden können. Wir werden mehrere hundert Human- und Tierisolate in verschiedenen geografischen Regionen und mit verschiedenen klinischen Manifestationen sammeln. Diese Isolate werden mit Hilfe eines *low-density* DNA-Mikroarrays analysiert. Dieser detektiert Gene, die klassische und mutmaßliche Virulenzfaktoren kodieren. Von ausgesuchten Stämmen soll dann das Gesamtgenom sequenziert werden.

#### Erwartete Ergebnisse/ Meilensteine:

- Aufklärung der molekularen Mechanismen der Adhärenz, Invasion, Persistenz, Umgehung der Immunantwort und Biofilmbildung
- Identifikation und Charakterisierung von molekularen Targets, die die Entwicklung von pathogenspezifischen Interventionsstrategien erlauben
- Strukturelle Analyse von mikrobiellen Virulenzfaktoren, um deren Rolle in der Pathogenese zu verstehen
- Verstehen der Wirtsspezifität von Pathogenen
- Aufklären der molekularen Epidemiologie von Pathogenen um regionsspezifische Bekämpfungsstrategien zu entwickeln



## 02 Resistenz und Empfindlichkeit des Wirts gegenüber Infektionskrankheiten

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Klaus Schughart | Abteilung für Infektionsgenetik | kls@helmholtz-hzi.de

Der Verlauf und die Schwere einer Infektion hängen von vielen Faktoren ab. Hierzu zählen die Virulenz und die Dosis des Pathogens sowie der Gesundheitszustand, das Alter, das Geschlecht, das Erbgut und der Ernährungszustand des Wirts. Die Virulenz von Pathogenen ist recht gut untersucht. Allerdings sind die immunologischen und molekularen Vorgänge im Wirt, die den Verlauf einer Infektion beeinflussen können, bislang nur wenig untersucht. Noch weniger weiß man über den Einfluss der Wirtsgene auf den Verlauf einer Infektion.

Daher besteht das Hauptziel dieses Themenbereiches darin, ein besseres Verständnis der Wirtsfaktoren zu erlangen, die zur Etablierung einer wirksamen Immunabwehr gegen Pathogene beitragen. Insbesondere werden Untersuchungen zur Identifizierung genetischer Faktoren und zur Charakterisierung mikrobieller Gemeinschaften durchgeführt, welche die Reaktion des Wirtes auf das infektiöse Pathogen beeinflussen.

**GENETISCHE FAKTOREN IN TIERMODELLEN** Die Bedeutung der genetischen Faktoren des Wirts für den Verlauf von Infektionskrankheiten wurde für virale, bakterielle und Parasitenpathogene beim Menschen, bei Nutztieren und in Säugetiermodellen dokumentiert. Die Wirtsfaktoren, wie z.B. angeborene und adaptive Immunreaktionen, Immunschwächen oder Autoimmunität, haben einen direkten Einfluss auf die Effektivität der Wirtsabwehr. Dennoch ist ein besseres Verständnis der genetischen Faktoren, welche im Wirt die molekularen und zellulären Komponenten des Immunsystems beeinflussen, für die Entwicklung neuer Strategien zur Vorbeugung und Behandlung von Infektionskrankheiten von großer Bedeutung.

Um die Wirkmechanismen der genetisch bedingten Suszeptibilitätsfaktoren beim Menschen zu erforschen und zu verstehen, sind experimentelle Untersuchungen an Tiermodellensystemen extrem wichtig. Die Maus ist hierbei eines der wichtigsten Modellsysteme, da ihr Immunsystem sehr gut erforscht ist. Weiterhin ist das Genom der Maus sehr gut untersucht und eine Vielzahl von Mutantenlinien und genetisch varianten Mausstämmen steht zur Verfügung.

Die genetische Resistenz oder Suszeptibilität des Wirts gegenüber Infektionen stellt in der Regel ein komplexes System von Ereignissen dar. Hierfür ist eine Vielzahl von Genen verantwortlich. Sie bilden die Basis für die meisten genetisch bedingten Krankheiten und Prädispositionen beim Menschen. Komplexe Eigenschaften sind beim Menschen schwer zu untersuchen, da die phänotypische Variabilität nicht nur auf die Genetik zurückzuführen ist, sondern auch durch Umweltfaktoren beeinflusst wird.

**Identifizierung von genetischen Faktoren, die die Empfindlichkeit des Wirts bestimmen** An Tiermodellen werden die genetischen Faktoren untersucht, die die Reaktion des Wirts auf eine Infektion beeinflussen. Dabei werden Populationen von Mäusen, die sich in ihrem Erbgut unterscheiden, und Mausmutanten mit Defekten an spezifischen Genen mit Pathogenen infiziert. Anschließend wird die primäre und sekundäre Immunantwort analysiert. Wir konzentrieren uns bei unseren Untersuchungen auf folgende Pathogene:

Die Streptokokken der Gruppe A sind menschliche Pathogene, die eine Vielzahl von Krankheiten verursachen können. Wir haben nachgewiesen, dass Mausstämmen mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund, deutliche Unterschiede in ihrer Empfindlichkeit gegenüber *Streptococcus pyogenes* aufweisen. Durch die vergleichende Analyse von resistenten und suszeptiblen Mausstämmen ermitteln wir derzeit die Gene und genetischen Netzwerke, welche die erhöhte Empfindlichkeit gegenüber *S. pyogenes* beeinflussen. Wir charakterisieren die immunologischen Vorgänge und die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen und entwickeln neue Strategien zur Erhöhung der Resistenz bei empfindlichen Wirten.

*Staphylococcus aureus* ist eine der Hauptursachen für lebensbedrohliche, bakterielle Infektionen in den westlichen Industrieländern. Vor kurzem haben wir stammabhängige Unterschiede in den Reaktionen auf *S. aureus* Infektionen bei Labormäusen festgestellt. Anhand dieser Unterschiede können wir nun die genetischen, zellulären und molekularen Mechanismen studieren, die für die Abwehrreaktion des Wirts eine wichtige Rolle spielen.

Das Influenza-A-Virus stellt eine der größten Bedrohungen für die Gesundheit des Menschen und die Volkswirtschaft dar. Bislang weiß man noch nicht viel über die Resistenz oder Empfindlichkeit des Wirts gegenüber Influenza-Infektionen. Am HZI haben wir ein Infektionsmodell für das Influenza A H1N1-Virus an Mäusen etabliert und Unterschiede zwischen verschiedenen Inzuchtstämmen beobachtet. Wir führen derzeit Vergleichsstudien zur Pathogenese, zur Genexpression in der Lunge, zur Viruslast und zur Immunreaktion bei infizierten Mäusen unterschiedlicher Stämme durch. Diese Informationen werden verwendet, um „Quantitative Trait Loci“ (QTL) zu kartieren, die zur genetisch bedingten Empfindlichkeit beitragen.

Das Prionprotein PrP<sup>C</sup> bei Säugern ist in der Lage, die Konformation von einer monomeren, löslichen Form zu einem aggregierten, transmissiblen Prionenzustand PrP<sup>Sc</sup> zu verändern. Sobald ein Prion in einen suszeptiblen Wirt eingedrungen ist, löst es eine PrP-Konvertierungskaskade aus, die zur Prionenerkrankung führt. Um die Ursachen der Transmissionsbarrieren und die Prionenadaptation an neue Wirte zu verstehen, wird eine Kombination von mehreren Techniken eingesetzt. Hierzu wird u.a. die 3D-Struktur der mit dem Säugetierprion verbundenen PrPs aufgeklärt. Diese Studien sollen uns einen detaillierten Einblick in die biophysikalischen Mechanismen der Konformationskonvertierung von PrP<sup>C</sup> verschaffen.

**Regulatorisches Gennetzwerk** Hier untersuchen wir die Reaktion des Wirts in verschiedenen Mauspopulationen. Es werden Mäuse verschiedener Inzuchtstämmen mit *S. aureus* und Influenza infiziert. Während des Infektionsverlaufs werden vollständige Genomexpressionsmuster aufgenommen und anschließend die Expressionsniveaus mit den Genotypen korreliert. So werden „expression Quantitative Trait Loci“ (eQTLs) ermittelt, die andere Gene regulieren. Auf diese Weise lassen sich genregulatorische Netzwerke ableiten. Diese Netzwerke werden mit Computermodellen simuliert, danach an der Maus validiert und weiter verfeinert.

**GENETISCHE FAKTOREN BEIM MENSCHEN** Beim Menschen wurden mehrere Einzel-Gen-Loci identifiziert, die zur Empfindlichkeit des Wirtes gegenüber einer Infektion beitragen können. Fast alle diese Genorte wurden zuvor als Suszeptibilitäts-Loci in Mäusen beschrieben. Die umfangreichen Genkarten beim Menschen ermöglichen es nunmehr, auch komplexe genetische Loci, die mit Krankheiten beim Menschen in Verbindung stehen, direkt zu kartieren. Am Menschen wurden bisher nur wenige Genom-weite Assoziationsstudien durchgeführt, bei denen die genetischen Einflüsse auf die Infektionssuszeptibilität untersucht wurden. In einer neueren Studie werden drei Genloci beschrieben, die mit dem Beginn und Verlauf von HIV-Infektionen assoziiert sind.

Wir planen, bei größeren Personengruppen verschiedene immunologische Parameter und individuelle Infektionsverläufe zu untersuchen. Um die Genombereiche und die in Frage kommenden Gene zu identifizieren, werden Phänotyp-Genotyp-Assoziationsstudien durchgeführt, anhand derer die Prädisposition gegenüber Infektionskrankheiten ermittelt werden soll. Mit diesen Daten lassen sich dann Hypothesen über die molekularen Mechanismen sowie über die Gene und Gennetzwerke aufstellen, die an der Wirtsabwehr beteiligt sind.

**MIKROBIELLE GEMEINSCHAFTEN IM WIRT** Neben genetischen Faktoren beeinflusst der physiologische Zustand eines Individuums in großem Maße seine Fähigkeit, sich erfolgreich gegen ein Pathogen zu verteidigen. Eine genauere Kenntnis der Faktoren, die die Abwehr des Wirtes gegenüber dem infektiösen Pathogen bestimmen, ist für den künftigen Gesundheitsvorsorgebedarf maßgeblich – insbesondere in einer Gesellschaft, in der der Anteil der älteren Menschen ständig wächst.

Mikrobielle Gemeinschaften bilden sich oftmals als Biofilme auf medizinischen Implantaten und sind die Ursache für Entzündungsreaktionen. Dadurch kann es notwendig werden, das Implantat zu entfernen oder zu ersetzen. Über die Zusammensetzung solcher mikrobieller Gemeinschaften auf Implantaten ist bisher nur wenig bekannt. Daher analysieren wir im Detail die Zusammensetzung und die molekularen Interaktionen der mikrobiellen Gemeinschaften in Biofilmen.

**Bestimmung von genetischen und Umwelteinflüssen auf mikrobielle Gemeinschaften** Komplexe Bakteriengemeinschaften kommen im Verdauungstrakt und in der Lunge vor. Ziel unserer Untersuchungen ist es zu verstehen, wie genetische Faktoren und die Ernährung die Zusammensetzung solcher Gemeinschaften beeinflussen und wie diese Veränderungen die Reaktion des Wirts auf Infektionen verändern können. Daher analysieren wir die mikrobielle Vielfalt im Verdauungstrakt der Maus unter verschiedenen genetischen Bedingungen und unterschiedlichen Umgebungsszenarien. Desweiteren führen wir Studien durch, die herausfinden sollen, wie die Zusammensetzung der Nasenmikroflora die asymptomatische Übertragung von Pathogenen beeinflusst.



## 03 Entzündung und Immunität

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Hansjörg Hauser | Bereich Molekulare Biotechnologie | hha@helmholtz-hzi.de

Eine der größten Herausforderungen für das Immunsystem ist die enorme Diversität der Pathogene, mit denen sich ein Organismus auseinandersetzen muss. Einerseits ist es nötig, dass eine schnelle Immunantwort eine große Anzahl verschiedenster Pathogene abwehrt, andererseits ist es nötig zwischen selbst- und nicht-selbst-Antigenen zu unterscheiden, um Selbstzerstörung zu vermeiden. Die exakten Mechanismen, wie diese spezifischen Antworten orchestriert sind, sind wenig verstanden. In unserem Immunsystem spielen verschiedene Zelltypen spezifische Rollen. Im Programm „Entzündung und Immunität“ versuchen wir verschiedene Aspekte des zellulären und molekularen Netzwerks unserer Immunantwort zu verstehen. Das bringt eine funktionelle Analyse unterschiedlichster Komponenten des Immunsystems, welche bei der Wirt-Pathogen-Interaktion beteiligt sind, mit sich. Wir konzentrieren uns auf das Studium der verantwortlichen Zellen als auch auf Vorgänge, welche für interzelluläre Signalweiterreichung verantwortlich sind, und versuchen die zugrunde liegenden Mechanismen für eine koordinierte Abwehr zu verstehen.

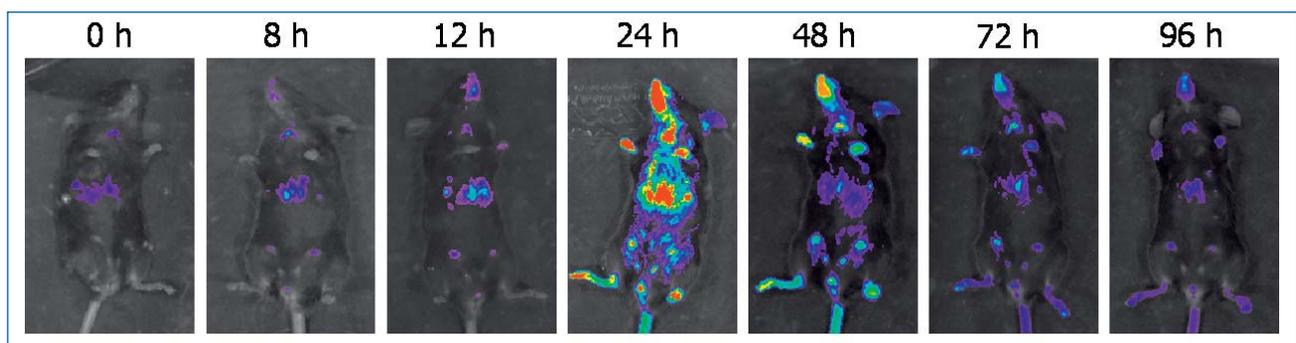
### 3.1 Pathogen-induzierte Wirtsreaktionen

- *In-vivo*-Analyse des inter- und intrazellulären Interferonnetzwerks
- Charakterisierung des Interferonsystems unter spezifischen pathologischen Bedingungen
- Aufklärung der Struktur und Funktion von Rezeptoren des angeborenen Immunsystems
- Verständnis der Rolle von „lipid rafts“ bei der Infektion

### 3.2 Immunregulatorische Netzwerke

- Aufklärung der wichtigsten Mediatoren und Signalkaskaden bei Entzündungen und T-Zellaktivierung
- B- und T-Zellen bei der Immunregulation

Mit den Ergebnissen unserer Arbeiten erwarten wir, dass trotz Spezifität der Fragestellung Aussagen getroffen werden können, die eine breitere Gültigkeit haben. So glauben wir, dass durch die Aufklärung einzelner Rezeptoren des angeborenen Immunsystems prinzipielle Mechanismen über die Interaktion zwischen auslösenden Pathogenkomponenten und der Aktivierung solcher Rezeptoren abgeleitet werden können. In ähnlicher Weise erwarten wir von dem Studium des Interferonsystems, dass eine Reihe dieser Beobachtungen auch für andere Zytokine Gültigkeit haben. Neben der Aufklärung von derartigen Grundlagenerkenntnissen sollte es durch Identifizierung der Schlüsselereignisse möglich sein, Angriffspunkte für neue Medikamente zu finden.



Infektion mit einer VSV-Mutante AV2 ( $10^6$  pfu) Foto: HZI



## 04 Strategien für Prävention und Therapie

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Abteilung für Vakzinologie und Angewandte Mikrobiologie |  
cag@helmholtz-hzi.de

Keine Volkswirtschaft, einschließlich der Volkswirtschaften der Industrieländer, kann die Kostenexplosion verkraften, die mit der Diagnose, der Prävention und der Behandlung von Infektionen verbunden ist. Durch die Entstehung von Pathogenen, die gegen viele Medikamente resistent sind, wird auch die klinische Versorgung der an Infektionskrankheiten erkrankten Patienten immer schwieriger. Daher sind die wichtigsten Zielstellungen in diesem Themenbereich: (i) die Etablierung neuer Impfstrategien, (ii) die Entwicklung stabiler Diagnose- und Überwachungsmethoden und (iii) die Entdeckung neuer Antiinfektiva.

**IMPFSTRATEGIEN** Eine Impfung stellt die kostengünstigste prophylaktische Maßnahme gegen Infektionen dar. Auch nimmt das Interesse an der Möglichkeit der Verwendung von Impfstoffen als therapeutisches Mittel gegen übertragbare und nicht übertragbare Krankheiten immer mehr zu. Daher werden Werkzeuge und Strategien zur Immunintervention entwickelt und anschließend für die Herstellung von Impfstoffkandidaten gegen bestimmte Krankheiten eingesetzt. Da die meisten Infektionserreger nur über die Schleimhäute eindringen können bzw. auf diese angewiesen sind, ist es in hohem Maße wünschenswert, eine lokale Immunantwort an der Eintrittspforte zu induzieren. Daher wurde ein Forschungsprogramm zur Identifizierung von mukosalen Adjuvantien aufgebaut. Bei chronischen Infektionen kann die zielgerichtete Modulation des Immunsystems durch Übertragung von Antigen-präsentierenden Zellen, Effektorzellen und regulierenden Zellen neue Ansätze zur immunologischen Kontrolle dieser Krankheiten eröffnen. Um dem Bedarf an solchen Verfahren gerecht zu werden, werden Zellimmuntherapien entwickelt und etabliert. Weiterhin sind für die Überführung neuer Forschungsergebnisse aus der Grundlagenforschung in die klinische Praxis neue Strategien für ein schnelles und kostengünstiges Screening, Auswahl und Priorisierung der in Frage kommenden Stoffe erforderlich. Die mit Maus-basierten Systemen erzielten Ergebnisse lassen sich nicht immer auf den Menschen übertragen und Primaten-basierte Modelle sind oftmals zu teuer oder aufgrund ethischer Bedenken nicht anwendbar. Daher werden kostengünstige präklinische Validierungssysteme basierend auf humanisierten Mäusen mit einem hohen Vorhersagewert für den Menschen entwickelt.

**DIAGNOSE** Die Diagnose ist für die Ermittlung vorhandener Pathogene und Infektionsursachen bei Einzelpersonen und ganzen Populationen von größter Bedeutung. Die Diagnose bildet den Grundstein zur richtigen Bewertung der Art und Ätiologie einer Krankheit, zur Wahl der angebrachten Behandlung und zur Überwachung der Wirksamkeit der getroffenen Maßnahmen. Dank der neuesten Fortschritte auf dem Gebiet der molekularen Detektion sind detaillierte Untersuchungen im Hinblick auf taxonomische Auflösung und *in situ* Genexpression möglich. Es werden jedoch neue Methoden benötigt, die eine Kombination der Analysen von Viren, Bakterien und niederen Eukaryoten ermöglichen. Damit gäbe es die Möglichkeit, die komplexen polymikrobiellen Ereignisse im Verlauf der Infektion eines Individuums bzw. einer Epidemie aufzuklären. Dasselbe gilt auch für Methoden zur Überwachung der Immunantwort, mit denen eine Auftrennung der Wirtsreaktionen auf natürliche Infektionen bzw. Impfungen möglich ist.

Daher ist dieser Themenbereich wichtig für die Entwicklung schneller und zuverlässiger Verfahren zur: (i) Ermittlung und Quantifizierung wichtiger Pathogene in klinischen oder auch Umweltproben ohne Kultivierung, (ii) Bewertung der Aktivität und Virulenz von spezifischen Pathogenen *in situ* und (iii) Gewährleistung einer wirksamen Überwachung der Immunantworten von infizierten oder geimpften Individuen.

**ANTIINFJEKTIVA** Die Entwicklung einer neuen Generation von Antiinfektiva ist dringend erforderlich. Eine enge Zusammenarbeit zwischen Chemikern und Biologen ist eine wichtige Voraussetzung für ein derartiges Unterfangen. Daher wurden die Forschungsaktivitäten zur Identifizierung, Analyse, chemischen Synthese und biologischen Bewertung von bioaktiven Kleinmolekülen in ein chemisches Forschungsprogramm eingebunden. Dies koordiniert alle Phasen der Antiinfektionsforschung von der Entdeckung einer neuen bioaktiven Substanz, deren Produktion, chemischen Verbesserung, funktionellen Untersuchung bis hin zu deren Bereitstellung als biochemisches Werkzeug oder Antiinfektivum. So werden neue chemische Stoffe in die bereits bestehende Bibliothek chemischer Verbindungen am HZI aufgenommen, indem zum einen nach weiteren mikrobiellen Quellen gesucht wird und zum anderen die existierenden mikrobiellen Produzentenstämme genetisch manipuliert werden. Die chemische Synthese wird zum Einsatz kommen, um von ausgesuchten natürlichen Kernstrukturen Derivate zu erzeugen. Bioaktive Moleküle werden für die Verwendung als biochemische Werkzeuge oder als Leitstrukturen für die Entwicklung von Medikamenten modifiziert. Weiter werden die aktiven pharmakophoren Teilstrukturen der Stoffe identifiziert werden. Dann kommen chemische Synthesen und spezifische Modifizierungen der Ausgangsstrukturen zur Anwendung, um die besonderen strukturellen Details zu validieren und die an der Wirksamkeit beteiligten strukturellen Elemente zu identifizieren. Dadurch wird es möglich, gezielt geeignete Stellen auszuwählen, um entweder die Eigenschaften der Moleküle zu verändern, entsprechende Markersubstanzen anzufügen oder die Strukturen so zu vereinfachen, dass eine synthetische Produktion der aktiven Derivate erleichtert wird. Durch weitere Untersuchungen wird eine Aufklärung der Wirkungsweise der entdeckten Substanzen möglich sein. Die bioaktiven Substanzen mit den besten Erfolgsaussichten werden dann als neue Antiinfektiva für den Einsatz in der klinischen Praxis weiterentwickelt.

#### **Voraussichtliche Ergebnisse**

- Entwicklung hochauflösender, molekularer Genotypisierung und Methoden zur Quantifizierung bzw. Ermittlung der Virulenz
- Etablierung einer präklinischen Plattform auf der Grundlage von humanisierten Mäusen für die Validierung von Impfstoffen und Antiinfektiva
- Nachweis des Prinzips für mindestens einen Impfstoffkandidaten
- Entdeckung von neuen antimikrobiellen chemischen Gruppen und die Überführung von mindestens einer in die klinische Entwicklung



## 05 Translationale Infektionsforschung

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Ulrich Kalinke | Twincore | Kalinke.Ulrich@mh-hannover.de

Bei der translationalen Infektionsforschung wird bereits bei der Bearbeitung von wissenschaftlichen Fragestellungen die Umsetzung von Erkenntnissen in neue Therapieformen oder neue Diagnoseverfahren berücksichtigt. Umgekehrt spielt auch die Weiterleitung wichtiger Fragestellungen aus der Arbeit mit Patienten zu den Grundlagenforschern eine wichtige Rolle. Für einen möglichst verlustarmen Translationsprozess ist es notwendig, mögliche Hindernisse frühzeitig zu identifizieren, um diese bei dem Fortgang der Arbeiten entsprechend zu umgehen oder zu überwinden. Diese Art der Forschung kann zu einer effizienteren Umsetzung neuer Erkenntnisse in reale Vorteile für das Gesundheitswesen führen. Zu einem vollständigen Translationsprozess von einer guten Idee zu einem fertigen neuen Arzneimittel müssen sehr viele Partner mit unterschiedlichsten Expertisen beitragen. Derzeit werden im Bereich Hannover – Braunschweig Partnerschaften zwischen verschiedenen Einrichtungen etabliert, um Translationsprozesse zu optimieren. Grundlage für eine möglichst verlustarme Translation ist eine „interdisziplinäre Arbeitskultur“ zwischen Experten der unterschiedlichsten Fachbereiche.

Das Forschungsgebiet „Gesundheit“ der Helmholtz-Gesellschaft fördert die Umsetzung von Forschungsergebnissen aus der Grundlagenforschung in die klinische Praxis. Derzeit besteht die für eine erfolgreiche Translation notwendige Infrastruktur nur in Teilen. Weiterhin existieren bei den Experten der unterschiedlichen Bereiche voneinander abweichende Karrierestrukturen und Prämierungssysteme. Dieser Umstand erschwert die Zusammenarbeit zum Beispiel zwischen Grundlagenforschern und klinischen Forschern. Das hat zur Folge, dass Grundlagenforschung, klinische Forschung und andere Gebiete der Translation oftmals schlecht in Gesundheitsforschungsprogrammen integriert sind. Die meisten Grundlagenforscher leiten ihre Forschungsthemen über die Grenzen der Erkenntnis in der Literatur ab, nur selten werden Themen aus realen Problemen in der klinischen Praxis abgeleitet. Daraus resultiert, dass ein Grundlagenforscher, der zum Beispiel eine vielversprechende, neue Medikamentenzielstruktur entdeckt hat, nur unzureichende Kenntnisse von dem Prozess hat, der notwendig ist, um von der erfolgreichen Entdeckung über die Entwicklung eines Medikaments bis zu klinischen Versuchen zu gelangen. Andererseits finden klinische Forscher ohne das entsprechende Umfeld oftmals nicht ausreichend Zeit, um Forschungsthemen die notwendige Aufmerksamkeit zu widmen. Folglich behindern die „translationalen Lücken“ eine rasche Umsetzung von Ergebnissen der Grundlagenforschung in die klinische Praxis. Neben diesen allgemeinen Hindernissen gibt es eine Reihe von Problemen, die sich innerhalb der translationalen Forschung speziell auf den Bereich der Infektionskrankheiten beziehen. Dazu gehören der Mangel an gut strukturierten Karriereplänen für klinische Wissenschaftler und der Rückgang des Engagements der Industrie in diesem Bereich.

Um diese Probleme überwinden und ein wirksames translationales Forschungsprogramm für Infektionskrankheiten entwickeln zu können, ist das HZI eine langfristige, strategische Allianz mit der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) eingegangen. Gemeinsam gründeten beide Institutionen TWINCORE, Zentrum für Experimentelle und klinische Infektionsforschung GmbH mit Sitz in Hannover. In den kommenden Jahren entwickelt TWINCORE in Zusammenarbeit mit der MHH und dem HZI ein translationales Forschungsprogramm im Bereich Infektionsforschung. Diese Arbeit beginnt 2009 mit zwei Projekten, die sich mit HCV-Infektionen befassen. Die Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der MHH ist eines der führenden Zentren für die klinische Behandlung von HCV-Infektionen und koordiniert viele der klinischen Spätphasenversuche für neue therapeutische Maßnahmen.

Die Medikamentenresistenz gegenüber antiviralen HCV-Mitteln stellt ein großes Problem bei der Behandlung von HCV-Infektionen dar, zumal die verfügbaren Medikamente starke Nebenwirkungen aufweisen. Deshalb werden neue präventive und therapeutische Verfahren dringend benötigt. Die Zielstellung des ersten Projektes ist die Identifizierung der wesentlichen Molekülinteraktionen zwischen viralen Proteinen und Wirtsfaktoren bei einer HCV-Infektion sowie die Implementierung von Screeningsystemen zur Identifizierung von inhibitorischen Substanzen. Das zweite Projekt befasst sich mit der Erforschung der Funktion des Typ I Interferons im Zusammenhang mit der Infektion und Therapie von HCV. Dabei wird unter anderem der Frage nachgegangen, warum chronische Infektionen mit HCV-Erregern verschiedener Genotypen unterschiedlich gut mit einer Kombinationstherapie aus Ribavirin und Typ I Interferon behandelbar sind. Weiterhin werden Mechanismen von Typ I Interferon zur Viruskontrolle innerhalb des zentralen Nervensystems und als Verstärker von endogenen Immunantworten untersucht.



## TWINCORE, Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung GmbH



GESCHÄFTSFÜHRER | Prof. Dr. Ulrich Kalinke

LEITER DER ABTEILUNG FÜR EXPERIMENTELLE INFektionsFORSCHUNG | Prof. Dr. Ulrich Kalinke

LEITER DER ABTEILUNG FÜR EXPERIMENTELLE VIROLOGIE | Prof. Dr. Thomas Pietschmann

LEITER DER ABTEILUNG FÜR INFektionsIMMUNOLOGIE | Prof. Dr. Tim Sparwasser

LEITER DER ABTEILUNG FÜR ZELL- UND GENTHERAPIE | Prof. Dr. Michael Ott

LEITER DER ABTEILUNG FÜR INFektion UND KREBS | Prof. Dr. Tim Greten

LEITERIN DER ABTEILUNG FÜR PATHOPHYSIOLOGIE BAKTERIELLER BIOFILME | Prof. Dr. Susanne Häußler

**TWINCORE, das Zentrum für translationale Forschung des HZI und der MHH** TWINCORE, das Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung GmbH, ist ein Joint-venture zwischen dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI), Braunschweig, und der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH). Das ehemalige Gebäude des Max-Planck-Instituts wurde 2005 vom HZI übernommen. Danach wurde der Innenbereich renoviert, und das neu eingestellte Personal bekam seine Aufgabenbereiche zugewiesen. Am 1. August 2008 wurde Prof. Dr. Ulrich Kalinke zum Geschäftsführer bestellt. Die offizielle Einweihung fand dann am 29. August 2008 statt. Seit dem 17. Oktober 2008 ist die TWINCORE GmbH im Handelsregister eingetragen. Ziel der Gründung von TWINCORE ist die Förderung und Weiterentwicklung der hervorragenden Kompetenzen des HZI und der MHH im Bereich Infektionsforschung innerhalb eines gemeinsamen Forschungszentrums mit Schwerpunkt auf der translationalen Forschung. Dabei hat die translationale Forschung eine Doppelfunktion: Einerseits sollen die neuesten Erkenntnisse der Grundlagenforschung Eingang in die Therapie beim Patienten finden, zum anderen sollen die Grundlagenforscher offene Fragen der klinischen Praxis klären. Einen Schwerpunkt der Arbeit bei TWINCORE bildet auch die wissenschaftliche Untersuchung von Belangen der Regulierung in Bezug auf die Genehmigung und Durchführung von klinischen Tests. Vor der Durchführung klinischer Tests müssen oftmals komplexe Fragen geklärt werden, beispielsweise Fragen zur Relevanz von vorklinischen Experimenten, um die Sicherheit und Wirksamkeit neuer Arzneien für die Anwendung beim Menschen zu gewährleisten. TWINCORE unterstützt die Entwicklung neuer Behandlungsmöglichkeiten für die Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten durch Erarbeitung einer fundierten wissenschaftlichen Basis für die Risikominimierung im Vorfeld der Tests von neuen Methoden am Menschen.

**FORSCHUNGSPROFIL VON TWINCORE** Die Forschung bei TWINCORE hat vier Schwerpunkte: die Analyse von Pathogen-Wirt-Interaktionen, neue Mechanismen der Pathogenhemmung, die Untersuchung neuer Impfstrategien und neue vorklinische Modelle. Im Folgenden werden die wichtigsten Themen innerhalb dieser Schwerpunkte kurz beschrieben.

**1. Analyse der Pathogen-Wirt-Interaktionen** Über lange Zeiträume der gemeinsamen Evolution haben Pathogene und Wirte komplexe Strategien entwickelt, um sowohl das Überleben der Wirtspopulation als auch der Pathogenpopulation zu sichern. Auf zellulärer Ebene spielen dabei intrinsische Immunmechanismen eine Rolle. Bei TWINCORE werden Untersuchungen durchgeführt, mit denen ermittelt werden soll, welchen Einfluss solche Faktoren auf die Wirts- und Gewebsspezifität von Pathogenen haben. Seit einigen Jahren gilt es nunmehr als gesichert, dass zusätzlich zur Kommunikation von "Foreign Signals" eine Kommunikation

von "Danger Signals" über Mustererkennungsrezeptoren (PRR) eine wichtige Rolle bei der Induktion der Schutzimmunität spielt. Gegenstand umfangreicher Untersuchungen ist die Analyse der Mechanismen, über die die angeborene Immunität durch eine Stimulation der PRR gesteuert wird und deren Auswirkungen auf die Pathogen-spezifische Immunität. Dabei wird sowohl der akute als auch der chronische Verlauf der Infektion untersucht. Pathogene haben verschiedene Strategien zur Umgehung des Immunsystems des Wirts entwickelt. Die Suche richtet sich dabei auf Pathogen-encodierte Faktoren, die den Immunprozess beeinflussen können. Des Weiteren wird auch der Einfluss von regulatorischen Zellen auf den Verlauf der Infektion analysiert. Ein wichtiges Thema ist dabei die Untersuchung von Pathogen-vermittelten Tumorbildungen, wie man es beispielsweise in Verbindung mit einer chronischen Infektion mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV) beobachten kann, was häufig zur Ausbildung eines Leberkarzinoms führt.

**2. Neue Mechanismen der Pathogenhemmung** Nach dem triumphalen Einzug der Antibiotika in die Behandlung von bakteriellen Infektionen wurden in den letzten Jahrzehnten bahnbrechende Erfolge bei der Entwicklung von antiviralen Substanzen erzielt. Bei TWINCORE wird nach neuen Verfahren zur Hemmung der Pathogenreproduktion gesucht. In Zusammenarbeit mit dem HZI und der Universität Hannover werden Bibliotheken von biologischen Substanzen überprüft, die eine antivirale und antibakterielle Wirkung haben. Das erfordert den Einsatz neuer Zellkultivierungsmethoden, mit Hilfe derer man beispielsweise gezielt nach Inhibitoren der HCV-Replikation suchen kann. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Suche nach Inhibitoren der bakteriellen Biofilmbildung bei chronischen Infektionen. Analog dazu werden neue Gentherapiemethoden für die Behandlung von Infektionskrankheiten erforscht. Des Weiteren wird auch untersucht, ob Pathogen-encodierte Immunmodulatoren potentielle Zielstrukturen für neue therapeutische Verfahren darstellen.

**3. Neue Impfstrategien** Für die Allgemeinheit ist das Impfen einer der größten medizinischen Fortschritte. Es gibt aber immer noch viele Infektionskrankheiten, für die keine Impfung zur Verfügung steht. Daher werden bei TWINCORE neue Impfstrategien mit virusähnlichen Partikeln zur Anwendung als Impfstoffträger zusammen mit der spezifischen *In-vivo*-Beschickung von spezialisierten kreuzpräsent dendritischen Zellen mit Antigenen untersucht. Eine interessante Möglichkeit ist dabei die Verstärkung der Immunreaktionen über die Beeinflussung der regulatorischen T-Zellen. Zurzeit gibt es vergleichsweise wenige erprobte Adjuvanzien zur Verstärkung der Immunreaktionen nach einer Impfung. Deshalb werden am HZI zusammen mit den Kooperationspartnern neue Adjuvanzien erforscht. In ähnlicher Weise

wird untersucht, ob Zytokine geeignete natürliche Adjuvanzien für bestimmte Impfprotokolle sind. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Analyse von Mechanismen, die die Induktion von lang andauernden IgG-Reaktionen fördern.

**4. Neue vorklinische Modelle** Neue therapeutische oder prophylaktische Verfahren, die in der Grundlagenforschung entwickelt werden, müssen umfangreichen vorklinischen Tests unterzogen werden, bevor man sie am Menschen testen kann. Bei TWINCORE werden neue Modelle entwickelt, die dazu dienen sollen, genauere Vorhersagen in Bezug auf die Reaktionen beim Menschen zu treffen. Ein wichtiger Punkt in dieser Hinsicht ist die Humanisierung von Mausmodellen. Zu diesem Zweck werden einerseits Mäuse mit menschlichen Zellen behandelt, damit sich Komponenten des menschlichen Immunsystems in den Tieren entwickeln können. Andererseits werden auch Mausmodelle entwickelt, in denen menschliche Vorläuferzellen zur Bildung von Lebergewebe beitragen. Ein weiterer Aspekt ist die genetische Anpassung des Mausmodells an den Menschen, beispielsweise über eine Transgenese, die durch das bakterielle künstliche Chromosom (BAC) vermittelt wird. Mit dieser Methode lassen sich menschliche Rezeptoren und allelische Formen davon, die beim Menschen vorkommen, exprimieren. Dadurch kann ihre Funktion in einem Tiermodell untersucht werden. Ein weiterer Punkt ist die Untersuchung der Wirkungen, die durch konstante Mengen von menschlichen Antikörpern vermittelt werden. Parallel zur experimentellen Forschung werden auch Studien über die Belange der Regulierung durchgeführt, um mehr darüber herauszufinden, welchen Einfluss die in der Europäischen Gemeinschaft in Kraft befindlichen Lizenzierungsverfahren auf die Entwicklung neuer medizinischer Produkte haben.



Haupteingang von TWINCORE, Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung GmbH. Neben den modernen Labors und den hochwertigen Ausrüstungen verfügt TWINCORE auch über optimale Räumlichkeiten, in denen wissenschaftliche Besprechungen und Seminare durchgeführt werden können. Foto: TWINCORE, Gramann



Die Leiter der TWINCORE-Forschungsgruppen (von links nach rechts): Profs. Susanne Häußler, Tim Greten, Michael Ott, Thomas Pietschmann, Geschäftsführer Ulrich Kalinke und Tim Sparwasser. Foto: TWINCORE, Gramann

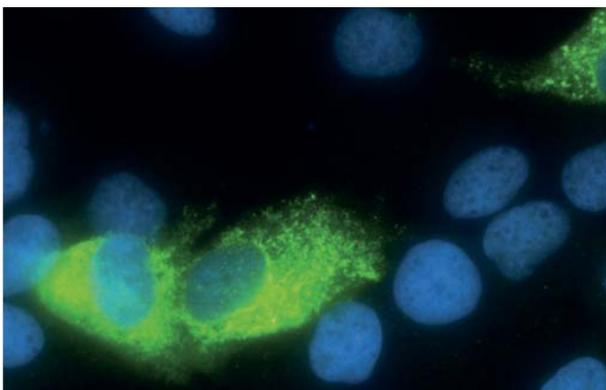
**FORSCHUNGSGRUPPEN BEI TWINCORE** Im Jahr 2008 wurden drei TWINCORE-Forschungsgruppen gebildet, die jeweils von Prof. Kalinke, Prof. Pietschmann und Prof. Sparwasser geleitet werden. Des Weiteren bietet TWINCORE eine optimale Forschungsumgebung für translationale Forschungsgruppen der MHH-Kliniken. Die translationalen Forschungsgruppen von Prof. Ott und Prof. Greten der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, die von Prof. Manns geleitet wird, sind zurzeit bei TWINCORE angesiedelt. Nachfolgend sind Kurzberichte dieser fünf Forschungsgruppen aufgeführt. Am 1. Januar 2009 wurde auch Prof. Häußler berufen, der die translationalen Forschungstätigkeiten bei TWINCORE auf dem Gebiet der chronischen bakteriellen Infektionen unterstützt. Die TWINNING-Projekte bilden ein wichtiges Instrument bei der Einbindung einzelner Forscher aus den MHH-Kliniken bzw. den HZI-Abteilungen in die Arbeit der TWINCORE-Forschungsgruppen. Bei TWINCORE laufen zurzeit mehrere dieser TWINNING-Projekte, und es ist geplant, künftig noch weitere solcher Projekte aufzulegen.

#### Die Forschungsgruppe um Prof. Kalinke |

**Kalinke.Ulrich@mh-hannover.de** Nach einer Virusinfektion werden in der Regel innerhalb von Stunden Interferon-Reaktionen vom Typ I induziert, die zunächst das Überleben des Wirts sichern. Erst nach einigen Tagen wird das adaptive Immunsystem so weit aktiviert, dass es in der Lage ist, die Pathogene zu vernichten. In früheren Projekten haben wir gezeigt, dass nach einer Infektion mit dem vesikulären Stomatitis-Virus (VSV) eine kleine Anzahl hochspezialisierter Zellen, die man auch als plasmazytoide dendritische Zellen (pDC) bezeichnet, über das PRR-Triggerng aktiviert werden, um große Mengen von schützendem Interferon vom Typ I zu produzieren. Interessanterweise entwickeln praktisch alle genauer untersuchten Viren Gegenmaßnahmen zur Hemmung der Induktion der Interferon-Reaktionen dieses Typs I. Ein Schwerpunkt unserer Arbeit besteht darin herauszufinden, wie unterschiedliche Viren die Interferon-Reaktionen vom Typ I induzieren und welche Interferon-Hemmungsfaktoren sie encodieren. Die örtlichen Bedingungen der Interferon-Reaktionen vom Typ I beeinflussen den Krankheitsverlauf in entscheidender Weise. In diesem Zusammenhang untersuchen wir, wie das Interferon vom Typ I die Ausbreitung der Pathogene im Zentralnervensystem hemmt. In neueren Untersuchungen haben wir herausgefunden, dass das Interferon vom Typ I auch direkte Auswirkungen auf die Funktionen der Immunzellen haben kann. Zurzeit untersuchen wir, wie das Interferon vom Typ I, das bei einer Impfung mit virusähnlichen Partikeln induziert wird, die Bildung von lang andauernden IgG-Antikörperreaktionen beeinflusst. Antikörper sind vergleichsweise große Moleküle, deren variable Teile Antigene spezifisch binden, während ihre konstanten Teile über sogenannte Fc-Rezeptoren gebunden werden können, die durch bestimmte Immunzellen und andere Körperzellen exprimiert werden, durch die sie die Funktion von Antikörpern erhalten. Bis jetzt konnte jedoch nur teilweise geklärt werden, welche Fc-Rezeptoren Antikörper der einzelnen Unterklassen binden und welchen Einfluss die Bindung auf die Immunfunktionen hat. Diese Frage wird zurzeit auch für monoklonale Antikörper untersucht, weil solche Reagenzien eine immer wichtigere Rolle als innovative therapeutische Substanzen bei Behandlung von Tumoren, Autoimmunerkrankungen und Infektionen spielen. Die Vorhersagbarkeit der Funktionen neuer Medikationen im Körper des Menschen ist dabei ein Schwerpunktthema. Zusätzlich zur Anwendung klassischer Zellkultur- und Gewebstechniken versuchen wir, menschliche Immunzellen in Mäusen mit einem Immundefekt heranzuzüchten, um die komplexen Interaktionen menschlicher Immunzellen besser untersuchen zu können. Schließlich führen wir auch in Zusammenarbeit mit dem Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Studien über die Belange der Regulierung durch.

### Die Forschungsgruppe um Prof. Pietschmann |

**tpi07@helmholtz-hzi.de** Die Infektion mit dem HCV-Virus, der zur Familie der Flaviviren gehört, ist eine der Hauptursachen der chronischen Hepatitis. Schätzungen der WHO zufolge sind weltweit bis zu 170 Millionen Menschen mit dem HCV-Virus in Berührung gekommen. Man geht davon aus, dass davon etwa 100 bis 130 Millionen Menschen chronisch infiziert sind. Wir entwickeln neue Zellkulturtechniken für die Erforschung der HCV-Replikation. Ziel dieser Forschung ist es, die molekularen Mechanismen der HCV-Replikation in Leberzellen zu untersuchen. Insbesondere werden dabei die frühen Stadien der HCV-Infektion untersucht, während der das Virus in die Leberzellen eindringt. Des Weiteren analysieren wir die Prozesse, die zur Verpackung des viralen genetischen Materials in Nachkommenviren und dessen Ausschleusung aus der Wirtszelle führt. Damit versuchen wir, ein Verständnis von den Grundlagen der Infektionsstrategie dieses humanpathogenen Virus zu erlangen, um daraufhin neue Verfahren und Perspektiven für Therapien zu entwickeln. Bei den TWINNING-Projekten mit den Partnern an der MHH und dem HZI verwenden wir das HCV-Zellkultursystem zur Identifizierung neuer Substanzen, die die HCV-Replikation hemmen. Des Weiteren beteiligen wir uns im Rahmen der Helmholtz-Allianz für Krebsimmuntherapie an der Entwicklung neuer Immuntherapieverfahren für die Behandlung der chronischen HCV-Infektion und des mit dem HCV in Zusammenhang stehenden Leberzellkarzinoms.



Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme HCV infizierter humaner Leberkrebszellen. Die Virusproteine sind grün angefärbt, die Zellkerne sind blau markiert. Die granulären Strukturen sind virale Replikasekomplexe, welche das Virusgenom vermehren. (Abb. 2 von Prof. Pietschmann's Beitrag, s.S. 93) Foto: TWINCORE



Prof. Sparwasser und sein Team. Foto: TWINCORE, Gramann

### Die Forschungsgruppe um Prof. Sparwasser | sparwasser.office@mh-hannover.de

Unser Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung der Bedeutung der PRR, beispielsweise aus der Familie der Toll-like Rezeptoren (TLRs) und der Lektine vom Typ C für die Aktivierung der wichtigsten positiven Regulatoren des Immunsystems und der Initiatoren der adaptiven Immunität, des dendritischen Zellsystems (DC). Einen weiteren Schwerpunkt bilden dabei die regulatorischen T-Zellen (Tregs), die man als die wichtigsten Pendanten zu den DCs betrachten kann: Tregs nutzen Mechanismen, die bis jetzt noch nicht vollständig geklärt sind, zur Hemmung einer überschießenden Immunreaktion und zur Begrenzung der Proliferation der T-Effektorzellen. Eine optimale Impfstrategie gegen Pathogene kann beispielsweise in der Aktivierung von spezifischen DC-Unterpopulationen bei gleichzeitiger Vermeidung der Treg-Expansion oder Induktion bestehen. Impfstudien zu Tregs und DCs im Mausmodellsystem unterliegen jedoch dahingehend einigen Einschränkungen, dass *in-vivo*-Analysen von Tregs und DC-Unterpopulationen äußerst schwierig sind. Zum Beispiel kommen Unterpopulationen von DCs in verschiedenen lymphatischen Organen nur in sehr kleiner Zahl vor. Diese haben in unterschiedlichen Fällen hochspezialisierte Aufgaben, wozu auch die Induktion der Toleranz gehört. Da diese „regulatorischen Immunzellen“ gewöhnlich hoch sensibel auf eine *ex-vivo*-Isolierung reagieren und sich bis heute noch nicht gut genug *in-vivo* handhaben lassen, ist das Wissen über die Funktion und Bedeutung der Tregs und DC-Unterpopulationen für die adaptiven Immunreaktionen immer noch unvollständig. Ein weiterer erschwerender Faktor ist die Expression von unterschiedlichen Mustererkennungsmolekülen oder unterschiedlichen Expressionsprofilen der PRRs gegenüber den DC-Unterpopulationen zwischen Mensch und Maus. Eines der Hauptziele ist daher die Entwicklung molekularer Tools, mit denen eine genetische Manipulation der DCs und Tregs möglich ist. Wir wollen diese Modelle zur Untersuchung der

Funktion von Tregs und Unterpopulationen von DCs bei der Infektion, Allergie und Toleranz verwenden. In humanisierten Modellen wird die Rolle der PRRs, wie z.B. des menschlichen TLR9 und DC-SIGN, analysiert, und es werden auf diese Moleküle ausgerichtete Impfstrategien *in vivo* getestet. In der Forschungsgruppe von Prof. Sparwasser hat Dr. Jan Dudda die Aufgabe, ein Juniorforschungsteam für die Analyse der Interaktion zwischen dermalen DCs und Tregs zusammenzustellen.

#### Die Forschungsgruppe um Prof. Häubler |

[sus@helmholtz-hzi.de](mailto:sus@helmholtz-hzi.de) Der häufigste Erreger einer chronischen Infektion der Lunge von Mukoviszidose-Patienten ist *Pseudomonas aeruginosa*. Obwohl die meisten Patienten mit nur einem oder wenigen *P. aeruginosa*-Klonen kolonisiert sind, finden wir typischerweise viele verschiedene Morphotypen. Ein Forschungsschwerpunkt liegt auf der Untersuchung der molekularen Mechanismen, die der Entstehung dieser Diversität zugrunde liegen. Bei chronisch mit *P. aeruginosa* infizierten Mukoviszidose-Patienten isolieren wir aus dem Respirationstrakt regelmäßig sogenannte „small-colony – variants (SCV)“. Durch die Expression eines bestimmten Genclusters, welches durch das intrazelluläre Signalmolekül *c*-di-GMP reguliert wird, bilden diese SCVs besonders effektiv Biofilme. Da das *c*-di-GMP-Signalmolekül eine fundamentale Rolle bei der Ausbildung von bakteriellen Biofilmstrukturen spielt, ist es unser Ziel, zu verstehen, wie verschiedene Umweltbedingungen Einfluss auf den intrabakteriellen *c*-di-GMP-Spiegel nehmen und welche molekularen Mechanismen der *c*-di-GMP-Signaltransduktion über Effektorproteine zugrunde liegen. In der Zukunft werden wir uns außerdem mit klinisch relevanten Mutationen beschäftigen, die in *P. aeruginosa in vitro* unter Biofilm-Wachstumsbedingungen und *in vivo* im Verlaufe einer chronischen Infektion auftreten. Das Wissen um die Genotypen, die bei den verschiedenen Stadien einer chronischen Infektion selektiert werden, kann für die Entwicklung von neuen, vielversprechenden alternativen Antibiofilm-Therapiestrategien von großer Bedeutung sein.

*P. aeruginosa* produziert drei verschiedene interbakterielle Signalmoleküle, von denen eines als Pseudomonas-Quinolone-Signal (PQS) bezeichnet wird. PQS spielt eine Rolle bei der Zelldichte-abhängigen Regulation der Expression von Virulenzfaktoren und der Ausbildung von Biofilmen. Wir haben außerdem zeigen können, dass PQS die Generierung von morphologischer Diversität unter Biofilm-Wachstumsbedingungen beeinflusst. Die Untersuchung des Zusammenhangs von interbakterieller Kommunikation und der Generation von Biofilm-spezifischen Phänotypen wird eine spannende und große Herausforderung sein (Details s. Seite 59).



Prof. Ott und sein Team. Foto: TWINCORE, Gramann

#### Die Forschungsgruppe um Prof. Ott | [ott-mhh@gmx.de](mailto:ott-mhh@gmx.de)

Wir entwickeln zell- und gentherapeutische Verfahren für die Behandlung von vererbten Leberkrankheiten. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Entwicklung eines Mausmodells mit chimerischem Lebergewebe vom Menschen/ von der Maus und dem menschlichen Immunsystem zur Erforschung von Impfstrategien gegen HIV und HCV. Die Repopulation der Leber mit menschlichen Leberzellen und die Transplantation von menschlichen Stammzellen in Mäuse mit einem Immundefekt stellen weiterhin eine große Herausforderung an die Wissenschaft dar. Um an der *al*-uPA-transgenen, immundefizienten (RAG $\gamma$ ) Maus Impfstrategien erforschen zu können, ist der Einsatz von menschlichen Zellen eines Spenders zur Repopulation in der Maus erforderlich. Dort, wo Primärgewebe als Ausgangsmaterial verwendet wird, ist die Isolierung der beiden Zellpopulationen nur unter Verwendung von Lebergewebe aus Föten möglich. Bei unseren Transplantationsexperimenten hat sich herausgestellt, dass die Transplantation von Fötushepatoblasten eindeutig ineffizienter ist als die Transplantation von primären Hepatozyten von Erwachsenen. Alternativ dazu konnte die Forschungsgruppe zum ersten Mal die Transplantation von Lebergewebe menschlicher Föten unter die Kapsel der zu testenden Leber des Empfängers durchführen. Die ersten kombinierten Transplantationen von menschlichen Blutstammzellen und von Fötuslebergewebe in einen neu entwickelten Mausstamm sollen bald stattfinden. Aufgrund der mangelnden Verfügbarkeit von primärem menschlichen Zellmaterial zur Humanisierung des Mausmodells sowie zur Zelltherapie beim Menschen führt die Forschungsgruppe umfangreiche Untersuchun-

gen zur Erschließung alternativer Quellen für die Bereitstellung von Zellmaterial durch. In Zusammenarbeit mit anderen MHH-Gruppen und internationalen Partnern wird zurzeit an hepatischen Differenzierungsprotokollen für embryonische Stammzellen und iPS-Zellen geforscht. Ein anderes Projekt befasst sich mit der Analyse der Risiken in Verbindung mit der Insertionsmutagenese beim lentiviralen Gentransfer. Durch eine Serientransplantation von *ex vivo* genetisch modifizierten Hepatozyten lässt sich die Inzidenz von Lebertumoren in Abhängigkeit von der Anzahl der lentiviralen Insertionen untersuchen. Des Weiteren leitet die Forschungsgruppe eine klinische Studie über Zelltransplantation bei Patienten mit einer Harnstoffzyklusstörung. Mit diesem Projekt wurde die weltweit erste kontrollierte Studie über die Zelltherapie bei erblich bedingten Leberstoffwechselkrankheiten durchgeführt.

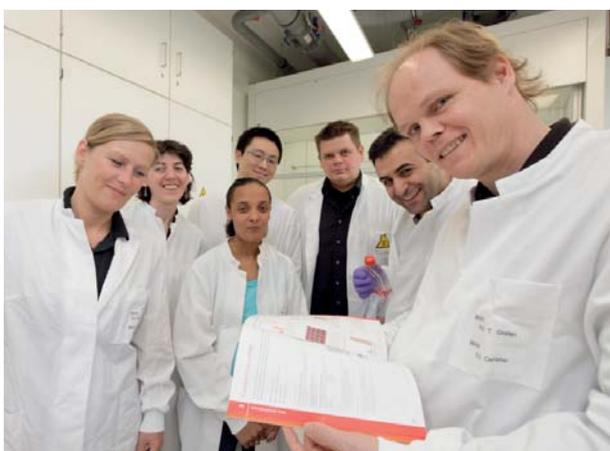
#### Die Forschungsgruppe um Prof. Greten |

**greten.tim@mh-hannover.de** Das Ziel der Forschungsgruppe ist die Entwicklung von immunologischen Therapien zur Behandlung von Tumoren im Gastrointestinaltrakt. Dabei konzentrieren wir uns auf die Untersuchung von Patienten mit Tumoren, die in Zusammenhang mit Infektionen stehen. Weltweit sind fast ein Viertel aller Tumorerkrankungen auf Infektionen zurückzuführen. Ein typisches Beispiel dafür ist das hepatozelluläre Karzinom, das sich infolge einer chronischen viralen Hepatitis ausbilden kann. Diesbezüglich untersuchen wir, wie das Immunsystem auf die Bildung von Tumoren beim Patienten reagiert. Um die einzelnen Verfahren auf Zellebene und Molekülebene genauer untersuchen zu können, entwickeln wir auch Mausmodelle, die so genau wie möglich die Tumorerkrankung

der Patienten simulieren sollen. Anhand der Befunde, die wir durch diese Studien erhalten, entwickeln wir neue Therapieprotokolle, die wir dann im Rahmen kontrollierter klinischer Studien an Patienten mit einem Karzinom im Gastrointestinaltrakt testen.

#### Contact

TWINCORE GmbH  
Zentrum für Experimentelle und Klinische  
Infektionsforschung  
Feodor-Lynen-Str. 7  
30625 Hannover  
Telefon 0511 2200 27 102  
Fax 0511 2200 27 186  
twincore@twincore.de  
www.twincore.de



Prof. Greten und sein Team. Foto: TWINCORE, Gramann

#### TWINCORE

Zentrum für Experimentelle  
und Klinische Infektionsforschung



Medizinische Hochschule  
Hannover



HELMHOLTZ  
ZENTRUM FÜR  
INFEKTIONSFORSCHUNG

## Veröffentlichungen 2008-2009

### Ber. Zell- und Immunbiologie | Prof. Dr. Jürgen Wehland

#### Abt. für Chemische Biologie | Dr. Ronald Frank

- Beutling, U., Stading, K., Stradal, T.E.B.\*., & Frank, R. (2008) Large-scale analysis of protein-protein interactions using cellulose-bound peptide arrays. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* **110**, 115-152.
- Biersack, B., Diestel, R., Jagusch, C., Rapp, G., Sasse, F., & Schobert, R. (2008) First syntheses of melophlins P, Q, and R, and effects of melophlins on the growth of microorganisms and tumor cells. *Chemistry & Biodiversity* **5**, 2423-2430.
- Cramer, N., Helbig, S., Baro, A., Laschat, S., Diestel, R., Sasse, F., Mathieu, D., Richter, C., Kummerlowe, G., Luy, B., & Schwalbe, H. (2008) Synthesis and biological properties of cylindramide derivatives: evidence for calcium-dependent cytotoxicity of tetramic acid lactams. *ChemBioChem* **9**, 2474-2486.
- Eggert, U., Diestel, R., Sasse, F., Jansen, R., Kunze, B., & Kalesse, M. (2008) Chondramide C: Synthesis, configurational assignment, and structure-activity relationship studies. *Angewandte Chemie - International Edition* **47**, 6478-6482.
- Hellmuth, H., Wittrock, S., Kralj, S., Dijkhuizen, L., Hofer, B., & Seibel, J. (2008) Engineering the Glucansucrase GTFR Enzyme Reaction and Glycosidic Bond Specificity: Toward Tailor-Made Polymer and Oligosaccharide Products. *Biochemistry* **47**(25), 6678-6684
- Höfle, G., Bohlendorf, B., Fecker, T., Sasse, F., & Kunze, B. (2008) Semisynthesis and Antiplasmodial Activity of the Quinoline Alkaloid Aurachin E. *Journal of Natural Products* **71**, 1967-1969.
- Jansen, R., Steinmetz, H., Sasse, F., Schubert, W.-D., Hagelüken, G., Albrecht, S.C., & Müller, R. (2008) Isolation and structure revision of the actin-binding macrolide rhizopodin from *Myxococcus stipitatus* (Myxobacteria). *Tetrahedron Letters* **49**, 5796-5799.
- Kolberg, J., Hammerschmidt, S., Frank, R., Jonak, J., Sanderova, H., & Aase, A. (2008) The surface-associated elongation factor Tu is concealed for antibody binding on viable pneumococci and meningococci. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **53**, 222-230.
- Nickeleit, I., Zender, S., Sasse, F., Geffers, R., Brandes, G., Sorensen, I., Steinmetz, H., Kubicka, S., Carlomagno, T., Menche, D., Gutgemann, I., Buer, J., Gossler, A., Manns, M.P., Kalesse, M., Frank, R., & Malek, N.P. (2008) Argyrin A reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.
- Swistowska, A.M., Wittrock, S., Collisi, W., & Hofer, B. (2008) Heterologous hyper-expression of a glucansucrase-type glycosyltransferase gene. *Applied Microbiology and Biotechnology* **79**, 255-261.
- Taft, F., Brunjes, M., Floss, H.G., Czempinski, N., Grond, S., Sasse, F., & Kirschning, A. (2008) Highly active ansamitocin derivatives: mutasynthesis using an AHBA-blocked mutant. *ChemBioChem* **9**, 1057-1060.
- Timm, C., Volk, C., Sasse, F., & Kock, M. (2008) The first cyclic monomeric 3-alkylpyridinium alkaloid from natural sources: identification, synthesis, and biological activity. *Organic & Biomolecular Chemistry* **6**, 4036-4040.
- Vintonyak, V.V., Cala, M., Lay, F., Kunze, B., Sasse, F., & Maier, M.E. (2008) Synthesis and biological evaluation of crientaren A analogues. *Chemistry - A European Journal* **14**, 3709-3720.
- Vintonyak, V.V., Kunze, B., Sasse, F., & Maier, M.E. (2008) Total synthesis and biological activity of neopeltolide and analogues. *Chemistry* **14**, 11132-11140.
- Wittrock, S., Swistowska, A.M., Collisi, W., Hofmann, B., Hecht, H.-J., & Hofer, B. (2008) Re- or displacement of invariant residues in the C-terminal half of the catalytic domain strongly affects catalysis by glucosyltransferase R. *FEBS Letters* **582**, 491-496.
- Biersack, B., Diestel, R., Jagusch, C., Sasse, F., & Schobert, R. (2009) Metal complexes of natural melophlins and their cytotoxic and antibiotic activities. *Journal of Inorganic Biochemistry* **103**(1), 72-76
- Bocquet, A., Berges, R., Frank, R., Robert, P., Peterson, A.C., & Eyer, J. (2009) Neurofilaments bind tubulin and modulate its polymerization. *Journal of Neuroscience* **29**, 11043-11054.
- Galejeva, Y., Morr, M., Sasse, F., Diestel, R., Laschat, S., Baro, A., & Frey, W. (2009) Ex chiral pool synthesis from a highly methyl-branched wax ester and biological properties of (+)-capensifuranone. *Zeitschrift für Naturforschung B - A Journal of Chemical Sciences* **64**, 639-645.
- Kratzer, U., Frank, R., Kalbacher, H., Biehl, B., Wostemeyer, J., & Voigt, J. (2009) Subunit structure of the vicilin-like globular storage protein of cocoa seeds and the origin of cocoa- and chocolate-specific aroma precursors. *Food Chemistry* **113**, 903-913.
- Ottinger, M., Pliquet, D., Christalla, T., Frank, R., Stewart, J.P., & Schulz, T.F. (2009) The interaction of the gammaherpesvirus 68 orf73 protein with cellular BET proteins affects the activation of cell cycle promoters. *Journal of Virology* **83**, 4423-4434.
- Schutte, M., Thullier, P., Pelat, T., Wezler, X., Rosenstock, P., Hinz, D., Kirsch, M.I., Hasenberg, M., Frank, R., Schirrmann, T., Gunzer, M., Hust, M., & Dubel, S. (2009) Identification of a putative Crf splice variant and generation of recombinant antibodies for the specific detection of *Aspergillus fumigatus*. *PLoS ONE* **4**, e6625.
- Shabaan, S., Ba, L.A., Abbas, M., Burkholz, T., Denkert, A., Gohr, A., Wessjohann, L.A., Sasse, F., Weber, W., & Jacob, C. (2009) Multicomponent reactions for the synthesis of multifunctional agents with activity against cancer cells. *Chemical Communications (Camb.)* 4702-4704.
- Turner, J.G., Marchion, D.C., Dawson, J.L., Emmons, M.F., Hazlehurst, L.A., Washausen, P., & Sullivan, D.M. (2009) Human multiple myeloma cells are sensitized to topoisomerase II inhibitors by CRM1 inhibition. *Cancer Research* **69**, 6899-6905.
- Ugele, M., Sasse, F., Knapp, S., Fedorov, O., Zubriene, A., Matulis, D., & Maier, M.E. (2009) Propionate analogues of zearalenone bind to Hsp90. *ChemBioChem* **10**, 2203-2212.
- Voigt, J., Frank, R., & Wostemeyer, J. (2009) The chaotrope-soluble glycoprotein GP1 is a constituent of the insoluble glycoprotein framework of the *Chlamydomonas* cell wall. *FEMS Microbiology Letters* **291**, 209-215.
- Weiss, S.M., Ladwein, M., Schmidt, D., Ehinger, J., Lommel, S., Stading, K., Beutling, U., Disanza, A., Frank, R., Jänsch, L., Scita, G., Gunzer, F., Rottner, K., & Stradal, T.E.\*. (2009) IRSp53 links the enterohemorrhagic *E. coli* effectors Tir and EspFU for actin pedestal formation. *Cell Host and Microbe* **5**, 244-258.

- Lisurek, M., Rupp, B., Wichard, J., Neuenschwander, M., von Kries, J.P., Frank, R., Rademann, J., & Kuhne, R. (2009) Design of chemical libraries with potentially bioactive molecules applying a maximum common substructure concept. *Molecular Diversity*, in press.
  - Sharma, R.K., Reddy, R.P., Tegge, W., & Jain, R. (2009) Trp-His and His-Arg analogs as new structural classes of short antimicrobial peptides. *Journal of Medicinal Chemistry*, in press.
  - Suryanarayanan, T.S., Thirunavukkarasu, N., Govindarajulu, M.B., Sasse, F., Jansen, R., & Murali, T.S. (2009) Fungal endophytes and bioprospecting. *Fungal Biology Reviews*, in press.
- Abt. für Zellbiologie | Prof. Dr. Jürgen Wehland**
- Basler, T., Geffers, R., Weiss, S., Valentin-Weigand, P., & Goethe, R. (2008) *Mycobacterium avium* subspecies induce differential expression of pro-inflammatory mediators in a murine macrophage model: Evidence for enhanced pathogenicity of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Immunobiology* **213**, 879-888.
  - Block, J., Stradal, T.E.B. \*, Hanisch, J., Geffers, R., Kostler, S.A., Urban, E., Small, J.V., Rottner, K., & Faix, J. (2008) Filopodia formation induced by active mDia2/Drf3. *Journal of Microscopy* **231**, 506-517.
  - Demuth, A., Aharonowitz, Y., Bachmann, T.T., Blum-Oehler, G., Buchrieser, C., Covacci, A., Dobrindt, U., Emody, L., van der, E.A., Ewbank, J., Fernandez, L.A., Frosch, M., Portillo, F.G., Gilmore, M.S., Glaser, P., Goebel, W., Hasnain, S.E., Heesemann, J., Islam, K., Korhonen, T., Maiden, M., Meyer, T.F., Montecucco, C., Oswald, E., Parkhill, J., Pucciarelli, M.G., Ron, E., Svanborg, C., Uhlin, B.E., Wai, S.N., Wehland, J., & Hacker, J. (2008) Pathogenomics: An updated European Research Agenda. *Infection, Genetics and Evolution* **8**, 386-393.
  - Depke, M., Fusch, G., Domanska, G., Geffers, R., Volker, U., Schuett, C., & Kiank, C. (2008) Hypermetabolic syndrome as a consequence of repeated psychological stress in mice. *Endocrinology* **149**, 2714-2723.
  - Lamle, J., Marhenke, S., Borlak, J., von, W.R., Eriksson, C.J., Geffers, R., Manns, M.P., Yamamoto, M., & Vogel, A. (2008) Nuclear factor-eythroid 2-related factor 2 prevents alcohol-induced fulminant liver injury. *Gastroenterology* **134**, 1159-1168.
  - Marhenke, S., Lamle, J., Buitrago-Molina, L.E., Canon, J.M., Geffers, R., Finegold, M., Sporn, M., Yamamoto, M., Manns, M.P., Grompe, M., & Vogel, A. (2008) Activation of nuclear factor E2-related factor 2 in hereditary tyrosinemia type 1 and its role in survival and tumor development. *Hepatology* **48**, 487-496.
  - Nickeleit, I., Zender, S., Sasse, F., Geffers, R., Brandes, G., Sorensen, I., Steinmetz, H., Kubicka, S., Carlomagno, T., Menche, D., Gutgemann, I., Buer, J., Gossler, A., Manns, M.P., Kalesse, M., Frank, R., & Malek, N.P. (2008) Argyrin a reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.
  - Quentmeier, H., Geffers, R., Jost, E., MacLeod, R.A., Nagel, S., Rohrs, S., Romani, J., Scherr, M., Zaborski, M., & Drexler, H.G. (2008) SOCS2: inhibitor of JAK2V617F-mediated signal transduction. *Leukemia* **22**, 2169-2175.
  - Seifert, O., Bayat, A., Geffers, R., Dienus, K., Buer, J., Lofgren, S., & Matussek, A. (2008) Identification of unique gene expression patterns within different lesional sites of keloids. *Wound Repair and Regeneration* **16**, 254-265.
  - Sriramulu, D.D. (2008) Adaptive expression of foreign genes in the clonal variants of bacteria: from proteomics to clinical application. *Proteomics* **8**, 882-892.
  - Sztajer, H., Lemme, A., Vilchez, R., Schulz, S., Geffers, R., Yip, C.Y.Y., Levesque, C.M., Cvitkovitch, D.G., & Wagner-Döbler, I. (2008) Autoinducer-2-regulated genes in *Streptococcus mutans* UA159 and global metabolic effect of the luxS mutation. *Journal of Bacteriology* **190**, 401-415.
  - Dötsch, A., Pommerenke, C., Bredenbruch, F., Geffers, R., & Häussler, S. (2009) Evaluation of a microarray-hybridization based method applicable for discovery of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *Pseudomonas aeruginosa* genome. *BMC GENOMICS* **10**, 29.
  - Garritsen, H.S.P., Xiu-Cheng Fan, A., Lenz, D., Hannig, H., Zhong, X.Y., Geffers, R., Lindenmaier, W., Dittmar, K.E.J. \*, & Wörmann, B. (2009) Molecular diagnostics in transfusion medicine: In capillary, on a chip, in silico, or in flight? *Transfusion Medicine and Hemotherapy* **36**, 181-187.
  - Jeron, A., Pfoertner, S., Bruder, D., Geffers, R., Hammerer, P., Hofmann, R., Buer, J., & Schrader, A.J. (2009) Frequency and Gene Expression Profile of Regulatory T Cells in Renal Cell Carcinoma. *Tumor Biology* **30**, 160-170.
  - Monteiro, C., Saxena, I., Wang, X., Kader, A., Bokranz, W. \*, Simm, R., Nobles, D., Chromek, M., Brauner, A., Brown, R.M., Jr., & Romling, U. (2009) Characterization of cellulose production in *Escherichia coli* Nissle 1917 and its biological consequences. *Environmental Microbiology* **11**, 1105-1116.
  - Njau, F., Geffers, R., Thalmann, J., Haller, H., & Wagner, A.D. (2009) Restriction of Chlamydia pneumoniae replication in human dendritic cell by activation of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Microbes and Infection* **11**, 1002-1010.
  - Pati, N.T., Geffers, R., Sukriti, H.S., Riese, P., Toepfer, T., Buer, J., Guzmán, C.A. \*, & Sarin, S.K. (2009) Gene expression signatures of peripheral CD4+ T cells clearly discriminate between patients with acute and chronic hepatitis B viral infection. *Hepatology* **49**, 781-790.
  - Saleh, H.S., Merkel, U., Geissler, K.J., Sperka, T., Sechi, A., Breithaupt, C., & Morrison, H. (2009) Properties of an Ezrin Mutant Defective in F-actin Binding. *Journal of Molecular Biology* **385**, 1015-1031.
  - Schippers, A., Leuker, C., Pabst, O., Kochut, A., Prochnow, B., Gruber, A.D., Leung, E., Krissansen, G.W., Wagner, N., & Müller, W. (2009) Mucosal addressin cell-adhesion molecule-1 controls plasma-cell migration and function in the small intestine of mice. *Gastroenterology* **137**, 924-933.
  - Simm, R., Morr, M., Remminghorst, U., Andersson, M., & Römling, U. (2009) Quantitative determination of cyclic diguanosine monophosphate concentrations in nucleotide extracts of bacteria by matrix-assisted laser desorption / ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Analytical Biochemistry* **386**, 53-58.
  - Srivastava, B., Blazejewska, P., Hessmann, M., Bruder, D., Geffers, R., Muel, S., Gruber, A.D., & Schughart, K. (2009) Host genetic background strongly influences the response to influenza a virus infections. *PLoS ONE* **4**, e4857.
  - Ukena, S.N., Koenecke, C., Geffers, R., Fuehner, T., Welte, T., Ganser, A., Buer, J., & Franzke, A. (2009) T helper type 2 differentiation is associated with induction of antibacterial defense mechanisms in blood lymphocytes of patients with sarcoidosis. *Immunological Investigations* **38**, 49-66.
  - Westendorf, A.M., Fleissner, D., Gröbe, L., Jung, S., Gruber, A.D., Hansen, W., & Buer, J. (2009) CD4+Foxp3+ regulatory T cell expansion induced by antigen-driven interaction with intestinal epithelial cells independent of local dendritic cells. *GUT* **58**, 211-219.
  - Hain, T., Steinweg, C., Kuenne, C.T., Billion, A., Ghai, R., Chatterjee, S.S., Domann, E., Kärst, U., Goesmann, A., Bartels, D., Kaiser, O., Meyer, F., Pühler, A., Weisshaar, B., Wehland, J., Liang, C., Dandekar, T., Lampidis, R., Kreft, J., Goebel, W., & Chakraborty, T. (2009) Whole genome sequence of *Listeria welshimeri* reveals common steps in genome reduction with *Listeria innocua* as compared to *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, in press.
  - Probst-Kepper, M., Geffers, R., Kroger, A., Viegas, N., Erck, C., Hecht, H.-J., Lünsdorf, H., Roubin, R., Moharreggh-Khiabani, D., Wagner, K., Ocklenburg, F., Jeron, A., Garritsen, H., Arstila, T.P., Kekalainen, E., Balling, R., Hauser, H., Buer, J., & Weiss, S. (2009) GARP: a key receptor controlling FOXP3 in human regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, in press.

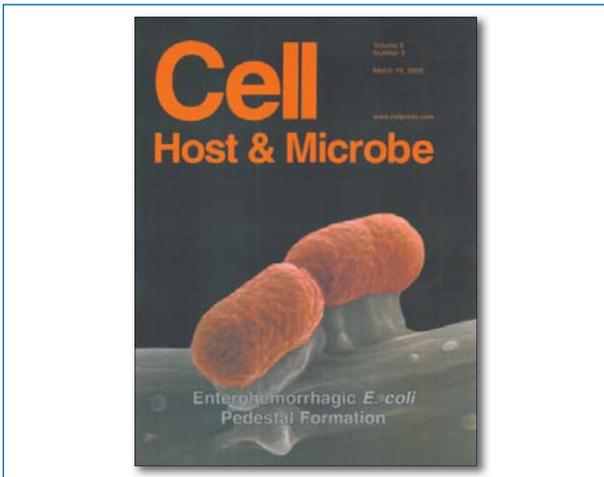
**AG Zytoskelett Dynamik | Dr. Klemens Rottner**

- Block, J., Stradal, T.E.B.\*, Hanisch, J., Geffers, R., Kostler, S.A., Urban, E., Small, J.V., Rottner, K., & Faix, J. (2008) Filopodia formation induced by active mDia2/Drf3. *Journal of Microscopy* **231**, 506-517.
- Halabi-Cabezon, I., Huelsenbeck, J., May, M., Ladwein, M., Rottner, K., Just, I., & Genth, H. (2008) Prevention of the cytopathic effect induced by *Clostridium difficile* Toxin B by active Rac1. *FEBS Letters* **582**, 3751-3756.
- Koestler, S.A., Auinger, S., Vinzenz, M., Rottner, K., & Small, J.V. (2008) Differentially oriented populations of actin filaments generated in lamellipodia collaborate in pushing and pausing at the cell front. *Nature Cell Biology* **10**, 306-313.
- Ladwein, M. & Rottner, K. (2008) On the Rho'd: The regulation of membrane protrusions by Rho-GTPases. *FEBS Letters* **582**, 2066-2074.
- Lai, F.P.L., Szczodrak, M., Block, J., Faix, J., Breitsprecher, D., Mannherz, H.G., Stradal, T.E.B.\*, Dunn, G.A., Small, J.V., & Rottner, C. (2008) Arp2/3 complex interactions and actin network turnover in lamellipodia. *The EMBO Journal* **27**, 982-992.
- Steffen, A., Le, D.G., Poincloux, R., Recchi, C., Nassoy, P., Rottner, K., Galli, T., & Chavrier, P. (2008) MT1-MMP-Dependent Invasion Is Regulated by TI-VAMP/VAMP7. *Current Biology* **18**, 926-931.
- Faix, J., Breitsprecher, D., Stradal, T.E.B.\*, & Rottner, K. (2009) Filopodia: Complex models for simple rods. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **41(8-9)**, 1656-1664
- Himmel, M., Ritter, A., Rothemund, S., Pauling, B.V., Rottner, K., Gingras, A.R., & Ziegler, W.H. (2009) Control of high affinity interactions in the talin C terminus: how talin domains coordinate protein dynamics in cell adhesions. *Journal of Biological Chemistry* **284**, 13832-13842.
- Koestler, S.A., Rottner, K., Lai, F., Block, J., Vinzenz, M., & Small, J.V. (2009) F- and G-actin concentrations in lamellipodia of moving cells. *PLoS ONE* **4**, e4810.
- Lai, F.P., Szczodrak, M., Oelkers, J.M., Ladwein, M., Acconcia, F., Benesch, S., Auinger, S., Faix, J., Small, J.V., Polo, S., Stradal, T.E.\*, & Rottner, K. (2009) Cortactin Promotes Migration and PDGF-induced Actin Reorganization by Signaling to Rho-GTPases. *Molecular Biology of the Cell*, **20**, 3209-3223.
- Weiss, S.M., Ladwein, M., Schmidt, D., Ehinger, J., Lommel, S., Stading, K., Beutling, U., Disanza, A., Frank, R., Jansch, L., Scita, G., Gunzer, F., Rottner, K., & Stradal, T.E.\*. (2009) IRSp53 links the enterohemorrhagic *E. coli* effectors Tir and EspFU for actin pedestal formation. *Cell Host and Microbe* **5**, 244-258.
- Kunze, B., Böhlendorf, B., Reichenbach, H., & Höfle, G. (2008) Pedicin A and B: Production, isolation, structure elucidation and biological properties of new antifungal cyclopeptides from *Chondromyces pediculus* (Myxobacteria). *Journal of Antibiotics* **61**, 18-26.
- Pommerenke, C., Gabriel, I., Bunk, B., Munch, R., Haddad, I., Tielen, P., Wagner-Döbler, I., & Jahn, D. (2008) ROSY—a flexible and universal database and bioinformatics tool platform for *Roseobacter* related species. *In Silico Biology* **8**, 177-186.
- Surup, F., Shojaei, H., von, Z.P., Kunze, B., & Grond, S. (2008) Iromycins from *Streptomyces* sp. and from synthesis: new inhibitors of the mitochondrial electron transport chain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **16**, 1738-1746.
- Sztajer, H., Lemme, A., Vilchez, R., Schulz, S., Geffers, R., Yip, C.Y.Y., Levesque, C.M., Cvitkovitch, D.G., & Wagner-Döbler, I. (2008) Auto-inducer-2-regulated genes in *Streptococcus mutans* UA159 and global metabolic effect of the luxS mutation. *Journal of Bacteriology* **190**, 401-415.
- Vintonyak, V.V., Cala, M., Lay, F., Kunze, B., Sasse, F., & Maier, M.E. (2008) Synthesis and biological evaluation of curenarene A analogues. *Chemistry - A European Journal* **14**, 3709-3720.
- Vintonyak, V.V., Kunze, B., Sasse, F., & Maier, M.E. (2008) Total synthesis and biological activity of neopeltolide and analogues. *Chemistry* **14**, 11132-11140.
- Gawlitzek, M., Estacio, M., Fürch, T., & Kiss, R. (2009) Identification of cell culture conditions to control N-glycosylation site-occupancy of recombinant glycoproteins expressed in CHO cells. *Biotechnology and Bioengineering* **103**, 1164-1175.
- Thiel, V., Vilchez, R., Sztajer, H., Wagner-Döbler, I., & Schulz, S. (2009) Identification, quantification, and determination of the absolute configuration of the bacterial quorum-sensing signal autoinducer-2 by gas chromatography-mass spectrometry. *ChemBioChem* **10**, 479-485.
- Leonhäuser, J., Wang, W., Deckwer, W.-D., & Wagner-Döbler, I. (2009) Functioning of the Mercury Resistance Operon at Extremely High Hg(II) loads in a Chemostat: A Proteome Analysis. *Journal of Biotechnology*, in press.

**AG Signaltransduktion und Motilität |****Prof. Dr. Theresia Stradal****AG Mikrobielle Kommunikation |****Prof. Dr. Irene Wagner-Döbler**

- Bodor, A., Elxnat, B., Thiel, V., Schulz, S., & Wagner-Döbler, I. (2008) Potential for luxS related signalling in marine bacteria and production of autoinducer-2 in the genus *Shewanella*. *BMC Microbiology* **8**, 13.
- Eggert, U., Diestel, R., Sasse, F., Jansen, R., Kunze, B., & Kalesse, M. (2008) Chondramide C: Synthesis, configurational assignment, and structure-activity relationship studies. *Angewandte Chemie - International Edition* **47**, 6478-6482.
- Gluszczyk, P., Zakrzewska, K., Wagner-Döbler, I., & Ledakowicz, S. (2008) Bioreduction of ionic mercury from wastewater in a fixed-bed bioreactor with activated carbon. *Chemical Papers* **62**, 232-238.
- Höfle, G., Böhlendorf, B., Fecker, T., Sasse, F., & Kunze, B. (2008) Semi-synthesis and Antiplasmodial Activity of the Quinoline Alkaloid Aurachin E. *Journal of Natural Products* **71**, 1967-1969.
- Höfle, G. & Kunze, B. (2008) Biosynthesis of Aurachins A-L in *Stigmatala aurantiaca*: A Feeding Study. *Journal of Natural Products* **71**, 1843-1849.
- Ménasché, G., Kliche, S., Chen, E.J., Stradal, T.E.B.\*, Schraven, B., & Koretzky, G. (2007) RIAM links the ADAP/SKAP-55 signaling module to Rap1 facilitating TCR-mediated integrin activation. *Molecular and Cellular Biology* **27**, 4070-4081.
- Beutling, U., Stading, K., Stradal, T.E.B.\*, & Frank, R. (2008) Large-scale analysis of protein-protein interactions using cellulose-bound peptide arrays. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* **110**, 115-152.
- Block, J., Stradal, T.E.B.\*, Hanisch, J., Geffers, R., Kostler, S.A., Urban, E., Small, J.V., Rottner, K., & Faix, J. (2008) Filopodia formation induced by active mDia2/Drf3. *Journal of Microscopy* **231**, 506-517.
- Derivery, E., Fink, J., Martin, D., Houdusse, A., Piel, M., Stradal, T.E.B.\*, Louvard, D., & Gautreau, A. (2008) Free Brick1 is a trimeric precursor in the assembly of a functional wave complex. *PLoS ONE* **3**, e2462.
- Lai, F.P.L., Szczodrak, M., Block, J., Faix, J., Breitsprecher, D., Mannherz, H.G., Stradal, T.E.B.\*, Dunn, G.A., Small, J.V., & Rottner, C. (2008) Arp2/3 complex interactions and actin network turnover in lamellipodia. *The EMBO Journal* **27**, 982-992.
- Stradal, T.E.\*. (2008) The regulation of cellular protrusions. *Zellbiologie Aktuell* **34**, 17-22.
- Faix, J., Breitsprecher, D., Stradal, T.E.B.\*, & Rottner, K. (2009) Filopodia: Complex models for simple rods. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **41(8-9)**, 1656-1664

- Lai, F.P., Szczodrak, M., Oelkers, J.M., Ladwein, M., Acconcia, F., Benesch, S., Auinger, S., Faix, J., Small, J.V., Polo, S., Stradal, T.E. \*, & Rottner, K. (2009) Cortactin Promotes Migration and PDGF-induced Actin Reorganization by Signaling to Rho-GTPases. *Molecular Biology of the Cell* **20**, 3209-3223.
- Weiss, S.M., Ladwein, M., Schmidt, D., Ehinger, J., Lommel, S., Städing, K., Beutling, U., Disanza, A., Frank, R., Jänsch, L., Scita, G., Gunzer, F., Rottner, K., & Stradal, T.E. \*. (2009) IRSp53 links the enterohemorrhagic *E. coli* effectors Tir and EspFU for actin pedestal formation. *Cell Host & Microbe* **5**, 244-258.



Titelbild der Zeitschrift *Cell Host & Microbe*, Vol. 5(3), 2009, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Weiss, S.M.; Ladwein, M.; Schmidt, D.; Ehinger, J.; Lommel, S.; Städing, K.; Beutling, U.; Disanza, A.; Frank, R.; Jänsch, L.; Scita, G.; Gunzer, F.; Rottner, K. & Stradal, T. *IRSp53 links the enterohemorrhagic E. coli effectors Tir and EspFu for actin pedestal formation. Cell Host & Microbe*, 2009; **5(3)**: 244-258. Mit freundlicher Genehmigung des Elsevier Verlags.

#### AG Immunregulation | Priv.-Doz. Dr. Dunja Bruder

- Barth, K., Weinhold, K., Guenther, A., Linge, A., Gereke, M., & Kasper, M. (2008) Characterization of the molecular interaction between caveolin-1 and the P2X receptors 4 and 7 in E10 mouse lung alveolar epithelial cells. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **40**, 2230-2239.
- Gereke, M., Jung, S., Buer, J., & Bruder, D. (2009) Alveolar type II epithelial cells present antigen to CD4(+) T cells and induce Foxp3(+) regulatory T cells. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **179**, 344-355.
- Lienenklaus, S., Cornitescu, M., Zietara, N., Lyszkiewicz, M., Gekara, N., Jablonska, J., Edenhofer, F., Rajewsky, K., Bruder, D., Hafner, M., Staeheli, P., & Weiss, S. (2009) Novel reporter mouse reveals constitutive and inflammatory expression of IFN-beta in vivo. *Journal of Immunology* **183**, 3229-3236.
- Stegemann, S., Dahlberg, S., Kroger, A., Gereke, M., Bruder, D., Henriques-Normark, B., & Gunzer, M. (2009) Increased susceptibility for superinfection with *Streptococcus pneumoniae* during influenza virus infection is not caused by TLR7-mediated lymphopenia. *PLoS ONE* **4**, e4840.
- Gereke, M., Gröbe, L., Prettin, S., Kasper, M., Deppenmeier, S., Gruber, A.D., Enelow, R.I., Buer, J., & Bruder, D. (2009) Inflammatory participation of type II alveolar cells in T cell mediated lung injury. *Respiratory Research*, in press.
- Jeron, A., Pfoertner, S., Geffers, R., Bruder, D., Hammerer, P., Hoffmann, R., Buer, J., & Schrader, J.A. (2009) Dysregulation of apoptic genes contributes to elevated frequencies of regulatory T cells in renal cell carcinoma. *Tumor Biology*, in press.

- Probst-Kepper, M., Geffers, R., Kroger, A., Viegas, N., Erck, C., Hecht, H.-J., Lünsdorf, H., Roubin, R., Moharrehg-Khiabani, D., Wagner, K., Ocklenburg, F., Jeron, A., Garritsen, H., Arstila, T.P., Kekalainen, E., Balling, R., Hauser, H., Buer, J., & Weiss, S. (2009) GARP: a key receptor controlling FOXP3 in human regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, in press.



Das Titelbild der Zeitschrift *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 179(5), 2009, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Gereke, M.; Jung, S.; Buer, J., und Bruder, D.. *Alveolar Type II Epithelial Cells Present Antigen to CD4+ T Cells and Induce Foxp3+ Regulatory T Cells. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2009; **179(5)**: 344-355. Mit freundlicher Genehmigung der American Thoracic Society.

#### AG Zelluläre Proteomforschung | Dr. Lothar Jänsch

- Klein, J., Leupold, S., Munch, R., Pommerenke, C., Johl, T., Karst, U., Jänsch, L., Jahn, D., & Retter, I. (2008) ProdoNet: identification and visualization of prokaryotic gene regulatory and metabolic networks. *Nucleic Acids Research* **36**, W460-W464.
- Machata, S., Tchatalbachev, S., Mohamed, W., Jänsch, L., Hain, T., & Chakraborty, T. (2008) Lipoproteins of *Listeria monocytogenes* are critical for virulence and TLR2-mediated immune activation. *Journal of Immunology* **181**, 2028-2035.
- Mort, A., Zheng, Y., Qiu, F., Nimtz, M., & Bell-Eunice, G. (2008) Structure of xylogalacturonan fragments from watermelon cell-wall pectin. Endopolygalacturonase can accommodate a xylosyl residue on the galacturonic acid just following the hydrolysis site. *Carbohydrate Research* **343**, 1212-1221.
- Peters, K., Dudkina, N.V., Jänsch, L., Braun, H.P., & Boekema, E.J. (2008) A structural investigation of complex I and I+III(2) supercomplex from *Zea mays* at 11-13 Å resolution: Assignment of the carbonic anhydrase domain and evidence for structural heterogeneity within complex I. *Biochimica et Biophysica Acta* **1777**, 84-93.
- Schroder, S., Zhang, H., Yeung, E.S., Jänsch, L., Zabel, C., & Watzig, H. (2008) Quantitative gel electrophoresis: sources of variation. *Journal of Proteome Research* **7**, 1226-1234.
- Dötsch, A., Becker, T., Pommerenke, C., Magnowska, Z., Jänsch, L., & Häussler, S. (2009) Genomewide identification of genetic determinants of antimicrobial drug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **53**, 2522-2531.
- Höppner, F. & Klawonn, F. (2009) Compensation of translational displacement in time series clustering using cross correlation. *Lecture Notes in Computer Science* (57772 LCNS), 71-82.
- Hundertmark, C., Fischer, R., Reinl, T., May, S., Klawonn, F., & Jänsch, L. (2009) MS-specific noise model reveals the potential of iTRAQ in quantitative proteomics. *Bioinformatics* **25**, 1004-1011.

- Krügener, S., Zelena, K., Zorn, H., Nimtz, M., & Berger, R.G. (2009) Heterologous expression of an extra-cellular lipase from the basidiomycete *Pleurotus sapidus*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **57**, 16-21.
- Weiss, S.M., Ladwein, M., Schmidt, D., Ehinger, J., Lommel, S., Städing, K., Beutling, U., Disanza, A., Frank, R., Jänsch, L., Scita, G., Gunzer, F., Rottner, K., & Stradal, T.E.\* (2009) IRSp53 links the enterohemorrhagic *E. coli* effectors Tir and EspFU for actin pedestal formation. *Cell Host & Microbe* **5**, 244-258.

## NG Chronische Pseudomonas Infektionen |

### Prof. Dr. Susanne Häubler

- Balke, B., Schmoltd, S., Häubler, S., Suerbaum, S., Heesemann, J., & Hogardt, M. (2008) A German external quality survey of diagnostic microbiology of respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* **7**, 7-14.
- Häubler, S. & Becker, T. (2008) The pseudomonas quinolone signal (PQS) balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations. *PLoS Pathogens* **4**, e1000166.
- Matz, C., Moreno, A.M., Alhede, M., Manefield, M., Hauser, A.R., Givskov, M., & Kjelleberg, S. (2008) *Pseudomonas aeruginosa* uses type III secretion system to kill biofilm-associated amoebae. *The ISME Journal* **2**, 843-852.
- Matz, C., Webb, J.S., Schupp, P.J., Phang, S.Y., Penesyan, A., Egan, S., Steinberg, P., & Kjelleberg, S. (2008) Marine biofilm bacteria evade eukaryotic predation by targeted chemical defense. *PLoS ONE* **3**, e2744.
- Oppegard, C., Schmidt, J., Kristiansen, P.E., & Nissen-Meyer, J. (2008) Mutational analysis of putative helix-helix interacting GxxxG-motifs and tryptophan residues in the two-peptide bacteriocin lactococcin G. *Biochemistry* **47**, 5242-5249.
- Rakhimova, E., Munder, A., Wiehlmann, L., Bredenbruch, F., & Tummler, B. (2008) Fitness of isogenic colony morphology variants of *Pseudomonas aeruginosa* in murine airway infection. *PLoS ONE* **3**, e1685.
- Bohn, Y.S., Brandes, G., Rakhimova, E., Horatzek, S., Salunkhe, P., Munder, A., van, B.A., Jordan, D., Bredenbruch, F., Häubler, S., Riedel, K., Eberl, L., Jensen, P.O., Bjarnsholt, T., Moser, C., Hoiby, N., Tummler, B., & Wiehlmann, L. (2009) Multiple roles of *Pseudomonas aeruginosa* TBCF10839 PilY1 in motility, transport and infection. *Molecular Microbiology* **71**, 730-747.
- Deines, P., Matz, C., & Jürgens, K. (2009) Toxicity of violacein-producing bacteria fed to bacterivorous freshwater plankton. *Limnology and Oceanography* **54**, 1343-1352.
- Dötsch, A., Pommerenke, C., Bredenbruch, F., Geffers, R., & Häussler, S. (2009) Evaluation of a microarray-hybridization based method applicable for discovery of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *Pseudomonas aeruginosa* genome. *BMC GENOMICS* **10**, 29.
- Dötsch, A., Becker, T., Pommerenke, C., Magnowska, Z., Jänsch, L., & Häussler, S. (2009) Genomewide identification of genetic determinants of antimicrobial drug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **53**, 2522-2531.
- Jacquier, H., Zaoui, C., Sanson-le Pors, M.J., Mazel, D., & Bercot, B. (2009) Translation regulation of integrons gene cassette expression by the attC sites. *Molecular Microbiology* **72**, 1475-1486.
- Matz, C. (2009) Struggle, communication, cooperation: Biochemical interactions in marine biofilms. *Chemie in unserer Zeit* **43**, 160-167.
- Moya, B., Dötsch, A., Juan, C., Blazquez, J., Zamorano, L., Häussler, S., & Oliver, A. (2009) Beta-lactam resistance response triggered by inactivation of a nonessential penicillin-binding protein. *PLoS Pathogens* **5**, e1000353.
- Yeung, A.T., Torfs, E.C., Jamshidi, F., Bains, M., Wiegand, J., Hancock, R.E., & Overhage, J. (2009) Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is controlled by a broad spectrum of transcriptional regulators, including MetR. *Journal of Bacteriology* **191**, 5592-5602.

## NG Chronische Infektionen und Krebs | Dr. Lars Zender

- Burgess, D.J., Doles, J., Zender, L., Xue, W., Ma, B., McCombie, W.R., Hannon, G.J., Lowe, S.W., & Hemann, M.T. (2008) Topoisomerase levels determine chemotherapy response *in vitro* and *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **105**, 9053-9058.
- Gyrd-Hansen, M., Darding, M., Miasari, M., Santoro, M.M., Zender, L., Xue, W., Tenev, T., da Fonseca, P.C., Zvelebil, M., Bujnicki, J.M., Lowe, S., Silke, J., & Meier, P. (2008) IAPs contain an evolutionarily conserved ubiquitin-binding domain that regulates NF-kappaB as well as cell survival and oncogenesis. *Nature Cell Biology* **10**, 1309-1317.
- Krizhanovsky, V., Xue, W., Zender, L., Yon, M., Hernandez, E., & Lowe, S.W. (2008) Implications of cellular senescence in tissue damage response, tumor suppression, and stem cell biology. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* **73**, 513-522.
- Krizhanovsky, V., Yon, M., Dickens, R.A., Hearn, S., Simon, J., Miething, C., Yee, H., Zender, L., & Lowe, S.W. (2008) Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* **134**, 657-667.
- Nickenleit, I., Zender, S., Sasse, F., Geffers, R., Brandes, G., Sorensen, I., Steinmetz, H., Kubicka, S., Carlomagno, T., Menche, D., Gutgemann, I., Buer, J., Gossler, A., Manns, M.P., Kalesse, M., Frank, R., & Malek, N.P. (2008) Argyrin A reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.
- Xue, W., Krasnitz, A., Lucito, R., Sordella, R., Vanaelst, L., Cordon-Cardo, C., Singer, S., Kuehnel, F., Wigler, M., Powers, S., Zender, L., & Lowe, S.W. (2008) DLC1 is a chromosome 8p tumor suppressor whose loss promotes hepatocellular carcinoma. *Genes and Development* **22**, 1439-1444.
- Zender, L. & Kubicka, S. (2008) Androgen receptor and hepatocarcinogenesis: what do we learn from HCC mouse models? *Gastroenterology* **135**, 738-740.
- Zender, L., Xue, W., Zuber, J., Semighini, C.P., Krasnitz, A., Ma, B., Zender, P., Kubicka, S., Luk, J.M., Schirmacher, P., McCombie, W.R., Wigler, M., Hicks, J., Hannon, G.J., Powers, S., & Lowe, S.W. (2008) An oncogenomics-based *in vivo* RNAi screen identifies tumor suppressors in liver cancer. *Cell* **135**, 852-864.
- Zender, L. & Lowe, S.W. (2008) Integrative oncogenomic approaches for accelerated cancer-gene discovery. *Current Opinion in Oncology* **20**, 72-76.
- Zender, L. & Kubicka, S. (2008) Molecular pathogenesis and targeted therapy of hepatocellular carcinoma. *Onkologie* **31**, 550-555.
- Ma, O., Cai, W.W., Zender, L., Dayaram, T., Shen, J., Herron, A.J., Lowe, S.W., Man, T.K., Lau, C.C., & Donehower, L.A. (2009) MMP13, Birc2 (cIAP1), and Birc3 (cIAP2), amplified on chromosome 9, collaborate with p53 deficiency in mouse osteosarcoma progression. *Cancer Research* **69**, 2559-2567.
- Gurlevik, E., Woller, N., Schache, P., Malek, N.P., Wirth, T.C., Zender, L., Manns, M.P., Kubicka, S., & Kuhnel, F. (2009) p53-dependent antiviral RNA-interference facilitates tumor-selective viral replication. *Nucleic Acids Research*, in press.
- Laska, M.J., Lowe, S.W., Zender, L., Hearn, S., Vogel, U., Jensen, U.B., Bric, A., & Nexø, B.A. (2009) Enforced expression of PPP1R13L increases tumorigenesis and invasion through p53-dependent and p53-independent mechanisms. *Molecular Carcinogenesis*, in press.
- Schache, P., Gurlevik, E., Struver, N., Woller, N., Malek, N., Zender, L., Manns, M., Wirth, T., Kuhnel, F., & Kubicka, S. (2009) VSV virotherapy improves chemotherapy by triggering apoptosis due to proteasomal degradation of Mcl-1. *Gene Therapy*, in press.

- Xu, M.Z., Yao, T.J., Lee, N.P., Ng, I.O., Chan, Y.T., Zender, L., Lowe, S.W., Poon, R.T., & Luk, J.M. (2009) Yes-associated protein is an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Cancer*, in press.

### Ehemalige Abt. für Experimentelle Immunologie

(bis 2008) | Prof. Dr. Werner Müller

- Berberich, S., Dahne, S., Schippers, A., Peters, T., Müller, W., Kremmer, E., Forster, R., & Pabst, O. (2008) Differential molecular and anatomical basis for B cell migration into the peritoneal cavity and omental milky spots. *Journal of Immunology* **180**, 2196-2203.
- Fasnacht, N. & Müller, W. (2008) Conditional gp130 deficient mouse mutants. *Seminars in Cell and Developmental Biology* **19**, 379-384.
- Hömig-Holzler, C., Hojer, C., Rastelli, J., Casola, S., Strobl, L.J., Müller, W., Quintanilla-Martinez, L., Gewies, A., Ruland, J., Rajewsky, K., & Zimmer-Strobl, U. (2008) Constitutive CD40 signaling in B cells selectively activates the noncanonical NF-kappaB pathway and promotes lymphomagenesis. *Journal of Experimental Medicine* **205**, 1317-1329.
- Ibrahim, S.R., Ebel, R., Wray, V., Müller, W.E. \*, Edrada-Ebel, R., & Proksch, P. (2008) Diacarpoxides, norterpene cyclic peroxides from the sponge *Diacarnus megaspinorhabdosa*. *Journal of Natural Products* **71**, 1358-1364.
- Rastelli, J., Homig-Holzler, C., Seagal, J., Müller, W., Hermann, A.C., Rajewsky, K., & Zimmer-Strobl, U. (2008) LMP1 signaling can replace CD40 signaling in B cells in vivo and has unique features of inducing class-switch recombination to IgG1. *Blood* **111**, 1448-1455.
- Roers, A. & Müller, W. (2008) Distinct function of Interleukin-10 derived from different cellular sources. *Current Immunology Reviews* **4**, 37-42.
- Schippers, A., Mateika, S., Prochnow, B., Gruber, A.D., Müller, W., & Frischmann, U. (2008) Susceptibility of four inbred mouse strains to a low-pathogenic isolate of *Yersinia enterocolitica*. *Mammalian Genome* **19**, 279-291.
- Sudarman, E., Bollati-Fogolin, M., Hafner, M., Müller, W., Scheller, J., Rose-John, S., & Eichler, J. (2008) Synthetic mimetics of the gp130 binding site for viral interleukin-6 as inhibitors of the vIL-6-gp130 interaction. *Chemical Biology and Drug Design* **71**, 494-500.
- Fasnacht, N., Greweling, M.C., Bollati-Fogolin, M., Schippers, A., & Müller, W. (2009) T-cell-specific deletion of gp130 renders the highly susceptible IL-10-deficient mouse resistant to intestinal nematode infection. *European Journal of Immunology* **39**, 2173-2183.
- Montoyo, H.P., Vaccaro, C., Hafner, M., Ober, R.J., Müller, W., & Ward, E.S. (2009) Conditional deletion of the MHC class I-related receptor FcRn reveals the sites of IgG homeostasis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 2788-2793.

### Ehemalige AG Mukosale Immunität (bis 2008) |

Prof. Dr. Jan Buer

- Haile, L.A., von, W.R., Gamrekelashvili, J., Kruger, C., Bachmann, O., Westendorf, A.M. \*, Buer, J., Liblau, R., Manns, M.P., Korangy, F., & Greten, T.F. (2008) Myeloid-derived suppressor cells in inflammatory bowel disease: a new immunoregulatory pathway. *Gastroenterology* **135**, 871-881.
- Nickeleit, I., Zender, S., Sasse, F., Geffers, R., Brandes, G., Sorensen, J., Steinmetz, H., Kubicka, S., Carlomagno, T., Menche, D., Gutgemann, I., Buer, J., Gossler, A., Manns, M.P., Kalesse, M., Frank, R., & Malek, N.P. (2008) Argyrin A reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.

- Seifert, O., Bayat, A., Geffers, R., Dienus, K., Buer, J., Lofgren, S., & Matussek, A. (2008) Identification of unique gene expression patterns within different lesional sites of keloids. *Wound Repair and Regeneration* **16**, 254-265.

- Veldhoen, M., Hirota, K., Westendorf, A.M. \*, Buer, J., Dumoutier, L., Renaud, J.C., & Stockinger, B. (2008) The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature* **453**, 106-109.

- Westendorf, A.M., Fleissner, D., Gröbe, L., Jung, S., Gruber, A.D., Hansen, W., & Buer, J. (2009) CD4+Foxp3+ regulatory T cell expansion induced by antigen-driven interaction with intestinal epithelial cells independent of local dendritic cells. *GUT* **58**, 211-219.

### Ehemalige NG Immunodynamik (bis 2008) |

Prof. Dr. Matthias Gunzer

- Bleich, A., Sundberg, J.P., Smoczek, A., von Wasielewski, R., De Bühr, M.F., Janus, L.M., Julga, G., Ukena, S.N., Hedrich, H.J., & Gunzer, F. (2008) Sensitivity to *Escherichia coli* Nissle 1917 in mice is dependent on environment and genetic background. *International Journal of Experimental Pathology* **89**, 45-54.
- Niesner, R., Andresen, V., & Gunzer, M. (2008) Intravital 2-photon microscopy - focus on speed and time resolved imaging modalities. *Immunological Reviews* **221**(1), 7-25
- Quentmeier, S., Denicke, S., Ehlers, J.E., Niesner, R.A. \*, & Gericke, K.H. (2008) Two-color two-photon excitation using femtosecond laser pulses. *Journal of Physical Chemistry B* **112**, 5768-5773.
- Sasse, C., Bignell, E.M., Hasenberg, M., Haynes, K., Gunzer, M., Braus, G.H., & Krappmann, S. (2008) Basal expression of the *Aspergillus fumigatus* transcriptional activator CpcA is sufficient to support pulmonary aspergillosis. *Fungal Genetics and Biology* **45**, 693-704.
- Stegemann, S., Dahlberg, S., Kroger, A., Gereke, M., Bruder, D., Henriques-Normark, B., & Gunzer, M. (2009) Increased susceptibility for superinfection with *Streptococcus pneumoniae* during influenza virus infection is not caused by TLR7-mediated lymphopenia. *PLoS ONE* **4**, e4840.
- Geiger, H., Koehler, A., & Gunzer, M. (2009) A model for changes in cell-cell interactions and hematopoietic stem cell aging. *Cell Cycle* **6**, in press.

### Ehemalige AG Konformation Protein-Ligand Interaktion

(bis 2008) | Prof. Dr. Jutta Eichler

- Franke, R. & Eichler, J. (2008) Synthetic peptides: Structure-based design of mimetics of protein binding sites. *Biospektrum* **14**, 41-43.
- Sudarman, E., Bollati-Fogolin, M., Hafner, M., Müller, W., Scheller, J., Rose-John, S., & Eichler, J. (2008) Synthetic mimetics of the gp130 binding site for viral interleukin-6 as inhibitors of the vIL-6-gp130 interaction. *Chemical Biology and Drug Design* **71**, 494-500.

### Ber. Molekulare Biotechnologie | Prof. Dr. Hansjörg Hauser

Abt. für Genomanalyse | Dr. Helmut Blöcker

- Agren, D., Schnell, R., Oehlmann, W., Singh, M., & Schneider, G. (2008) Cysteine synthase (CysM) of *Mycobacterium tuberculosis* is an O-phosphoserine sulfhydrylase: evidence for an alternative cysteine biosynthesis pathway in mycobacteria. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 31567-31574.
- Agren, D., Stehr, M., Berthold, C.L., Kapoor, S., Oehlmann, W., Singh, M., & Schneider, G. (2008) Three-dimensional structures of apo- and holo-L-alanine dehydrogenase from *Mycobacterium tuberculosis* reveal conformational changes upon coenzyme binding. *Journal of Molecular Biology* **377**, 1161-1173.

- Buntin,K., Rachid,S., Scharfe,M., Blöcker,H., Weissman,K.J., & Müller,R. (2008) Production of the antifungal isochromanone ajadazols A and B in *Chondromyces crocatus* Cm c5: biosynthetic machinery and cytochrome P450 modifications. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 4595-4599.
- Dinser,R., Fousse,M., Sester,U., Albrecht,K., Singh,M., Kohler,H., Muller-Ladner,U., & Sester,M. (2008) Evaluation of latent tuberculosis infection in patients with inflammatory arthropathies before treatment with TNF-alpha blocking drugs using a novel flow-cytometric interferon-gamma release assay. *Rheumatology* **47**, 212-218.
- Gross,R., Guzmán,C.A.\*., Sebahia,M., dos Santos,V.A.P.M.\*., Pieper,D.H.\*., Koebnik,R., Lechner,M., Bartels,D., Buhmester,J., Choudhuri,J.V., Ebensen,T., Gaigalat,L., Herrmann,S., Khachane,A.N., Larisch,C., Link,S., Linke,B., Meyer,F., Mormann,S., Nakunst,D., Ruckert,C., Schneiker-Bekel,S., Schulze,K., Vorholter,F.J., Yevsa,T., Engle,J.T., Goldman,W.E., Puhler,A., Gobel,U.B., Goesmann,A., Blöcker,H., Kaiser,O., & Martinez-Arias,R. (2008) The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetellae*. *BMC GENOMICS* **9**, 449.
- Imaz,M.S., Schmelling,M.F., Kaempfer,S., Spallek,R., & Singh,M. (2008) Serodiagnosis of tuberculosis: specific detection of free and complex-dissociated antibodies anti-mycobacterium tuberculosis recombinant antigens. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* **12**, 234-244.
- Lesellier,S., Corner,L., Costello,E., Sleeman,P., Lyashchenko,K., Greenwald,R., Esfandiari,J., Singh,M., Hewinson,R.G., Chambers,M., & Gormley,E. (2008) Antigen specific immunological responses of badgers (*Meles meles*) experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **122**, 35-45.
- Rosenkrands,I., Aagaard,C., Weldingh,K., Brock,I., Dziegiel,M.H., Singh,M., Hoff,S., Ravn,P., & Andersen,P. (2008) Identification of Rv0222 from RD4 as a novel serodiagnostic target for tuberculosis. *Tuberculosis* **88**, 335-343.
- Weir,R.E., Fine,P.E., Floyd,S., Stenson,S., Stanley,C., Branson,K., Britton,W.J., Huygen,K., Singh,M., Black,G., & Dockrell,H.M. (2008) Comparison of IFN-gamma responses to mycobacterial antigens as markers of response to BCG vaccination. *Tuberculosis* **88**, 31-38.
- Whelan,A.O., Wright,D.C., Chambers,M.A., Singh,M., Hewinson,R.G., & Vordermeier,H.M. (2008) Evidence for enhanced central memory priming by live *Mycobacterium bovis* BCG vaccine in comparison with killed BCG formulations. *Vaccine* **26**, 166-173.
- Kaput,J., Cotton,R.G., Hardman,L., Watson,M., Al Aqeel,A.I., Al-Aama,J.Y., Al-Mulla,F., Alonso,S., Aretz,S., Auerbach,A.D., Bapat,B., Bernstein,I.T., Bhak,J., Bleo,S.L., Blöcker,H., Brenner,S.E., Burn,J., Bustamante,M., Calzone,R., Cambon-Thomsen,A., Cargill,M., Carrera,P., Cavedon,L., Cho,Y.S., Chung,Y.J., Claustres,M., Cutting,G., Dalgleish,R., den Dunnen,J.T., Diaz,C., Dobrowolski,S., dos Santos,M.R., Ekong,R., Flanagan,S.B., Flicek,P., Furukawa,Y., Genuardi,M., Ghang,H., Golubenko,M.V., Greenblatt,M.S., Hamosh,A., Hancock,J.M., Hardison,R., Harrison,T.M., Hoffmann,R., Horaitis,R., Howard,H.J., Barash,C.I., Izagirre,N., Jung,J., Kojima,T., Laradi,S., Lee,Y.S., Lee,J.Y., Gil-da-Silva-Lopes,V.L., Macrae,F.A., Maglott,D., Marafie,M.J., Marsh,S.G., Matsubara,Y., Messiaen,L.M., Moslein,G., Netea,M.G., Norton,M.L., Oefner,P.J., Oetting,W.S., O'Leary,J.C., de Ramirez,A.M., Paalman,M.H., Parboosingh,J., Patrinos,G.P., Perozzi,G., Phillips,I.R., Povey,S., Prasad,S., Qi,M., Quin,D.J., Ramesar,R.S., Richards,C.S., Savige,J., Scheible,D.G., Scott,R.J., Seminara,D., Shephard,E.A., Sijmons,R.H., Smith,T.D., Sobrido,M.J., Tanaka,T., Tavtigian,S.V., Taylor,G.R., Teague,J., Topel,T., Ullman-Cullere,M., Utsunomiya,J., van Kranen,H.J., Vihinen,M., Webb,E., Weber,T.K., Yeager,M., Yeom,Y.I., Yim,S.H., & Yoo,H.S. (2009) Planning the human variome project: the Spain report. *Human Mutation* **30**, 496-510.
- Lesellier,S., Corner,L., Costello,E., Lyashchenko,K., Greenwald,R., Esfandiari,J., Singh,M., Hewinson,R.G., Chambers,M., & Gormley,E. (2009) Immunological responses and protective immunity in BCG vaccinated badgers following endobronchial infection with *Mycobacterium bovis*. *Vaccine* **27**, 402-409.
- Rachid,S., Scharfe,M., Blöcker,H., Weissman,K.J., & Müller,R. (2009) Unusual chemistry in the biosynthesis of the antibiotic chondrochlorens. *Chemistry and Biology* **16**, 70-81.
- Sester,U., Wilkens,H., van,B.K., Singh,M., Sybrecht,G.W., Schafers,H.J., & Sester,M. (2009) Impaired detection of Mycobacterium tuberculosis immunity in patients using high levels of immunosuppressive drugs. *European Respiratory Journal* **34**, 702-710.
- Stehr,M., Greweling,M.C., Tischer,S., Singh,M., Blöcker,H., Monner,D.A., & Müller,W. (2009) Charles River altered Schaedler flora (CRASF(R)) remained stable for four years in a mouse colony housed in individually ventilated cages. *Laboratory Animals* **43**, 362-370.
- Strittmatter,A.W., Liesegang,H., Rabus,R., Decker,I., Amann,J., Andres,S., Henne,A., Fricke,W.F., Martinez-Arias,R., Bartels,D., Goesmann,A., Krause,L., Puhler,A., Klenk,H.P., Richter,M., Schuler,M., Glockner,F.O., Meyerdielck,A., Gottschalk,G., & Amann,R. (2009) Genome sequence of *Desulfobacterium autotrophicum* HRM2, a marine sulfate reducer oxidizing organic carbon completely to carbon dioxide. *Environmental Microbiology* **11**, 1038-1055.
- Wang,Y., Bergmeier,L.A., Stebbings,R., Seidl,T., Whittall,T., Singh,M., Berry,N., Almond,N., & Lehner,T. (2009) Mucosal immunization in macaques upregulates the innate APOBEC 3G anti-viral factor in CD4(+) memory T cells. *Vaccine* **27**, 870-881.
- Wieten,L., Berlo,S.E., Ten Brink,C.B., van Kooten,P.J., Singh,M., van der,Z.R., Glant,T.T., Broere,F., & van,E.W. (2009) IL-10 is critically involved in mycobacterial HSP70 induced suppression of proteoglycan-induced arthritis. *PLoS ONE* **4**, e4186.

## Ehemalige AG Systembiologie (bis 2009) |

### Prof. Dr. An-Ping Zeng

- Da Silva,M.R., Ma,H., & Zeng,A.-P. (2008) Centrality, network capacity, and modularity as parameters to analyze the core-periphery structure in metabolic networks. *Proceedings of the IEEE* **96**, 1411 (art. no. 456708)-1420.
- Liu,Y.-H., Bi,J.X., Zeng,A.-P., & Yuan,J.Q. (2008) A simple kinetic model for myeloma cell culture with consideration of lysine limitation. *Bioprocess and Biosystems Engineering* **31**, 569-577.
- Liu,Y.-H., Bi,J.-X., Zeng,A.-P., & Yuan,J.-Q. (2008) A cybernetic model to describe the dynamics of myeloma cell cultivations. *Applied Mathematics and Computation* **205**, 84-97.
- Zhang,Q., Teng,H., Sun,Y., Xiu,Z., & Zeng,A.-P. (2008) Metabolic flux and robustness analysis of glycerol metabolism in *Klebsiella pneumoniae*. *Bioprocess and Biosystems Engineering* **1**, 127-135.
- Da Silva,M.R., Sun,J., Ma,H., He,F., & Zeng,A.-P. (2009) Metabolic networks. In *Biological Network Analysis* (Junker,B.H. & Schreiber,F., eds), Wiley, in press.
- Li,Y., Bi,J., Zhou,W., Huang,Y., Sun,L., Zeng,A.-P., Ma,G., & Su,Z. (2009) Characterization of the large size aggregation of Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) formed in ultrafiltration process. *Process Biochemistry*, in press.
- Ma,H., Rosa da Silva,M., Sun,J., Kumar,B., & Zeng,A.-P. (2009) Reconstruction and structural analysis of metabolic and regulatory networks. In *Introduction to Systems Biology* (Sangdun Choi, ed), Humana Press, in press.
- Rosa da Silva,M., Ma,H., & Zeng,A.-P. (2009) Core-periphery decomposition of metabolic networks based on modularity. *IEE Systems Biology*, in press.
- Rosa da Silva,M., Sun,J., Ma,H., He,F., & Zeng,A.-P. (2009) Metabolic networks. In *Analysis of Biological Networks* (Junker,B.H. & Schreiber,F., eds), pp. 233. Wiley, in press.

- Wortman, J.R., Gilsenan, J.M., Joardar, V., Deegan, J., Clutterbuck, J., Andersen, M.R., Archer, D., Bencina, M., Braus, G., Coutinho, P., Dohren, H.V., Doonan, J., Driessen, A.J., Durek, P., Espeso, E., Fekete, E., Flippi, M., Estrada, C.G., Geysens, S., Goldman, G., de Groot, P.W., Hansen, K., Harris, S.D., Heinekamp, T., Helmstaedt, K., Henrissat, B., Hofmann, G., Homan, T., Horio, T., Horiuchi, H., James, S., Jones, M., Karaffa, L., Karanyi, Z., Kato, M., Keller, N., Kelly, D.E., Kiel, J.A., Kim, J.M., van, d.K., I, Klis, F.M., Kovalchuk, A., Krasevec, N., Kubicek, C.P., Liu, B., Maccabe, A., Meyer, V., Mirabito, P., Miskei, M., Mos, M., Mullins, J., Nelson, D.R., Nielsen, J., Oakley, B.R., Osmani, S.A., Pakula, T., Paszewski, A., Paulsen, I., Pilsyk, S., Poci, I., Punt, P.J., Ram, A.F., Ren, Q., Robellet, X., Robson, G., Seiboth, B., van, S.P., Specht, T., Sun, J., Taheri-Talesh, N., Takeshita, N., Ussery, D., Vankuyk, P.A., Visser, H., van, d., V, de Vries, R.P., Walton, J., Xiang, X., Xiong, Y., Zeng, A.-P., Brandt, B.W., Cornell, M.J., van den Hondel, C.A., Visser, J., Oliver, S.G., & Turner, G. (2009) The 2008 update of the *Aspergillus nidulans* genome annotation: A community effort. *Fungal Genetics and Biology*, in press.
  - Mueller, P.P.\*., Drynda, A., Goltz, D., Hoehn, R., Hauser, H., & Peuster, M. (2009) Common signatures for gene expression in postnatal patients with patent arterial ducts and stented arteries. *Cardiology in the Young* **19**, 352-359.
  - Spanholtz, T., Maichle, A., Niedworok, C., Stoeckelhuber, B.M., Kruger, S., Wedel, T., Aach, T., Middeler, G., Hellwig-Burgel, T., Bader, A., Krengel, S., Muller, O.J., Franz, W.M., Lindenmaier, W., & Machens, H.G. (2009) Timing and targeting of cell-based VEGF165 gene expression in ischemic tissue. *Journal of Surgical Research* **151**, 153-162.
  - Vogt, J.C., Brandes, G., Ehlert, N., Behrens, P., Nolte, I., Müller, P.P.\*., Lenarz, T., & Stieve, M. (2009) Free Bioerit II implants coated with a nanoporous silica layer in a mouse ear model – a histological study. *Journal of Biomaterials Applications* **24**, 175-191.
  - Gama-Norton, L., Riemer, P., Sandhu, U., Nehlsen, K., Schucht, R., Hauser, H., & Wirth, D. (2009) Defeating Randomness – Targeted Integration as a Boost for Biotechnology. In: Cell Engineering (Al-Rubeai, M., ed), in press.
  - Hoffmann, A. & Gross, G. (2009) Tendon and ligament engineering in the adult organism: use of mesenchymal stem cells and gene therapeutic approaches. *International Orthopaedics*, in press.
  - May, T., Hauser, H., & Wirth, D. (2009) Current status of transcriptional regulation systems. *Cytotechnology*, in press.
  - Probst-Kepper, M., Geffers, R., Kroger, A., Viegas, N., Erck, C., Hecht, H.-J., Lünsdorf, H., Roubin, R., Moharregg-Khiabani, D., Wagner, K., Ocklenburg, F., Jeron, A., Garritsen, H., Arstila, T.P., Kekalainen, E., Balling, R., Hauser, H., Buer, J., & Weiss, S. (2009) GARP: a key receptor controlling FOXP3 in human regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, in press.
  - Ramsauer, K., Farlik, M., Zupkovitz, G., Seiser, C., Kröger, A., Hauser, H., & Decker, T. (2009) Distinct modes of action applied by transcription factors STAT1 and IRF1 to initiate transcription of the IFN-gamma-inducible *gfp2* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, in press.
  - Basler, T., Geffers, R., Weiss, S., Valentin-Weigand, P., & Goethe, R. (2008) *Mycobacterium avium* subspecies induce differential expression of pro-inflammatory mediators in a murine macrophage model: Evidence for enhanced pathogenicity of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Immunobiology* **213**, 879-888.
  - Gekara, N.O., Gröbe, L., Viegas, N., & Weiss, S. (2008) *Listeria monocytogenes* desensitizes immune cells to subsequent Ca<sup>2+</sup> signaling via listeriolysin O-induced depletion of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores. *Infection and Immunity* **76**, 857-862.
  - Gekara, N.O. & Weiss, S. (2008) Freund oder Feind? - Die Bedeutung der Mastzellen im Kampf gegen Infektionen. *labor&more* **01/08**, 20-21.
  - Gekara, N.O. & Weiss, S. (2008) Mast cells initiate early anti-*Listeria* host defenses. *Cellular Microbiology* **10**, 225-236.
  - Grenningloh, R., Darj, A., Bauer, H., zur, L.S., Chakraborty, T., Jacobs, T., & Weiss, S. (2008) Liposome-encapsulated antigens induce a protective CTL response against *Listeria monocytogenes* independent of CD4+ T cell help. *Scandinavian Journal of Immunology* **67**, 594-602.
  - Lienenklaus, S., Walisko, R., te, B.A., May, T., Samuelsson, C., Michiels, T., & Weiss, S. (2008) PCR-based simultaneous analysis of the interferon-alpha family reveals distinct kinetics for early interferons. *Journal of Interferon and Cytokine Research* **28**, 653-660.
  - Loessner, H., Endmann, A., Leschner, S., Bauer, H., Zelmer, A., zur Lage, S., Westphal, K., & Weiss, S. (2008) Improving live attenuated bacterial carriers for vaccination and therapy. *International Journal of Medical Microbiology* **298**, 21-26.
  - Loessner, H., Westphal, K., & Weiss, S. (2008) Bakterien für die Tumorthherapie – Ferngesteuerte Multi-Talente für den Kampf gegen den Krebs. *Bioforum* **3**, 43-45.
- Abt. für Generegulation und Differenzierung | Prof. Dr. Hansjörg Hauser**
- Klöpper, J., Lindenmaier, W., Fiedler, U., Mehlhorn, A., Stark, G.B., & Finkenzeller, G. (2008) High efficient adenoviral-mediated VEGF and Ang-1 gene delivery into osteogenically differentiated human mesenchymal stem cells. *Microvascular Research* **75**, 83-90.
  - Ma, B., Lin, Z., Winkelbach, S., Lindenmaier, W., & Dittmar, K.E.\*. (2008) Automatic registration of serial sections of mouse lymph node by using Image-Reg. *Micron* **39**, 387-396.
  - Ma, B., Wang, L., von, W.R., Lindenmaier, W., & Dittmar, K.E.\*. (2008) Serial sectioning and three-dimensional reconstruction of mouse Peyer's patch. *Micron* **39**, 967-975.
  - May, T., Eccleston, L., Herrmann, S., Hauser, H.-J., Goncalves, J., & Wirth, D. (2008) Bimodal and hysteretic expression in mammalian cells from a synthetic gene circuit. *PLoS ONE* **3**, e2372.
  - Reich, U., Müller, P.P.\*., Fadeeva, E., Chichkov, B.N., Stoeber, T., Fabian, T., Lenarz, T., & Reuter, G. (2008) Differential fine-tuning of cochlear implant material-cell interactions by femtosecond laser microstructuring. *Journal of Biomedical Materials Research – B Applied Biomaterials* **87B**, 598.
  - Schliephake, H., Weich, H.A.\*., Dullin, C., Gruber, R., & Frahe, S. (2008) Mandibular bone repair by implantation of rhBMP-2 in a slow release carrier of polylactic acid - An experimental study in rats. *Biomaterials* **28**, 103-110.
  - Winkel, A., Stricker, S., Tylzanowski, P., Seiffart, V., Mundlos, S., Gross, G., & Hoffmann, A. (2008) Wnt-ligand-dependent interaction of TAK1 (TGF-beta-activated kinase-1) with the receptor tyrosine kinase Ror2 modulates canonical Wnt-signalling. *Cellular Signalling* **20**, 2134-2144.
  - Wissel, K., Stover, T., Hofmann, N.S., Chernajovsky, Y., Daly, G., Sasse, S., Warnecke, A., Lenarz, T., Gross, G., & Hoffmann, A. (2008) Fibroblast-mediated delivery of GDNF induces neuronal-like outgrowth in PC12 cells. *Otology & Neurotology* **29**, 475-481.
  - Albuquerque, R.J., Hayashi, T., Cho, W.G., Kleinman, M.E., Dridi, S., Takeda, A., Baffi, J.Z., Yamada, K., Kaneko, H., Green, M.G., Chappell, J., Wilting, J., Weich, H.A.\*., Yamagami, S., Amano, S., Mizuki, N., Alexander, J.S., Peterson, M.L., Brekken, R.A., Hirashima, M., Capoor, S., Usui, T., Ambati, B.K., & Ambati, J. (2009) Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth. *Nature medicine* **15**, 1023-1030.
  - Garritsen, H.S.P., Xiu-Cheng Fan, A., Lenz, D., Hannig, H., Zhong, X.Y., Geffers, R., Lindenmaier, W., Dittmar, K.E.J.\*., & Wörmann, B. (2009) Molecular diagnostics in transfusion medicine: In capillary, on a chip, in silico, or in flight? *Transfusion Medicine and Hemotherapy* **36**, 181-187.
  - Gruber, R., Weich, H.A.\*., Dullin, C., & Schliephake, H. (2009) Ectopic bone formation after implantation of a slow release system of polylactid acid and rhBMP-2. *Clinical Oral Implants Research* **20**, 24-30.
- AG Molekulare Immunologie | Dr. Siegfried Weiss**

- Westphal, K. & Weiss, S. (2008) Bakterien als Helfer im Kampf gegen den Krebs. *Best Practice Oncology* **1**, 60.
- Westphal, K., Leschner, S., Jablonska, J., Loessner, H., & Weiss, S. (2008) Containment of tumor-colonizing bacteria by host neutrophils. *Cancer Research* **68**, 2952-2960.
- Gekara, N.O., Dietrich, N., Lyszkiewicz, M., Lienenklaus, S., & Weiss, S. (2009) Signals triggered by a bacterial pore-forming toxin contribute to toll-like receptor redundancy in gram-positive bacterial recognition. *Journal of Infectious Diseases* **199**, 124-133.
- Huys, L., Van, H.F., Dejager, L., Dejonckheere, E., Lienenklaus, S., Weiss, S., Leclercq, G., & Libert, C. (2009) Type I interferon drives tumor necrosis factor-induced lethal shock. *Journal of Experimental Medicine* **206**, 1873-1882.
- Leschner, S., Westphal, K., Dietrich, N., Viegas, N., Jablonska, J., Lyszkiewicz, M., Lienenklaus, S., Falk, W., Gekara, N., Loessner, H., & Weiss, S. (2009) Tumor invasion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is accompanied by strong hemorrhage promoted by TNF-alpha. *PLoS ONE* **4**, e6692.
- Lienenklaus, S., Cornitescu, M., Zietara, N., Lyszkiewicz, M., Gekara, N., Jablonska, J., Edenhofer, F., Rajewsky, K., Bruder, D., Hafner, M., Staeheli, P., & Weiss, S. (2009) Novel reporter mouse reveals constitutive and inflammatory expression of IFN-beta in vivo. *Journal of Immunology* **183**, 3229-3236.
- Loessner, H. & Weiss, S. (2009) *In vivo* remote control of bacterial vectors for prophylaxis and therapy. In: *Patho-Biotechnology* (Sleator, R., ed), pp. 61-70. LandesBioscience.
- Richter, J.F., Gitter, A.H., Gunzel, D., Weiss, S., Mohamed, W., Chakraborty, T., Fromm, M., & Schulzke, J.D. (2009) Listeriolysin O affects barrier function and induces chloride secretion in HT-29/B6 colon epithelial cells. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **296**, G1350-G1359.
- Roy, B., Shukla, S., Stoermann, B., Kremmer, E., Duber, S., & Weiss, S. (2009) Loss of lambda2(315) transgene copy numbers influences the development of B1 cells. *Molecular Immunology* **46**, 1542-1550.
- Roy, B., Shukla, S., Lyszkiewicz, M., Krey, M., Viegas, N., Duber, S., & Weiss, S. (2009) Somatic hypermutation in peritoneal B1b cells. *Molecular Immunology* **46**, 1613-1619.
- Westphal-Daniel, K., Leschner, S., & Weiss, S. (2009) Tumor treatment: Tumor-colonizing bacteria as allies in the fight against cancer [Tumor-besiedelnde Bakterien als Verbündete im Kampf gegen Krebs]. *Biospektrum* **15**, 128-131.
- Westphal-Daniel, K., Leschner, S., & Weiss, S. (2009) Tumorbesiedelnde Bakterien als Verbündete im Kampf gegen Krebs. *Biospektrum* **2/15**, 128-131.
- Zietara, N., Lyszkiewicz, M., Gekara, N., Puchalka, V.A.P., Martins dos Santos, V.A.P.\*, Lienenklaus, S., & Weiss, S. (2009) Absence of IFN-beta impairs antigen presentation capacity of splenic dendritic cells via down-regulation of Hsp70. *Journal of Immunology*, **183**, 1099-1109.
- Probst-Kepper, M., Geffers, R., Kroger, A., Viegas, N., Erck, C., Hecht, H.-J., Lünsdorf, H., Roubin, R., Moharreggh-Khiabani, D., Wagner, K., Ocklenburg, F., Jeron, A., Garritsen, H., Arstila, T.P., Kekalainen, E., Balling, R., Hauser, H., Buer, J., & Weiss, S. (2009) GARP: a key receptor controlling FOXP3 in human regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, in press.

## AG Modellsysteme für Infektion und Immunität |

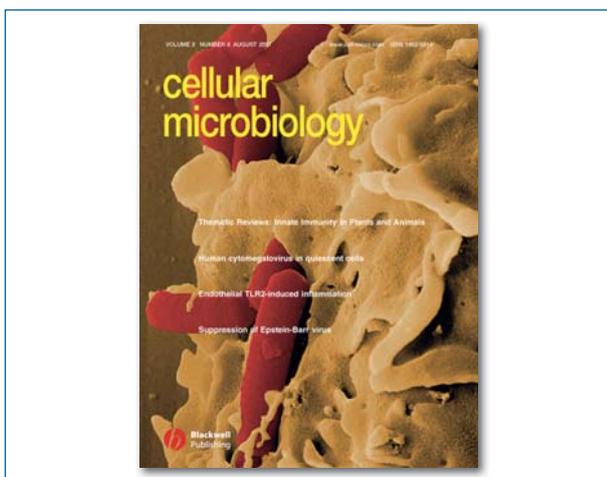
### Dr. Dagmar Wirth

- May, T., Eccleston, L., Herrmann, S., Hauser, H., Goncalves, J., & Wirth, D. (2008) Bimodal and hysteretic expression in mammalian cells from a synthetic gene circuit. *PLoS ONE* **3**, e2372.
- Gama-Norton, L., Riemer, P., Sandhu, U., Nehlsen, K., Schucht, R., Hauser, H., & Wirth, D. (2009) Defeating Randomness – Targeted Integration as a Boost for Biotechnology. In: *Cell Engineering* (Al-Rubeai, M., ed), in press.
- May, T., Hauser, H., & Wirth, D. (2009) Current status of transcriptional regulation systems. *Cytotechnology*, in press.
- Schucht, R., Wirth, D., & May, T. (2009) Precise regulation of transgene expression level and control of cell physiology. *Cell Biology and Toxicology*, in press.

## AG System- und Synthetische Biologie |

### Prof. Dr. Vitor Martins dos Santos

- Gross, R., Guzmán, C.A.\*, Sebahia, M., Martins dos Santos, V.A.P.M.\*, Pieper, D.H.\*, Koebnik, R., Lechner, M., Bartels, D., Buhrmester, J., Choudhuri, J.V., Ebsen, T., Gaigalat, L., Herrmann, S., Khachane, A.N., Larisch, C., Link, S., Linke, B., Meyer, F., Mormann, S., Nakunst, D., Ruckert, C., Schneiker-Bekel, S., Schulze, K., Vorholter, F.J., Yevsa, T., Engle, J.T., Goldman, W.E., Puhler, A., Gobel, U.B., Goesmann, A., Blöcker, H., Kaiser, O., & Martinez-Arias, R. (2008) The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetella*. *BMC GENOMICS* **9**, 449.
- Oberhardt, M.A., Puchalka, J., Fryer, K.E., Martins dos Santos, V.A.P.\*, & Papin, J.A. (2008) Genome-scale metabolic network analysis of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Bacteriology* **190**, 2790-2803.
- Puchalka, J., Oberhardt, M.A., Godinho, M., Bielecka, A., Regenhardt, D., Timmis, K.N.\*, Papin, J.A., & Martins dos Santos, V.A.P.\*. (2008) Genome-scale reconstruction and analysis of the *Pseudomonas putida* KT2440 metabolic network facilitates applications in biotechnology. *PLoS Computational Biology* **4**, e1000210.
- Fazzini, R.A., Bielecka, A., Quintas, A.K., Golyshin, P.N.\*, Preto, M.J., Timmis, K.N.\*, & dos Santos, V.A.P.M.\*. (2009) Bacterial consortium proteomics under 4-chlorosalicylate carbon-limiting conditions. *Proteomics* **9**, 2273-2285.
- Zietara, N., Lyszkiewicz, M., Gekara, N., Puchalka, V.A.P., Martins dos Santos, V.A.P.\*, Lienenklaus, S., & Weiss, S. (2009) Absence of IFN-beta impairs antigen presentation capacity of splenic dendritic cells via down-regulation of Hsp70. *Journal of Immunology* **183**, 1099-1109.
- Martins dos Santos, V.A.P.\*, Yakimov, M.M., Timmis, K.N.\*, & Golyshin, P.N.\*. (2009) Genomic insights into oil biodegradation in marine systems. In: *Microbial Biodegradation: Genomics and Molecular Biology* (Diaz, E., ed), Horizon Scientific, in press.



Das Titelbild der Zeitschrift *Cellular Microbiology*, Vol. 9, 2007, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Gekara, N.O.; Westphal, K.; Ma, B.; Rohde, M.; Groebe, L., und Weiss, S. *The multiple mechanisms of Ca<sup>2+</sup> signalling by listeriolysin O, the cholesterol-dependent cytolysin of *Listeria monocytogenes**. *Cellular Microbiology*. 2007; **9**: 2008-2021. Mit freundlicher Genehmigung des Verlags Blackwell Publishing.



Das Titelbild der Zeitschrift *Journal of Bacteriology*, Vol. 190(8), 2008, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Oberhardt, M.A.; Pucha ka, J.; Fryer, K.E.; Martins dos Santos, V.A.P., und Papin, J.A.. *Genome-scale metabolic network analysis of the opportunistic pathogen Pseudomonas aeruginosa PAO1*. *Journal of Bacteriology*. 2008; **190(8)**: 2790-2803. Mit freundlicher Genehmigung der American Society for Microbiology.

### Ehemalige AG Epigenetische Regulationsmechanismen

(bis 2009) | Prof. Dr. Jürgen Bode

- Gluch, A., Vidakovic, M., & Bode, J. (2008) Scaffold/matrix attachment regions (S/MARs): relevance for disease and therapy. *Handbook of Experimental Pharmacology* 67-103.
- Marella, N.V., Zeitz, M.J., Malyavantham, K.S., Pliss, A., Matsui, S.I., Goetze, S., Bode, J., Raska, I., & Berezney, R. (2008) Ladder-like amplification of the type I interferon gene cluster in the human osteosarcoma cell line MG63. *Chromosome Research* **16**, 1177-1192.
- Schneider, B., Nagel, S., Kaufmann, M., Winkelmann, S., Bode, J., Drexler, H.G., & MacLeod, R.A. (2008) T(3;7)(q27;q32) fuses BCL6 to a non-coding region at FRA7H near miR-29. *Leukemia* **22**, 1262-1266.
- Qiao, J., Oumard, A., Wegloehner, W., & Bode, J. (2009) Novel tag-and-exchange (RMCE) strategies generate master cell clones with predictable and stable transgene expression properties. *Journal of Molecular Biology* **390**, 579-594.
- Vidakovic, M., Gluch, A., Qiao, J., Oumard, A., Frisch, M., Poznanovic, G., & Bode, J. (2009) PARP-1 expression in the mouse is controlled by an autoregulatory loop: PARP-1 binding to an upstream S/MAR element and to a novel recognition motif in its promoter suppresses transcription. *Journal of Molecular Biology* **388**, 730-750.
- Zeitz, M.J., Marella, N.V., Malyavantham, K.S., Goetze, S., Bode, J., Raska, I., & Berezney, R. (2009) Organization of the amplified type I interferon gene cluster and associated chromosome regions in the interphase nucleus of human osteosarcoma cells. *Chromosome Research* **17**, 305-319.

### Bereich Strukturbiologie | Prof. Dr. Dirk Heinz

Abt. für Molekulare Strukturbiologie | Prof. Dr. Dirk Heinz

- Brocker, M.J., Virus, S., Ganskow, S., Heathcote, P., Heinz, D.W.\*, Schubert, W.D., Jahn, D., & Moser, J. (2008) ATP-driven reduction by dark-operative protochlorophyllide oxidoreductase from *Chlorobium tepidum* mechanistically resembles nitrogenase catalysis. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 10559-10567.

- Bublitz, M., Holland, C., Sabet, C., Reichelt, J., Cossart, P., Heinz, D.W.\*, Bierne, H., & Schubert, W.-D. (2008) Crystal structure and standardized geometric analysis of InI, a listerial virulence factor and leucine-rich repeat protein with a novel cysteine ladder. *Journal of Molecular Biology* **378**, 87-96.
- Buettner, C.R., Sorg, I., Cornelis, G.R., Heinz, D.W., & Niemann, H.H. (2008) Structure of the *Yersinia enterocolitica* type III secretion translocator chaperone SycD. *Journal of Molecular Biology* **375**, 997-1012.
- Camara, B., Marin, M., Schlomann, M., Hecht, H.-J., Junca, H., & Pieper, D.H.\*. (2008) trans-Dienelactone hydrolase from *Pseudomonas reinekei* MT1, a novel zinc-dependent hydrolase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **376**, 423-428.
- Nath, S. (2008) The new unified theory of atp synthesis/hydrolysis and muscle contraction, its manifold fundamental consequences and mechanistic implications and its applications in health and disease. *International Journal of Molecular Sciences* **9**, 1784-1840.
- Niemann, H.H., Petoukhov, M.V., Hartlein, M., Moulin, M., Gherardi, E., Timmins, P., Heinz, D.W., & Svergun, D.I. (2008) X-ray and neutron small-angle scattering analysis of the complex formed by the met receptor and the *Listeria monocytogenes* invasion protein InlB. *Journal of Molecular Biology* **377**, 489-500.
- Petkovic, H., Sandmann, A., Challis, I.R., Hecht, H.-J., Silakowski, B., Low, L., Beeston, N., Kuscer, E., Garcia-Bernardo, J., Leadlay, P.F., Kendrew, S.G., Wilkinson, B., & Müller, R. (2008) Substrate specificity of the acyl transferase domains of EpoC from the epothilone polyketide synthase. *Organic and Biomolecular Chemistry* **6**, 500-506.
- Taupp, D.E., Nimtz, M., Berger, R.G., & Zorn, H. (2008) Stress response of *Nidula niveo-tomentosa* to UV-A light. *Mycologia* **100**, 529-538.
- Vilar, M., Chou, H.T., Lührs, T., Maji, S.K., Riek-Loher, D., Verel, R., Manning, G., Stahlberg, H., & Riek, R. (2008) The fold of alpha-synuclein fibrils. *Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America* **105**, 8637-8642.
- Wendt, K.U., Weiss, M.S., Cramer, P., & Heinz, D.W.\*. (2008) Structures and diseases. *Nature Structural and Molecular Biology* **15**, 117-120.
- Bublitz, M., Nimtz, M., Polle, L., Holland, C., Heinz, D.W.\*, & Schubert, W.-D. (2009) Structural basis for autoinhibition and activation of Auto, a virulence-associated peptidoglycan hydrolase of *L. monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **71**, 1509-1522.
- Fazzini, R.A., Bielecka, A., Quintas, A.K., Golyshin, P.N.\*, Preto, M.J., Timmis, K.N.\*, & dos Santos, V.A.P.M.\*. (2009) Bacterial consortium proteomics under 4-chlorosalicylate carbon-limiting conditions. *Proteomics* **9**, 2273-2285.
- Gurramkonda, C., Adnan, A., Gabel, T., Lünsdorf, H., Ross, A., Nemani, S.K., Swaminathan, S., Khanna, N., & Rinas, U. (2009) Simple high-cell density fed-batch technique for high-level recombinant protein production with *Pichia pastoris*: Application to intracellular production of Hepatitis B surface antigen. *Microbial Cell Factories* **8**, 13.
- Hagelüken, G., Albrecht, S.C., Steinmetz, H., Jansen, R., Heinz, D.W.\*, Kalesse, M., & Schubert, W.-D. (2009) The absolute configuration of rhizopodin and its inhibition of actin polymerization by dimerization. *Angewandte Chemie International Edition* **48**, 595-598.
- Hajem, N., Weintraub, A., Nimtz, M., Romling, U., & Pahlson, C. (2009) A study of the antigenicity of *Rickettsia helvetica* proteins using two-dimensional gel electrophoresis. *APMIS* **117**, 253-262.
- Kayser, H., Mann, K., Machaidze, G., Nimtz, M., Ringler, P., Müller, S.A., & Aebi, U. (2009) Isolation, characterisation and molecular imaging of a high-molecular-weight insect biliprotein, a member of the hexameric arylphorin protein family. *Journal of Molecular Biology* **389**, 74-89.
- Krügener, S., Zelena, K., Zorn, H., Nimtz, M., & Berger, R.G. (2009) Heterologous expression of an extra-cellular lipase from the basidiomycete *Pleurotus sapidus*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **57**, 16-21.

- Langner, K.F., Jarvis, D.L., Nimtz, M., Heselhaus, J.E., McHolland, L.E., Leibold, W., & Drolet, B.S. (2009) Identification, expression and characterisation of a major salivary allergen (Cul s 1) of the biting midge *Culicoides sonorensis* relevant for summer eczema in horses. *International Journal for Parasitology* **39**, 243-250.
- Linke, D., Nimtz, M., Berger, R.G., & Zorn, H. (2009) Separation of extracellular esterases from pellet cultures of the basidiomycete *Pleurotus sapidus* by foam fractionation. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society* **86**, 437-444.
- Marelja, Z., Stocklein, W., Nimtz, M., & Leimkuhler, S. (2009) A novel role for human Nfs1 in the cytoplasm: Nfs1 acts as a sulfur donor for Mocs3, a protein involved in molybdenum cofactor biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 25185.
- Merz, J., Schembecker, G., Riemer, S., Nimtz, M., & Zorn, H. (2009) Purification and identification of a novel cutinase from *Coprinospinopsis cinerea* by adsorptive bubble separation. *Separation and Purification Technology* **69**, 57-62.
- Schliephake, H., Zghoul, N., Jäger, V., van, G.M., Zeichen, J., Gelinsky, M., & Szubtarsky, N. (2009) Bone formation in trabecular bone cell seeded scaffolds used for reconstruction of the rat mandible. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **38**, 166-172.
- Shiloach, J. & Rinas, U. (2009) Glucose and acetate metabolism in *E. coli* – System level analysis and biotechnological applications in protein producing processes. In *Systems Biology and Biotechnology of E. coli* (Lee, S.-Y., ed), pp. 377-400. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Visser, R., Arrabal, P.M., Becerra, J., Rinas, U., & Cifuentes, M. (2009) The effect of an rhBMP-2 absorbable collagen sponge-targeted system on bone formation *in vivo*. *Biomaterials* **30**, 2032-2037.
- Walther, J., Brocker, M.J., Watzlich, D., Nimtz, M., Rohde, M., Jahn, D., & Moser, J. (2009) Prochlorophyllide: a new photosensitizer for the photodynamic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Fems Microbiology Letters* **290**, 156-163.
- Wiesand, U., Sorg, I., Amstutz, M., Wagner, S., van den Heuvel, J., Lührs, T., Cornelis, G.R., & Heinz, D.W.\*. (2009) Structure of the type III secretion recognition protein YscU from *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Molecular Biology* **385**, 854-866.
- Zelena, K., Zorn, H., Nimtz, M., & Berger, R.G. (2009) Heterologous expression of the msp2 gene from *Marasmius scorodoni*. *Archives of Microbiology* **191**, 397-402.
- Denecke, J., Kranz, C., Nimtz, M., Conrath, H.S.\*., Brune, T., Heimpele, H., & Marquardt, T. (2008) Characterization of the N-glycosylation phenotype of erythrocyte membrane proteins in congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA II/HEMPAS). *Glycoconjugate Journal* **25**, 375-382.
- Ekhlesi-Hundrieser, M., Calvete, J.J., Von, R.B., Hettel, C., Nimtz, M., & Topfer-Petersen, E. (2008) Point mutations abolishing the mannose-binding capability of boar spermadhesin AQN-1. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics* **1784**, 856-862.
- Ibrahim, S.R., Ebel, R., Wray, V., Müller, W.E.\*., Edrada-Ebel, R., & Proksch, P. (2008) Diacarpoxides, norterpene cyclic peroxides from the sponge *Diacarnus megaspinothabdosus*. *Journal of Natural Products* **71**, 1358-1364.
- Ibrahim, S.R.M., Edrada-Ebel, R., Mohamed, G.A., Youssef, D.T.A., Wray, V., & Proksch, P. (2008) Callyaerin G, a new cytotoxic cyclic peptide from the marine sponge *Callyspongia aerizusa*. *ARKIVOC* **2008**, 164-171.
- Judele, R., Dix, M.J., Laschat, S., Baro, A., Nimtz, M., Menzel, D., Schoenes, J., Doll, K., Zwicknag, G., & Niemyer, M. (2008) Synthesis and magnetic properties of novel Azamacrocyclic Ln<sup>III</sup>, Cu<sup>II</sup>, Fe<sup>II</sup>, and Sr<sup>II</sup> complexes and conformational analysis of the ligands. *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie* **634**, 299-310.
- Kohler, N., Wray, V., & Winterhalter, P. (2008) Preparative isolation of procyanidins from grape seed extracts by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A* **1177**, 114-125.
- Kohler, N., Wray, V., & Winterhalter, P. (2008) New approach for the synthesis and isolation of dimeric procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 5374-5385.
- Michalski, C., Mohagheghi, H., Nimtz, M., Pasteels, J., & Ober, D. (2008) Salicyl alcohol oxidase of the chemical defense secretion of two chrysomelid leaf beetles. Molecular and functional characterization of two new members of the glucose-methanol-choline oxidoreductase gene family. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 19219-19228.
- Mort, A., Zheng, Y., Qiu, F., Nimtz, M., & Bell-Eunice, G. (2008) Structure of xylogalacturonan fragments from watermelon cell-wall pectin. Endopolygalacturonase can accommodate a xylosyl residue on the galacturonic acid just following the hydrolysis site. *Carbohydrate Research* **343**, 1212-1221.
- Nokihara, K., Nakata, Y., Yasuhara, T., & Wray, V. (2008) Structural requirements of maxadilan, a non-mammalian potent vasodilatory peptide, for interaction with the PAC.1 receptor from rat brain using a synthetic mini-library. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* **14**, 52-57.

#### AG Biophysikalische Analytik | Dr. Victor Wray

- Aly, A.H., Edrada-Ebel, R., Wray, V., Müller, W.E., Kozytka, S., Hentschel, U., Proksch, P., & Ebel, R. (2008) Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Ampelomyces* sp. isolated from the medicinal plant *Urospermum picroides*. *Phytochemistry* **69**, 1716-1725.
- Aly, A.H., Edrada-Ebel, R., Indriani, I.D., Wray, V., Müller, W.E., Totzke, F., Zirrgiebel, U., Schachtele, C., Kubbutat, M.H., Lin, W.H., Proksch, P., & Ebel, R. (2008) Cytotoxic metabolites from the fungal endophyte *Alternaria* sp. and their subsequent detection in its host plant *Polygonum senegalense*. *Journal of Natural Products* **71**, 972-980.
- Beine, R., Moraru, R., Nimtz, M., Na'amnieh, S., Pawlowski, A., Buchholz, K., & Seibel, J. (2008) Synthesis of novel fructooligosaccharides by substrate and enzyme engineering. *Journal of Biotechnology* **138**, 33-41.
- Clauss, K., Baumert, A., Nimtz, M., Milkowski, C., & Strack, D. (2008) Role of a GDGL lipase-like protein as sinapine esterase in *Brassicaceae*. *Plant Journal* **53**, 802-813.
- Dwivedi, D., Jansen, R., Molinari, G., Nimtz, M., Johri, B.N., & Wray, V. (2008) Antimycobacterial serratamolides and diacyl peptidoglycosamine derivatives from *Serratia* sp. *Journal of Natural Products* **71**, 637-641.
- Roder, R., Bruns, K., Sharma, A., Eissmann, A., Hahn, F., Studtucker, N., Fossen, T., Wray, V., Henklein, P., & Schubert, U. (2008) Synthesis of full length PB1-F2 influenza A virus proteins from 'Spanish flu' and 'bird flu'. *Journal of Peptide Science* **14**, 954-962.
- Scheibner, M., Hulsda, B., Zelena, K., Nimtz, M., de Boer, L., Berger, R.G., & Zorn, H. (2008) Novel peroxidases of *Marasmius scorodoni* degrade beta-carotene. *Applied Microbiology and Biotechnology* **77**, 1241-1250.
- Schliemann, W., Kolbe, B., Schmidt, J., Nimtz, M., & Wray, V. (2008) Accumulation of apocarotenoids in mycorrhizal roots of leek (*Allium porrum*). *Phytochemistry* **69**, 1680-1688.
- Schmitz, J., Chowdhury, M.M., Hanzelmann, P., Nimtz, M., Lee, E.Y., Schindelin, H., & Leimkuhler, S. (2008) The sulfurtransferase activity of Uba4 presents a link between ubiquitin-like protein conjugation and activation of sulfur carrier proteins. *Biochemistry* **47**, 6479-6489.
- Schultheis, E., Dreger, M.A., Nimtz, M., Wray, V., Hempel, D.C., & Nortemann, B. (2008) Structural characterization of the exopolysaccharide PS-EDIV from *Sphingomonas pituitosa* strain DSM 13101. *Applied Microbiology and Biotechnology* **78**, 1017-1024.
- Bimczok, D., Wrenger, J., Schirrmann, T., Rothkotter, H.J., Wray, V., & Rau, U. (2009) Short chain regioselectively hydrolyzed scleroglucans induce maturation of porcine dendritic cells. *Applied Microbiology and Biotechnology* **82**, 321-331.

- de Beer,D., Jerz,G., Joubert,E., Wray,V., & Winterhalter,P. (2009) Isolation of isomangiferin from honeybush (*Cyclopia subternata*) using high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **1216**, 4282-4289.
- Bublitz,M., Nimtz,M., Polle,L., Holland,C., Heinz,D.W.\*., & Schubert,W.-D. (2009) Structural basis for autoinhibition and activation of Auto, a virulence-associated peptidoglycan hydrolase of *L. monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **71**, 1509-1522.
- Choudhary,D.K., Prakash,A., Wray,V., & Johri,B.N. (2009) Insights of the fluorescent pseudomonads in plant growth regulation. *Current Science* **97**, 170-179.
- Debbab,A., Aly,A.H., Edrada-Ebel,R., Wray,V., Müller,W.E., Totzke,F., Zirrgiebel,U., Schachtele,C., Kubbutat,M.H., Lin,W.H., Mosaddak,M., Hakiki,A., Proksch,P., & Ebel,R. (2009) Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Stemphylium globuliferum* isolated from *Mentha pulegium*. *Journal of Natural Products* **72**, 626-631.
- Ebada,S.S., Wray,V., de Voogd,N.J., Deng,Z., Lin,W., & Proksch,P. (2009) Two new jaspamide derivatives from the marine sponge *Jaspis splendens*. *Marine Drugs* **7**, 434-444.
- Hajem,N., Weintraub,A., Nimtz,M., Romling,U., & Pahlson,C. (2009) A study of the antigenicity of *Rickettsia helvetica* proteins using two-dimensional gel electrophoresis. *APMIS* **117**, 253-262.
- Kaysner,H., Mann,K., Machaidze,G., Nimtz,M., Ringler,P., Müller,S.A., & Aebi,U. (2009) Isolation, characterisation and molecular imaging of a high-molecular-weight insect biliprotein, a member of the hexameric arylphorin protein family. *Journal of Molecular Biology* **389**, 74-89.
- Klein,S., Lorenzo,C., Hoffmann,S., Walther,J.M., Storbeck,S., Piekarski,T., Tindall,B.J., Wray,V., Nimtz,M., & Moser,J. (2009) Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to various conditions includes tRNA-dependent formation of alanyl-phosphatidylglycerol. *Molecular Microbiology* **71**, 551-565.
- Krügener,S., Zelena,K., Zorn,H., Nimtz,M., & Berger,R.G. (2009) Heterologous expression of an extra-cellular lipase from the basidiomycete *Pleurotus sapidus*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **57**, 16-21
- Langner,K.F., Jarvis,D.L., Nimtz,M., Heselhaus,J.E., McHolland,L.E., Leibold,W., & Drolet,B.S. (2009) Identification, expression and characterisation of a major salivary allergen (Cul s 1) of the biting midge *Culicoides sonorensis* relevant for summer eczema in horses. *International Journal for Parasitology* **39**, 243-250.
- Linke,D., Nimtz,M., Berger,R.G., & Zorn,H. (2009) Separation of extracellular esterases from pellet cultures of the basidiomycete *Pleurotus sapidus* by foam fractionation. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **86**, 437-444.
- Liu,H., Edrada-Ebel,R., Ebel,R., Wang,Y., Schulz,B., Draeger,S., Müller,W.E., Wray,V., Lin,W., & Proksch,P. (2009) Drimane sesquiterpenoids from the fungus *Aspergillus ustus* isolated from the marine sponge *Suberites domuncula*. *Journal of Natural Products* **72**, 1585-1588.
- Marelja,Z., Stocklein,W., Nimtz,M., & Leimkuhler,S. (2009) A novel role for human Nfs1 in the cytoplasm: Nfs1 acts as a sulfur donor for Mocs3, a protein involved in molybdenum cofactor biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 25185.
- Rau,U., Kuenz,A., Wray,V., Nimtz,M., Wrenger,J., & Cicek,H. (2009) Production and structural analysis of the polysaccharide secreted by *Trametes (Coriolus) versicolor* ATCC 200801. *Applied Microbiology and Biotechnology* **81**, 827-837.
- Walther,J., Brocker,M.J., Watzlich,D., Nimtz,M., Rohde,M., Jahn,D., & Moser,J. (2009) Protochlorophyllide: a new photosensitizer for the photodynamic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Letters* **290**, 156-163.
- Wang,Y., Edrada-Ebel,R., Tsevegsuren,N., Sendker,J., Braun,M., Wray,V., Lin,W., & Proksch,P. (2009) Dihydrostilbene derivatives from the Mongolian medicinal plant *Scorzonera radiata*. *Journal of Natural Products* **72**, 671-675.
- Wei,M.-X., Naruse,S., Ozaki,T., Hu,P., Wray,V., & Nokihara,K. (2009) Differences in action of PACAP-27 and PACAP-38 on Guinea Pig Gallbladder Smooth Muscle using synthetic C-terminally modified PACAP peptides. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* **15**, 227-232.
- Xu,J., Kjer,J., Sendker,J., Wray,V., Guan,H., Edrada,R., Lin,W., Wu,J., & Proksch,P. (2009) Chromones from the endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. isolated from the chinese mangrove plant *Rhizophora mucronata*. *Journal of Natural Products* **72**, 662-665.
- Zainuddin,E.N., Jansen,R., Nimtz,M., Wray,V., Preisitsch,M., Lalk,M., & Mundt,S. (2009) Lyngbyazothrins A-D, antimicrobial cyclic undecapeptides from the cultured *Cyanobacterium lyngbya* sp. *Journal of Natural Products* **72**, 1373-1378.
- Zelena,K., Zorn,H., Nimtz,M., & Berger,R.G. (2009) Heterologous expression of the msp2 gene from *Marasmius scorodonius*. *Archives of Microbiology* **191**, 397-402.
- Dwivedi,D., Johri,B.N., Ineichen,K., Wray,V., & Wiemken,A. (2009) Impact of antifungals producing rhizobacteria on the performance of *Vigna radiata* in the presence of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, in press.

## AG Molekulare Wirt-Pathogen-Interaktionen |

### Prof. Dr. Wolf-Dieter Schubert

- Brocker,M.J., Virus,S., Ganskow,S., Heathcote,P., Heinz,D.W.\*., Schubert,W.D., Jahn,D., & Moser,J. (2008) ATP-driven reduction by dark-operative protochlorophyllide oxidoreductase from *Chlorobium tepidum* mechanistically resembles nitrogenase catalysis. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 10559-10567.
- Bublitz,M., Holland,C., Sabet,C., Reichelt,J., Cossart,P., Heinz,D.W.\*., Bierne,H., & Schubert,W.-D. (2008) Crystal structure and standardized geometric analysis of InI, a listerial virulence factor and leucine-rich repeat protein with a novel cysteine ladder. *Journal of Molecular Biology* **378**, 87-96.
- Jansen,R., Steinmetz,H., Sasse,F., Schubert,W.-D., Hagelüken,G., Albrecht,S.C., & Müller,R. (2008) Isolation and structure revision of the actin-binding macrolide rhizopodin from *Myxococcus stipitatus* (Myxobacteria). *Tetrahedron Letters* **49**, 5796-5799.
- Bublitz,M., Nimtz,M., Polle,L., Holland,C., Heinz,D.W.\*., & Schubert,W.-D. (2009) Structural basis for autoinhibition and activation of Auto, a virulence-associated peptidoglycan hydrolase of *L. monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **71**, 1509-1522.
- Hagelüken,G., Albrecht,S.C., Steinmetz,H., Jansen,R., Heinz,D.W.\*., Kalesse,M., & Schubert,W.-D. (2009) The absolute configuration of rhizopodin and its inhibition of actin polymerization by dimerization. *Angewandte Chemie International Edition* **48**, 595-598.
- Schubert,W.-D. (2009) Structure and enzyme mechanisms in aerobic bacterial degradation of alkanes, aromatics, lipids and oils. In: *Handbook of Hydrocarbon Microbiology* (Timmis,K.N., de Lorenzo,V., McGenity,T., & van der Merr,J.R., eds), Springer, Heidelberg, in press.

## NG Strukturbasierte Infektionsbiologie |

### Dr. Torsten Lührs

- Vilar,M., Chou,H.T., Lührs,T., Maji,S.K., Riek-Loher,D., Verel,R., Manning,G., Stahlberg,H., & Riek,R. (2008) The fold of alpha-synuclein fibrils. *Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America* **105**, 8637-8642.
- Wiesand,U., Sorg,I., Amstutz,M., Wagner,S., van den Heuvel,J., Lührs,T., Cornelis,G.R., & Heinz,D.W.\*. (2009) Structure of the type III secretion recognition protein YscU from *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Molecular Biology* **385**, 854-866.

## AG Rekombinante Proteinexpression |

## Dr. Joop van den Heuvel

- Ganzlin, M. & Rinas, U. (2008) In-depth analysis of the *Aspergillus niger* glucoamylase (glaA) promoter performance using high-throughput screening and controlled bioreactor cultivation techniques. *Journal of Biotechnology* **135**, 266-271.
- Gasser, B., Saloheimo, M., Rinas, U., Dragosits, M., Rodriguez-Carmona, E., Baumann, K., Giuliani, M., Parrilli, E., Branduardi, P., Lang, C., Porro, D., Ferrer, P., Tutino, M., Mattanovich, D., & Villaverde, A. (2008) Conformational stress in microbial cells producing recombinant proteins: A host comparative overview. *Microbial Cell Factories* **7**, 11.
- Manjasetty, B.A., Turnbull, A.P., Panjekar, S., Bussow, K., & Chance, M.R. (2008) Automated technologies and novel techniques to accelerate protein crystallography for structural genomics. *Proteomics* **8**, 612-625.
- Schulze, J.O., Quedenau, C., Roske, Y., Adam, T., Schuler, H., Behlke, J., Turnbull, A.P., Sievert, V., Scheich, C., Mueller, U., Heinemann, U., & Büsow, K. (2008) Structural and functional characterization of human Iba proteins. *FEBS Journal* **275**, 4627-4640.
- Sievert, V., Ergin, A., & Büsow, K. (2008) High throughput cloning with restriction enzymes. *Methods in Molecular Biology* **426**, 163-173.
- Gurramkonda, C., Adnan, A., Gabel, T., Lünsdorf, H., Ross, A., Nemani, S.K., Swaminathan, S., Khanna, N., & Rinas, U. (2009) Simple high-cell density fed-batch technique for high-level recombinant protein production with *Pichia pastoris*: Application to intracellular production of Hepatitis B surface antigen. *Microbial Cell Factories* **8**, 13.
- Schliephake, H., Zghoul, N., Jäger, V., van Griensven, M., Zeichen, J., Gelinsky, M., & Szubtarsky, N. (2009) Bone formation in trabecular bone cell seeded scaffolds used for reconstruction of the rat mandible. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **38**, 166-172.
- Schliephake, H., Zghoul, N., Jäger, V., van Griensven, M., Zeichen, J., Gelinsky, M., & Wulffing, T. (2009) Effect of seeding technique and scaffold material on bone formation in tissue-engineered constructs. *Journal of Biomedical Materials Research A* **90**, 429-437.
- Shiloach, J. & Rinas, U. (2009) Glucose and acetate metabolism in *E. coli* – System level analysis and biotechnological applications in protein producing processes. In: *Systems Biology and Biotechnology of E. coli* (Lee, S.-Y., ed), pp. 377-400. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Visser, R., Arrabal, P.M., Becerra, J., Rinas, U., & Cifuentes, M. (2009) The effect of an rhBMP-2 absorbable collagen sponge-targeted system on bone formation *in vivo*. *Biomaterials* **30**, 2032-2037.
- Wiesand, U., Sorg, J., Amstutz, M., Wagner, S., van den Heuvel, J., Lührs, T., Cornelis, G.R., & Heinz, D.W.\*. (2009) Structure of the type III secretion recognition protein YscU from *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Molecular Biology* **385**, 854-866.
- Shiloach, J. & Rinas, U. (2009) Bacterial cultivation for producing of proteins and other biological products. In: *Manual of industrial microbiology and biotechnology* (Demain, A.L., ed), American Society for Microbiology (ASM), Washington DC, in press.
- Gerlach, R.G., Claudio, N., Rohde, M., Jackel, D., Wagner, C., & Hensel, M. (2008) Cooperation of Salmonella pathogenicity islands 1 and 4 is required to breach epithelial barriers. *Cellular Microbiology* **10**, 2364-2376.
- Gillen, C.M., Courtney, H.S., Schulze, K., Rohde, M., Wilson, M.R., Timmer, A.M., Guzmán, C.A.\*., Nizet, V., Chhatwal, G.S.\*., & Walker, M.J. (2008) Opacity factor activity and epithelial cell binding by the serum opacity factor protein of *Streptococcus pyogenes* are functionally discrete. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 6359-6366.
- Heroven, A.K., Bohme, K., Rohde, M., & Dersch, P. (2008) A Csr-type regulatory system, including small non-coding RNAs, regulates the global virulence regulator RovA of *Yersinia pseudotuberculosis* through RovM. *Molecular Microbiology* **68**, 1179-1195.
- Hussain, M., Haggar, A., Peters, G., Chhatwal, G.S.\*., Herrmann, M., Flock, J.I., & Sinha, B. (2008) More than one tandem repeat domain of the extracellular adherence protein of *Staphylococcus aureus* is required for aggregation, adherence, and host cell invasion but not for leukocyte activation. *Infection and Immunity* **76**, 5615-5623.
- Luther, K., Rohde, M., Sturm, K., Kotz, A., Heesemann, J., & Ebel, F. (2008) Characterisation of the phagocytic uptake of *Aspergillus fumigatus* conidia by macrophages. *Microbes and Infection* **10**, 175-184.
- Masoumi, A., Heinemann, I.U., Rohde, M., Koch, M., Jahn, M., & Jahn, D. (2008) Complex formation between protoporphyrinogen IX oxidase and ferrochelatase during haem biosynthesis in *Thermosynechococcus elongatus*. *Microbiology* **154**, 3707-3714.
- Sanderson-Smith, M.L., Dinkla, K., Cole, J.N., Cork, A.J., Maamary, P.G., McArthur, J.D., Chhatwal, G.S.\*., & Walker, M.J. (2008) M protein-mediated plasminogen binding is essential for the virulence of an invasive *Streptococcus pyogenes* isolate. *FASEB Journal* **22**, 2715-2722.
- Schmalhorst, P.S., Krappmann, S., Vervecken, W., Rohde, M., Müller, M., Braus, G.H., Contreras, R., Braun, A., Bakker, H., & Routier, F.H. (2008) Contribution of galactofuranose to the virulence of the opportunistic pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Eukaryotic Cell* **7**, 1268-1277.
- Von Kockritz-Blickwede, M., Rohde, M., Oehmcke, S., Miller, L.S., Cheung, A.L., Herwald, H., Foster, S., & Medina, E. (2008) Immunological mechanisms underlying the genetic predisposition to severe *Staphylococcus aureus* infection in the mouse model. *American Journal of Pathology* **173**, 1657-1668.
- Von Kockritz-Blickwede, M., Goldmann, O., Thulin, P., Heinemann, K., Norrby-Teglund, A., Rohde, M., & Medina, E. (2008) Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood* doi: 10.1182/blood-2007-07-104018.
- Wagener, J., Echtenacher, B., Rohde, M., Kotz, A., Krappmann, S., Heesemann, J., & Ebel, F. (2008) The putative alpha-1,2-mannosyltransferase AfMnt1 of the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* is required for cell wall stability and full virulence. *Eukaryotic Cell* **7**, 1661-1673.
- Wagner, I.D., Zhao, W., Zhang, C.L., Romanek, C.S., Rohde, M., & Wiegel, J. (2008) *Thermoanaerobacter uzonensis* sp. nov., an anaerobic thermophilic bacterium isolated from a hot spring within the Uzon Caldera, Kamchatka, Far East Russia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **58**, 2565-2573.
- Bergmann, S., Lang, A., Rohde, M., Agarwal, V., Rennemeier, C., Grashoff, C., Preissner, K.T., & Hammerschmidt, S. (2009) Integrin-linked kinase is required for vitronectin-mediated internalization of *Streptococcus pneumoniae* by host cells. *Journal of Cell Science* **122**, 256-267.
- Brandt, S., Kenny, B., Rohde, M., Martinez-Quiles, N., & Backert, S. (2009) Dual infection system identifies a crucial role for PKA-mediated serine phosphorylation of the EPEC-Tir-injected effector protein in regulating Rac1 function. *Cellular Microbiology* **11**, 1254-1271.
- Barroso, V., Rohde, M., Dinkla, K., & Chhatwal, G.S.\*. (2008) Evaluation of the potential of animal streptococcal isolates belonging to serogroups C and G to elicit acute rheumatic fever. *American Journal of Veterinary Research* **69**, 1183-1187.
- Chhatwal, G.S.\*. & Graham, R. (2008) Streptococcal diseases. In: *Encyclopedia of Public Health 2008* pp. 231-241. Academic Press, San Diego.

## Abt. für Mikrobielle Pathogenität |

## Prof. Dr. G. Singh Chhatwal

- Dinkla,K., Talay,S.R., Morgelin,M., Graham,R.M., Rohde,M., Nitsche-Schmitz,D.P., & Chhatwal,G.S.\*. (2009) Crucial role of the CB3-region of collagen IV in PARF-induced acute rheumatic fever. *PLoS ONE* **4**, e4666.
- Goldmann,O., Sastalla,I., Wos-Oxley,M., Rohde,M., & Medina,E. (2009) *Streptococcus pyogenes* induces oncosis in macrophages through the activation of an inflammatory programmed cell death pathway. *Cellular Microbiology* **11**, 138-155.
- Goldmann,O., Rohde,M., & Medina,E. (2009) Infection biology: *Streptococcus pyogenes* - Lethal for macrophages. *Biospektrum* **15**, 380-182.
- Nerlich,A., Rohde,M., Talay,S.R., Genth,H., Just,I., & Chhatwal,G.S.\*. (2009) Invasion of endothelial cells by tissue-invasive M3 type group A streptococci requires Src kinase and activation of Rac1 by a phosphatidylinositol 3-kinase-independent mechanism. *Journal of Biological Chemistry* **284**, 20319-20328.
- Njau,F., Wittkop,U., Rohde,M., Haller,H., Klos,A., & Wagner,A.D. (2009) *In vitro* neutralization of tumor necrosis factor-alpha during *Chlamydia pneumoniae* infection impairs dendritic cells maturation/function and increases chlamydial progeny. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **55**, 215-225.
- Towers,R.J., Bolm,M., Currie,B.J., Chhatwal,G.S.\*., & Fagan,P.K. (2009) Autoantigens identified by screening a human heart cDNA library with acute rheumatic fever sera. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1173**, 83-91.
- Walther,J., Brocker,M.J., Watzlich,D., Nimtz,M., Rohde,M., Jahn,D., & Moser,J. (2009) Protochlorophyllide: a new photosensitizer for the photodynamic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Letters* **290**, 156-163.
- Barroso,V., Rohde,M., Davies,M.R., Gillen,C.M., Nitsche-Schmitz,D.P., Dinkla,K., & Chhatwal,G.S.\*. (2009) Identification of active variants of PARF in human pathogenic group C and group G streptococci leads to an amended description of its consensus motif. *International Journal of Medical Microbiology*, in press.



Das Titelbild der Zeitschrift *The Journal of Infectious Diseases*, Vol. 196(12), 2007, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Loof, T.G., Rohde, M.; Chhatwal, G.S.; Jung, S., und Medina, E. *The Contribution of Dendritic Cells to Host Defenses against Streptococcus pyogenes*. *The Journal of Infectious Diseases*. 2007; **196(12)**: 1794-1803. Mit freundlicher Genehmigung des Verlags University Chicago Press / Copyright-Hinweis: 2007 von E.Medina

#### AG Infektionsimmunologie | Priv.-Doz. Dr. Eva Medina

- Loof,T.G., Goldmann,O., & Medina,E. (2008) Immune recognition of *Streptococcus pyogenes* by dendritic cells. *Infection and Immunity* **76**, 2785-2792.
- Schulze,K., Goldmann,O., Medina,E., & Guzmán,C.A.\*. (2008) The FAI protein of group C streptococci acts as a mucosal adjuvant by the specific targeting and activation of B cells. *International Journal of Medical Microbiology* **298**, 3-10.
- Von Kockritz-Blickwede,M., Rohde,M., Oehmcke,S., Miller,L.S., Cheung,A.L., Herwald,H., Foster,S., & Medina,E. (2008) Immunological mechanisms underlying the genetic predisposition to severe *Staphylococcus aureus* infection in the mouse model. *American Journal of Pathology* **173**, 1657-1668.
- Von Köckritz-Blickwede,M., Goldmann,O., Thulin,P., Heinemann,K., Norrby-Teglund,A., Rohde,M., & Medina,E. (2008) Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood* doi: 10.1182/blood-2007-07-104018.
- Goldmann,O., Sastalla,I., Wos-Oxley,M., Rohde,M., & Medina,E. (2009) *Streptococcus pyogenes* induces oncosis in macrophages through the activation of an inflammatory programmed cell death pathway. *Cellular Microbiology* **11**, 138-155.
- Medina,E. (2009) Beyond the NETs. *Journal of Innate Immunity* **1**, 175.
- Medina,E. (2009) Neutrophil Extracellular Traps: a strategic tactic to defeat pathogens with potential consequences for the host. *Journal of Innate Immunity* **1**, 176-180.
- Medina,E. (2009) Novel experimental models for dissecting genetic susceptibility of superantigen-mediated diseases. In: Superantigens: Molecular Basis for Their Role in Human Disease (Kotb,M. & Frase,J.D., eds), ASM Press, Washington, D.C., in press.
- Oehmcke,S., Shannon,O., von Kockritz-Blickwede,M., Morgelin,M., Linder,A., Olin,A.I., Björck,L., & Herwald,H. (2009) Treatment of invasive streptococcal infection with a peptide derived from human high molecular weight kininogen. *Blood*, in press.



Das Titelbild der Zeitschrift *Blood*, Vol. 111(6), 2008, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Köckritz-Blickwede, M.; Goldmann, O.; Thulin, P.; Heinemann, K.; Norrby-Teglund, A.; Rohde, M. und Medina, E. "Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation". *Blood*. 2008; **111(6)**: 3070-3080. Mit freundlicher Genehmigung der American Society of Hematology.

## AG Biodegradation | Priv.-Doz. Dr. Dietmar Pieper

- Aly, H.A., Huu, N.B., Wray, V., Junca, H., & Pieper, D.H.\*. (2008) Two angular dioxygenases contribute to the metabolic versatility of dibenzofuran-degrading *Rhodococcus* sp. strain HA01. *Applied and Environmental Microbiology* **74**, 3812-3822.
- Camara, B., Marin, M., Schlomann, M., Hecht, H.-J., Junca, H., & Pieper, D.H.\*. (2008) trans-Dienelactone hydrolase from *Pseudomonas reinekei* MT1, a novel zinc-dependent hydrolase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **376**, 423-428.
- Gross, R., Guzmán, C.A.\*., Sebahia, M., dos Santos, V.A.P.M.\*., Pieper, D.H.\*., Koebnik, R., Lechner, M., Bartels, D., Buhrmester, J., Choudhuri, J.V., Ebensen, T., Gaigalat, L., Herrmann, S., Khachane, A.N., Larisch, C., Link, S., Linke, B., Meyer, F., Mormann, S., Nakunst, D., Ruckert, C., Schneiker-Bekel, S., Schulze, K., Vorholter, F.J., Yevsa, T., Engle, J.T., Goldman, W.E., Puhler, A., Gobel, U.B., Goesmann, A., Blöcker, H., Kaiser, O., & Martinez-Arias, R. (2008) The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic Bordetellae. *BMC GENOMICS* **9**, 449.
- Perez-Pantoja, D., De, J., I, Pieper, D.H.\*., & Gonzalez, B. (2008) Metabolic reconstruction of aromatic compounds degradation from the genome of the amazing pollutant-degrading bacterium *Cupriavidus necator* JMP134. *FEMS Microbiology Reviews* **32**, 736-794.
- Pieper, D.H.\*. & Seeger, M. (2008) Bacterial metabolism of polychlorinated biphenyls. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* **15**, 121-138.
- Weelink, S.A., Tan, N.C., ten, B.H., van den, K.C., van, D.W., Langenhoff, A.A., Gerritse, J., Junca, H., & Stams, A.J. (2008) Isolation and characterization of *Alicyclophilus denitrificans* strain BC, which grows on benzene with chlorate as the electron acceptor. *Applied and Environmental Microbiology* **74**, 6672-6681.
- Brennerova, M.V., Josefiova, J., Brenner, V., Pieper, D.H.\*., & Junca, H. (2009) Metagenomics reveals diversity and abundance of meta-cleavage pathways in microbial communities from soil highly contaminated with jet fuel under air sparging bioremediation. *Environmental Microbiology* doi: 10.1111/J.1462-2920.2009.01943x.
- Camara, B., Nikodem, P., Bielecki, P., Bobadilla, R., Junca, H., & Pieper, D.H.\*. (2009) Characterization of a gene cluster involved in 4-chlorocatechol degradation by *Pseudomonas reinekei* MT1. *Journal of Bacteriology* **191**, 4905-4915.
- Kabelitz, N., Machackova, J., Imfeld, G., Brennerova, M., Pieper, D.H.\*., Heipieper, H.J., & Junca, H. (2009) Enhancement of the microbial community biomass and diversity during air sparging bioremediation of a soil highly contaminated with kerosene and BTEX. *Applied Microbiology and Biotechnology* **82**, 565-577.
- Mehboob, F., Junca, H., Schraa, G., & Stams, A.J. (2009) Growth of *Pseudomonas chloritidismutans* AW-1(T) on n-alkanes with chlorate as electron acceptor. *Applied Microbiology and Biotechnology* **83**, 739-747.
- Scheithauer, B.K., Wos-Oxley, M.L., Ferslev, B., Jablonowski, H., & Pieper, D.H.\*. (2009) Characterization of the complex bacterial communities colonizing biliary stents reveals a host-dependent diversity. *ISME Journal* **3**, 797-807.
- Wos, M.L.\*. & Pollard, P.C. (2009) Cellular nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) as an indicator of bacterial metabolic activity dynamics in activated sludge. *Water Science and Technology* **60**, 783-791.
- Junca, H. & Pieper, D.H.\*. (2009) Functional marker gene assays for hydrocarbon degrading microbial communities - aerobic. In Handbook of Hydrocarbon Microbiology (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.
- Palleroni, N., Pieper, D.H.\*., & Moore, E.R.B. (2009) Microbiology of hydrocarbon-degrading *Pseudomonas*. In: Handbook of Hydrocarbon Microbiology (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.
- Perez-Pantoja, D., Gonzalez, B., & Pieper, D.H.\*. (2009) Aerobic degradation of aromatic hydrocarbons. In: Handbook of Hydrocarbon Microbiology (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.
- Pieper, D.H.\*., Gonzalez, B., Camara, B., Perez-Pantoja, D., & Reineke, W. (2009) Aerobic degradation of chloroaromatics. In: Handbook of Hydrocarbon Microbiology (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.
- Seeger, M. & Pieper, D.H.\*. (2009) Genetics of biphenyl biodegradation and co-metabolism of PCBs. In: Handbook of Hydrocarbon Microbiology (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.

## Abt. für Vakzinologie und Angewandte Mikrobiologie |

## Prof. Dr. Dr. Carlos Guzmán

- Becker, P.D., Nörder, M., & Guzmán, C.A.\*. (2008) Genetic immunization: Bacteria as DNA vaccine delivery vehicles. *Human Vaccines* **4**, 189-202.
- Brettar, I. & Höfle, M.G.\*. (2008) Molecular assessment of bacterial pathogens-a contribution to drinking water safety. *Current Opinion in Biotechnology* **19**, 274-280.
- Cataldi, A., Yevsa, T., Vilte, D.A., Schulze, K., Castro-Parodi, M., Larzabal, M., Ibarra, C., Mercado, E.C., & Guzmán, C.A.\*. (2008) Efficient immune responses against Intimin and EspB of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* after intranasal vaccination using the TLR2/6 agonist MALP-2 as adjuvant. *Vaccine* **26**, 5662-5667.
- Cazorla, S.I., Becker, P.D., Frank, F.M., Ebensen, T., Sartori, M.J., Corral, R.S., Malchiodi, E.L., & Guzmán, C.A.\*. (2008) Oral vaccination with *Salmonella enterica* as a cruzipain-DNA delivery system confers protective immunity against *Trypanosoma cruzi*. *Infection and Immunity* **76**, 324-333.
- Cazorla, S.I., Frank, F.M., Becker, P.D., Corral, R.S., Guzmán, C.A.\*., & Malchiodi, E.L. (2008) Prime-boost immunization with cruzipain co-administered with MALP-2 triggers a protective immune response able to decrease parasite burden and tissue injury an experimental *Trypanosoma cruzi* infection model. *Vaccine* **26**, 1999-2009.
- Ebensen, T. & Guzmán, C.A.\*. (2008) Immune modulators with defined molecular targets: cornerstone to optimize rational vaccine design. *Human Vaccines* **4**, 13-22.
- Fiorentini, S., Marsico, S., Becker, P.D., Iaria, M.L., Bruno, R., Guzmán, C.A.\*., & Caruso, A. (2008) Synthetic peptide AT20 coupled to KLH elicits antibodies against a conserved conformational epitope from a major functional area of the HIV-1 matrix protein p17. *Vaccine* **26**, 4758-4765.
- Fiorentini, S., Riboldi, E., Facchetti, F., Avolio, M., Fabbri, M., Tosti, G., Becker, P.D., Guzmán, C.A.\*., Sozzani, S., & Caruso, A. (2008) HIV-1 matrix protein p17 induces human plasmacytoid dendritic cells to acquire a migratory immature cell phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 3867-3872.
- Gillen, C.M., Courtney, H.S., Schulze, K., Rohde, M., Wilson, M.R., Timmer, A.M., Guzmán, C.A.\*., Nizet, V., Chhatwal, G.S.\*., & Walker, M.J. (2008) Opacity factor activity and epithelial cell binding by the serum opacity factor protein of *Streptococcus pyogenes* are functionally discrete. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 6359-6366.
- Gobert, A.P., Coste, A., Guzmán, C.A.\*., Hindré, T., Girardeau, P., & Martin, C. (2008) Modulation of chemokine gene expression by Shiga-toxin producing *Escherichia coli* belonging to various origin and serotypes. *Microbes and Infection* **10**, 159-165.
- Gross, R., Guzmán, C.A.\*., Sebahia, M., dos Santos, V.A.P.M.\*., Pieper, D.H.\*., Koebnik, R., Lechner, M., Bartels, D., Buhrmester, J., Choudhuri, J.V., Ebensen, T., Gaigalat, L., Herrmann, S., Khachane, A.N., Larisch, C., Link, S., Linke, B., Meyer, F., Mormann, S., Nakunst, D., Ruckert, C., Schneiker-Bekel, S., Schulze, K., Vorholter, F.J., Yevsa, T., Engle, J.T., Goldman, W.E., Puhler, A., Gobel, U.B., Goesmann, A., Blöcker, H., Kaiser, O., & Martinez-Arias, R. (2008) The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic Bordetellae. *BMC GENOMICS* **9**, 449.

- Hegermann, J., Lünsdorf, H., Overbeck, J., & Schrempf, H. (2008) Polyphosphate at the *Streptomyces lividans* cytoplasmic membrane is enhanced in the presence of the potassium channel KcsA. *Journal of Microscopy* **229**, 174-182.
- Höfle, M.G.\*, Kirchner, D.L., Christen, R., & Brettar, I. (2008) Molecular diversity of bacterioplankton: Link to a predictive biogeochemistry of pelagic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology* **53**, 39-58.
- Jordao, L., Lengeling, A., Bordat, Y., Boudou, F., Gicquel, B., Neyrolles, O., Becker, P.D., Guzmán, C.A.\*, Griffiths, G., & Anes, E. (2008) Effects of omega-3 and -6 fatty acids on *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and in mice. *Microbes and Infection* **10**, 1379-1386.
- Marini, E., Tiberio, L., Fiorentini, S., Caracciolo, S., Tosti, G., Guzmán, C.A.\*, Schiaffonati, L., Fiorentini, S., & Caruso, A. (2008) HIV-1 matrix protein p17 binds to monocytes and selectively stimulates MCP-1 secretion: role of the transcriptional factor AP-1. *Cellular Microbiology* **10**(3), 655-666.
- Mastini, C., Becker, P.D., Iezzi, M., Curcio, C., Musiani, P., Forni, G., Cavallo, F., & Guzmán, C.A.\* (2008) Intramammary application of non-methylated-CpG oligodeoxynucleotides (CpG) inhibits both local and systemic mammary carcinogenesis in female BALB/c Her-2/neu transgenic mice. *Current Cancer Drug Targets* **8**, 230-242.
- Schulze, K., Goldmann, O., Medina, E., & Guzmán, C.A.\* (2008) The FAI protein of group C streptococci acts as a mucosal adjuvant by the specific targeting and activation of B cells. *International Journal of Medical Microbiology* **298**, 3-10.
- Schulze, K., Staib, C., Schatzl, H.M., Ebensen, T., Erfle, V., & Guzmán, C.A.\* (2008) A prime-boost vaccination protocol optimizes immune responses against the nucleocapsid protein of the SARS coronavirus. *Vaccine* **26**, 6678-6684.
- Standar, K., Mehner, D., Osadnik, H., Berthelmann, F., Hause, G., Lünsdorf, H., & Bruser, T. (2008) PspA can form large scaffolds in *Escherichia coli*. *FEBS Letters* **582**, 3585-3589.
- Vezzulli, L., Guzmán, C.A.\*, Colwell, R.R., & Pruzzo, C. (2008) Dual role colonization factors connecting *Vibrio cholerae*'s lifestyles in human and aquatic environments open new perspectives for combating infectious diseases. *Current Opinion in Biotechnology* **19**, 254-259.
- Bosch, V., Pfeiffer, T., Devitt, G., Allespach, J., Ebensen, T., Emerson, V., Guzmán, C.A., & Keppler, O.T. (2009) HIV pseudovirion vaccine exposing Env "fusion intermediates"-Response to immunisation in human CD4/CCR5-transgenic rats. *Vaccine* **27**, 2202-2212.
- Giagulli, C., Noerder, M., Avolio, M., Becker, P.D., Fiorentini, S., Guzmán, C.A.\*, & Caruso, A. (2009) Pidotimod promotes functional maturation of dendritic cells and displays adjuvant properties at the nasal mucosa level. *International Immunopharmacology* **9**, 1366-1373.
- Gismondi, M.I., Becker, P.D., Carrasco, J.M., Guzmán, C.A.\*, Campos, R.H., & Preciado, M.V. (2009) Evolution of hepatitis C virus hypervariable region 1 in immunocompetent children born to HCV-infected mothers. *Journal of Viral Hepatitis* **16**, 332-339.
- Gurramkonda, C., Adnan, A., Gabel, T., Lünsdorf, H., Ross, A., Nemani, S.K., Swaminathan, S., Khanna, N., & Rinas, U. (2009) Simple high-cell density fed-batch technique for high-level recombinant protein production with *Pichia pastoris*: Application to intracellular production of Hepatitis B surface antigen. *Microbial Cell Factories* **8**, 13.
- Harth-Chu, E., Espejo, R.T., Christen, R., Guzmán, C.A.\*, & Höfle, M.G.\* (2009) Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for clonal identification of *Vibrio parahaemolyticus* isolates by using capillary electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology* **75**, 4079-4088.
- Henne, K., Kahlisch, L., Draheim, J., Brettar, I., & Höfle, M. (2009) Polyvalent fingerprint based molecular surveillance methods for drinking water supply systems. *Water Science and Technology: Water Supply* **8**, 527-532.
- Legrand, N., Ploss, A., Balling, R., Becker, P.D., Borsotti, C., Brezillon, N., Debarry, J., de, J.Y., Deng, H., Di Santo, J.P., Eisenbarth, S., Eynon, E., Flavell, R.A., Guzmán, C.A.\*, Huntington, N.D., Kremsdorf, D., Manns, M.P., Manz, M.G., Mention, J.J., Ott, M., Rathinam, C., Rice, C.M., Rongvaux, A., Stevens, S., Spits, H., Strick-Marchand, H., Takizawa, H., van Lent, A.U., Wang, C., Weijer, K., Willinger, T., & Ziegler, P. (2009) Humanized mice for modeling human infectious disease: challenges, progress, and outlook. *Cell Host and Microbe* **6**, 5-9.
- Osanjo, G.O., Muthike, E.W., Tsuma, L., Okoth, M.W., Bulimo, W.D., Lünsdorf, H., Abraham, W.-R., Dion, M., Timmis, K.N.\*, Golyshin, P.N.\*, & Mulaa, F.J. (2009) A salt lake extremophile, *Paracoccus bogoriensis* sp. nov., efficiently produces xanthophyll carotenoids. *African Journal of Microbiology Research* **3**, 426-433.
- Palma, C., Iona, E., Ebensen, T., Guzmán, C.A.\*, & Cassone, A. (2009) The toll-like receptor 2/6 ligand MALP-2 reduces the viability of *Mycobacterium tuberculosis* in murine macrophages. *Open Microbiology Journal* **3**, 47-52.
- Pati, N.T., Geffers, R., Sukriti, H.S., Riese, P., Toepfer, T., Buer, J., Guzmán, C.A.\*, & Sarin, S.K. (2009) Gene expression signatures of peripheral CD4+ T cells clearly discriminate between patients with acute and chronic hepatitis B viral infection. *Hepatology* **49**, 781-790.
- Spring, S., Lünsdorf, H., Fuchs, B.M., & Tindall, B.J. (2009) The photosynthetic apparatus and its regulation in the aerobic gamma-proteobacterium *Congregibacter litoralis* gen. nov., sp. nov. *PLoS ONE* **4**, e4866.
- Valva, P., Becker, P., Streitemberger, P., Garcia, L.M., Rey, G., Guzmán, C.A.\*, & Preciado, M.V. (2009) Germline TP53 mutations and single nucleotide polymorphisms in children. *Medicina* **69**, 143-147.
- Zharkouskay, A., Lünsdorf, H., & Feldmann, C. (2009) Ionic liquid-based synthesis of luminescent YVO4:Eu and YVO4:Eu@YF3 nanocrystals. *Journal of Materials Science* **44**, 39361-39427.
- Becker, P.D., Nörder, M., & Guzmán, C.A.\* (2009) Genetic Immunization: Bacteria as DNA vaccine delivery vehicle. In: Patho-Biotechnology (Sleator, R. & Hill, C., eds), Landes Bioscience, Austin, USA, in press.
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M.G.\* (2009) Genus II. *Aquiflexum* Brettar, Christen and Höfle 2004, 2339<sup>sp</sup>. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The *Spirochaetae*, *Planctomycetes*, *Bacteroidetes*, in press.
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M.G.\* (2009) Genus IV. *Belliella* Brettar, Christen and Höfle 2004, 69<sup>sp</sup>. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The *Spirochaetae*, *Planctomycetes*, *Bacteroidetes*, in press.
- Ebensen, T., Fuchs, B., Schulze, K., & Guzmán, C.A.\* (2009) Infection prevention: oil- and lipid-containing products in vaccinology. In: Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology (Springer, ed), Timmis, K.N., in press.
- Guzmán, C.A.\* (2009) Research needs in vaccinology. In: Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.
- Guzmán, C.A.\*, Borsutzky, S., Favre, D., & Dietrich, G. (2009) Vaccines against infections caused by *Salmonella*, *Shigella* and pathogenic *Escherichia coli*. In: EcoSAL-*Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology (Curtiss II, R., ed), ASM Press, Washington, D.C., in press.
- Probst-Kepper, M., Geffers, R., Kroger, A., Viegas, N., Erck, C., Hecht, H.-J., Lünsdorf, H., Roubin, R., Moharreggh-Khiabani, D., Wagner, K., Ocklenburg, F., Jeron, A., Garritsen, H., Arstila, T.P., Kekalainen, E., Balling, R., Hauser, H., Buer, J., & Weiss, S. (2009) GARP: a key receptor controlling FOXP3 in human regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, in press.

**AG Chemische Mikrobiologie | Dr. Wolf-Rainer Abraham**

- Abraham, W.-R., Macedo, A.J., Lünsdorf, H., Fischer, R., Pawelczyk, S., Smit, J., & Vancanneyt, M. (2008) Phylogeny by a polyphasic approach of the order *Caulobacterales*, proposal of *Caulobacter mirabilis* sp. nov., *Phenylobacterium haematophilum* sp. nov. and *Phenylobacterium conjunctum* sp. nov., and emendation of the genus *Phenylobacterium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **58**, 1939-1949.
- Menyailo, O.V., Hungate, B.A., Abraham, W.-R., & Conrad, R. (2008) Changing land use reduces soil CH<sub>4</sub> uptake by altering biomass and activity but not composition of high-affinity methanotrophs. *Global Change Biology* **14**, 2405-2419.
- Pawelczyk, S., Abraham, W.-R., Harms, H., & Müller, S. (2008) Community-based degradation of 4-chlorosalicylate tracked on the single cell level. *Journal of Microbiological Methods* **75**, 117-126.
- Peres de Carvalho, M., Abraham, W.-R., & Macedo, A.J. (2008) Microorganismos em favor da saúde humana. *Revista Liberto* **2008**, 77-81.
- Pichlmaier, M., Marwitz, V., Kuhn, C., Niehaus, M., Klein, G., Bara, C., Haverich, A., & Abraham, W.-R. (2008) High prevalence of asymptomatic bacterial colonization of rhythm management devices. *Europace* **10**, 1067-1072.
- Qiu, Q., Noll, M., Abraham, W.-R., Lu, Y., & Conrad, R. (2008) Applying stable isotope probing of phospholipid fatty acids and rRNA in a Chinese rice field to study activity and composition of the methanotrophic bacterial communities *in situ*. *The ISME Journal* **2**, 602-614.
- Shrestha, M., Abraham, W.-R., Shrestha, P.M., Noll, M., & Conrad, R. (2008) Activity and composition of methanotrophic bacterial communities in planted rice soil studied by flux measurements, analyses of *mpoA* gene and stable isotope probing of phospholipid fatty acids. *Environmental Microbiology* **10**, 400-412.
- Abang, M.M., Abraham, W.-R., Asiedu, R., Hoffmann, P., Wolf, G., & Winter, S. (2009) Secondary metabolite profile and phytotoxic activity of genetically distinct forms of *Colletotrichum gloeosporioides* from yam (*Dioscorea* spp.). *Mycological Research* **113**, 130-140.
- Estrela, A.B., Heck, M.G., & Abraham, W.-R. (2009) Novel approaches to control biofilm infections. *Current Medicinal Chemistry* **16**, 1512-1530.
- Glaubitz, S., Lueders, T., Abraham, W.-R., Jost, G., Jürgens, K., & Labrenz, M. (2009) <sup>13</sup>C-isotope analyses reveal that chemolithoautotrophic Gamma- and Epsilon-proteobacteria feed a microbial food web in a pelagic redoxcline of the central Baltic Sea. *Environmental Microbiology* **11**, 326-337.
- Macedo, A.J. & Abraham, W.-R. (2009) Ambivalent role of microbial communities in polluted rivers. In: River Pollution Research Progress (Mattia N.Gallo & Marco H.Ferrari, eds), Nova Science Publishers.
- Osanzo, G.O., Muthike, E.W., Tsuma, L., Okoth, M.W., Bulimo, W.D., Lünsdorf, H., Abraham, W.-R., Dion, M., Timmis, K.N. \*, Golyshin, P.N. \*, & Mulaa, F.J. (2009) A salt lake extremophile, *Paracoccus bogoriensis* sp. nov., efficiently produces xanthophyll carotenoids. *African Journal of Microbiology Research* **3**, 426-433.
- Abraham, W.-R. (2009) Biosynthetic oils, fats, isoprene, isoprenoids, sterols, waxes: Analytical methods, diversity. In: Handbook of hydrocarbon microbiology: Microbial interactions with hydrocarbons, oils, fats and related hydrophobic substrates and products (Timmis, K.N., ed), Springer, in press.
- Abraham, W.-R., Macedo, A.J., Lünsdorf, H., & Nikitin, D. (2009) Genus *V. Arcicella* Nikitin, Strömpl, Oranskaya and Abraham. 2004, 683<sup>VP</sup>. (*Arcoella* Nikitin, Oranskaya, Pitryuk, Chernykh and Lysenko. 1994, 152). In Bergey's manual of Systematic Bacteriology (George M.Garrity & Editors of Vol.4: Brian Hedlund, N.R.K.W.L.B.J.P.J.T.S.N.W. W.B.W., eds), in press.
- Macedo, A.J. & Abraham, W.-R. (2009) Can infectious biofilms be controlled by blocking bacterial communication? *Medicinal Chemistry* MC-193974, in press.
- Macedo, A.J. & Abraham, W.-R. (2009) Gemeinsam sind sie stark: Mikrobielle Gemeinschaften in Biofilmen nutzen hydrophobe Schadstoffe. *BIOforum*, in press.

**NG Phagosomenbiologie | Dr. Maximiliano Gutierrez**

- Gutierrez, M.G., Mishra, B.B., Jordao, M.L., Elliott, E., Anes, E. & Griffiths, G. (2008) NF-κB activation controls lysosome fusion-mediated killing of mycobacteria by macrophages. *Journal of Immunology* **181**(4), 2651-2663.
- Gutierrez, M.G., Perez Gonzalez, A., Anes, E. & Griffiths, G. (2009) Role of lipids in killing mycobacteria by macrophages: evidence for NF-κB-dependent and -independent killing induced by different lipids. *Cellular Microbiology* **11**(3), 406-420.

**Abt. für Experimentelle Mausgenetik |****Prof. Dr. Klaus Schughart**

- Hahn, P., Bose, J., Edler, S., & Lengeling, A. (2008) Genomic structure and expression of JmjD6 and evolutionary analysis in the context of related JmjC domain containing proteins. *BMC GENOMICS* **9**, art. no. 293.
- Hübner, M.P., Pasche, B., Kalaydjiev, S., Soboslay, P.T., Lengeling, A., Schulz-Key, H., Mitre, E., & Hoffmann, W.H. (2008) Microfilariae of the filarial nematode *Litomosoides sigmodontis* exacerbate the course of lipopolysaccharide-induced sepsis in mice. *Infection and Immunity* **76**, 1668-1677.
- Fuchs, H., Gailus-Durner, V., Adler, T., Pimentel, J.A., Becker, L., Bolle, I., Brielmeier, M., Calzada-Wack, J., Dalke, C., Ehrhardt, N., Fasnacht, N., Ferwagner, B., Frischmann, U., Hans, W., Holter, S.M., Holzlwimmer, G., Horsch, M., Javaheri, A., Kallnik, M., Kling, E., Lengger, C., Maier, H., Mossbrugger, I., Morth, C., Naton, B., Noth, U., Pasche, B., Prehn, C., Przemec, G., Puk, O., Racz, I., Rathkolb, B., Rozman, J., Schable, K., Schreiner, R., Schrewe, A., Sina, C., Steinkamp, R., Thiele, F., Willershauser, M., Zeh, R., Adamski, J., Busch, D.H., Beckers, J., Behrendt, H., Daniel, H., Esposito, I., Favor, J., Graw, J., Heldmaier, G., Hofler, H., Ivandic, B., Katus, H., Klingenspor, M., Klopstock, T., Lengeling, A., Mempel, M., Muller, W., Neschen, S., Ollert, M., Quintanilla-Martinez, L., Rosenstiel, P., Schmidt, J., Schreiber, S., Schughart, K., Schulz, H., Wolf, E., Wurst, W., Zimmer, A., & Hrabe de, A.M. (2009) The German Mouse Clinic: a platform for systemic phenotype analysis of mouse models. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **10**, 236-243.
- Srivastava, B., Blazejewska, P., Hessmann, M., Bruder, D., Geffers, R., Mael, S., Gruber, A.D., & Schughart, K. (2009) Host genetic background strongly influences the response to influenza A virus infections. *PLoS ONE* **4**, e4857.
- Müller, C., Grötlicke, I., Hoffmann, K., Schughart, K., & Löscher, W. (2009) Differences in sensitivity to the convulsant pilocarpine in substrains and sublines of C57BL/6 mice. *Genes, Brain and Behavior*, in press.
- Schughart, K. & Schlender, H. (2009) Das Zusammenspiel der Gene. *BIOspektrum (Biotechnica-special Edition)*, in press.

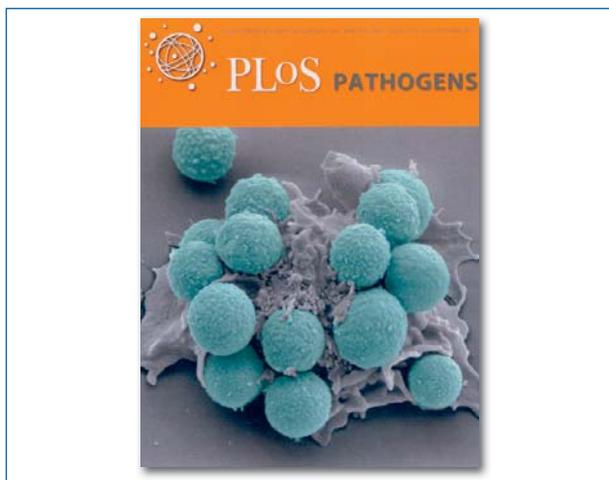
**AG Umweltmikrobiologie | Prof. Dr. Ken N. Timmis**

- Beloqui, A., de Maria, P.D., Golyshin, P.N. \*, & Ferrer, M. (2008) Recent trends in industrial microbiology. *Current Opinion in Microbiology* **11**, 240-248.
- Bielecki, P., Glik, J., Kawecki, M., & Martins dos Santos, V.A.P. \*. (2008) Towards understanding *Pseudomonas aeruginosa* burn wound infections by profiling gene expression. *Biotechnology Letters* **30**, 777-790.

- Blasco,R., Ramos,J.L., & Wittich,R.M. (2008) *Pseudomonas aeruginosa* strain RW41 mineralizes 4-chlorobenzenesulfonate, the major polar by-product from DDT manufacturing. *Environmental Microbiology* **10**, 1591-1600.
- Dammeyer,T. & Frankenberg-Dinkel,N. (2008) Function and distribution of bilin biosynthesis enzymes in photosynthetic organisms. *Photochemical and Photobiological Sciences* **7**, 1121-1130.
- Dwivedi,D., Jansen,R., Molinari,G., Nimtz,M., Johri,B.N., & Wray,V. (2008) Antimycobacterial serratamolides and diacyl peptidoglycosamine derivatives from *Serratia* sp. *Journal of Natural Products* **71**, 637-641.
- Fahy,A., Ball,A.S., Lethbridge,G., Timmis,K.N.\*., & McGenity,T.J. (2008) Isolation of alkali-tolerant benzene-degrading bacteria from a contaminated aquifer. *Letters in Applied Microbiology* **47**, 60-66.
- Fahy,A., Ball,A.S., Lethbridge,G., McGenity,T.J., & Timmis,K.N.\*. (2008) High benzene concentrations can favour Gram-positive bacteria in groundwaters from a contaminated aquifer. *FEMS Microbiology Ecology* **65**(3), 526-633
- Ferrer,M., Golyshina,O.V., Beloqui,A., Bottger,L.H., Andreu,J.M., Polaina,J., De Lacey,A.L., Trautwein,A.X., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2008) A purple acidophilic di-ferric DNA ligase from *Ferroplasma*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 8878-8883.
- Ferrer,M., Beloqui,A., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2008) Metagenomics for mining new genetic resources of microbial communities. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* **16**, 109-123.
- Kurakov,A.V., Lavrent'ev,R.B., Nechitaylo,T.I., Golyshin,P.N.\*., & Zviagintsev,D.G. (2008) Diversity of facultatively anaerobic microscopic mycelial fungi in soils. *Microbiology* **77**, 103-112.
- McGenity,T.J., Hallsworth,J.E., & Timmis,K.N.\*. (2008) Connectivity between 'ancient' and 'modern' hypersaline environments and the salinity limits of life. In: CIESM, 2008. The Messinian Salinity Crisis from mega-deposits to microbiology - a consensus report pp. 115-120.
- Ott,S.J., Kuhbacher,T., Musfeldt,M., Rosenstiel,P., Hellmig,S., Rehman,A., Drews,O., Weichert,W., Timmis,K.N.\*., & Schreiber,S. (2008) Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* **43**, 831-841.
- Puchalka,J., Oberhardt,M.A., Godinho,M., Bielecka,A., Regenhardt,D., Timmis,K.N.\*., Papin,J.A., & Martins dos Santos,V.A.P.\*. (2008) Genome-scale reconstruction and analysis of the *Pseudomonas putida* KT2440 metabolic network facilitates applications in biotechnology. *PLoS Computational Biology* **4**, e1000210.
- Sabirova,J.S., Chernikova,T.N., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2008) Niche-specificity factors of a marine oil-degrading bacterium *Alcanivorax borkumensis* SK2. *FEMS Microbiology Letters* **285**, 89-96.
- Sass,A.M., McKew,B.A., Sass,H., Fichtel,J., Timmis,K.N.\*., & McGenity,T.J. (2008) Diversity of Bacillus-like organisms isolated from deep-sea hypersaline anoxic sediments. *Saline Systems* **4**, 8.
- Sikorski,J., Brambilla,E., Kroppenstedt,R.M., & Tindall,B.J. (2008) The temperature-adaptive fatty acid content in *Bacillus simplex* strains from 'Evolution Canyon', Israel. *Microbiology* **154**, 2416-2426.
- Sriramulu,D.D., Liang,M., Hernandez-Romero,D., Raux-Deery,E., Lünsdorf,H., Parsons,J.B., Warren,M.J., & Prentice,M.B. (2008) *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 produces cobalamin-dependent diol dehydratase in metabolosomes and metabolizes 1,2-propanediol by disproportionation. *Journal of Bacteriology* **190**, 4559-4567.
- Stackebrandt,E., Fruhling,A., Cousin,S., Brambilla,E., Lünsdorf,H., & Verborg,S. (2008) *Methylibium subsaxonicum* spec. nov., a Betaproteobacterium Isolated from a Hardwater Rivulet. *Current Microbiology* **56**, 298-305.
- Thoma,C., Frank,M., Rachel,R., Schmid,S., Näther,D., Wanner,G., & Wirth,R. (2008) The Mth60 fimbriae of *Methanothermobacter thermoautotrophicus* are functional adhesins. *Environmental Microbiology* **10**, 2785-2795.
- Verborg,S., Fruhling,A., Cousin,S., Brambilla,E., Gronow,S., Lünsdorf,H., & Stackebrandt,E. (2008) *Biostraticola tofi* gen. nov., spec. nov., a novel member of the family enterobacteriaceae. *Current Microbiology* **56**, 603-608.
- Aburto,A., Fahy,A., Coulon,F., Lethbridge,G., Timmis,K.N.\*., Ball,A.S., & McGenity,T.J. (2009) Mixed aerobic and anaerobic microbial communities in benzene-contaminated groundwater. *Journal of Applied Microbiology* **106**, 317-328.
- Beloqui,A., Guazzaroni,M.E., Pazos,F., Vieites,J.M., Godoy,M., Golyshina,O.V., Chernikova,T.N., Waliczek,A., Silva-Rocha,R., Al-Ramahi,Y., La,C., V., Mendez,C., Salas,J.A., Solano,R., Yakimov,M.M., Timmis,K.N.\*., Golyshin,P.N.\*., & Ferrer,M. (2009) Reactome array: forging a link between metabolome and genome. *Science* **326**, 252-257.
- Byzov,B.A., Nechitaylo,T.Yu., Bumazhkin,B.K., Kurakov,A.V., Golyshin,P.N.\*., & Zviagintsev,D.G. (2009) Culturable microorganisms from the earthworm digestive tract. *Microbiology* **78**, 360-368.
- Fazzini,R.A., Bielecka,A., Quintas,A.K., Golyshin,P.N.\*., Preto,M.J., Timmis,K.N.\*., & dos Santos,V.A.P.M.\*. (2009) Bacterial consortium proteomics under 4-chlorosalicylate carbon-limiting conditions. *Proteomics* **9**, 2273-2285.
- Gertler,C., Gerdts,G., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2009) Microbial consortia in mesocosm bioremediation trial using oil sorbents, slow-release fertilizer and bioaugmentation. *Fems Microbiology Ecology* **69**, 288-300.
- Nechitaylo,T.Y., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2009) *Candidatus Lumbricincola*, a novel lineage of uncultured *Mollicutes* from earthworms of family *Lumbricidae*. *Environmental Microbiology* **11**, 1016-1026.
- Osanojo,G.O., Muthike,E.W., Tsuma,L., Okoth,M.W., Bulimo,W.D., Lünsdorf,H., Abraham,W.-R., Dion,M., Timmis,K.N.\*., Golyshin,P.N.\*., & Mulaa,F.J. (2009) A salt lake extremophile, *Paracoccus bogoriensis* sp. nov., efficiently produces xanthophyll carotenoids. *African Journal of Microbiology Research* **3**, 426-433.
- Vieites,J.M., Guazzaroni,M.E., Beloqui,A., Golyshin,P.N.\*., & Ferrer,M. (2009) Metagenomics approaches in systems microbiology. *FEMS Microbiology Reviews* **33**, 236-255.
- Ferrer,M., Beloqui,A., Zumárraga,M., Alcalde,M., & Golyshin,P.N.\*. (2009) Microbes and enzymes: recent trends and new directions to explore protein diversity space. In: Protein Engineering Handbook (Bornscheuer,U., ed), Wiley, in press.
- Ferrer,M. & Golyshin,P.N.\*. (2009) Rare metabolic conversions: harvesting diversity through nature. In: Handbook for Metabolic Pathway Engineering (Smolke,C., ed), CRC Press, San Diego, in press.
- Gertler,C., Gerdts,G., Yakimov,M.M., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2009) Populations of heavy fuel oil-degrading marine microbial community on oil-degrading marine microbial community on oil sorbent material surface. *Journal of Applied Microbiology*, in press.
- Martins dos Santos,V.A.P.\*., Yakimov,M.M., Timmis,K.N.\*., & Golyshin,P.N.\*. (2009) Genomic insights into oil biodegradation in marine systems. In: Microbial Biodegradation: Genomics and Molecular Biology (Diaz,E., ed), Horizon Scientific Press, in press.
- Würdemann,D., Tindall,B.J., Pukall,R., Lünsdorf,H., Strömpl,C., Namuth,T., Nahrstedt,H., Wos-Oxley,M., Ott,S., Schreiber,S., & Timmis,K.N.\*. (2009) *Gordonibacter pamelaee* gen. nov., sp. nov., a new member of the Coriobacteriaceae isolated from a patient with Crohn's disease and reclassification of *Eggerthella hongkongensis* (2006 as *Paraeggerthella hongkongensis* gen. nov., comb. nov. (Lau,e. al., ed), *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, in press.

## AG Biologische Systemanalyse | Prof. Dr. Rudi Balling

- Altman,R.B., Balling,R., Brinkley,J.F., Coiera,E., Consorti,F., Dhansay,M.A., Geissbuhler,A., Hersh,W., Kwankam,S.Y., Lorenzi,N.M., Martin-Sanchez,F., Mihalas,G.I., Shahar,Y., Takabayashi,K., & Wiederhold,G. (2008) Commentaries on "Informatics and medicine: from molecules to populations". *Methods of Information in Medicine* **47**, 296-317.
- Bilitewski,U. (2008) Determination of immunomodulatory effects: focus on functional analysis of phagocytes as representatives of the innate immune system. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **391**, 1545-1554.
- Wesolowski,J., Hassan,R.Y., Hodde,S., Bardroff,C., & Bilitewski,U. (2008) Sensing of oxygen in microtiter plates: a novel tool for screening drugs against pathogenic yeasts. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **391**, 1731-1737.
- Bilitewski,U. (2009) DNA microarrays: an introduction to the technology. In: *Microchip Methods in Diagnostics* (Bilitewski,U., ed), pp. 1-14.
- Legrand,N., Ploss,A., Balling,R., Becker,P.D., Borsotti,C., Brezillon,N., Debarry,J., de,J.Y., Deng,H., Di Santo,J.P., Eisenbarth,S., Eynon,E., Flavell,R.A., Guzmán,C.A.\*, Huntington,N.D., Kremsdorf,D., Manns,M.P., Manz,M.G., Mention,J.J., Ott,M., Rathinam,C., Rice,C.M., Rongvaux,A., Stevens,S., Spits,H., Strick-Marchand,H., Takizawa,H., van Lent,A.U., Wang,C., Weijer,K., Willinger,T., & Ziegler,P. (2009) Humanized mice for modeling human infectious disease: challenges, progress, and outlook. *Cell Host and Microbe* **6**, 5-9.
- He,F., Balling,R., & Zeng,A.P. (2009) Reverse engineering and verification of gene networks: Principles, assumptions, and limitations of present methods and future perspectives. *Journal of Biotechnology*, in press.
- Probst-Kepper,M., Geffers,R., Kroger,A., Viegas,N., Erck,C., Hecht,H.-J., Lünsdorf,H., Roubin,R., Moharreggh-Khiabani,D., Wagner,K., Ocklenburg,F., Jeron,A., Garritsen,H., Arstila,T.P., Kekalainen,E., Balling,R., Hauser,H., Buer,J., & Weiss,S. (2009) GARP: a key receptor controlling FOXP3 in human regulatory T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, in press.
- Wesolowski,J., Hassan,R.Y.A., Reinhardt,K., Hosse,S., Bilitewski,U., i, & n (2009) Antifungal compounds redirect metabolic pathways in yeasts: Metabolites as indicators of modes of action. *Journal of*



Das Titelbild der Zeitschrift PLoS Pathogens, Vol. 3(2), 2007, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Behnsen, J.; Narang, P.; Hasenberg, M.; Gunzer, F.; Bilitewski, U.; Klippel, N.; Rohde, M.; Brock, M.; Brakhage, A.A., und Gunzer, M.. *Environmental dimensionality controls the interaction of phagocytes with the pathogenic fungi Aspergillus fumigatus and Candida albicans*. *PLoS Pathogens*. 2007; **3**(2): ev03.i02.doi:10.1371/image.ppat.v03.i02 (February 23, 2007). Die Aufnahme wurde von Narang, P.; Rohde, M., und Gunzer, M., Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, gemacht und zur Veröffentlichung freigegeben.

*Applied Microbiology*, in press.

## Abt. für Medizinische Chemie | Prof. Dr. Markus Kalesse

- Eggert,U., Diestel,R., Sasse,F., Jansen,R., Kunze,B., & Kalesse,M. (2008) Chondramide C: Synthesis, configurational assignment, and structure-activity relationship studies. *Angewandte Chemie – International Edition* **47**, 6478-6482.
- Liang,J., Ke,G., You,W., Peng,Z., Lan,J., Kalesse,M., Tartakoff,A.M., Kaplan,F., & Tao,T. (2008) Interaction between importin 13 and myopodin suggests a nuclear import pathway for myopodin. *Molecular and Cellular Biochemistry* **307**, 93-100.
- Lorenz,M. & Kalesse,M. (2008) Synthesis of the C10-C32 core structure of spirangien A. *Organic Letters* **10**, 4371-4374.
- Nickeleit,I., Zender,S., Sasse,F., Geffers,R., Brandes,G., Sorensen,I., Steinmetz,H., Kubicka,S., Carlomagno,T., Menche,D., Gutgemann,I., Buer,J., Gossler,A., Manns,M.P., Kalesse,M., Frank,R., & Malek,N.P. (2008) Argyrin A reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.
- Rahn,N. & Kalesse,M. (2008) The total synthesis of chlorotonil A. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 597-599.
- Hagelüken,G., Albrecht,S.C., Steinmetz,H., Jansen,R., Heinz,D.W.\*, Kalesse,M., & Schubert,W.-D. (2009) The absolute configuration of rhizopodin and its inhibition of actin polymerization by dimerization. *Angewandte Chemie International Edition* **48**, 595-598.

## AG Mikrobielle Wirkstoffe | Prof. Dr. Rolf Müller

- Binz,T.M., Wenzel,S.C., Schnell,H.J., Bechthold,A., & Müller,R. (2008) Heterologous expression and genetic engineering of the phenalinolactone biosynthetic gene cluster by using red/ET recombineering. *ChemBioChem* **9**, 447-454.
- Bock,M., Buntin,K., Müller,R., & Irschning,A. (2008) Stereochemical determination of thuggacins A-C, highly active antibiotics from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 2308-2311.
- Buntin,K., Rachid,S., Scharfe,M., Blöcker,H., Weissman,K.J., & Müller,R. (2008) Production of the antifungal isochromanone ajudazols A and B in *Chondromyces crocatus* Cm c5: biosynthetic machinery and cytochrome P450 modifications. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 4595-4599.
- Dwivedi,D., Jansen,R., Molinari,G., Nimtz,M., Johri,B.N., & Wray,V. (2008) Antimycobacterial serratomolides and diacyl peptidoglycosamine derivatives from *Serratia* sp. *Journal of Natural Products* **71**, 637-641.
- Feklistov,A., Mekler,V., Jiang,Q., Westblade,L.F., Irschik,H., Jansen,R., Mustaev,A., Darst,S.A., & Ebright,R.H. (2008) Rifamycins do not function by allosteric modulation of binding of Mg<sup>2+</sup> to the RNA polymerase active center. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* **105**, 14820-14825.
- Fu,J., Wenzel,S.C., Perlova,O., Wang,J., Gross,F., Tang,Z., Yin,Y., Stewart,A.F., Müller,R., & Zhang,Y. (2008) Efficient transfer of two large secondary metabolite pathway gene clusters into heterologous hosts by transposition. *Nucleic Acids Research* **36**, e113.
- Gerth,K., Perlova,O., & Müller,R. (2008) *Sorangium cellulosum*. In *Myxobacteria: Multicellularity and Differentiation* (Whitworth,D.E., ed), pp. 329-348. ASM Press, Washington D.C.
- Gerth,K., Steinmetz,H., Höfle,G., & Jansen,R. (2008) Chlorotonil A, a macrolide with a unique gem-dichloro-1,3-dione functionality from *Sorangium cellulosum* So ce1525. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 600-602
- Höfle,G. & Irschik,H. (2008) Isolation and Biosynthesis of Aurachin P and 5-Nitroresorcinol from *Stigmatella erecta*. *Journal of Natural Products* **71**, 1946-1948.

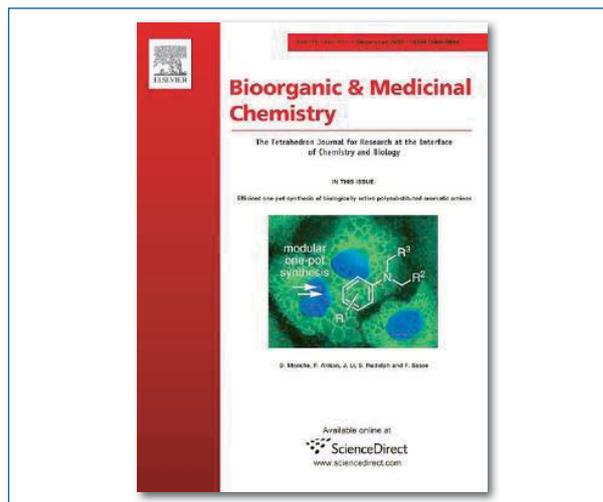
- Jansen, R., Steinmetz, H., Sasse, F., Schubert, W.-D., Hagelüken, G., Albrecht, S.C., & Müller, R. (2008) Isolation and structure revision of the actin-binding macrolide rhizopodin from *Myxococcus stipitatus* (Myxobacteria). *Tetrahedron Letters* **49**, 5796-5799.
- Jenke-Kodama, H., Müller, R., & Dittmann, E. (2008) Evolutionary Mechanisms underlying secondary metabolite diversity. In: *Progress in Drug Research* (Petersen, F. & Amstutz, R., eds), pp. 121-140.
- Knauber, T., Doss, S.D., Gerth, K., Perlova, O., Müller, R., & Treuner-Lange, A. (2008) Mutation in the *rel* gene of *Sorangium cellulosum* affects morphological and physiological differentiation. *Molecular Microbiology* **69**, 254-266.
- Krug, D., Zurek, G., Revermann, O., Vos, M., Velicer, G.J., & Müller, R. (2008) Discovering the hidden secondary metabolome of *Myxococcus xanthus*: a study of intraspecific diversity. *Applied in Environmental Microbiology* **74**, 3058-3068.
- Krug, D., Zurek, G., Schneider, B., Garcia, R., & Müller, R. (2008) Efficient mining of myxobacterial metabolite profiles enabled by liquid chromatography-electrospray ionisation-time-of-flight mass spectrometry and compound-based principal component analysis. *Analytica Chimica Acta* **624**, 97-106.
- Li, Y., Weissman, K.J., & Müller, R. (2008) Myxochelin biosynthesis: direct evidence for two- and four-electron reduction of a carrier protein-bound thioester. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 7554-7555.
- Meiser, P. & Müller, R. (2008) Two functionally redundant Sfp-type 4'-phosphopantetheinyl transferases differentially activate biosynthetic pathways in *Myxococcus xanthus*. *ChemBioChem* **9**, 1549-1553.
- Meiser, P., Weissman, K.J., Bode, H.B., Krug, D., Dickschat, J.S., Sandmann, A., & Müller, R. (2008) DKxanthene biosynthesis – understanding the basis for diversity-oriented synthesis in myxobacterial secondary metabolism. *Chemistry and Biology* **15**, 771-781.
- Menche, D., Arikan, F., Perlova, O., Horstmann, N., Hlbrecht, W., Wenzel, S.C., Jansen, R., Irschik, H., & Müller, R. (2008) Stereochemical determination and complex biosynthetic assembly of etnangien, a highly potent RNA polymerase inhibitor from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 14234-14243.
- Mukhopadhyay, J., Das, K., Ismail, S., Koppstein, D., Jang, M., Hudson, B., Sarafianos, S., Tuske, S., Patel, J., Jansen, R., Irschik, H., Arnold, E., & Ebright, R.H. (2008) The RNA polymerase "switch region" is a target for inhibitors. *Cell* **135**, 295-307.
- Mulzer, J., Altmann, K.-H., Höfle, G., Müller, R. \*, & Prantz, K. (2008) Epothilones – A fascinating family of microtubule stabilizing antitumor agents. *Comptes Rendus Chimie* **11**, 1336-1368.
- Nawrath, T., Dickschat, J.S., Müller, R., Jiang, J., Cane, D.E., & Schulz, S. (2008) Identification of (8S,9S,10S)-8,10-dimethyl-1-octalin, a key intermediate in the biosynthesis of geosmin in bacteria. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 430-431.
- Nickeleit, I., Zender, S., Sasse, F., Geffers, R., Brandes, G., Sorensen, I., Steinmetz, H., Kubicka, S., Carlomagno, T., Menche, D., Gutgemann, I., Buer, J., Gossler, A., Manns, M.P., Kalesse, M., Frank, R., & Malek, N.P. (2008) Argyrin A reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.
- Perez, J., Castaneda-Garcia, A., Jenke-Kodama, H., Müller, R., & Munoz-Dorado, J. (2008) Eukaryotic-like protein kinases in the prokaryotes and the myxobacterial kinome. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **105**, 15950-15955.
- Petkovic, H., Sandmann, A., Challis, I.R., Hecht, H.-J., Silakowski, B., Low, L., Beeston, N., Kuscer, E., Garcia-Bernardo, J., Leadlay, P.F., Kendrew, S.G., Wilkinson, B., & Müller, R. (2008) Substrate specificity of the acyl transferase domains of EpoC from the epothilone polyketide synthase. *Organic and Biomolecular Chemistry* **6**, 500-506.
- Reichenbach, H. & Gerhard, H. (2008) Discovery and development of the epothilones: A novel class of antineoplastic drugs. *Drugs in R and D* **9**, 1-10.
- Sandmann, A., Frank, B., & Müller, R. (2008) A transposon-based strategy to scale up myxothiazol production in myxobacterial cell factories. *Journal of Biotechnology* **135**, 255-261.
- Weissman, K.J. & Müller, R. (2008) Protein-protein interactions in multienzyme megasynthetases. *ChemBioChem* **9**, 826-848.
- Weissman, K.J. & Müller, R. (2008) Crystal structure of a molecular assembly line. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 8344-8346.
- Wenzel, S.C., Bode, H.B., Kochems, I., & Müller, R. (2008) A type I/type III polyketide synthase hybrid biosynthetic pathway for the structurally unique ansa compound kendomycin. *ChemBioChem* **9**, 2711-2721.
- Bode, H.B., Ring, M.W., Schwar, G., Altmeyer, M.O., Kegler, C., Jose, I.R., Singer, M., & Müller, R. (2009) Identification of additional players in the alternative biosynthesis pathway to isovaleryl-CoA in the myxobacterium *Myxococcus xanthus*. *ChemBioChem* **10**, 128-140.
- Bolten, C.J., Heinzle, E., Müller, R., & Wittmann, C. (2009) Investigation of the central carbon metabolism of *Sorangium cellulosum*: metabolic network reconstruction and quantification of pathway fluxes. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **19**, 23-36.
- Buedenbender, S., Rachid, S., Müller, R., & Schulz, G.E. (2009) Structure and action of the myxobacterial chondrochloren halogenase CndH: a new variant of FAD-dependent halogenases. *Journal of Molecular Biology* **385**, 520-530.
- Garcia, R.O., Reichenbach, H., Ring, M.W., & Müller, R. (2009) *Phaselicystis flava* gen. nov., sp. nov., an arachidonic acid-containing soil myxobacterium, and the description of *Phaselicystidaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **59**, 1524-1530.
- Garcia, R.O., Krug, D., & Müller, R. (2009) Chapter 3. Discovering natural products from myxobacteria with emphasis on rare producer strains in combination with improved analytical methods. *Methods in Enzymology* **458**, 59-91.
- Jensen, N.A., Gerth, K., Grotjohann, T., Kapp, D., Keck, M., & Niehaus, K. (2009) Establishment of a high content assay for the identification and characterisation of bioactivities in crude bacterial extracts that interfere with the eukaryotic cell cycle. *Journal of Biotechnology* **140**, 124-134.
- Krug, D. & Müller, R. (2009) Discovery of additional members of the tyrosine aminomutase enzyme family and the mutational analysis of CndF. *ChemBioChem* **10**, 741-750.
- Müller, R. (2009) Biosynthesis and heterologous production of epothilones. In: *The Epothilones, an Outstanding Family of Anti-Tumor Agents* (Mulzer, J., ed), pp. 29-533. Springer, New York.
- Perlova, O., Gerth, K., Kuhlmann, S., Zhang, Y., & Müller, R. (2009) Novel expression hosts for complex secondary metabolite megasynthetases: Production of myxochromide in the thermophilic isolate *Corallococcus macrosporus* GT-2. *Microbial Cell Factories* **8**, 1.
- Rachid, S., Gerth, K., & Müller, R. (2008) NtcA-A negative regulator of secondary metabolite biosynthesis in *Sorangium cellulosum*. *Journal of Biotechnology* **140**, 135-142.
- Rachid, S., Scharfe, M., Blöcker, H., Weissman, K.J., & Müller, R. (2009) Unusual chemistry in the biosynthesis of the antibiotic chondrochlorens. *Chemistry and Biology* **16**, 70-81.
- Shushni, M.A., Mentel, R., Lindequist, U., & Jansen, R. (2009) Balticols A-F, new naphthalenone derivatives with antiviral activity, from an ascomycetous fungus. *Chemistry and Biodiversity* **6**, 127-137.
- Ullrich, A., Chai, Y., Pistorius, D., Elnakady, Y.A., Herrmann, J.E., Weissman, K.J., Kazmaier, U., & Müller, R. (2009) Pretubulylin, a Potent and Chemically Accessible Tubulylin Precursor from *Angioccoccus disciformis*. *Angewandte Chemie International Edition* **48**, 4422-4425.

- Weissman, K.J. & Müller, R. (2009) A brief tour of myxobacterial secondary metabolism. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **17**, 2121-2136.
- Wenzel, S.C. & Müller, R. (2009) Myxobacteria – ‘microbial factories’ for the production of bioactive secondary metabolites. *Molecular BioSystems* **5**, 567-574.
- Wenzel, S.C. & Müller, R. (2009) The biosynthetic potential of myxobacteria and their impact on drug discovery. *Current Opinion in Drug Discovery and Development* **12**, 220-230.
- Zainuddin, E.N., Jansen, R., Nimtz, M., Wray, V., Preisitsch, M., Lalk, M., & Mundt, S. (2009) Lyngbyazothrins A-D, antimicrobial cyclic undecapeptides from the cultured *Cyanobacterium lyngbya* sp. *Journal of Natural Products* **72**, 1373-1378.
- Zollner, A., Dragan, C.A., Pistorius, D., Müller, R., Bode, H.B., Peters, F.T., Maurer, H.H., & Bureik, M. (2009) Human CYP4Z1 catalyzes the in-chain hydroxylation of lauric acid and myristic acid. *Biological Chemistry* **390**, 313-317.
- Li, Y. & Müller, R. (2009) Non-modular polyketide synthases in myxobacteria. *Phytochemistry*, in press.
- Rupprath, C., Kopp, K., Hirtz, D., Irschik, H., Müller, R., & Elling, L. (2009) An enzyme module system for *in situ* regeneration of dTDP-activated deoxysugars. *Advanced Synthesis & Catalysis*, in press.
- Suryanarayanan, T.S., Thirunavukkarasu, N., Govindarajulu, M.B., Sasse, F., Jansen, R., & Murali, T.S. (2009) Fungal endophytes and bioprospecting. *Fungal Biology Reviews*, in press.

### Ehemalige NG Struktur und Funktion von Antibiotika

(bis 2008) | Prof. Dr. Dirk Menche

- Arikan, F., Li, J., & Menche, D. (2008) Diastereodivergent aldol reactions of beta-alkoxy ethyl ketones: modular access to (1,4)-syn and -anti polypropionates. *Organic Letters* **10**, 3521-3524.
- Fares, C., Hassfeld, J., Menche, D., & Carlomagno, T. (2008) Simultaneous determination of the conformation and relative configuration of archazolide A by using nuclear overhauser effects, J couplings, and residual dipolar couplings. *Angewandte Chemie International Edition* **47**, 3722-3726.
- Horstmann, N. & Menche, D. (2008) Configurational assignment of rhizopodin, an actin-binding macrolide from the myxobacterium *Myxococcus stipitatus*. *Chemical Communications* 5173-5175.
- Menche, D., Arikan, F., Perlova, O., Horstmann, N., hlbrecht, W., Wenzel, S.C., Jansen, R., Irschik, H., & Müller, R. (2008) Stereochemical determination and complex biosynthetic assembly of etnangien, a highly potent RNA polymerase inhibitor from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 14234-14243.
- Menche, D. (2008) New methods for stereochemical determination of complex polyketides: configurational assignment of novel metabolites from myxobacteria. *Natural Products Reports* **25**, 905-918.
- Nickeleit, I., Zender, S., Sasse, F., Geffers, R., Brandes, G., Sorensen, I., Steinmetz, H., Kubicka, S., Carlomagno, T., Menche, D., Gutgemann, I., Buer, J., Gossler, A., Manns, M.P., Kalesse, M., Frank, R., & Malek, N.P. (2008) Argyrin A reveals a critical role for the tumor suppressor protein p27(kip1) in mediating antitumor activities in response to proteasome inhibition. *Cancer Cell* **14**, 23-35.
- Li, J. & Menche, D. (2009) Selective deprotection of silyl ethers with sodium periodate. *Synthesis* **11**, 1904-1908.
- Li, P., Li, J., Arikan, F., Ahlbrecht, W., Dieckmann, M., & Menche, D. (2009) Total synthesis of etnangien. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 11678-11679.



Das Titelbild der Zeitschrift *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 15(23), 2007, anlässlich der Veröffentlichung der Originalarbeit von Menche, D.; Arikan, F.; Li, J.; Rudolph, S., und Sasse, F. *Efficient one-pot synthesis of biologically active polysubstituted aromatic amines. Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2007; **15(23)**: 7311-7317. Mit freundlicher Genehmigung des Verlags Elsevier Ltd.

### Abt. für Experimentelle Immunologie |

Prof. Dr. Jochen Hühn

- Apostolou, I., Verginis, P., Kretschmer, K., Polansky, J., Hühn, J., & von, B.H. (2008) Peripherally induced Treg: mode, stability, and role in specific tolerance. *Journal of Clinical Immunology* **28**, 619-624.
- Doebeis, C., Siegmund, K., Loddenkemper, C., Lowe, J.B., Issekutz, A.C., Hamann, A., Hühn, J., & Syrbe, U. (2008) Cellular players and role of selectin ligands in leukocyte recruitment in a T-cell-initiated delayed-type hypersensitivity reaction. *American Journal of Pathology* **173**, 1067-1076.
- Polansky, J.K., Kretschmer, K., Freyer, J., Floess, S., Garbe, A., Baron, U., Olek, S., Hamann, A., von, B.H., & Hühn, J. (2008) DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *European Journal of Immunology* **38**, 1654-1663.
- Rausch, S., Hühn, J., Kirchhoff, D., Rzepecka, J., Schnoeller, C., Pillai, S., Loddenkemper, C., Scheffold, A., Hamann, A., Lucius, R., & Hartmann, S. (2008) Functional analysis of effector and regulatory T cells in a parasitic nematode infection. *Infection and Immunity* **76**, 1908-1919.
- Siewert, C., Lauer, U., Cording, S., Bopp, T., Schmitt, E., Hamann, A., & Hühn, J. (2008) Experience-driven development: effector/memory-like alphaE+Foxp3+ regulatory T cells originate from both naive T cells and naturally occurring naive-like regulatory T cells. *Journal of Immunology* **180**, 146-155.
- Hoffmann, P., Boeld, T.J., Eder, R., Hühn, J., Floess, S., Wiczorek, G., Olek, S., Dietmaier, W., Andreesen, R., & Edinger, M. (2009) Loss of FOXP3 expression in natural human CD4+CD25+ regulatory T cells upon repetitive *in vitro* stimulation. *European Journal of Immunology* **39**, 1088-1097.
- Hühn, J., Polansky, J.K., & Hamann, A. (2009) Epigenetic control of FOXP3 expression: the key to a stable regulatory T-cell lineage? *Nature Reviews Immunology* **9**, 83-89.
- Loddenkemper, C., Hoffmann, C., Stanke, J., Nagorsen, D., Baron, U., Olek, S., Hühn, J., Ritz, J.P., Stein, H., Kaufmann, A.M., Schneider, A., & Cichon, G. (2009) Regulatory (FOXP3+) T cells as target for immune therapy of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Cancer Science* **100**, 1112-1117.

- Schaub,B., Liu,J., Hoppler,S., Schleich,I., Hühn,J., Olek,S., Wiczorek,G., Illi,S., & von,M.E. (2009) Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **123**, 774-782.
- Wiczorek,G., Asemissen,A., Model,F., Turbachova,I., Floess,S., Liebenberg,V., Baron,U., Stauch,D., Kotsch,K., Pratschke,J., Hamann,A., Loddenkemper,C., Stein,H., Volk,H.D., Hoffmuller,U., Grutzkau,A., Mustea,A., Hühn,J., Scheibenbogen,C., & Olek,S. (2009) Quantitative DNA methylation analysis of FOXP3 as a new method for counting regulatory T cells in peripheral blood and solid tissue. *Cancer Research* **69**, 599-608.

#### Abt. für Molekulare Infektionsbiologie |

##### Prof. Dr. Petra Dersch

- Heroven,A.K., Bohme,K., Rohde,M., & Dersch,P. (2008) A Csr-type regulatory system, including small non-coding RNAs, regulates the global virulence regulator RovA of *Yersinia pseudotuberculosis* through RovM. *Molecular Microbiology* **68**, 1179-1195.
- Zuccaro,A., Gotze,S., Kneip,S., Dersch,P., & Seibel,J. (2008) Tailor-made fructooligosaccharides by a combination of substrate and genetic engineering. *ChemBioChem* **9**, 143-149.
- Heise,T. & Dersch,P. (2009) Interaktion mit Wirtszellen: individuell. *Biospektrum* **3**, 258-259.
- Herbst,K., Bujara,M., Heroven,A.K., Opitz,W., Weichert,M., Zimmermann,A., & Dersch,P. (2009) Intrinsic thermal sensing controls proteolysis of *Yersinia* virulence regulator RovA. *PLoS Pathogens* **5**, e1000435.
- Vlahou,G., Schmidt,O., Wagner,B., Uenlue,H., Dersch,P., Rivero,F., & Weissenmayer,B.A. (2009) Yersinia outer protein YopE affects the actin cytoskeleton in *Dictyostelium discoideum* through targeting of multiple Rho family GTPases. *BMC Microbiology* **9**, art. no. 138
- Dersch,P. & Jahn,D. (2009) Mikrobielle Genetik. In: Mikrobiologie (Munk,K., ed), Thieme, in press.

##### Twincore – HZI | Prof. Dr. Ulrich Kalinke

- Schneider,C.K. & Kalinke,U. (2008) Toward biosimilar monoclonal antibodies. *Nature Biotechnology* **26**, 985-990.
- Waibler,Z., Sender,L.Y., Kamp,C., Muller-Berghaus,J., Liedert,B., Schneider,C.K., Lower,J., & Kalinke,U. (2008) Toward experimental assessment of receptor occupancy: TGN1412 revisited. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **122**, 890-892.
- Cucak,H., Yrlid,U., Reizis,B., Kalinke,U., & Johansson-Lindbom,B. (2009) Type I interferon signaling in dendritic cells stimulates the development of lymph-node-resident T follicular helper cells. *Immunity* **31**, 491-501.
- Waibler,Z., Anzaghe,M., Frenz,T., Schwantes,A., Pohlmann,C., Ludwig,H., Palomo-Otero,M., Alami,A., Sutter,G., & Kalinke,U. (2009) Vaccinia virus-mediated inhibition of type I interferon responses is a multifactorial process involving the soluble type I interferon receptor B18 and intracellular components. *Journal of Virology* **83**, 1563-1571.
- Essers,M.A., Offner,S., Blanco-Bose,W.E., Waibler,Z., Kalinke,U., Duchosal,M.A., & Trumpp,A. (2009) IFN $\alpha$  activates dormant haematopoietic stem cells *in vivo*. *Nature*, in press.

##### Prof. Dr. Thomas Pietschmann

- Ciesek,S., Steinmann,E., Manns,M.P., Wedemeyer,H., & Pietschmann,T. (2008) The suppressive effect that myriocin has on hepatitis C virus RNA replication is independent of inhibition of serine palmitoyl transferase. *Journal of Infectious Diseases* **198**, 1091-1093.
- Jirasko,V., Montserret,R., Appel,N., Janvier,A., Eustachi,L., Brohm,C., Steinmann,E., Pietschmann,T., Penin,F., & Bartenschlager,R. (2008) Structural and functional characterization of nonstructural protein 2 for its role in hepatitis C virus assembly. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 28546-28562.
- Pietschmann,T., Steinmann,E., & Ciesek,S. (2008) Hepatitis C virus cell culture models—new perspectives for research and clinic. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* **133**, 1580-1584.
- Pietschmann,T. (2008) Regulation of hepatitis C virus replication by microRNAs. *Journal of Hepatology* **50**, 441-444.
- Steinmann,E., Brohm,C., Kallis,S., Bartenschlager,R., & Pietschmann,T. (2008) Efficient trans-encapsulation of hepatitis C virus RNAs into infectious virus-like particles. *Journal of Virology* **82**, 7034-7046.
- Haid,S., Pietschmann,T., & Pecheur,E.I. (2009) Low pH-dependent Hepatitis C Virus Membrane Fusion Depends on E2 Integrity, Target Lipid Composition, and Density of Virus Particles. *Journal of Biological Chemistry* **284**, 17657-17667.
- Haybaeck,J., Zeller,N., Wolf,M.J., Weber,A., Wagner,U., Kurrer,M.O., Bremer,J., Iezzi,G., Graf,R., Clavien,P.A., Thimme,R., Blum,H., Nedospasov,S.A., Zatloukal,K., Ramzan,M., Ciesek,S., Pietschmann,T., Marche,P.N., Karin,M., Kopf,M., Browning,J.L., Aguzzi,A., & Heikenwalder,M. (2009) A lymphotoxin-driven pathway to hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* **16**, 295-308.
- Magulski,T., Paulmann,D., Bischoff,B., Becker,B., Steinmann,E.\*., Steinmann,J., Goroncy-Bermes,P., & Steinmann,J. (2009) Inactivation of murine norovirus by chemical biocides on stainless steel. *BMC Infectious Diseases* **9**, 107.
- Mederacke,I., Wedemeyer,H., Ciesek,S.\*., Steinmann,E.\*., Raupach,R., Wursthorn,K., Manns,M.P., & Tillmann,H.L. (2009) Performance and clinical utility of a novel fully automated quantitative HCV-core antigen assay. *Journal of Clinical Virology* **46**, 210-215.
- Pietschmann,T. (2009) Full-length infectious HCV chimeras. *Methods in Molecular Biology* **510**, 347-359.
- Pietschmann,T., Zayas,M., Meuleman,P., Long,G., Appel,N., Koutsoudakis,G., Kallis,S., Leroux-Roels,G., Lohmann,V., & Bartenschlager,R. (2009) Production of infectious genotype 1b virus particles in cell culture and impairment by replication enhancing mutations. *PLoS Pathogens* **5**, e1000475.
- Pietschmann,T. (2009) Virology: Final entry key for hepatitis C. *Nature* **457**, 797-798.
- Steinmann,J., Becker,B., Bischoff,B., Paulmann,D., Steinmann,J., & Steinmann,E. (2009) Das murine norovirus – ein neues surrogatvirus für die humanen noroviren. *Hygiene + Medizin* **33**, 184-188.
- Steinmann,J., Becker,B., Bischoff,B., Paulmann,D., Steinmann,J., & Steinmann,E.\*. (2009) Alte und neue Erkenntnisse zur Virus-Wirksamkeit der Hygienischen Händedesinfektion. *Hygiene + Medizin* **34**, 32-40.
- Witteveldt,J., Evans,M.J., Bitzegeio,J., Koutsoudakis,G., Owsianka,A.M., Angus,A.G., Keck,Z.Y., Fong,S.K., Pietschmann,T., Rice,C.M., & Patel,A.H. (2009) CD81 is dispensable for hepatitis C virus cell-to-cell transmission in hepatoma cells. *Journal of General Virology* **90**, 48-58.

## Vorträge 2008-2009

### Gastvorträge am HZI

- Alexopoulos, Leonidas, Dr. *Broad exploration of signaling pathways in liver cells*; Division of Biological Engineering, Massachusetts Institute of Technology (MIT), Cambridge, MA. Cambridge, USA; 2008 December 2.
- Ammon, Andrea, Dr. *The Role of ECDC in the Prevention and Control of Infection Diseases in the EU*; European Center for Disease Prevention and Control. Stockholm, Sweden; 2009 February 13.
- Andersson, Siv, Prof. Dr. *Extreme Symbiotic Bacterial Genomes*; Dept. Molecular Evolution, University Uppsala. Uppsala, Sweden; 2009 January 23.
- Ball, Andrew, Prof. Dr. *Development of commercial bioremediation strategies for the treatment of oil tank bottoms*; Flinders University, School of Biological Sciences. Adelaide, Australia; 2009 April 28.
- Bartosch, Birke, Dr. *Hepatitis C virus host cell interactions*; Laboratoire de Physiopathologie Moléculaire et Nouveaux Traitements des Hépatites, Virales. Dardilly, France; 2009 May 13.
- Baumann, Frank, Dr. *In vivo Dissection of functional Domains of PrP: New Lessons taught by Transgenic Mice*; Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Universität Tübingen. Tübingen, Germany; 2008 December 5.
- Baumgraß, Ria, Dr. *Impaired TcR signaling promotes Treg cell differentiation - from molecular mechanisms towards clinical application*; Deutsches Rheuma-Forschungszentrum. Berlin, Germany; 2009 May 8.
- Bautsch, Wilfried, Prof. Dr. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): a hygienic problem of the entire health system*; Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Krankenhaushygiene, Städtisches Klinikum. Braunschweig, Germany; 2009 April 24.
- Becker, Christian, Dr. *Regulatory T cells: mechanism of function and selective activation*; Universitätshautklinik. Mainz, Germany; 2008 February 15.
- Benecke, Mark. *Kriminalbiologie*; International Forensic Research & Consulting., Köln 2009 March 5.
- Benham, Craig J., Prof. Dr. *Superhelically induced duplex destabilization (SIDD) in DNA, and its roles in regulation*; Dpts. of Mathematics and of Biomedical Engineering, UC Davis, USA 2009 March 26.
- Bernhard, Frank, Prof. Dr. *Protocol development for the preparative scale synthesis of difficult proteins in high quality by cell-free expression strategies*; Universität Frankfurt, Germany, 2009 June 15
- Blankenstrein, Thomas, Prof. Dr. *The immune response to sporadic cancer*; Max-Delbrück-Centrum, Dept. of Molecular Immunology and Gene Therapy. Berlin, Germany; 2008 February 1.
- Bocharov, Gennady, Prof. Dr., *Mathematical Modelling of Experimental Virus Infections*; University of Moscow, Russia, 2009 May 7.
- Böhm, Markus. *Illumina Genome Analyzer Powered by Solexa Sequencing. Basic principle of technology, system components, workflow, applications, outlook*; Fa. Illumina. 2008 February 13.
- Bollati, Mariela, Dr. *Screening of compounds affecting type I IFN activities*; Cellular Biology Unit, Inst. Pasteur de Montevideo. Montevideo, Uruguay; 2008 November 3.
- Bradke, Frank, Dr. *Intracellular Mechanisms of Axonal Growth and Regeneration*; Max-Planck-Institut für Neurobiologie; Martinsried, Germany; 2009 Sep 18.
- Bryceson, Yenan, Dr. *Triggering and mechanisms of NK cell-mediated cytotoxicity*; Center for Infectious Medicine (CIM), Karolinska Institute. Stockholm, Sweden; 2009 April 24.
- Bröker, Barbara M., Prof. Dr. *The antibody response against Staphylococcus aureus in health and disease*; Abt. für Immunologie, Universität Greifswald. Greifswald, Germany; 2009 May 15.
- Camp, David, Dr. *A natural toolbox for the HTS paradigm*; Queensland Compound Library, Eskitis Institute, Griffith University. Nathan, Queensland Australia; 2008 May 28.
- Cantz, Tobias, Dr. *Stem Cell Biology: New Applications for Studying Hepatic Diseases*; MPI. Münster, Germany; 2008 August 22.
- Caruso, Arnaldo, Prof. Dr. & Fiorentini, Simona, Prof. Dr. *Development of a therapeutic anti-AIDS vaccine / Functions of the HIV-1 matrix protein p17*; University of Brescia, Italy, 2009 June 18
- Dalpke, Alexander, Prof. Dr. *Regulation of local immunity by airway epithelial cells*; Dept. of Hygiene and Medical Microbiology, Universität Heidelberg. Heidelberg, Germany; 2008 April 25.
- Dersch, Petra, Dr. *Regulating yersinia virulence: Environmental sensing on the post-transcriptional level*; Technische Universität . Braunschweig, Germany; 2008 Sep 12.
- DeSalle, Robert, Dr. *How evolutionary Trees are made, what they mean and how they have advanced modern evolutionary Thought*; The American Museum for Natural History. New York, USA; 2008 December 12.
- Dübel, Stefan, Prof. Dr. *Engineering the front and far ends of human antibodies to generate novel protein therapeutics*; TU Braunschweig, Inst. für Biochemie und Biotechnologie. Braunschweig, Germany; 2008 March 28.
- Déglon, Nicole, Dr. *Gene Transfer Approach for the Modeling and Treatment of Neurodegenerative Diseases*; Atomic Energy Commission, Inst. of Biomedical Imaging Research Center. Orsay, France; 2008 October 10.
- Drosten, Christian, Prof. Dr. *Bats as a potential source of multiple human-pathogenic viruses*; Insitut für Virologie, Univ. Bonn. Bonn, Germany; 2009 Sep 4.
- Fiorentini, Simona, Prof. Dr. *Functions of the HIV-1 matrix protein p17*; University of Brescia. Brescia, Italy; 2009 Jun 18.
- Fry, Jeremy, Dr. *Rapid CD4+ and CD8+ T cell epitope discovery and validation*; Prommune. 2008 May 20.
- Gessner, André, Prof. Dr. *Inflammation and anti-bacterial defense in Lyme disease*; University Clinic of Erlangen, Institute of Microbiology. Erlangen, Germany; 2008 May 28.
- Gil, Jesus, Dr. *Senescence. protecting us from all the wrong things*; Imperial College, Faculty of Medicine, Hammersmith Hospital. London, UK; 2009 Nov 6.
- Goemann, Alexander, Dr. *Bioinformatics Support and Software Development for Genome and Metagenome Analysis based on Ultrafast Sequencing*; Computational Genomics, Universität Bielefeld. Bielefeld, Germany; 2009 Sep 18.
- Groll, Michael, Prof. Dr. *Natural and synthetic inhibitors of the 20S proteasome: Crystallographic knowledge in drug design strategies*; TU München. München, Germany; 2008 April 7.

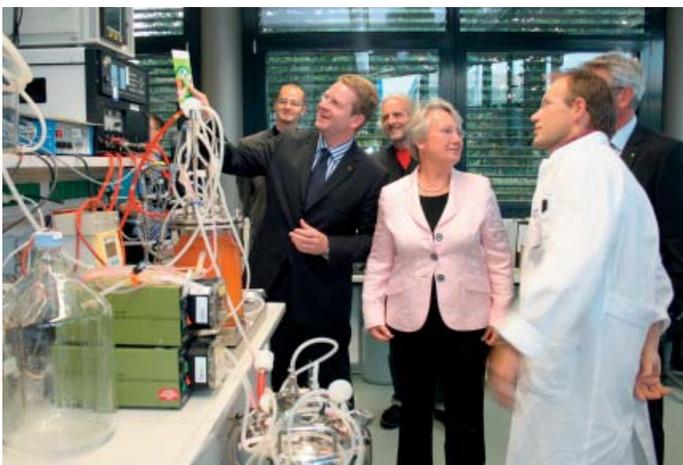
- Gurgel, Patrick, Dr. *Removal of prion infectivity from blood and plasma products using affinity ligands*; Prometic Biosciences Inc., Raleigh, North Carolina, USA; 2009 December 16.
- Hall, Brian. *Imaging Flow Cytometry*; Amnis Corp. 2008 September 22.
- Hallsworth, John, Dr. *Water: microbial-cell interactions: limits of life in hostile environments*; Queen's University, Belfast. Belfast, Ireland; 2009 Sep 23
- Hanski, Emanuel, Prof. Dr. *Regulation of streptococcal virulence by the autoinducer peptide*; Dept. of Clinical Microbiology, The Hebrew University Hadassah Medical School. Jerusalem, Israel; 2008 May 16.
- Hebenstreit, Daniel, Dr. *Histone modifications in T helper cells*; MRC Cambridge. Cambridge, UK; 2009 March 24.
- Helenius, Ari, Prof. Dr. *How viruses enter their host cell*; ETH Zürich. Zürich, Switzerland; 2009 Sep 10.
- Höfer, Thomas, Dr. *Nonlinear Dynamics of Gene Regulatory Circuits in T Helper Cell Differentiation*; DKFZ. Heidelberg, Germany; 2008 November 7.
- Hoffmann, Ralf, Prof. Dr. *Design of novel peptidomimetics with a broad activity spectrum for in vivo treatment of Gram-negative pathogens*; Institute of Bioanalytical Chemistry, University of Leipzig, Germany, 2009 June 19.
- Honigman, Alik, Prof. Dr. *CREB, Hypoxia and Tumorigenesis; Out of Breath is not out of Function*; Faculty of Medicine, The Hebrew University. Jerusalem, Israel; 2008 October 7.
- Ivics, Zoltan, Dr. *Relics from the past: molecular biology and applications of resurrected vertebrate transposons*; Max Delbrück Center for Molecular Medicine. Berlin, Germany; 2009 February 17.
- Joost, Insa, Dr. *Adhesion, Inflammation and Survival: The multifaceted interactions of S. aureus Eap protein in endovascular*; Inst. für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum des Saarlandes. Homburg, Germany; 2008 April 7.
- Kaaks, Rudolf, Prof. Dr. *Development and uses of large prospective cohorts with bio-repositories; the example of the 'EPIC' study*; German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany. 2008 March 17.
- Kaderali, Lars, Dr. *Reconstructing Regulatory and Signalling Networks from High-Throughput Data*; Deutsches Krebsforschungszentrum . Heidelberg, Germany; 2008 November 21.
- Kalinke, Ulrich, Prof. Dr. *Type I interferons in viral infection, tumor disease and autoimmunity*; Twincore. Hannover, Germany; 2008 September 12.
- Keppler, Oliver, Dr. *Catch me if you can: The impact of the intrinsic immunity factor CD317/tetherin and of an integrase inhibitor on HIV*; Dept. of Virology, University of Heidelberg. Heidelberg, Germany; 2009 Jul 1.
- Kioussis, Dimitris, Dr. *Common regulatory mechanisms in lymphoid and neuronal organogenesis*; MRC National Institute for Medical Research. London, U.K.; 2009 Sep 17.
- Klavonn, Frank. *How to analyze data obtained from high throughput technologies?*; Fachhochschule Braunschweig/Wolfenbüttel. Wolfenbüttel, Germany; 2009 April 3.
- Klump, Hannes, Dr. *Embryonic stem cell-derived hematopoiesis mediated by HOXB4*; Institut für Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Essen. Essen, Germany; 2009 Oct 30.
- Koegl, Manfred, Dr. *Applying automated Yeast two-hybrid screening: About nuclear receptors and host-pathogen interactions*; Translational Research, and Genomics and Proteomics Core Facility, German Cancer Research Center. Heidelberg, Germany; 2008 July 18.
- Kolmar, Harald, Prof. Dr. *Serendipity, design and evolution: Towards novel miniproteins with anti-infective and therapeutic potential*; TU Darmstadt. Darmstadt, Germany; 2009 April 6.
- Köster, Reinhard, Dr. *Bridging cell biology and development genetics: Bio-imaging of neuronal migration in the developing zebrafish cerebellum*; Helmholtz Zentrum München. München, Germany; 2008 February 21.
- Kretschmer, Karsten, Prof. Dr. *Molecular and cellular aspects of regulatory T cell generation*; Dana-Faber Cancer Institute und Center for Regenerative Therapies (CRT). Boston und Dresden; 2008 February 8.
- Kues, Wilfried, Dr. *Reprogramming events in early mammalian embryos are reflected by circular plasmid encoded marker genes*; Friedrich-Loeffler-Institut für Nutztiergenetik. Mariensee, Germany; 2008 October 21.
- König, Renate, Dr. *HIV'S Journey to the Nucleus - Discovering Host Factors by High-throughput Systems-based Analysis*; Burnham Institute for Medical Research. San Diego, USA; 2008 October 31.
- Laible, Goetz, Dr. *Biopharming in dairy cattle: Production of valuable proteins in milk*; AgResearch, Ruakura Research Centre. Hamilton, New Zealand; 2008 September 2.
- Leier, André, Dr. *Methods and challenges in modeling cellular signaling pathways - Examples from Hes1, mTOR and IFN pathways*; Dept. of Biosystems Science & Engineering, ETH Zürich. Zürich, Switzerland; 2009 May 18.
- Leong, John, Dr. *Actin up; pedestal formation by pathogenic E. coli*; University of Massachusetts. Worcester, USA; 2008 November 12.
- Li, Yin, Prof. Dr. *Understanding the probiotic effect of Lactobacillus through genomics*; Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences (CAS), China 2008 February 14.
- Ljunggren, Hans-Gustaf and Malmberg Kalle, Drs. *New insights into the activation and inhibition of human NK cells*; Karolinska Institute, Centre of Infectious Medicine. Stockholm, Sweden; 2009 May 11.
- Lohmann, Volker, Dr. *Viral and host factors governing hepatitis C virus replication*; Heidelberg, Germany; 2008 May 11.
- Ludwig, Stephan, Prof. Dr. *Virus-supportive functions of NF-kappaB in influenza A virus infected cells*; Institute of Molecular Virology. Münster, Germany; 2009 Aug 21.
- Machner, Matthias, Dr. *How the intravacuolar pathogen Legionella pneumophila exploits host cell Rab GTPase function*; Tufts University School of Medicine, Dept. of Molecular Biology and Microbiology. Boston, USA; 2008 February 5.
- Majumdar, S. , Dr. *Development of an easily adaptable death-less techniques for generating transgenic mice*; Deivision of Embryo Biotechnology, National Institute of Immunology. New Delhi, India; 2008 November 3.
- Marquez Lago, Tatiana, Dr. *Stochastic modeling of an tunable synthetic mammalian oscillator*; Dept. of Biosystems Science & Engineering, ETH Zürich. Zürich, Switzerland; 2009 May 18.
- Matthews, Brian, Prof. Dr. *Structure isn't everything but sure helps*; University of Oregon, Eugene, USA, 2009 June 22.
- Monini, Paolo, Dr. *HIV-protease inhibitors: new drugs for treating cancer?*; Istituto Superiore di Sanita Rom (Div. of Virus-Host Interaction and Core-Laboratory of Immunology, National AIDS Center). Rom, Italia; 2009 Aug 4.
- Müller, Arno, Dr. *Coordination of Cell Movement by Fibroblast Growth Factor Signaling in the Drosophila Embryo*; University of Dundee. Dundee, United Kingdom; 2008 November 27.
- Müller, Christian D., Dr. *Discovery by High Content Screening of new molecular tools to study the "hot" link between inflammation and cancer*; Institut Gilbert Laustriat, Université Louis Pasteur-Strasbourg. Straßburg, France; 2008 December 11.
- Noll, Thomas , Prof. Dr. *Functional genomics as a tool for cell culture process development*; University of Bielefeld, Cell Culture Technology. Bielefeld, Germany; 2008 March 7.

- Pasupuleti, Mukesh, Dr. *Structure and functional studies of antimicrobial peptides*; Center for Innate Immunity, Lund University. Lund, Sweden; 2009 May 13.
- Peschel, Andreas, Prof. Dr. *Staphylococcus aureus colonization, infection and immune evasion*; University of Tübingen, Tübingen, Germany, 2009 May 27.
- Pessler, Frank, Dr. *Transcript Profiling of Crystal-Induced Inflammation and Innate Immunity in a Minimal Tissue*; Twincore, Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung GmbH. Hannover, Germany; 2008 November 10.
- Philipp, Bodo, Dr. *Cell-cell interaction of Pseudomonas aeruginosa*; University of Konstanz, Konstanz, Germany, 2009 May 7.
- Piehler, Jacob, Prof. Dr. *Dynamics of the type I interferon receptor complex: Biophysical analysis and functional implications*; Johann Wolfgang Goethe University . Frankfurt, Germany; 2008 May 16.
- Preissner, Klaus, Prof. Dr. *Inflammation, degeneration and defence in the cardio-pulmonary system: new players, new games*; University of Gießen. Gießen, Germany; 2009 March 12.
- Prusov, Evgeny, Dr. *Drug Candidates from the Sea: Total Synthesis of Natural Products with Potential Anticancer Activity*; ETH Zürich, Institute of Pharmaceutical Science . 2009 Oct 13.
- Quentmeier, Hilmar, Dr. *JAK2V617F activating mutation and silencing of JAK inhibitor SOCS2 pathogenic mechanisms for myeloproliferative disorders*; DSMZ. Braunschweig, Germany; 2008 May 30.
- Rausch, Sebastian, Dr. *Tregs control pathology and effector responses induced by an intestinal nematode infection*; Institut für Biologie, Lehrstuhl für Molekulare Parasitologie, Humboldt-Universität zu Berlin. Berlin, Germany; 2009 April 17.
- Rippe, Karsten, Dr. *Dissecting epigenetic networks for making and maintaining heterochromatin*; Deutsches Krebsforschungszentrum & Bioquant, Univ. Heidelberg. Heidelberg, Germany ; 2009 Oct 2.
- Röhrs, Sonja, Dr. *Epigenetic alterations in lymphomas*; DSMZ. Braunschweig, Germany; 2008 June 10.
- Rudolph, Lenhard, Prof. Dr. *Teleomeres, stem cells and aging*; Institute of Molecular Medicine and Max-Planck Research Group; University of Ulm, Ulm, Germany, 2009 June 12
- Saftig, Paul , Prof. Dr. *An acidic life: Lysosomes in health and (infection)-disease*; University of Kiel. Kiel, Germany; 2008 May 16.
- Sarkar, Arup, Dr. *Multiple facets of neutrophil apoptosis modulation by intracellular pathogens: Anaplasma phagocytophilum, Chlamydia pneumoniae and Leishmania major*; Institute for Medical Microbiology and Hospital hygiene at the University of Lübeck. Lübeck, Germany; 2009 Sep 7.
- Schambach, Axel, Dr. *From retroviral biology to retroviral therapy*; MHH Hannover. Hannover, Germany; 2008 February 12.
- Schmitt, Manfred, Dr. *High-Throughput Integration Site Analyses by (Non-Restrictive)*; Nationales Zentrum für Tumorerkrankungen, DKFZ . Heidelberg, Germany; 2009 Nov 11.
- Schwab, Martin, Prof. Dr. *Repair of the injured spinal cord or brain: A biomedical approach*; Brain Research Institute, University of Zürich and ETH Zürich, Zürich, Switzerland, 2008 June 25.
- Schwille, Petra, Prof. Dr. *Creating to understand: The Virtues of bottom-up Biology*; Institut für Biophysik, TU Dresden. Dresden, Germany; 2009 February 6.
- Sensen, Christoph, Prof. Dr. *From 2D to 4D bioinformatics*; Dept. Biochemistry and Molecular Biology, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada, 2008 January 24 .
- Sixt, Michael, Dr. *Cytoskeletal dynamics of chemotactic leukocytes*; Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried. Martinsried, Germany; 2009 Aug 31.
- Skokowa, Julia, Dr. *Congenital neutropenia – What can we learn from this disorder of hematopoiesis for myeloid differentiation and leukemogenesis*; Molekulare Hämatopoese, MHH. Hannover, Germany; 2009 Sep 25.
- Söll, Dieter, Prof. Dr. *The genetic code revisited: Four decades after Francis Crick*; Yale University, USA. 2008 November 10.
- Steinert, Michael, Prof. Dr. *Die Legionärskrankheit: Ein Bakterium geht fremd*; TU Braunschweig. Braunschweig, Germany; 2008 December 10.
- Stockinger, Silvia, Dr. *Synthesis of type I interferons in mice cells infected with Listeria monocytogenes*; MHH Hannover, Germany; 2009 Oct 16.
- Trauner, Dirk, Prof. Dr. *Pericyclic Reactions in Natural Product Synthesis*; Ludwig-Maximilians-Universität, Dept. Chemie und Biochemie. München, Germany; 2008 November 28.
- Uphoff, Cord . *The neglected menace of mycoplasma contamination of cell cultures*; DSMZ. Braunschweig, Germany; 2008 May 20.
- Vallan, Claudio, Dr. *Flow Cytometry Analysis*; Celeza GmbH, Germany, 2008 March 6.
- Van der Gast, Christopher, Dr. *Spatial and temporal scaling of bacterial taxa*; NERC Centre for Ecology and Hydrology. Oxford/UK; 2008 February 20.
- van der Linden, Mark, Dr. *Effekte der generellen Pneumokokken-Impfempfehlungen auf die Epidemiologie der invasiven Pneumokokken-Erkrankungen*; Universitätsklinikum Aachen. Aachen, Germany; 2009 Jul 10.
- Vock, Dr. *New Concepts for Medicinal chemistry based on Natural Products, Organic and Bioinorganic Chemistry*; University of Saarbrücken. Saarbrücken, Germany; 2009 Sep 23.
- Welte, Tobias, Prof. Dr. *Networks of Excellence - Results and Advantages for Translational Research*; Medizinische Hochschule Hannover. Hannover, Germany; 2008 July 4.
- Wendt, Ulrich, Dr. *Biostructural Research in drug Discovery*; Sanofi-Aventis GmbH, Frankfurt, Germany, 2008 January 11.
- Wessler, Silja, Dr. *Heliobacter pylori: Disruption of the epithelial barrier function*; Paul-Ehrlich-Institut, Berlin, Germany, 2009 May 29.
- Wienands, Jürgen, Prof. Dr. *Activation signals for naive and class-switched memory B cells*; Cellular and Molecular Immunology, Georg-August-University. Göttingen, Germany; 2009 Nov 13.
- Wiltling, Jörg, Prof. Dr. *Development and malformation of lymphatic vessels*; Universitätsmedizin Göttingen. Göttingen, Germany; 2008 April 8.
- Winkler, Thomas, Prof. Dr. *Protective antibody responses by virus specific memory B cells*; Universität Erlangen, Lehrstuhl für Genetik, Inst. für Mikrobiologie, Biochemie und Genetik. Erlangen, Germany; 2008 January 18.
- Wittinghofer, Alfred, Prof. Dr. *Nucleotide-dependent molecular switches and how they function*; Max Planck Institute of Molecular Physiology. Dortmund, Germany; 2008 December 3.
- Wittmann, Valentin, Prof. Dr. *Combinatorial approaches to probe carbohydrate-protein and carbohydrate-RNA interactions*; Department of Chemistry, University of Konstanz. Konstanz, Germany; 2008 February 22.
- Yusibov, V. M., Dr. *Plant based production of vaccine antigens*; Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology. Newark / Delaware, USA; 2008 December 4.
- Zeilinger, Carsten, Dr. *Development of functional assays with ion channels als targets – from bench to appliance*; Institute of Organic Chemistry, Leibniz University Hannover. Hannover, Germany; 2009 February 20.

Eindrücke vom...



... HZI-Sommerfest 2009 Fotos: HZI



...Besuch der Bundesministerin für Bildung und Forschung, Frau Schavan, im HZI Fotos: HZI



... HZI-InWEnt-Berlin Workshop, Oktober 2009 Foto: HZI



*Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Eva Zimmermann erklärt IT-Programme Schülerinnen und Schülern während des Zukunftstags am HZI | Diskussion während eines Besuchs des Indischen Gesundheitsministers und seiner Delegation mit HZI Wissenschaftlern und Politikern im HZI FORUM | Während eines Workshops über Technologietransfer und Arbeiten in Netzwerken in Biotechnologie. Der Workshop wurde von HZI, InWEnt und BPPT organisiert und fand im BPPT-Gebäude in Jakarta, Indonesien, statt. | Fotos: HZI, Krämer (li) | HZI, Krämer (mi) | HZI, Jonas (re)*





## Zahlen und Fakten

Prof. Dr. Rainer Jonas | Abteilung für Wissenschaftliche Information | rjo@helmholtz-hzi.de

Das Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung (HZI) 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 Namen „Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH“ (GBF) übernommen. Seit dem erfolgt die Finanzierung durch das BMFT/BMBF sowie dem Land Niedersachsen im Verhältnis 90:10. Seit 2002 wurde der Forschungsschwerpunkt auf das Gebiet der Infektionsforschung verlegt. Konsequenterweise erfolgte im Jahr 2006 die Umbenennung in Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung.

**Forschungsfinanzierung** Die Gesamtausgaben des HZI betragen im Jahr 2008 54,4 Mio €, wovon über 75%, 41,8 Mio €, in das Programm „Infektion und Immunität“ investiert wurden.

**Drittmittel Einwerbung** Mehr als 75% der Drittmittel kamen aus nationalen F&E-Programmen. Etwa 11% der Drittmittel konnten aus EU-Programmen eingeworben werden, während aus der Industrie 6% kamen.

### Kosten nach Programmen (in T€)

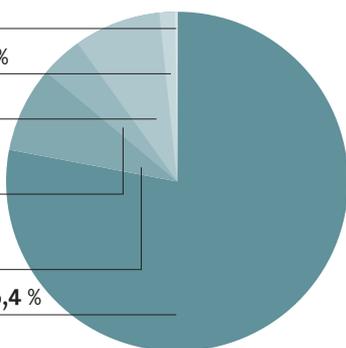
Forschungsbereich	Programm	Vollkosten
Gesundheit	Infektion und Immunität	41 586
	Genom- und Gesundheitsforschung	2 207
Umwelt und Gesundheit	Gene, Umwelt und Gesundheit	5 253
Technologie-Transfer		802
Sonderaufgaben		4 442
Sonstiges		140
<b>Gesamtsumme</b>		<b>54 430</b>

### Drittmittelfinanzierung (in T€)

Herkunft	Vollkosten
BMBF	7 747.91
DFG	2 620.75
EU	1 834.02
Industrie	995.55
HGF	2 403.21
Niedersachsen	249.64
Sonstige	813.31
<b>Gesamtsumme</b>	<b>16 664.38</b>

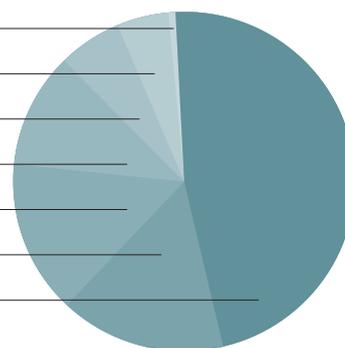
### Vollkosten 2008

Sonstiges **0,2 %**  
 Technologie-Transfer **1,5 %**  
 Sonderaufgaben **8,2 %**  
 Genom- und Gesundheitsforschung **4 %**  
 Gene, Umwelt und Gesundheit **9,7 %**  
 Infektion und Immunität **76,4 %**



### Drittmittelfinanzierung 2008 – nach Herkunft

Niedersachsen **1,5 %**  
 Sonstiges **4,9 %**  
 Industrie **6,0 %**  
 EU **11,0 %**  
 HGF **14,4 %**  
 DFG **15,7 %**  
 BMBF **46,5 %**



**Patente / Lizenzen** Im Jahr 2008 wurden 11 Patente angemeldet, davon 10 im Ausland. Alle Patentanmeldungen kamen aus dem Bereich „Gesundheitsforschung“.

**Patente und Lizenzen, Berichtsjahr 2008**

	Insgesamt	Deutschland	
Prioritätsbegündete Anmeldungen (2008)	11	1	10
Bestand der lebenden Patentfamilien	96	43	53
Erteilte Patente (2008)	130	9	121
Gesamtbestand erteilter Patente u. lebender Patentfamilien	523	47	476
Lizenzvereinbarungen, Gesamtbestand	368	26	342
Lizenzentnahmen* (in T€)	500	140	360

\* einschließlich Einnahmen aus sonstigen „Know-how“-Verträgen

**Veröffentlichungen, Berufungen, DFG-Programme, und Gastwissenschaftler** Das HZI konnte seine Bedeutung durch hervorragende internationale Veröffentlichungen in den letzten Jahren weiter steigern. Eine Reihe von Aufsätzen wurden in den weltweit anerkannten Zeitschriften der Science- und Nature-Gruppe publiziert (Näheres siehe unter der Rubrik „Veröffentlichungen“ im Abschnitt „Wissenschaftlicher Ergebnisbericht“).

Viele HZI-Wissenschaftler sind an wichtigen nationalen wie internationalen Forschungsprogrammen beteiligt.

**Teilnahme von HZI-Wissenschaftlern an bedeutenden nationalen und internationalen Forschungsprogrammen**

DFG (Deutsche Forschungsgesellschaft)	
SFB 431	Membranproteine
SFB 566	Zytokinrezeptoren
SFB 578	Vom Genom zum Produkt
SFB 587	Lungenimmunität
SFB 599	Dauerimplantate
SFB 621	Pathobiologie der Darmmucosa
SFB 738	Optimierung konventioneller und innovativer Transplante
SSP 1150	Signalwege zu Zytoskelett und bakterieller Pathogenität
SSP 1160	Kolonisierung und Infektion durch humanpathogene Pilze
SSP 1230	Bakterielle DNA-Vektoren
Exzellenzcluster 42	REBIRTH
FOR 119	Leberzellkarzinom
FOR 471	Zelldifferenzierung
FOR 629	Antikörper und Proteinanalyse

BMBF	
Grundforschung Genomforschung	Candida Therapie
Grundforschung Genomforschung	Tuberkulose Therapie
ERA-Net	SPATELIS
FORSYS	Stoffwechselbilanz in <i>E. coli</i>
FORSYS	„T cell Talk“
Genomic Genomic	Metagenom von Biofilmen <i>Sorangium cellulosum</i>
MEDSYS	Jekyll & Hyde
MEDSYS	BioInSys
NGFN II	Infektion und Entzündung
NGFN II	Ökologische Genome
NGFN II	Säugetiermodelle
NGFN II	Protein
NGFN II	DNA
NGFN II	Zellen
NGFN II	Antikörperfabrik
NGFN Plus	Deutsche Mauslinik
NGFN Plus	Adipositas Netzwerk
Suszeptibilität & Resistenz	SkinStaph
Suszeptibilität & Resistenz	PROGRESS
Suszeptibilität & Resistenz	Resistenz und Empfindlichkeit
Zoonosen / Systembiologie	SysMo
Zoonosen / Systembiologie	ZooMAP
Zoonosen / Systembiologie	PBA-Zoo
Zoonosen / Systembiologie	Influenza

Quantitative Parameter	Art	2006	2007	2008
Veröffentlichungen	Veröffentlichungen in ISI-registrierten Zeitschriften	247	240	205
	Aufsätze, Peer-reviewed, in nicht-ISI-Zeitschriften	7	10	5
	Bücher, sonstige Veröffentlichungen	18/3	9	4
	<b>Gesamtzahl</b>	<b>275</b>	<b>259</b>	<b>214</b>
Habilitationen		0	3	2
Dissertationen		15	25	40
Doktoranden		97	181	219
Berufungen (W2/W3)	Berufungen an Universitäten	4	5	4
Spezielle DFG-Programme	DFG-SFBs, Transregios, Exzellenzcluster	6	8	8
	DFG-Research Focus	5	4	2
	Graduiertenkollegs	3	3	3
	<b>Gesamtzahl</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>13</b>
Gastwissenschaftler		132	121	98

EU Rahmenprogramme	
CA	CASIMIR
CP	FAST-XDR-DETECT
CP	FLUINHIBIT
CP	BACSIN
CSA	TARPOL
Infrastruktur	EATRIS
Infrastruktur	Infrafrontier
Infrastruktur	ProteomeBinders
Marie Curie IOF	APPI
Marie Curie EST	MIDITRAIN
Marie Curie RTN	IMDEMI
NoE	Marine Genome
NoE	EUROPATHOGENOMICS
NoE	MUGEN
NoE	CliniGene
NEST	PROBACTYS
NEST	EMERGENCE
STREP	Gesundes Wasser
STREP	ASSIST
STREP	EPI-VECTOR
STREP	FPLFEX
STREP	Neue Mittel gegen TB
STREP	Fastest TB
STREP	PANFLUVAC

Graduiertenkollegs	
Int. Doktorandenprogramm	„Infektionsbiologie“
Marie Curie Graduiertenkolleg	„MIDITRAIN“
Int. Graduiertenkolleg	„Molekularkomplexe“
DFG-Graduate School GRK 653	„Pseudomonas“
DFG-Graduiertenkolleg GRK1273	„Chronische Infektionen“

**Technologie-Transfer** Im HZI besteht ein großes Potenzial an der Entwicklung innovativer Produkte, Verfahren und Dienstleistungen, insbesondere in Kooperation mit industriellen Partnern. Ein wichtiges Ziel des HZI ist es daher, die im Rahmen der Forschung erbrachten Ergebnisse durch Technologietransfer zur Anwendung zu bringen. Deshalb sind für das HZI Ausgründungen von Firmen, Lizenzvergabe, Service und Dienstleistungen im Rahmen von Industriekooperationen wichtige Parameter für die Umsetzbarkeit ihrer F&E-Ergebnisse. Aus diesem Grund ist das HZI Mitglied in Vereinigungen wie BioRegion und dem Transferkolleg Biotechnologie e.V..

**Der HZI-Wissenschafts Campus** Im Jahr 2006 begann das HZI mit dem Bau eines zweiten größeren Maushauses, um in Zukunft das Mausmodell noch besser für die Untersuchung von Infektionsmechanismen nutzen zu können. Das Gebäude verfügt über ein besonderes Hochsicherheitslabor für Erreger der biologischen Sicherheitsklasse 3 und bietet Platz für die Zucht und Haltung von 25000 Mäusen. Es wurde am 27. August 2009 feierlich eingeweiht.

**Technologieverwertung** Seit 2002 bietet die *Ascension GmbH* ihre Dienste in erster Linie vier Zentren der Helmholtz-Gemeinschaft im Bereich Gesundheitsforschung, DKFZ, GSF, HZI und MDC, an. Die Hauptgeschäftsstelle befindet sich in München, ein Büro mit zwei ständigen Mitarbeitern auf dem HZI-Campus.

**Die Ascension GmbH übernimmt folgende Aufgaben für das HZI:**

- Erfindungsakquisition und Erfindungsbetreuung am HZI
- Technologiebewertung und Schutzrechtsanmeldung
- Konzeption von Verwertungsstrategien für angemeldete bzw. erteilte Schutzrechte mit NPV (Net Present Value) Berechnung

**Biotech-Messe auf dem HZI-Gelände** Zum 5. Mal organisierte die Firma OMNILAB eine kleine Biotech-Messe mit Symposium am 18. 9.2008 im HZI-FORUM. Unterstützt wurde die Messe von HZI und DSMZ. Über 60 Aussteller zeigten ihre Produkte, die großen Forschungsinstitutionen der Region waren vertreten und mehr als 550 Besucher, ein neuer Rekord, aus der Region Braunschweig – Hannover – Magdeburg waren anwesend. Mehr als 220 Personen nahmen an den 16 Vorträgen zu neuen biotechnologischen Entwicklungen teil. Die nächste Messe ist für den 16.9.2010 geplant.



Eindrücke während der von OMNILAB organisierten Biotech-Messe im HZI Forum im September 2008 Foto: OMNILAB

**ASAG-BioTech-Netzwerk** Die Internetplattform des ASEAN-South American-German Biotechnetwork ([www.asag-biotech.net](http://www.asag-biotech.net)) wurde mit Beginn des Jahres 2008 neu gestaltet. Es ist jetzt möglich die meisten Institute in Deutschland im Bereich Biotechnologie *sensu lato* über Stichworteingabe zu finden. Außerdem kann man auch jeweils über 100 Institute in Lateinamerika und Südostasien dort finden und nach Industrien und Events suchen. Die Plattform gibt direkten Zugang zu den Seiten der wichtigsten deutschen Wissenschaftseinrichtungen, von Stipendiengernern und von „Calls“ zur Forschungsförderung. Die Publikationsdatenbanken der Helmholtz-Einrichtungen, mehrere Patentdatenbanken und die Seiten von

Universitätsbibliotheken können gefunden werden. Durch eine Kooperation mit dem Internationalen Büro Bonn kann man auch auf viele Seiten dieser Organisation zugreifen. In 2008 organisierte das HZI zusammen mit InWEnt mehrere Workshops zum Thema „Arbeiten in Netzwerken“ sowie „Technologie-Transfer“ in Bangkok, Hanoi, Jakarta, Kuala Lumpur, Manila und São Paulo. Diese wurden mit Ausnahme der Jakarta und São Paulo Workshops durch das MWAV, Hannover, finanziert.



Die Teilnehmer des InWEnt-HZI-Kurses 2008/9 für Industrielle Biotechnologie vor dem Reichstagsgebäude in Berlin. Der Hauptanlass dieses Besuchs in Berlin war, Einblicke in die Arbeit des Bundestages durch eine Diskussion mit der Braunschweiger Bundestagsabgeordneten, Dr. Carola Reimann, die auch Biotechnologin ist, zu bekommen. Foto: HZI, Jonas

**Tag der Offenen Tür am HZI** Am Samstag, den 9. Mai 2009, öffnete das HZI seine Pforten für die Bevölkerung, um den Gästen vor Ort die Aktivitäten des Zentrums zu zeigen. Über 1400 Besucher aus der Region nutzten die Gelegenheit, sich detailliert über Infektionen, Impfstoffe, Biofilme u.v.a. zu informieren.



Prof. Kalesse zeigt Schülern, was man mit flüssiger Luft machen kann. Foto: HZI, Gramann

**Krippenbetreuung und Kindergarten** Seit August 2006 bietet das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Kooperation mit der Kita Sterntaler in Braunschweig-Stöckheim Krippenbetreuung für Kinder ab einem Jahr von 8.00 bis 17.00 Uhr an. Am Ende des Jahres 2008 besuchten 11 Kinder die Kita, davon 4 die Krippe und die übrigen den Kindergarten.

**Initiative „Haus der kleinen Forscher“** Seit Februar 2008 führen 2-3 Doktoranden einmal im Monat kleine anschauliche Experimente im Kindergarten Sterntaler durch. Insgesamt 10 Doktoranden sind an diesem Programm beteiligt. Die Kinder bekommen so spielerisch Einsicht in die Welt der Naturwissenschaften.

**Audit „berufundfamilie“** Der erste Jahresbericht zum Audit „berufundfamilie“ wurde am 25. November 2008 präsentiert. Seit dem 1. Januar 2009 gibt es ein Büro dafür am HZI. Die Möglichkeit einer Kinder-Notfall-Unterbringung von Kindern von HZI-Mitarbeitern wurde damit ermöglicht.

**Helmholtz-Mentorenprogramm 2007/2008** Am 29. April 2008 fand die Abschlussveranstaltung des 3. Helmholtz-Mentorenprogramms in Köln statt. Das 4. Programm begann einen Monat später. Von Seiten des HZI sind eine Mitarbeiterin als „Mentee“ sowie 3 Mentorinnen und 1 Mentor beteiligt. Bislang haben seitens des HZI 7 „Mentees“ und 9 MentorInnen teilgenommen.

**Zukunftstag für Mädchen und Jungen** In 2008 und 2009 haben jeweils 78 Schülerinnen und Schüler zwischen 12 und 16 Jahren aus den unterschiedlichsten Schulformen das HZI am Zukunftstag besucht. In 2008 waren es 49 Mädchen und 29 Jungen, während es in 2009 43 Mädchen und 35 Jungen waren.



Mädchen und Jungen sind sehr neugierig zu lernen, was das HZI in der Forschung macht. Foto: HZI, Krämer

**Personal** Der Personalstand betrug am 31.12.2008 insgesamt 639 Personen in Voll- und Teilzeitbeschäftigung. Hinzu kamen 178 Gastwissenschaftler in verschiedenen Projekten, deren Bezahlung aus Drittmitteln außerhalb des HZI erfolgte. Neben 103 „Senior“-Wissenschaftlern waren 219 Doktoranden fast 100 Gastwissenschaftler und 18 Ingenieure am HZI beschäftigt.

**Organe und Gremien des HZI** Die Organe des HZI sind die Gesellschafterversammlung, der Aufsichtsrat, das Wissenschaftliche Komitee und die Geschäftsführung.

**Gesellschafterversammlung** In der Gesellschafterversammlung sind die beiden Gesellschafter des HZI, die Bundesrepublik Deutschland und das Land Niedersachsen, 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 des Zentrums.

**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 des HZI.

**Geschäftsführer** Prof. Dr. Rudi Balling hat als Wissenschaftlicher Geschäftsführer seit 2001 kontinuierlich das HZI von der GBF als biotechnologisch ausgerichteten Forschungsanstalt in ein auf Infektionsforschung fokussiertes Helmholtz-Zentrum gewandelt. Dadurch hat er nicht nur das HZI, sondern auch die gesamte Region maßgebend geprägt. Seit dem 01.09.2009 ist Prof. Dr. Rudi Balling als Direktor des Luxembourg Centre for Systems Biomedicine an die Universität Luxemburg gewechselt. Seitdem leitet Prof. Dr. Jürgen Wehland das HZI als Wissenschaftlicher Geschäftsführer.



*Der bisherige Administrative Geschäftsführer Dr. Georg Frischmann (li) und der zukünftige Administrative Geschäftsführer Ulf Richter (re). Fotos: HZI*

Dr. Georg Frischmann hat in den vergangenen dreizehn Jahren als Kaufmännischer Geschäftsführer die Verwaltung des HZI neu strukturiert und zu einer Serviceeinheit für die Wissenschaft transformiert. Zum 01.11.2009 ist Dr. Georg Frischmann als Geschäftsführer an das Berufsförderungswerk Thüringen gewechselt, welches sich der Aus- und Weiterbildung von behinderten Menschen widmet.

**Wissenschaftler-Versammlung** Die Wissenschaftler-Versammlung berät die Geschäftsführung in Angelegenheiten von grundsätzlicher wissenschaftlicher Bedeutung. Ihr gehören 33 gewählte Mitglieder aus dem Kreis der angestellten Wissenschaftler an. Die Geschäftsführung, Bereichsleiter, Arbeitsgruppenleiter der Nachwuchsgruppen und ein Doktoranden-Vertreter sind Gäste in der Wissenschaftler-Versammlung. Vorsitzender ist Dr. Wolf-Rainer Abraham (seit Mai 2003), Stellvertreterin ist Dr. Ute Pägelow.

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

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

**Gleichstellungsbeauftragte** im Berichtszeitraum war Frau Evelyn Rohn-Stenzel gewesen.

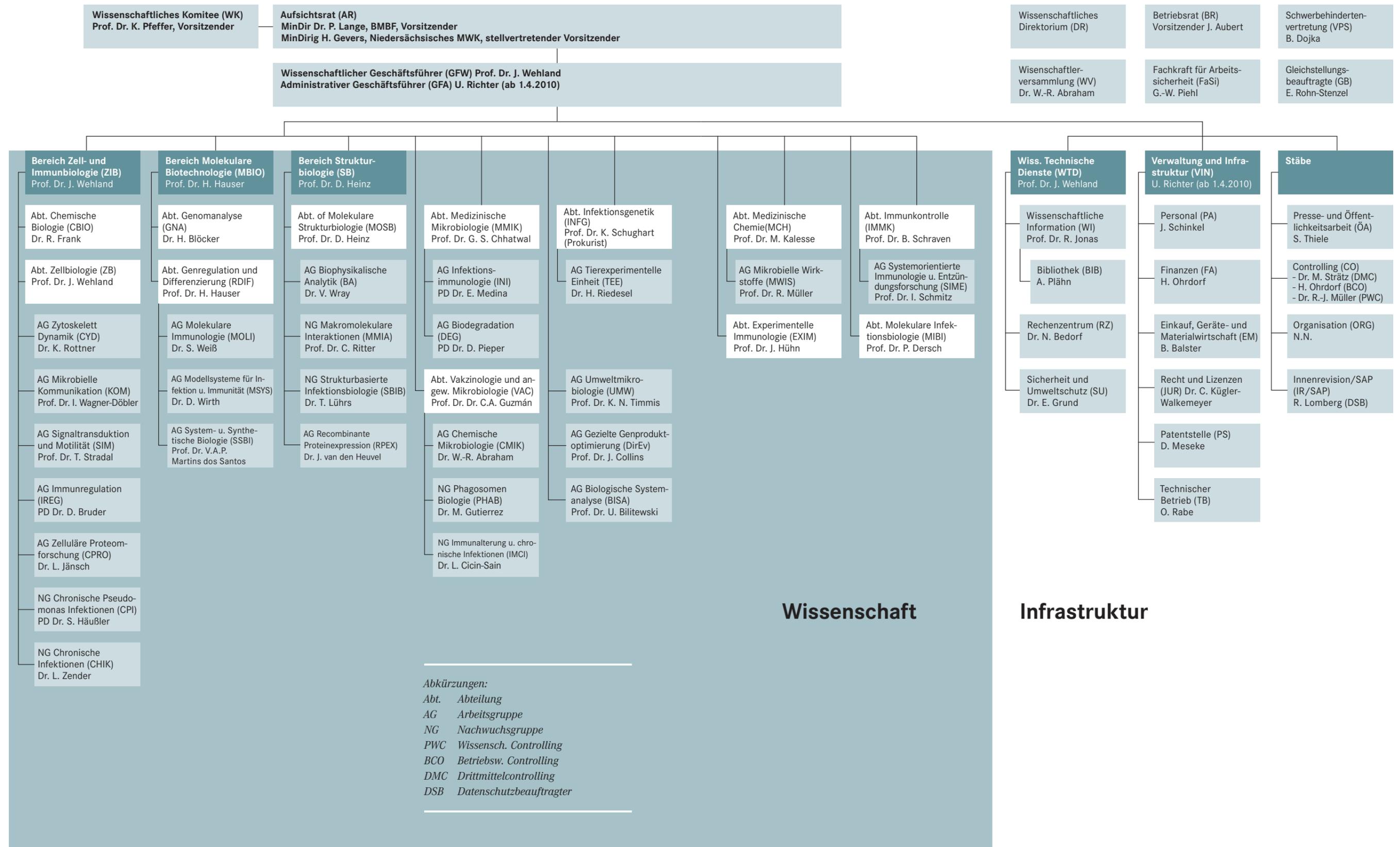


Der neue Wissenschaftliche Geschäftsführer des HZI, Prof. Jürgen Wehland (re) im Gespräch mit dem Aufsichtsratsvorsitzenden des HZI, Dr. Peter Lange (li), und dem scheidenden wissenschaftl. Geschäftsführer, Prof. Rudi Balling (mi) Foto: HZI

#### Mitglieder des Aufsichtsrats (AR) und des Wissenschaftlichen Komitees (WK), Stand: 15.06.2009

Funktion	Name, Titel	Organisation	Ort
Vorsitzender AR	Lange, MinDir. Dr. Peter	BMBF	Berlin
Stellvertr. Vors. AR	Gevers, MinDirig Dr. Heiko	NMWK	Hannover
AR	Warmuth, MR Dr. Ekkehard	BMBF	Berlin
AR	Kuhny, Reg.-Dir. Corinna	Nds. Finanzministerium	Hannover
AR	Strätz, Dr. Michael	HZI	Braunschweig
AR	Weiß, Dr. Siegfried	HZI	Braunschweig
AR + WK	Zettlmeissl, Dr. Gerd	Intercell AG	Wien
AR + WK	Bitter-Suermann, Prof. Dr. Dieter	MHH	Hannover
AR + WK	Müller-Goymann, Univ.-Prof. Dr. Christel	MHH	Hannover
AR + WK, stellvertr. Vors. WK	Schendel, Prof. Dr. Dolores	HMUG – Institut für Molekulare Immunologie	München
AR + WK	Kurth, Dr. Bärbel-Maria	Robert-Koch-Institut	Berlin
AR + WK	Daniel, Prof. Dr. Hannelore	Wissenschaftszentrum Weihenstephan	Freising
AR + WK, Vorsitzender WK	Pfeffer, Prof. Dr. med. Klaus	Universitätsklinikum	Düsseldorf
WK	Hacker, Prof. Dr. Jörg	Universität	Würzburg
WK	Hackenberg, Prof. Dr. Regine	Technische Universität	Kaiserslautern
WK	Apweiler, Dr. Rolf	EBI	Cambridge
WK	Wilmanns, Dr. Matthias	EMBL	Hamburg
WK	Birchmeier, Prof. Dr. Walter	MDC	Berlin-Buch
WK	Hämmerling, Prof. Dr. Günter	DKFZ	Heidelberg

Organisationsdiagramm, Stand 1. Juni 2009



## Tag der offenen Tür 2009



Fotos: HZI, Gramann

## HZI-InWEnt Workshops 2008



Fotos: HZI, Jonas

## Menschen am HZI



Foto: HZI, Krämer

---



Foto: HZI, Krämer

---



Foto: HZI, Bierstedt

---



Foto: HZI, Krämer

---



Foto: HZI, Kluge

---



Foto: HZI, Schlender

---

## Forschungsbericht 2008/2009

Herausgegeben vom  
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH (HZI)  
Inhoffenstraße 7  
D-38124 Braunschweig  
Telefon +49 (0) 531-61 81-0  
Telefax +49 (0) 531-61 81-2655  
info@helmholtz-hzi.de | www.helmholtz-hzi.de

Mitglied der Helmholtz-Gemeinschaft Deutscher Forschungszentren

Verantwortlicher Herausgeber:  
Prof. Dr. Rainer Jonas (V.i.S.d.P.) | rjo@helmholtz-hzi.de

Redaktion: Susanne Thiele | sth09@helmholtz-hzi.de

Redaktionsassistentz: Monica Kirchner | Dr. Bastian Dornbach

Textbearbeitung: Dr. Jo Schilling | buero@jo-schilling.de

Übersetzungen: AD REM Sprachdienstleistungen (Konstanze Plötz u. Mitarbeiter)

© 2009 HZI Braunschweig

### Fotografien:

Die Portraits und weitere Fotos wurden aufgenommen von

Thomas Ammerpohl – Seiten: 64, 71

Frank Bierstedt – Seiten: 61, 63, 73, 77, 78, 82, 86, 87, 89-91, 95, 96, 99, 105, 106,  
108, 123, 124, 162

Bastian Dornbach – Seite: 33 (Nitsche-Schmitz)

Heinz Gramann – Seiten: 7, 22, 27, 43, 54, 72, 76, 85, 93, 115, 126, 128

Dirk Hans – Seiten: 59, 62, 68, 97, 100, 101

Simone Krämer – Seiten: 80, 103, 111, 112

Peter Sondermann – Seite: 5

HZI Sammlung – Seite: 2, 13, 30, 31, 33, 36, 42, 44, 46, 47, 49, 50, 56, 58, 60,

66, 67, 69, 70, 75, 79, 81, 88, 92, 94, 98, 104, 107, 118, 120

Die folgenden Fotos wurden durch die Autoren zur Verfügung gestellt – Seiten:

110 (Zender), 113 (Hühn), 114 (Dersch)

Für alle übrigen Fotos sind die Institutionen (Sammlungen) bzw. die Fotografen unterhalb der Legenden erwähnt.

### Layout und Gestaltung:

UNRUH Designbüro, Braunschweig  
unruh@unruhdesign.de | www.unruhdesign.de

### Herstellung:

Ruth Printmedien GmbH,  
Hinter dem Turme 7, D-38114 Braunschweig  
ISSN 1865-9713

---



Lageplan des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung

ISSN 1865-9713

Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH  
Inhoffenstraße 7 | D-38124 Braunschweig  
[www.helmholtz-hzi.de](http://www.helmholtz-hzi.de) | [info@helmholtz-hzi.de](mailto:info@helmholtz-hzi.de)

