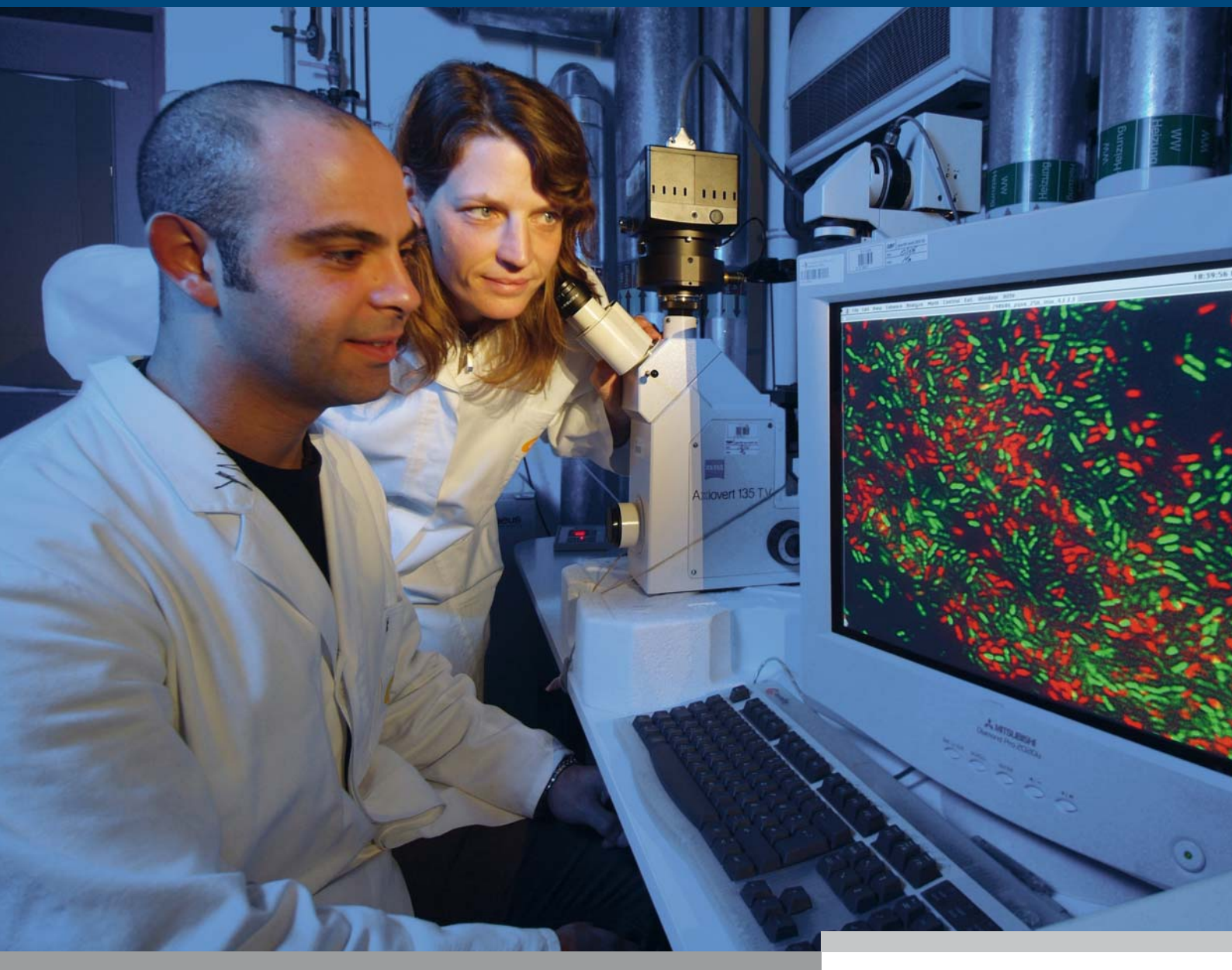


FORSCHUNGSBERICHT 2006/2007



HELMHOLTZ
ZENTRUM FÜR
INFEKTIONSFORSCHUNG

VORWORT

- 04 Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
- 05 Vorwort

FOKUS

- 08 Untersuchungen von Infektionen an Tiermodellen am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
- 16 Höhepunkte 2005-2007

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

- 26 Das „Sozialverhalten“ von Bakterien: Ein neuer Ansatz zum Verständnis chronischer Infektionen
- 32 Die Chemische Pipeline – Forschungsprogramm und Infrastruktur für die Entdeckung und Evaluierung von neuen Antiinfektiva

SONDERBEITRÄGE

- 46 Bakterielle Pathogenität: Ansichten einer anderen Welt, beobachtet mit hochauflösender Feldemissionsrasterelektronenmikroskopie
- 54 Naturstoffe: eine unentbehrliche Quelle für neue bioaktive Substanzen

WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT

- 62 INFEKTION UND IMMUNITÄT
- 64 **Mikroorganismen**
- 66 Strukturanalyse von Virulenzfaktoren
- 67 Pathogenese von chronischen *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen
- 68 Virulenzfaktoren der Streptokokken und Pneumokokken
- 69 Mikrobielle Kommunikation
- 70 **Pathogenese**
- 72 Molekulare Mechanismen von Wirtszell/Pathogen-Interaktionen
- 73 Identifizierung und Charakterisierung bakterieller Virulenzfaktoren
- 74 Signalübertragung zum Aktinzytoskelett
- 75 Genetik von Infektionssuszeptibilität und Funktion von Makrophagen
- 76 Pathogenese von *Streptococcus pyogenes* im Mausmodell
- 77 Systemgenetik von Infektion und Immunität
- 78 Die Biologie der Immunantwort
- 79 **Entzündung und Immunität**
- 80 Strukturanalyse des angeborenen Immunsystems
- 81 Signalübertragung und Genregulation
- 82 Epigenetische Prinzipien der Genregulation
- 83 Zelluläre Modelle für die Infektion
- 84 Entwicklung und Funktion von T-Zellen
- 85 Mukosale Immunität und Entzündung
- 86 Immuneffektoren: Moleküle, Zellen und Mechanismen
- 87 Bildliche Darstellung der zellulären Dynamik immunologischer Prozesse
- 88 Bioinformatik zellulärer Netzwerke



WISSENSCHAFTLICHER ERGEBNISBERICHT

89 Prävention und Therapie

- 91 Mikroorganismenvielfalt und Naturstoffe
- 92 Medizinische Chemie von Antiinfektiva
- 93 Entwicklung neuer Antibiotika aus natürlichen Quellen
- 94 Chemische Biologie von Infektionskrankheiten
- 95 Identifizierung von antiinfektiven Molekülen
- 96 Antigen-Anlieferungssysteme und Impfstoffe
- 97 Therapeutische zelluläre Impfstoffe

98 GENOM- UND GESUNDHEITSFORSCHUNG

- 99 Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen
- 100 Analyse und Nutzung von DNA-Sequenzdaten

101 GENE, UMWELT UND GESUNDHEIT

- 102 Funktionelle Genomik und Nischenspezifität
- 103 Metabolische Vielfalt
- 104 Biofilm-Lebensgemeinschaft in Umwelt und Gesundheit

105 Technologische Plattformen

- 106 Tierexperimentelle Einheit
- 107 Instrumentelle Analytik
- 108 Genexpressionsanalyse
- 109 Peptidsynthese
- 110 Histologie/Pathologie-Plattform
- 111 Proteinexpression
- 112 Bioverfahrenstechnik und GMP

114 Veröffentlichungen

- 114 Veröffentlichungen 2005
- 124 Veröffentlichungen 2006
- 134 Veröffentlichungen 2007
- 137 Gastvorträge 2005-2007

ZAHLEN UND FAKTEN

- 144 Zahlen und Fakten

Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung

Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI), so lautet der neue Name für die frühere GBF, die Gesellschaft für Biotechnologische Forschung. Innerhalb der Helmholtz-Gemeinschaft war es das erste Zentrum, das den Namen Helmholtz in seine Bezeichnung aufgenommen hat. Die Helmholtz Gemeinschaft Deutscher Forschungszentren ist die größte nicht-universitäre wissenschaftliche Organisation in Deutschland.

Der Schwerpunkt unserer Arbeit liegt auf der Untersuchung von Erregern, die medizinisch relevant sind oder als Modell für die Erforschung von Infektionsmechanismen dienen können. Träger des HZI sind die Bundesrepublik Deutschland (90 Prozent) und das Land Niedersachsen (10 Prozent). Das HZI beschäftigt gut 600 Mitarbeiter und verfügt über einen Jahresetat von rund 50 Millionen Euro.

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

Zu den wissenschaftlichen Fragestellungen, die wir bearbeiten, gehören: Was macht Bakterien zu Krankheitserregern? Warum sind manche Menschen besonders empfindlich, andere dagegen widerstandsfähig gegenüber Infektionen?

Wie können wir in Infektionsprozesse eingreifen? Das Verständnis dieser Mechanismen wird dazu beitragen, Infektionskrankheiten durch neue Medikamente und Impfstoffe zu bekämpfen.

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

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

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



Vorwort

Prof. Dr. Rudi Balling | Wissenschaftlicher Geschäftsführer

Wer vor fünf Jahren in der GBF war und nach so langer Zeit heute zum ersten Mal wieder auf den Campus fährt, wird sich kaum noch zurechtfinden. Der Besucher benutzt nicht nur eine neue Zufahrt – er kommt durch ein repräsentatives Empfangsgebäude auf das Gelände, stellt fest, dass wir mit dem ehemaligen Biotec-Gründerzentrum ein neues Laborgebäude haben und ein paar Schritte weiter gerade ein großes Tierhaus für etwa 20.000 Mäuse bauen.

Was steckt hinter diesen Veränderungen, die sofort ins Auge fallen? Die GBF ist jetzt das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. Dem Namen nach und vor allem auch inhaltlich: Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler untersuchen hier, wie Infektionen ablaufen, wie die Infektionserreger aufgebaut sind und wie ihre Wirte auf die Infektion reagieren. All diese Prozesse analysieren sie auf den Ebenen von Molekülen, Zellen und im ganzen Organismus. Ihr Ziel ist, neue Strategien für Prävention und Therapie zu ermöglichen.

Aufbauarbeit leisten wir im Augenblick vor allem am Ende und am Anfang der Untersuchungskette „Molekül – Zelle – Organismus“. Das Maushaus geht 2008 in Betrieb. Damit eröffnen sich uns ganz neue Möglichkeiten der vorklinischen Forschung. Noch besser als bisher können wir dann erkennen, was im Organismus bei einer Infektion passiert. Oder warum das eine Individuum empfindlich auf einen Erreger reagiert, während das nächste resistent ist. Damit schaffen wir von Seiten der Grundlagenforschung die Basis für eine personalisierte Infektionsmedizin. Und beschleunigen die Weiterentwicklung der Ergebnisse in Richtung Klinik.

Auf der anderen Seite der Forschungskette steht die Untersuchung der Moleküle, also die Chemie. Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung verfügt über einen besonderen Schatz, die Naturstoffe. Sie bieten eine fast unerschöpfliche Quelle für neue Substanzen, die als Wirk- oder Impfstoffe gegen Infektionen von Nutzen sein können. Diese Verbindungen gilt es aber systematisch auf ihre chemischen und biologischen Eigenschaften hin zu untersuchen. Chemiker müssen gemeinsam mit Biologen die Wirkmechanismen aufklären, die Naturstoffe für die Infektionsforschung interessant machen. Wir sind gerade dabei eine „chemische Pipeline“ aufzubauen, deren Ergebnisse dann von Struktur- und Zellbiologie, von Mikrobiologie und Vorklinik genutzt werden können.

Über all den großen und kleinen Entwicklungsmöglichkeiten in unserem Zentrum steht eine gewaltige Herausforderung: Die Internationalisierung der Wissenschaft. Auf sie müssen wir mit einer Internationalisierung unseres Campus antworten. Erste Erfolge zeigen sich schon. Für weltweit renommierte Forschungseinrichtungen wie das Pasteur-Institut oder die Rockefeller-Universität sind wir ein attraktiver Kooperationspartner. Die Bill und Melinda-Gates-Stiftung hat uns ein spannendes Forschungsvorhaben zur Entwicklung eines Impfstoffs gegen Hepatitis C anvertraut. Mittlerweile haben wir eine Gastprofessur in China, und das erste Indo-German Science Centre ist mit Hilfe des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung Realität geworden.

Diese Entwicklung muss weitergehen, wenn wir auch in Zukunft sehr gute Wissenschaft machen wollen. Ich freue mich darauf, in kommenden Jahren immer mehr ausländische Gastwissenschaftlerinnen und -wissenschaftler auf dem Stöckheimer Campus begrüßen zu können. Und unsere Studierenden und Doktoranden, die ein paar Monate in den USA, in Großbritannien, Frankreich, Indien oder China geforscht haben, wieder bei uns empfangen zu dürfen.

Rudi Balling



Abbildungen auf diesen Seiten von links nach rechts: Im bereits bestehenden Maushaus kontrollieren Tierpfleger die Mausekäfge | 18. Juli 2006: Prof. Dr. Rudi Balling und Dr. Georg Frischmann hissen die neue Fahne des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung | Prof. Dr. Rudi Balling zusammen mit Vertretern aus Wissenschaft und Politik beim Spatenstich für das neue Maushaus | Fotos: HZI, Bierstedt (li) | HZI, Gramann (mi) | Radde (re)



**08 Studien zur Infektion und Immunität an Tiermodellen
am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung**

16 Höhepunkte 2005 – 2007



Studien zur Infektion und Immunität an Tiermodellen am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung

AUTOR | Prof. Dr. Klaus Schughart | Abteilung für Experimentelle Mausgenetik | kls@helmholtz-hzi.de

Eine neue Baustelle am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI), die seit März 2006 am südlichen Ende des Campus zu finden ist, wird von Besuchern und Mitarbeitern kaum unbemerkt geblieben sein: Hier entsteht ein Erweiterungsbau für unsere Tierhaltung – ein neues Maushaus. Es ermöglicht uns in Zukunft einen erheblichen Ausbau unserer Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Infektion und Immunität.

„20 Millionen Euro für 30 000 Mäuse“ – so lautete die Schlagzeile der örtlichen Presse zum feierlichen Spatenstich, einer Veranstaltung an der Repräsentanten der Wissenschaft, der Bundes- und Länderministerien für Forschung sowie der Bürgermeister Braunschweigs teilnahmen.

Doch wozu wird dieses neue Gebäude genutzt werden? Welche wissenschaftlichen Fragen werden behandelt? Warum werden so viele Mäuse benötigt, und welche Stämme von Mäusen werden gebraucht? Wie viele Menschen werden hier arbeiten? Dies sind nur einige der Fragen, die sich Besucher und Angestellte des HZI vermutlich stellen. Nachfolgend werde ich versuchen, einige davon zu beantworten.



Das neue Maushaus auf dem HZI-Campus: Während der Aushebungsarbeiten (oben); Konstruktion des Kellergeschosses (unten) Fotos: HZI, Müller

Hintergrund Eine der wichtigsten Ursachen für humane Erkrankungen ist die genetische Prädisposition. Etablierung und Verlauf vieler Krankheiten, wie neurologische und kardiovaskuläre Funktionsstörungen, abnorme Immunantworten und besonders Infektionen, werden von einer Vielzahl von Genen im betroffenen Individuum beeinflusst. Unser heutiges Wissen ist auf diesen Gebieten sehr eingeschränkt. Daher müssen wir künftig ein weit besseres Verständnis der genetischen Diversität in Populationen und der komplexen Beziehungen zwischen genetischer Variation, der Umwelt und Krankheitsmerkmalen erlangen.

Da diese Studien aus naheliegenden Gründen nicht am Menschen durchgeführt werden können, benötigt man spezielle Tiermodelle. Vor allem solche Modelle, bei denen wir die Genetik, Umwelteinflüsse und Experimente kontrollieren können. Zudem müssen sie in ihrer genetischen Komplexität der humanen Population entsprechen. Unter den verschiedenen verfügbaren Tiermodellen stellt die Maus das beste experimentelle System dar, da ihre Biologie und Genetik sehr gut untersucht sind. Außerdem sind umfangreiche Ressourcen für systematische Ansätze vorhanden, wie zum Beispiel ingezüchtete Mausstämmen (Hierbei sind alle Individuen innerhalb eines Stammes genetisch identisch, während sich ein Stamm vom anderen in einer definierten Weise im genetischen Hintergrund unterscheidet, ähnlich wie bei verschiedenen Hunderrassen.). Darüber hinaus gibt es derzeit mehrere tausend Linien gentechnisch hergestellter Mausmutanten, die eine Veränderung in einem ganz bestimmten Genort tragen. Diese Ressourcen von Mausstämmen und mutanten Linien erlauben es uns, die humane genetische Diversität

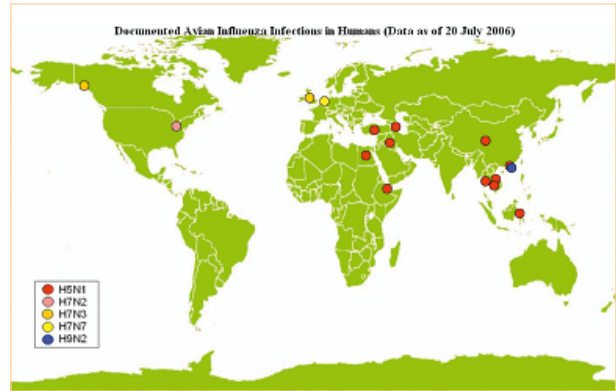


Die Grippe-Pandemie von 1918/19 hat etwa 50 Millionen Menschenleben gekostet. Das Foto zeigt ein Notlazarett in Funston, Kansas, USA. Mit freundlicher Genehmigung des National Museum of Health and Medicine, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C. (NCP 1603)

zu imitieren und so die *in-vivo*-Funktion eines bestimmten Gens, und des genetischen Hintergrunds in verschiedenen experimentellen Systemen zu untersuchen.

Mausmodellsysteme wurden in der Vergangenheit sehr erfolgreich für die Identifizierung von den genetischen Regionen eingesetzt, die beim Menschen für die Suszeptibilität (Empfänglichkeit) gegenüber Infektionskrankheiten verantwortlich sind. Die Analyse von Mausmodellen wird daher auch künftig zu wichtigen Erkenntnissen der Mechanismen von Wirt-Pathogen-Interaktionen und der Immunantwort beim Menschen führen. Diese Ergebnisse werden es uns ermöglichen, neue Therapien sowie Diagnose- und Behandlungsmethoden für Infektionskrankheiten zu entwickeln.

Infektionsforschung an der Maus Am HZI werden die grundlegenden Mechanismen von Infektionsprozessen in zellfreien Systemen und Zellkulturen untersucht. Sie bilden die Basis für die sich daran anschließenden Studien auf der Ebene des Gesamtorganismus. Nur hier ist es möglich, die komplexen vielschichtigen Interaktionen eines Pathogens mit seinem Wirt zu erforschen, und die Beteiligung der verschiedenen Organsysteme und Zelltypen sowie ihre komplexen Wechselwirkungen zu studieren: Zum Beispiel sind bei der Abwehr des Wirtes zunächst Zellen in der Peripherie (Haut, Lunge, Gastrointestinaltrakt) beteiligt, welche die Anwesenheit von Pathogenen erkennen und daraufhin Signale zu anderen immunkompetenten Organen senden. Diese Signalmoleküle veranlassen Immunzellen im Blutstrom, in das Gewebe einzudringen und Pathogene sowie infizierte Zellen zu zerstören. Andere Immunzellen nehmen die Erreger und ihre Proteine auf, um sie in den Lymphknoten oder zur Milz zu transportieren, und sie dort Effektorzellen zu präsentieren, die daraufhin Antikörper produzieren oder hochselektive Killerzellen generieren.



Regionen, in den Fälle von Erkrankungen von Menschen mit dem Vogelgrippe-Virus A Subtypen H5, H7 & H9 aufgetreten sind. Quelle: WHO

Mäuse stellen ideale experimentelle Systeme dar, um diese Prozesse zu erforschen. Das Immunsystem der Maus ist seit Jahrzehnten gut untersucht und viele, für den Menschen relevante, Erkenntnisse wurden durch Studien in der Maus gewonnen. Mit Hilfe dieser Untersuchungen wurde unter anderem der Grundstein für neue Immuntherapien am Menschen gelegt. Das Genom mehrerer Inzucht-Mausstämmen ist vollständig sequenziert und viele Mausmutanten, die Defekte an einzelnen Genen tragen, wurden generiert und werden von wissenschaftlichen Arbeitsgruppen weltweit genutzt. Von größter Bedeutung ist die Erkenntnis aus dem Vergleich mit dem menschlichen Genom, der gezeigt hat, dass 99% der Mausgene ein menschliches Homolog haben – also für fast jedes menschliche Gen ein korrespondierendes Mausgen existiert.

Wir können daher erwarten, dass Studien an Mäusen uns ermöglichen, die prinzipiellen Mechanismen der Wirt-Pathogen-Interaktionen zu verstehen, dass sie helfen, die beteiligten Gene zu identifizieren und uns erlauben, neue Interventionsstrategien zu testen. In einigen Fällen wird es keine direkte Übereinstimmung von Maus- und humanen Genen geben, aber die zugrunde liegenden Regelkreise werden die gleichen sein, auch wenn die einzelnen Komponenten sich geringfügig unterscheiden.

Viele der Forschungsprojekte am HZI, die Mausmodelle einbeziehen, befassen sich mit dem Studium der genetischen Suszeptibilität gegenüber Infektionen und dem grundlegenden Verständnis der Immunität. Diese Projekte zielen darauf ab, bessere Ansätze für die Diagnose und Behandlung humaner Infektionskrankheiten zu entwickeln. Aus ethischen Gründen können diese Studien natürlich nicht am Menschen durchgeführt werden. Darüber hinaus sind die Individuen in einer menschlichen Population genetisch sehr unterschiedlich und zahlreiche Umweltfaktoren beeinflussen die Prädisposition, sowie Verlauf einer Krankheit. Es ist deshalb kaum möglich, direkt im Menschen die grundlegenden biologischen und molekularen Prinzipien aufzuklären.

„**Mouse integrated resource for infections and immunity research**“ (Mirii) Nahezu alle wissenschaftlichen Forschungsprojekte am HZI erfordern Mausmodelle. Dies schließt sowohl Projekte ein, die von der programmorientierten Forschung (PoF) in der Helmholtz-Gemeinschaft unterstützt werden, als auch Projekte, die vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), der Deutschen Forschungsgesellschaft (DFG), dem deutschen Nationalen Genom-Forschungsnetz (NGFN), den EU-Forschungsprogrammen FP6 und FP7 oder der Bill & Melinda Gates Foundation (BMGF) finanziert werden.

Deshalb haben wir am HZI ein integriertes wissenschaftliches Konzept für die Verwendung von Mausmodellen zur Erforschung von Infektionskrankheiten und Immunantworten etabliert: die „Mouse integrated resource for infection and immunity research“ (Mirii). Das Mirii-Konzept beinhaltet qualitativ hochwertige Anlagen und Einrichtungen, gut ausgebildete Tierpfleger, wissenschaftliches Know-How und umfangreiche Ressourcen an Mauslinien und Mutanten. Mirii wird kontinuierlich weiterentwickelt, um den derzeitigen und den zukünftigen Bedürfnissen der verschiedenen Forschungsprojekte am HZI gerecht zu werden.

Wir verbessern ständig die bestehenden Infektionsmodelle hinsichtlich ihrer Applikationsmethoden und der Parameter zur Messung des Verlaufs einer Infektion. Zusätzlich erweitern wir permanent unser Know-How, indem wir neue Pathogene und Applikationsmethoden aufnehmen. Aus diesem Grund ist das HZI weltweit eines der wenigen Forschungszentren mit einem umfassenden Expertenwissen und der erforderlichen Infrastruktur, wodurch qualitativ hochwertige Forschung auf dem Gebiet der Infektionskrankheiten ermöglicht wird.

Im Folgenden möchte ich einige der wissenschaftlichen Fragestellungen beschreiben, mit denen wir uns zurzeit an unserem Forschungszentrum befassen. Detaillierte Informationen sind in den einzelnen Projektbeschreibungen des Forschungsberichtes zu finden.

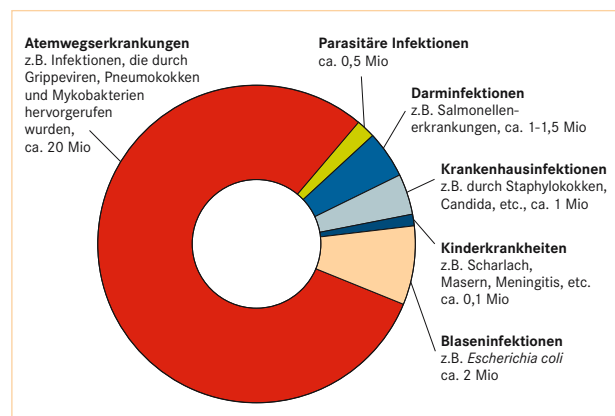
Genetische Suszeptibilität für Infektionen Die Forschungsgruppen Infektionsgenetik (ING), Infektionsimmunologie (INI) und Experimentelle Mausgenetik (EMG) sind daran interessiert, die genetischen Faktoren zu verstehen, die zur Suszeptibilität des Wirtes gegenüber bakteriellen und viralen Infektionen beitragen. Diese Studien werden vom PoF-Programm der Helmholtz-Gemeinschaft, Forschungsprogrammen des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF), dem Nationalen Genom Forschungsnetz (NGFN), den europäischen Forschungs-Rahmenpro-

grammen und weiteren öffentlich und privat finanzierten Forschungsprogrammen finanziert.

In den meisten Fällen sind die genetischen Faktoren, die zur Suszeptibilität für Krankheiten beitragen, nicht „Mendelscher“ Natur (ein einzelner Genort bestimmt die phänotypische Eigenschaft), sondern stellen komplexe Erbgänge dar (verschiedene Genorte interagieren quantitativ und qualitativ). Komplexe Erbgänge sind die Ursache vieler genetischer Erkrankungen wie Fettsucht, kardiovaskuläre, infektiöse und Autoimmun-Erkrankungen. Komplexe Erbgänge sind beim Menschen besonders schwierig zu untersuchen, da die phänotypische Variabilität nicht nur vom genetischen Hintergrund sondern auch von vielen (unkontrollierten und unbekannt) Umweltfaktoren beeinflusst wird. Letztere sind daher beim Menschen nur schlecht von den genetischen Faktoren abzugrenzen. Diese Tatsache macht es oft unmöglich, die relevanten Genotyp-Phänotyp-Korrelationen im Menschen zu untersuchen. Von der Maus dagegen sind verschiedene, genetisch unterschiedliche Populationen verfügbar, die experimentell gut kontrolliert werden können. So kann die Beteiligung einzelner oder multipler Genkombinationen identifiziert werden und können solche Genorte, für die man aus Studien von menschlichen Populationen eine Beteiligung vermutet, experimentell verifiziert werden.

Die aktuellen Forschungsaktivitäten am HZI, die sich mit der Untersuchung der genetischen Suszeptibilität beschäftigen, umfassen Infektionsmodelle mit bakteriellen und viralen Pathogenen.

Streptococcus pyrogenes und *Staphylococcus aureus* sind Gram-positive Mikroorganismen, die für ein breites Spektrum an Infektionen beim Menschen verantwortlich sind und von



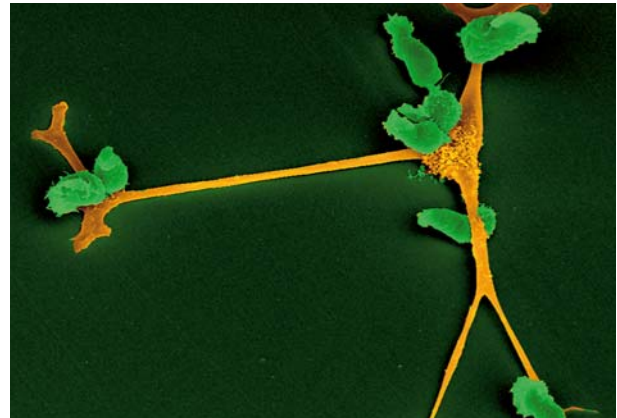
Infektionskrankheiten in Deutschland, Krankheitsfälle pro Jahr Quelle: PathoGenoMik Report 2003

leichten Infektionen bis zu sehr schweren Erkrankungen reichen. Wenn eine solche Infektion von einem infizierten Wirt nicht effizient kontrolliert werden kann, kommt es sehr schnell zu einem tödlichen septischen Schock. Forscher am HZI haben entdeckt, dass genetisch verschiedene Populationen von Mäusen sehr unterschiedlich auf eine Infektion mit diesen Pathogenen reagieren. Weitergehende genetische Studien haben ergeben, dass drei Regionen im Genom der Maus an der Suszeptibilität des Wirtes beteiligt sind. Diese Ergebnisse bilden nun die Grundlage für weitere Studien zu den molekularen Mechanismen, die zu einem septischen Schock bei Menschen führen.

Listeria monocytogenes kann schwere Enzephalitis bei Menschen verursachen. Am HZI haben Studien an Mäusen ergeben, dass die Suszeptibilität gegenüber diesem Pathogen vom Geschlecht der Tiere abhängt. Weibchen, die gewöhnlich wesentlich resistenter gegenüber anderen bakteriellen Infektionen sind, sind in diesem Modell besonders anfällig. HZI-Forscher wiesen nach, dass dies hauptsächlich auf die Produktion eines bestimmten Immunhormons (IL10) zurückzuführen ist, welches die Immunantwort der Weibchen zu unterdrücken scheint.

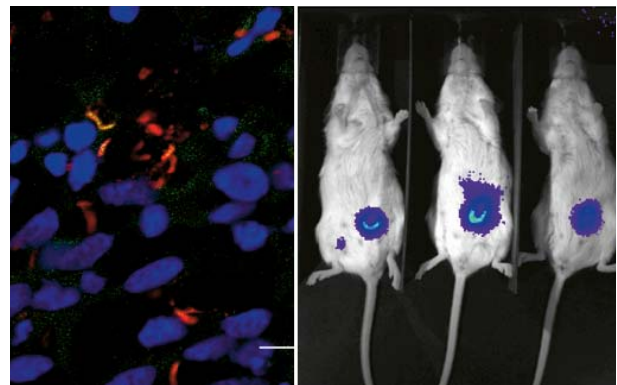
Influenza A Viren verursachen Pandemien, an denen weltweit jedes Jahr etwa 500 Millionen Menschen erkranken und annähernd 400 000 sterben. Allein in Deutschland erleidet eine Million Menschen eine Grippe – 8000 erliegen der Infektion mit dem Virus. Obwohl das Pathogen in vielen Laboratorien überall auf der Welt bis ins Detail untersucht wird, haben sich bislang nur sehr wenige Studien der Genetik des Wirtes gewidmet. Am HZI haben wir begonnen, die Antwort auf eine Influenza A Infektion an genetisch verschiedenen Mauspopulationen zu untersuchen. Das Ziel dieser Studien ist es, die genetischen Faktoren zu identifizieren, die den Verlauf und den Schweregrad einer Influenza-Infektion bei Mensch und Tier beeinflussen.

Die Etablierung der Immunität Das Immunsystem ist ein hochdynamisches zelluläres Netzwerk, das dazu dient, den Wirt vor einer großen Vielfalt fremdartiger, potentiell schädlicher Mikroorganismen zu schützen. Seine Antwort involviert viele verschiedene zelluläre Komponenten, wie Signal- und Effektormoleküle sowie Effektorzellen. Die verschiedenen Komponenten und ihre molekulare Basis zu analysieren, ist eines der aktivsten Forschungsgebiete am HZI. Es wird durch die Forschungsgruppen „Mukosale Immunität (MI)“, „Immunregulation (IREG)“, „Experimentelle Immunität (EI)“, „Molekulare Immunität (MOLI)“, „Immunodynamik (ID)“ und „Vakzinologie (VAC)“ vorangetrieben.



Beginn einer Immunabwehr: T-Zellen bereiten Dendritische Zellen auf ihren Kampf gegen pathogene Invasoren vor.

Foto: HZI, Rohde

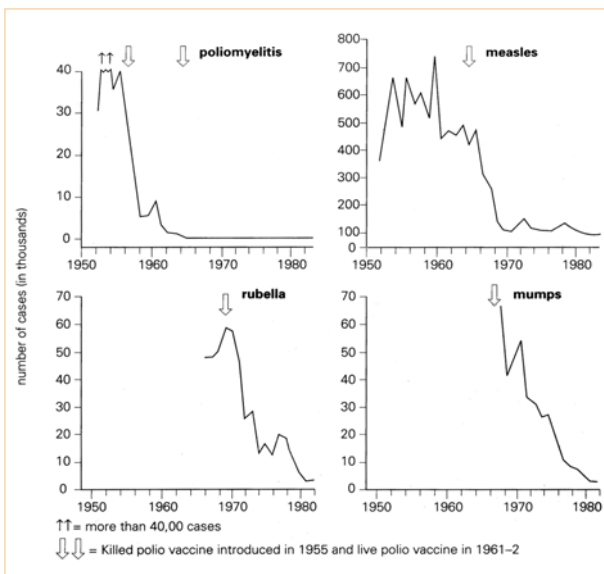


Tumore, die mit Salmonellen kolonisiert sind und induzierbare Leuchtkäfer-Luziferase tragen, wurden immunhistologisch analysiert (Rot = Bakterien, Blau = Zellkerne der Tumorzellen). Gezeigt sind nekrotische Bereiche, in denen keine lebenden Tumorzellen gefunden werden können (links). Die Induktion der Luziferase kann nach Verabreichung des Substrates Luziferin auf der Haut der Maus leuchten und mit einer sensitiven Kamera detektiert werden, ohne dass die Maus getötet werden muss. Fotos: HZI, Westphal, Löbner

Um selbstzerstörende Immunantworten (Autoimmunerkrankungen) zu vermeiden, ist eine der Hauptaufgaben des Immunsystems zwischen „Freund und Feind“ zu unterscheiden. Periphere Toleranz gegenüber eigenen Antigenen wird aktiv von sogenannten regulatorischen T-Zellen vermittelt. Aus diesem Grund untersuchen Forscher am HZI intensiv die Rolle von regulatorischen T-Zellen während der Infektion und im Zusammenhang mit Autoimmunerkrankungen. Diese Arbeiten konnten in Mausmodellen eines experimentellen Diabetes Typ II zeigen, dass durch die Aktivierung von regulatorischen T-Zellen die Zerstörung von Insulin-produzierenden Zellen im Pankreas verhindert werden kann.

Auf das Eindringen eines Pathogens antwortet das Immunsystem mit einer Kaskade von verschiedenen Verteidigungsmechanismen. Die erste Verteidigungslinie, die angeborene (innate) Immunantwort ist darauf ausgerichtet, die Verbreitung des Pathogens im Organismus zu unterbinden. Sie aktiviert außerdem die zweite Verteidigungslinie, die eine langfristige adaptive Immunantwort hervorbringt. Zytokine, kleine Moleküle, die von den Immunzellen der ersten Linie abgesondert werden, spielen bei diesen Reaktionen eine zentrale Rolle. Mehrere Arbeitsgruppen am HZI erforschen die molekularen und zellulären Einflüsse von Zytokinen in Mäusen im Zusammenhang mit entzündlichen Autoimmunerkrankungen des Darms sowie Infektionen mit *L. monocytogenes* und *Yersinia enterocolytica*.

Das Ergebnis einer erfolgreichen Pathogenbekämpfung ist die Etablierung einer schützenden Immunität im Wirt. Eine schützende Immunität kann aber auch durch eine Impfung erzeugt werden, ohne dass eine gesundheitsgefährdende Infektion ausgelöst wird. Tatsächlich kann die Entdeckung und Einführung der Impfung als die erfolgreichste medizinische Behandlungsmethode in der Geschichte der Menschheit betrachtet werden. Die Pocken wurden ausgerottet und ein weltweites Masernimpfprogramm hat das Leben von Millionen Kindern gerettet. Impfstoffe beinhalten sowohl eine molekulare Struktur, die spezifisch für das Pathogen



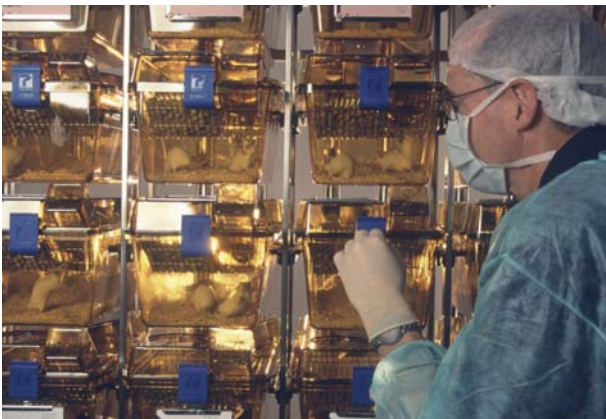
Die Abnahme von viralen Infektionen nach Einführung von Impfprogrammen in den USA. Nachdruck aus „Medical Microbiology“, 2. Auflage (C. Mims et al, eds.) Mosby Verlag, 1998, S. 444. Mit freundlicher Genehmigung von Elsevier

ist, als auch ein sogenanntes Adjuvans, das für die Stimulation der Immunantwort benötigt wird. Forscher am HZI studieren die Induktion der Immunität an Mausmodellen, indem sie neue Applikationsmethoden anwenden und neue Strategien sowie neue chemische Strukturen auf ihre Verwendung als Adjuvans untersuchen. So konnte MALP-2 als ein neues Adjuvans beschrieben werden. Diese Substanz stammt aus dem reichen Fundus an Naturprodukten, die am HZI entdeckt wurden.

Obwohl die Immunantworten und das genregulatorische Netzwerk von Maus und Mensch sehr ähnlich sind, gibt es natürlich Unterschiede. Darüber hinaus infizieren einige Pathogene nur Menschen und sind auch nur im menschlichen Organismus in der Lage, sich zu vermehren. Ein Beispiel ist das Hepatitis C Virus (HCV), das weltweit ein großes Gesundheitsproblem darstellt. Infizierte sind oft lebenslang Träger des Virus, wodurch ein hohes Risiko für chronische Lebererkrankungen und Leberkarzinome besteht. Impfstoffe sind derzeit nicht verfügbar und der Mangel an geeigneten Tiermodellen stellt den größten Engpass auf dem Weg zu ihrer Entwicklung dar. Hier engagiert sich die Bill & Melinda Gates Foundation. Sie fördert im Rahmen der „Grand Challenges in Global Health“-Initiative ein Forschungsprojekt am HZI und seinen Partnerinstituten. Diese Forschungsaktivitäten konzentrieren sich auf die Entwicklung von Mausstämmen, die sowohl Komponenten des humanen Immunsystems als auch menschliche Leberzellen tragen. Auf diese Weise können die Mäuse mit dem HCV infiziert werden und die Immunantwort des Menschen simuliert werden. Es wird erwartet, dass diese Mäuse die Entwicklung potentieller Impfstoffe gegen Erkrankungen erlauben, die von HCV und anderen Leber-pathogenen Erregern ausgelöst werden.

Die Tierhaltung Für die beschriebenen Forschungsaktivitäten ist es notwendig, viele verschiedene Mausstämmen und Mutanten in einer hygienisch sauberen und gut kontrollierten Umgebung zu halten. Am HZI wird dies durch speziell ausgestattete Gebäude und – noch viel wichtiger – durch ein gut ausgebildetes und hochmotiviertes Tierpfleger-Team gewährleistet.

Die Mitarbeiter Die Tierhaltung und die damit verbundenen Dienstleistungen werden von der „Tierexperimentellen Einheit“ (TEE) bereit gestellt, die zur Abteilung „Experimentelle Mausgenetik“ (EMG) gehört. Der Leiter der Gruppe, Dr. David Monner, und sein Team von derzeit 22 Tierpflegern und Reinigungskräften sind für die Betriebsleitung und Instandhaltung der Anlage verantwortlich. Die exzellente hauseigene Ausbildung der Mitarbeiter und ihr großes En-



Einblicke in das bestehende Maushaus: Tierpfleger bereiten saubere Käfige vor (oben) | Die Käfige und ihre Bewohner werden kontrolliert (unten) Fotos: HZI, Bierstedt

agement – sowohl bei der Unterstützung unserer Wissenschaftler als auch bei der Aufrechterhaltung der Infrastruktur und des Hygienestatus – sind die wichtigsten Garanten für ein optimales Umfeld einer qualitativ hochwertigen Forschung am HZI.

Das Team ist für die regelmäßige Tierpflege verantwortlich. Hierzu gehört das Umsetzen der Mäuse in neue Käfige, eine Tätigkeit, die mindestens einmal pro Woche durchgeführt wird. Die Mitarbeiter planen die Verpaarungen für den Erhalt und die Expansion von Mausstämmen, setzen die Nachkommenschaft ab und pflegen alle Daten in einer zentralen Datenbank. Zusätzlich steht das Team der TEE den Forschern mit seinem Expertenwissen zur Tierpflege zur Seite und führt routinemäßig Injektionen und die Entnahme von Gewebeproben durch.

Die Mitarbeiter des TEE-Teams bieten auch Hilfe beim Import und Export von Mäusen an. Dr. Monner unterstützt die Forscher des HZI als Tierschutzbeauftragter bei der Antragsstellung von Tierversuchsgenehmigungen und ihrer Durchführung nach dem deutschen Tierschutzgesetz.

Darüber hinaus werden auf Nachfrage besondere Leistungen angeboten, wie die Sanierung von Mausstämmen mittels Embryotransfer, *in vitro*-Fertilisation und die Archivierung von Stämmen mittels Kryokonservierung von Spermata und Embryonen.

Die Maus-Ressourcen Die verschiedenen Laborstämme der Maus, die derzeit in den Forschungsinstituten und Zuchtanlagen des HZI gehalten werden, weisen eine genetische Diversität auf, die mit der heutigen menschlichen Population vergleichbar ist. Sie stammen im wesentlichen aus Kreuzungen von zwei Maus-Subspezies ab: *Mus musculus musculus*, einer asiatischen *Mus musculus* Subspezies, und *Mus musculus domesticus*, der west-europäischen/nordamerikanischen/afrikanischen Subspezies. Die meisten dieser Laborstämme kommen aus europäischen und japanischen Liebhaberzuchten, vom Beginn des 20. Jahrhunderts. Mäuse von verschiedenen Subspezies können miteinander verpaart werden und bringen fertile Nachkommen hervor. Dadurch ist es möglich, neue Stämme mit neuen genetischen Eigenschaften durch Kreuzungen dieser Laborstämme zu generieren. Darüber hinaus wurden mehrere Laborstämme aus Wildfängen in verschiedenen Wissenschaftsinstituten gezüchtet, die ebenfalls für unsere Arbeiten zur Verfügung stehen. Letztere verkörpern meistens andere Mausspezies, wie etwa *Mus spretus*, *Mus hortulans*, *Mus pahari*. Die Kreuzung eines *Mus musculus* Stammes mit *Mus spretus* erzeugt eine Nachkommenschaft, deren genetische Diversität eine Größenordnung erreicht, die mit einer Mischung der *Homo sapiens* und *Homo neanderthalensis* Genome vergleichbar wäre.

In der experimentellen Forschung werden meistens ingezüchtete Mäuse verwendet. Sie sind durch kontinuierliche Bruder-Schwester Verpaarungen über mindestens 20 Generationen erzeugt worden. Dies führt zu Mausfamilien, in denen alle Individuen genetisch identisch sind. Augenblicklich existieren ca. 200 unterschiedliche Inzucht-Mausstämme, die in verschiedenen Laboren weltweit generiert worden sind und eine reichhaltige Ressource für genetische und funktionelle Studien darstellen. Um diese Ressourcen den verschiedenen aktuellen Forschungsprojekten unseres Zentrums zugänglich zu machen, werden mehrere Inzuchtstämme in den Tieranlagen des HZI vorgehalten. Für diese Erhaltungszuchten sind mindestens fünf Käfige pro Stamm erforderlich, in denen zwei bis drei Generationen gehalten werden. Derzeit halten wir etwa 20-30 verschiedene Inzuchtstämme am HZI.

Die moderne Maustechnologie ermöglicht es, spezifisch ein bestimmtes Gen des Genoms zu inaktivieren und so seine funktionelle Rolle während einer Infektion oder der Immunantwort zu untersuchen. Am HZI erhalten wir derzeit 60 bis

80 verschiedene Mausmutantenstämme, die eine definierte Genmutationen tragen. Wie beim Menschen kann eine bestimmte Genmutation aber durch andere Gendefekte oder Variationen des genetischen Hintergrundes beeinflusst werden. Da diese genetischen Interaktionen ebenfalls sehr wichtige Faktoren der Suszeptibilität gegenüber Infektionen und der Immunität sind, generieren wir ständig neue Familien, indem wir diese Mutationen in verschiedene Inzucht-Mausstämme einkreuzen.

Für Infektionsexperimente müssen die Kolonien vergrößert werden. Bei einer Infektionsstudie werden Gruppen von sechs bis zehn Mäusen des gleichen Alters, Geschlechtes und Stammes für jede Dosis des infektiösen Pathogens benötigt, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten. Gewöhnlich werden zwischen drei und fünf Dosen eines bestimmten Pathogens verabreicht. Die meisten, die für die Experimente benötigten Mäuse, werden in unseren Anlagen gezüchtet.

In unserer derzeit bestehenden Tierhaltung können wir Infektionsexperimente auf dem Sicherheitsniveau S2 (entsprechend dem deutschen Gentechnologiegesezt) durchführen. Die S3-Laboratorien und -Tierräume in unserem neuen Tierhaus (siehe unten) werden die Infrastruktur für eine Hochsicherheitseinheit bieten, in der auch wichtige bakterielle und virale Pathogene wie, z.B. das Hepatitis C Virus, hoch-pathogene Varianten der Vogelgrippe oder Mykobakterien erforscht werden können.

Die Umwelt Um reproduzierbare Studien durchzuführen, muss nicht nur der genetische Hintergrund sondern auch die Umgebung genau kontrolliert werden. Für Mauskolonien ist der wichtigste Umweltfaktor ihr Hygienestatus. Der „Spezifisch Pathogen Freie (SPF)“-Status ist ein international anerkannter Standard für den Gesundheitsstatus von Labortieren. Dieser Status wird von der „Federation of European Laboratory Animal Science Association“ (FELASA) definiert und kontinuierlich überprüft. Am HZI halten wir alle unsere Mäuse auf diesem SPF-Hygienestandard.

Um den SPF-Status zu erfüllen, werden alle Mäuse unserer Einrichtungen in speziellen Käfigen gehalten, den so genannten „Individually Ventilated Cages“ (IVC). IVC-Käfige haben separate Lufteinlass- und Abfuhrstutzen. Die einströmende und ausströmende Luft wird durch einen partikel-dichten Filter geleitet, um sicherzustellen, dass sterile Luft in die Käfige gelangt und Pathogene aus der ausströmenden Luft herausgefiltert werden. Auf diese Weise stellt jeder Käfig eine für sich isolierte Einheit dar, so dass Kreuzkontaminationen vermieden und die Umgebung und auch die Menschen vor den Pathogenen geschützt werden.

Ein routinemäßiges Überwachungsprogramm wurde als Qualitätskontrollsystem etabliert, um den Gesundheitsstatus aller Mäuse in den verschiedenen Einrichtungen des HZI zu gewährleisten. Es ist es nicht erlaubt, Mäuse aus anderen Laboratorien mit niedrigerem Hygienestatus, z.B. solche, die mit viralen oder bakteriellen Mauspathogenen infiziert sind, in unsere Einrichtungen einzuführen. Wenn solche Stämme für unsere Forschungsprojekte absolut notwendig sind, werden sie in einer kleinen spezialisierten Quarantäneeinheit aufgenommen. Diese befindet sich weit entfernt von den anderen Anlagen und wird getrennt betreut. Die importierten Mausstämme können dann von hier mittels Embryotransfer in die zentralen Anlagen aufgenommen werden. Beim Embryotransfer wird die Nachkommenschaft der importierten Mäuse von allen infektiösen Erregern befreit.

Die existierenden Gebäude Die heutigen Tieranlagen und -einrichtungen am HZI bestehen aus drei Einheiten: Dem Hauptgebäude (Gebäude T), der Infektionseinheit (Anbau D) und der Quarantäneeinheit in einem separaten Gebäude (Gebäude K). Jede der Einheiten hat ihre eigene Infrastruktur, bestehend aus Reinigungsküchen, Schleusen und Tierpflegern. Zusätzlich zur SPF-Haltung, der Expansionszucht und den Infektionsexperimenten wird Platz für die Generierung von Mausmutanten zur Verfügung gestellt.

Gebäude T besteht aus drei Laboratorien und elf Tierräumen auf zwei Stockwerken. Es hat eine Gesamtkapazität von etwa 3300 Käfigen (entspricht etwa einer Kapazität von ca. 9000 Mäusen) und wird hauptsächlich für die Haltung von Inzuchtstämmen und Mutantenlinien genutzt.

Im Anbau D werden Infektionsexperimente bis zur Sicherheitsstufe S2 durchgeführt. Diese Einheit wurde im Oktober 2003 in Betrieb genommen und hat eine Kapazität von ca. 1700 Käfigen.

Die Quarantäneeinheit hat eine sehr niedrige Kapazität von etwa hundert Käfigen und wird nur zur Sanierung von Mausstämmen genutzt.

Der Bau des neuen Tierhauses Das HZI wurde 1965 unter dem Namen „Gesellschaft für Molekularbiologische/Biotechnologische Forschung (GBF)“ gegründet. Als sich der Fokus des Zentrums im Jahr 2000 in Richtung Infektionsforschung verschob, musste die Infrastruktur entsprechend angepasst werden, um die Bedürfnisse eines modernen Gesundheitsforschungszentrums zu erfüllen. Einer der wichtigsten Aspekte der Gesundheitsforschung ist die Validierung biologischer Mechanismen und neuer *in vivo*-Behandlungsstrategien, die den gesamten Organismus umfassen. Daher mussten die existierenden Mauseinrichtungen erweitert werden.



27. März 2007: Der Rohbau des neuen Maushauses ist fertig.

Foto: HZI, Bierstedt

Im Rahmen der Begutachtung des wissenschaftlichen Programms im Jahr 2003 wurde von einem internationalen Ausschuss wissenschaftlicher Experten der dringende Bedarf des HZI zur Erweiterung der tierexperimentellen Einrichtungen festgestellt. Dieses Gremium empfahl den Bau eines neuen Tierhauses.

Die Planung der neuen Anlage begann kurz danach. Eine Expertengruppe des HZI, bestehend aus dem Leiter der TEE, dem Leiter des Technischen Betriebes, zwei Wissenschaftlern und Angehörigen des Managements, entwickelten die ersten Konzepte. Diese wurden erörtert und im Januar 2004 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) freigegeben. Im Verlauf des Jahres 2005 legten die Planungsgruppe und ein Architektenteam die weiteren Details des Konstruktionsplans fest, der daraufhin vom BMBF und dem Ministerium für Wirtschaft und Kultur (MWK) des Landes Niedersachsen im Januar 2006 genehmigt wurde. Der Bau des Gebäudes begann im März 2006. Der aktuelle Zeitplan sieht vor, die neue Anlage im Juli 2008 in Betrieb zu nehmen.

Das neue Gebäude wird den dringend benötigten Platz für Infektionsstudien mit Mäusen bereitstellen. Es erlaubt somit, die *in vivo*-Validierungsexperimente im Zusammenhang mit dem laufenden PoF-Programm und den verschiedenen extern finanzierten Projekten am HZI durchzuführen (Die gegenwärtigen Einrichtungen bieten nicht genügend Raum, um die zahlreichen Mausstämme und Mutantenlinien zu halten und zu züchten, die für die Identifizierung von Suszeptibilitäts-genen, die Analyse des Immunsystems und die Validierung neuer Impfstoffe oder alternativer Behandlungs- und Präventionsstrategien benötigt werden. Darüber hinaus wird die neue Einrichtung eine spezielle Einheit mit Laboratorien und Tieranlagen auf dem Sicherheitsniveau S3 haben, die zurzeit auf dem Campus nicht verfügbar ist.

Die Ausführung der neuen Einrichtung folgt den Richtlinien, die auch für die anderen Tieranlagen des HZI gelten: SPF-Hygienestatus und Barrierehaltung. Auf einer Gesamtfläche von 2000 m² wird die neue Anlage Platz für etwa

10 000 Käfige, Büros für Mitarbeiter und einen Vortragsraum im Erdgeschoss bieten. Das Kellergeschoss und die Hälfte des vierten Stocks sind vollständig mit technischen Räumen belegt, in denen die Belüftung, Temperatur und Luftfeuchtigkeit in den Tierhaltungsräumen geregelt wird. Etliche Autoklaven und Sterilisationsschleusen sorgen dafür, dass sämtliche Ausrüstungen und Materialien keimfrei in die Einrichtung gelangen. Personal, das die Tierhaltungs- und Laborbereiche betritt, wechselt die Kleidung in speziellen Schleusen und passiert Luftduschen um sicherzustellen, dass kein infektiöses Material eingeschleppt wird.

Um die ordnungsgemäße Haltung der Mauskolonien, den Betrieb der Anlage und die Unterstützung der wissenschaftlichen Arbeiten sicherzustellen, werden in der neuen Einrichtung ca. 30 Menschen, darunter Tierpfleger, Reinigungspersonal, technisches Personal und Wissenschaftler, beschäftigt sein.

Abschließende Anmerkungen Zusammenfassend machen die hochspezialisierte technische und architektonische Infrastruktur, engagierte Tierpfleger, die sachkundigen wissenschaftlichen Forschungsgruppen und die speziellen Ressourcen an Mausstämmen, das HZI zu einem einzigartigen Ort, an dem eine international kompetitive experimentelle und vorklinische Infektionsforschung möglich ist.

Danksagungen Ich möchte meinen Dank allen Personen (dem Projektteam, den Architekten, den Tierpflegern und vielen weiteren Mitarbeitern) aussprechen, die sowohl an der Etablierung und dem Betrieb der derzeitigen Tieranlagen beteiligt als auch in die Planung und Realisierung der neuen Einrichtung eingebunden waren. Unser spezieller Dank gilt Dr. David Monner, der 2007 in den Ruhestand gehen wird, für sein großes Engagement und seine hervorragende Arbeit als Leiter der zentralen Tierversuchseinrichtungen.

Klaus Schughart, geboren 1956, studierte Biologie an der Universität Köln und promovierte 1986 am Institut für Genetik. 1987-1989 war er Postdoktorand an der Yale University, New Haven, USA. 1990-1994 Forschungsgruppenleiter am MPI für Immunbiologie, Freiburg. 1994 Habilitation in Genetik, Universität Freiburg. 1995-1996 Forschungsgruppenleiter am GSF, München. 1997-2001 Leiter der Abteilung für Molekulare und Zelluläre Biologie, Transgene S.A., Strasbourg, Frankreich. 2002-2006 Leiter von Forschung und Entwicklung und des Bereichs Wissenschaftliche und Technische Dienste am HZI. Seit 2006 Leiter der Abteilung für Experimentelle Mausgenetik am HZI und Professor an der Tierärztlichen Hochschule Hannover.



Höhepunkte 2005-2007

AUTOR | Hannes Schlender | Leiter der Pressestelle und Öffentlichkeitsarbeit | has@helmholtz-hzi.de

Forscherpreis für die Zählung eines Bodenbakteriums

Für ihre wissenschaftlichen Leistungen wurden Gerhard Höfle und Hans Reichenbach im März 2006 mit der Hans Herloff Inhoffen-Medaille geehrt. Höfle und Reichenbach haben sich am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (damals noch: GBF) über Jahrzehnte mit den im Boden lebenden Myxobakterien und ihrer „Zählung“ für die Zwecke des Menschen befasst. Bei der Erforschung dieser Mikroorganismen entdeckten Höfle, Reichenbach und ihr Forscherteam sogar ein Krebsmedikament – das Epothilon, das zurzeit in klinischen Tests erprobt wird. Der vom Förderverein des Helmholtz-Zentrums gestiftete Preis wird im Rahmen der öffentlichen Inhoffen-Vorlesung verliehen, einer gemeinsamen Veranstaltung des Helmholtz-Zentrums und der Technischen Universität Braunschweig.



Prof. Balling gratuliert Prof. Höfle während der Zeremonie zur Überreichung der Hans Herloff Inhoffen-Medaille. Von links nach rechts: Prof. Joachim Klein, Dr. Mark Ergezinger (Gewinner des Fritz Wagner-Preises), Prof. Gerd Höfle, Prof. Hans Reichenbach, Prof. Rudi Balling, Silke Wenzel und Annika Steffen (beide Gewinner des Doktorandenpreises) Foto: HZI, Sierigk

Grippe: Experten erklären eine Menschheits-Geißel

Über das Influenza-Virus informierte ein Symposium, zu dem das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung am 2. März 2006 Experten aus aller Welt geladen hatte. Stargast dieses „Afternoon on Flu“: Adolfo Garcia-Sastre von der Mount Sinai School of Medicine in New York. Der Virologe hatte das Grippe-Pandemievirus von 1918 aus tiefgefrorenen Gewebeproben rekonstruiert und im Labor wiederaufleben lassen. Das Fachtreffen, organisiert von Dr. Siegfried Weiß und Dr. Sabine Kirchhoff, stieß auf lebhaftes Interesse der Medien: Berichte darüber erschienen unter anderem in *Die Welt*, *Berliner Morgenpost*, *Technology Review*, *stern.de* und *Yahoo*.



Prof. Dr. Adolfo Garcia-Sastre von der Mount Sinai School für Medizin, New York, während seines Besuchs im HZI-FORUM Foto: HZI, Hübner

Spatenstich für ein neues Tierhaus Mit einem symbolischen ersten Spatenstich eröffneten die Geschäftsführer des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung, Prof. Rudi Balling und Dr. Georg Frischmann, gemeinsam mit Ehrengästen am 14. März 2006 die Bauarbeiten für die Errichtung eines neuen Tierhauses. Dort sollen Mäuse gehalten werden, an denen Wissenschaftler die Mechanismen von Infektionskrankheiten untersuchen werden. Die so gewonnenen Erkenntnisse bilden die Grundlage für neue Diagnose- und Therapieverfahren im Kampf gegen krankheitsserregende Bakterien und Viren.



Ein Moment während der Zeremonie für die Grundsteinlegung für das neue Maushaus. Foto: HZI

Internationaler Zellbiologen-Kongress in Braunschweig

Rund 500 Wissenschaftler aus dem In- und Ausland trafen sich im März 2006 zur Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zellbiologie (DGZ) in Braunschweig. Gastgeber der Tagung war die Technische Universität Braunschweig. Die lokale Organisation lag in den Händen von Prof. Jürgen Wehland, der beim Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung den Bereich Zellbiologie leitet. Der Großteil der rund 60 geladenen Sprecher kam aus dem Ausland. Den Eröffnungsvortrag der Jahrestagung hielt die amerikanische Wissenschaftlerin Jennifer Lippincott-Schwartz vom National Institute of Health in Bethesda/USA. Lippincott-Schwartz ist eine der führenden Forscherinnen auf dem Gebiet der Sichtbarmachung von Proteinen in einzelnen lebenden Zellen. Vor 30 Jahren gegründet, versammelt die Deutsche Gesellschaft für Zellbiologie (DGZ) rund 1300 Biochemiker, Genetiker, Molekularbiologen, Mediziner, Zoologen und Botaniker aus dem deutschen Sprachraum in ihren Reihen.



Prof. Jennifer Lippincott-Schwartz (National Institute of Health, Bethesda, USA), eine der führenden Wissenschaftlerinnen auf dem Gebiet der intrazellulären Proteindynamik, hielt die Carl Zeiss-Vorlesung während der Jahrestagung der DGZ in Braunschweig. Foto: HZI, Haas

Preisgekrönte Vision vom „Labor in der Zelle“ Eine einzelne Zelle, mit hauchfeinen „Nano-Nadeln“ zielgenau bearbeitet und mit Analyse-Chips und Hochleistungs-Mikroskopen kontinuierlich untersucht: So könnte die Zukunft der biomedizinischen Forschung aussehen. Für dieses visionäre Modell des „Lab-in-a-cell“ („Labor in der Zelle“) wurde der Immunologe Professor Jan Buer bei einem Festakt in Starnberg (Oberbayern) ausgezeichnet. Er gewann den mit 10 000 Euro dotierten ersten Preis des Wettbewerbs „Imagining the Future“. Veranstalter des weltweit ausgeschriebenen Wettbewerbs ist Roche Applied Science, ein Geschäftsbereich

des Pharma-Konzerns Roche. Prämiert wurden die besten wissenschaftlich fundierten Prognosen für die Zukunft der biomedizinischen Forschung und ihre Anwendung für die Entwicklung von Arzneimitteln und Diagnostika. Professor Buer forscht am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und lehrt an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH).



Prof. Dr. Jan Buer nimmt den Scheck für den ersten Preis beim Wettbewerb „Imagining the Future“ entgegen. Foto: Roche

Girls' Day diesmal auch für Jungen Zum bundesweiten Girls' Day öffnete das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung auch im Jahr 2006 ihre Forschungslabore für wissbegierigen Nachwuchs. Mädchen im Alter von 14 bis 16 Jahren erhielten dabei Gelegenheit, sich ausführlich über die vielfältigen Berufswegen zu informieren, die ein großes Forschungszentrum bietet. Ein Novum: Aus Gründen der Gleichbehandlung fand erstmals parallel dazu ein Projekttag „Neue Wege für Jungs“ statt. Auch daran beteiligte sich das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. Die beiden Aktionen wurden zu einem gemeinsamen Programm zusammengefasst.



Schülerinnen und Schüler erhielten während des Girl's Day/ Neue Wege für Jungen viele interessante Einblicke in die Forschungsarbeiten in HZI Laboren Foto: HZI

Geld und Ehre für das Braunschweiger Schülerlabor

Das Biotechnologische Schülerlabor BioS auf dem Campus des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung zählt zu den besten in Deutschland – insbesondere, was die Leistungen bei der Lehrerfortbildung angeht. Zu diesem Schluss kam ein unabhängiges Gutachter-Gremium, das im Auftrag des Leibniz-Instituts für die Pädagogik der Naturwissenschaften in Kiel (IPN) vorbildliche Schülerlabore auszeichnete. BioS erhielt im Mai 2006 eine Förderung in Höhe von 25 000 Euro. Damit war ein groß angelegtes Lehrerfortbildungsprojekt im darauffolgenden Schuljahr gesichert. Seit 2002 steht BioS Schülern der höheren Jahrgangsstufen offen, die sich für anspruchsvolle Experimente interessieren. In den BioS-Kursen können die Schüler gentechnische und immunologische Arbeiten kennen lernen, für die den Schulen die technische Ausstattung fehlt.

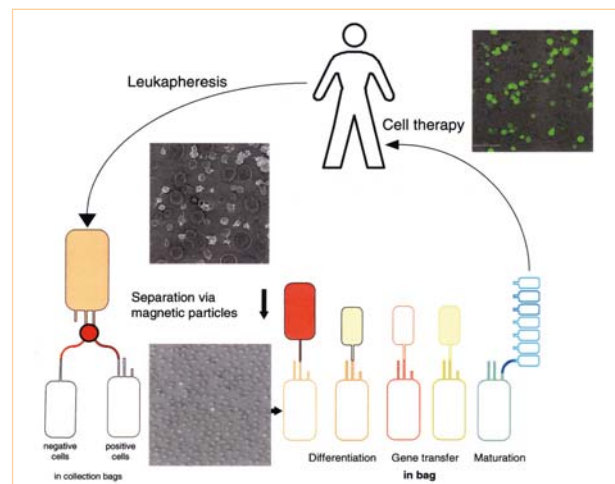


Prof. Dr. Ralf Mendel (Mitte), TU Braunschweig, im Gespräch mit Arntraud Meyer (links) und Dr. Iris Eisenbeiser (rechts) vom Schülerlabor BioS Foto: HZI, Ammerpohl

Ein Bündnis für die Antikörper-Produktion Neue, verbesserte Produktionsverfahren für Antikörper entwickeln: Das ist das Ziel einer Kooperation, die das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung mit dem international agierenden Pharma-Unternehmen Roche vereinbart hat. Im Auftrag und in Zusammenarbeit mit Roche untersuchen die Helmholtz-Wissenschaftler die tierischen Produktionszellen, die man für die Herstellung von Antikörpern einsetzt. Eine Vielzahl von Testläufen soll ermitteln, in welchen Kulturmedien und unter welchen Bedingungen diese Zellen am besten und ertragreichsten wachsen. Dabei sollen Wirtschaftlichkeit und Ausbeute der Produktion verbessert werden. Die Zusammenarbeit gilt zunächst für drei Jahre. Antikörper finden in der Medizin breite Anwendung. Diese Proteinmoleküle, die dem menschlichen Körper als „Waffe“ gegen eingedrungene Krankheitserreger dienen, zeigen ein

sehr spezifisches Bindungsverhalten. Deshalb kann man sie einsetzen, um gezielt andere Moleküle zu finden und zu neutralisieren.

Hilfreiche Zellen für die moderne Medizin Heilverfahren mit lebenden Zellen waren das Thema eines Fachkongresses, zu dem sich Ärzte und Forscher aus ganz Deutschland und dem benachbarten Ausland im Juni 2006 in Braunschweig trafen. Veranstalter der Tagung mit dem Titel „Innovative zelluläre Therapien auf dem Weg in die Klinik“ waren das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und der Berufsverband deutscher Transfusionsmediziner (BDT), vertreten durch Mediziner des Klinikums Braunschweig. Anlass für das Experten-Treffen war der Abschluss eines vom Helmholtz-Forscher Dr. Hansjörg Hauser koordinierten Forschungsprojekts, das vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie gefördert wurde und die einfache Gewinnung von Immunzellen für die Tumorthherapie mit Hilfe zum Ziel hatte.



GMP-basiertes Produktionsschema für die Gewinnung von dendritischen Zellen für die Immuntherapie.

Europäische Fachwelt ehrt Braunschweiger Forscherin

Für ihre Arbeiten über ein Signal-Molekül in Säugetierzellen wurde Dr. Theresia Stradal mit einem europaweit ausgeschriebenen Preis ausgezeichnet. Am 26. Juni 2006 nahm die Arbeitsgruppenleiterin des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung in Istanbul den mit 10 000 Euro dotierten „FEBS Letters Young Investigator Award“ entgegen. Diesen Preis vergibt die Federation of European Biochemical Societies (FEBS) alljährlich für den besten wissenschaftlichen Fachartikel eines Nachwuchsforschers im Verbandsorgan FEBS-Letters. Er wurde bei der Jahrestagung des Verbands überreicht. Die Federation of European Biochemical

Societies ist eine Dachorganisation für biowissenschaftliche Fachverbände und umfasst mehr als 40 000 Mitglieder in 36 Mitgliedsverbänden sowie sechs assoziierten Organisationen aus ganz Europa.



Dr. Theresia Stradal Foto: HZI, Hans

Der neue Name der GBF: Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung Am 18. Juli gab sich die bisherige Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) einen neuen Namen. Seither heißt das Institut „Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung“. Damit ist die wissenschaftliche Ausrichtung des Zentrums in Zukunft auf den ersten Blick erkennbar. Ein zweiter Aspekt der Umbenennung: Die Marke „Helmholtz-Gemeinschaft“ soll in Deutschland und in der Welt bekannter werden. Die Helmholtz-Gemeinschaft ist die größte deutsche Wissenschaftsorganisation. In ihr sind das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und 14 weitere Forschungszentren mit insgesamt 25.000 Mitarbeitern zusammengeschlossen. Verbunden mit der Namensänderung ist auch ein neues Design. Die drei Bögen im neuen Logo stehen für die drei Kernelemente der Helmholtz-Strategie: wesentliche Beiträge zur Lösung drängender Fragen, Forschung mit Hochtechnologie und komplexer Infrastruktur sowie Transfer der Ergebnisse in eine gesellschaftliche und wirtschaftliche Anwendung.



Prof. Dr. Rudi Balling und Dr. Georg Frischmann hissen die neue Fahne des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung am 18. Juli 2006, dem Tag der Umbenennung der GBF.

Foto: HZI, Gramann

Niedersächsisches Landeskabinett tagt im „Twincore“

Das Niedersächsische Landeskabinett tagte am 5. September 2006 im Twincore, dem neuen Zentrum für experimentelle und klinische Infektionsforschung in Hannover. Dieses Institut wird gemeinsam vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) und der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) betrieben. Zur Begrüßung der Ministerinnen und Minister durch den Präsidenten der MHH, Prof. Dieter Bitter-Suermann, und den wissenschaftlichen Geschäftsführer des Helmholtz-Zentrums, Prof. Rudi Balling, waren auch Vertreter der Presse geladen. Im Twincore arbeiten seit kurzem Teams aus Grundlagenforschern und klinischen Wissenschaftlern in gemeinsamen Projekten. Das Institut ist ein in Deutschland einmaliges Modell und beispielhaft für die Zusammenarbeit von universitärer und außeruniversitärer Forschung.



Prof. Dr. Rudi Balling, HZI, Prof. Dr. Dieter Bitter-Suermann, MHH, und die Mitglieder des Kabinetts der Landesregierung Niedersachsens vor dem Eingang zum „Twincore“-Gebäude

Foto: HZI, Gramann

Tschira-Preis für Helmholtz-Forscher

Florian Bredenbruch, ein junger Pseudomonas-Forscher am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, gewann den Klaus-Tschira-Preis für verständliche Wissenschaft 2006. Diese mit 5000 Euro dotierte Auszeichnung wird an junge Naturwissenschaftler vergeben, die ihr Promotionsthema der Öffentlichkeit besonders verständlich darstellen können. Der Artikel, mit dem Bredenbruch dies gelang, wurde in einer Beilage der Zeitschrift „Bild der Wissenschaft“ publiziert. In seiner Promotion hatte Bredenbruch sich mit Pseudomonas aeruginosa beschäftigt, einem Bakterium, das vor allem für lungenkranke Menschen sehr bedrohlich werden kann. Bredenbruch untersuchte ein Signalmolekül, das „Pseudomonas Quinolon Signal“, kurz PQS. Es löst offenbar den Tod eines Teils der in einem Biofilm

zusammenlebenden Bakterien aus: Unter Stressbedingungen opfern sich Teile der mikrobiellen Gemeinschaft und stellen damit Ressourcen für die Überlebenden bereit.



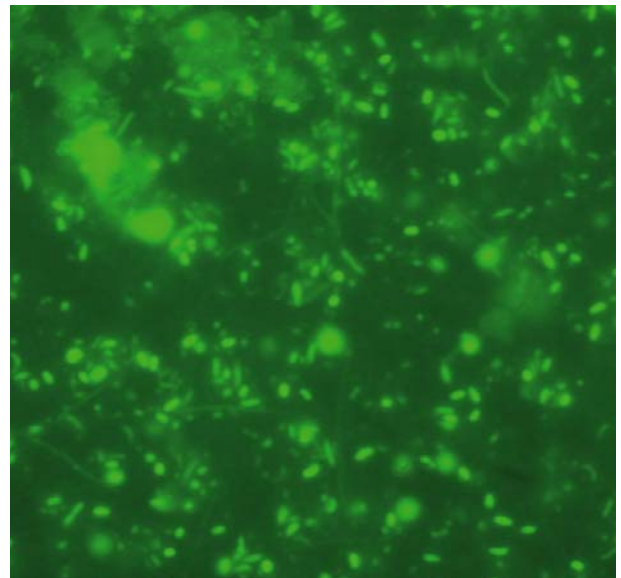
Florian Bredenbruch, Gewinner des Klaus Tschira-Preises, während der Arbeit im Labor Foto: HZI, Bierstedt

Neue Kunststoffe für bessere Zellen-Zucht Neuartige Kunststoff-Oberflächen zu entwickeln, auf denen menschliche und tierische Zellen besser und kontrollierbarer wachsen sollen als bislang: Mit diesem Ziel schlossen sich im November 2006 neun Projektpartner zur Forschungskooperation „Innosurf“ zusammen. Koordiniert wird das Projekt jetzt von Dr. Kurt Dittmar, Molekularbiologe am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. Das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie hatte das Vorhaben für sein Förderprogramm „InnoNet“ ausgewählt und will die Kooperationspartner mit insgesamt einer Million Euro unterstützen. Neben dem Helmholtz-Zentrum gehören zum Innosurf-Verbund auch das Städtische Klinikum Braunschweig, die Technische Universität Braunschweig, das Fraunhofer-Institut für Schicht- und Oberflächentechnik in Braunschweig sowie die Universität Tübingen. Darüber hinaus beteiligen sich – forschend und finanziell – vier privatwirtschaftliche Unternehmen.

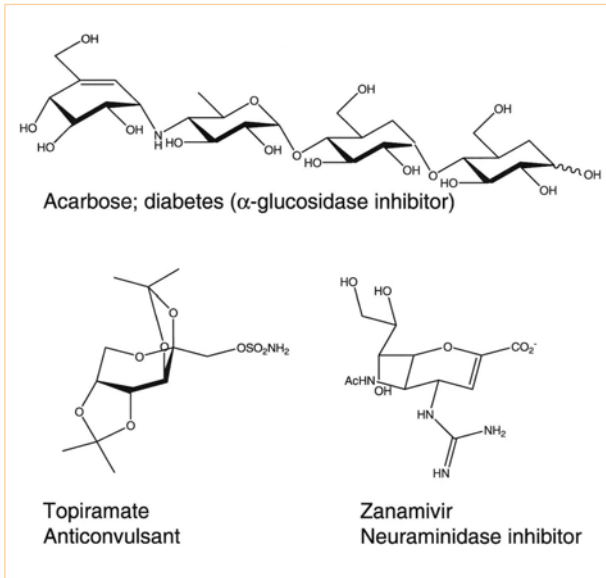


Dr. Kurt Dittmar (rechts), Dr. Bin Ma (Mitte) und Dr. Werner Lindenmaier (links) diskutieren neueste Forschungsergebnisse. Foto: HZI, Hübner

Sichereres Trinkwasser in ganz Europa Das EU-Projekt „Healthy Water“ („Gesundes Wasser“) beschäftigt sich mit der Erforschung der Gattungen pathogener Mikroorganismen, die in unserem Trinkwasser leben. Ein besonderer Fokus liegt auf der Frage, welche Seuchen sie auslösen können, wenn ihre Anzahl groß genug wird. Dieses Projekt wird seit Ende 2006 vom Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung koordiniert. Es wird im Verlauf von 3 Jahren mit einer Gesamtsumme von 2,4 Millionen Euro finanziert. Braunschweiger Forscher unter der Leitung von Dr. Manfred Höfle werden durch acht EU-Partner aus Industrie und Forschung unterstützt. Das Konsortium, das aus der erfolgreichen Arbeit am vorhergehenden Projekt „Aqua-Chip“ hervorgegangen ist, strebt an, molekulare Detektionstechnologien zur Bewertung aller Trinkwasser gefährdenden pathogenen Viren, Bakterien und Protozoen zu entwickeln und zu validieren. Dies soll unter Zuhilfenahme hoch entwickelter DNA-Chiptechnologie und Echtzeit-PCR geschehen. Diese Nachweisttechnologien werden auf spezielle Trinkwasserversorgungssysteme angewendet, die vermutlich ein erhöhtes Infektionsrisiko in sich bergen. Parallel dazu werden epidemiologische Studien an gefährdeten menschlichen Populationen durchgeführt. Die Europäische Union erwartet, dass das Projekt „Healthy Water“ entscheidende Informationen darüber liefern wird, wie die Trinkwasser-Richtlinien modernisiert und die Effizienz der europäischen Trinkwasserversorgung verbessert werden kann.



Mikroflora im Trinkwasser wurde mittels einer neuen Konzentrationstechnik im „Healthy Water“-Projekt getestet. Innerhalb weniger Minuten kann eine Konzentration um den Faktor 20000 erreicht werden (Epifluoreszenzmikroskopie nach Färbung mit SYBR Grün) Foto: HZI



Uridyltriphosphat ist ein Basisausgangsstoff für viele medizinisch relevante Substanzen

Zucker-Bausteine für medizinische Wirkstoffe

Die industrietaugliche und preiswerte Produktion von Uridyltriphosphat, kurz: UTP, ist das Ziel des neuen Forschungsprojekts „QuantPro“, das vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung koordiniert wird. UTP ist der Grundbaustein vieler so genannter Oligosaccharide, die aus mehreren Zucker-Molekülen bestehen. Auf der Basis solcher Mehrfachzucker wurden bereits erfolgreiche Medikamente gegen Volksleiden wie Thrombose oder Diabetes entwickelt. Helmholtz-Forscher Dr. Vitor Martins Dos Santos und seine Kollegen wollen – in Kooperation mit Partnern der Universitäten Stuttgart und Regensburg – UTP kostengünstig und in großen Mengen mit Hilfe von Bakterien der Gattung *E.coli* herstellen. Die Bakterien, die das UTP produzieren sollen, wollen sie dabei mit einem einfachen Nährstoff wie Glucose versorgen. Das könnte ein gangbarer Weg für die biotechnologische Herstellung sein, denn UTP ist im Grunde nur eine aktivierte, energiereichere Form der Glucose.

Was Mäuse-Gene über Krankheitsanfälligkeit verraten

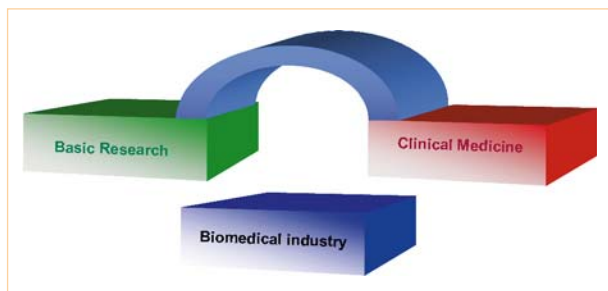
Im Kooperationsprojekt „GeNeSys“ untersuchen Experten seit Anfang 2007 medizinisch bedeutsame Fragen zur komplexen Genetik von Krankheiten. Bei „GeNeSys“ handelt es sich um ein so genanntes virtuelles Institut, eine Einrichtung, die auf mehrere Standorte verteilt ist, aber über eine eigene Führungs- und Managementstruktur verfügt. Im Projekt GeNeSys (German Network for Systems Genetics) sollen in nahe verwandten Mausfamilien die Zusammenhänge zwischen den genetischen Grundlagen, dem Genotyp, und den tatsächlich auftretenden Eigenschaften – dem sogenannten Phänotyp – analysiert werden. Die bioinformatische Datenauswertung erlaubt dann Rückschlüsse auf die genetischen Ursachen von Erkrankungen mit komplexen Vererbungsmustern. Man will vor allem die Anfälligkeit gegenüber Infektionskrankheiten untersuchen. Koordiniert wird das Netzwerk von Prof. Klaus Schughart, Abteilungsleiter am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. Zahlreiche andere Forschungseinrichtungen und Universitäten sind daran beteiligt.



Mäuse im Gespräch Seit dem Sommer 2005 betreute die Öffentlichkeitsarbeit für anderthalb Jahre das BMBF-geförderte „Diskursprojekt – Tierversuche in der Forschung.“ Das Thema Tierversuche berührt, und Emotionen machen eine abwägende Diskussion über die Gründe für Tierversuche sehr schwierig. Eine Erfahrung, die Wissenschaftler des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung regelmäßig in Gesprächen über ihre Arbeit machen müssen. Ein Ziel des Projektes war daher, Kommunikationsformen zu entwickeln, um dieses kontroverse Thema in Großgruppen diskutieren zu können. In zwei Schulveranstaltungen lernten ganze Jahrgangsstufen mit jeweils über 100 Schülern sachlich mit dem Thema Tierversuche umzugehen. (Weitere Module des Diskursprojektes waren ein Film über die Arbeit im Maushaus des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung und ein Dialogforum aus Wissenschaftlern, Ethikern und Vertretern von Genehmigungs- und Überwachungsbehörden. Dieses Dialogforum erarbeitete Methoden für ein langfristiges – über die Projektlaufzeit hinausgehendes – Gespräch über das Thema.)

Nachwuchsschmiede für die Wissenschaft Hervorragenden wissenschaftlichen Nachwuchs aus dem In- und Ausland für die biomedizinische Spitzenforschung ausbilden: Diesem Ziel dient das „Helmholtz-Kolleg für Infektionsbiologie“, ein Doktoranden-Programm, das im Januar 2007 in Braunschweig begonnen hat. Die anspruchsvolle Spezialausbildung von 20 jungen Akademikern wird vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung gemeinsam mit der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) und der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo) organisiert. Die Helmholtz-Gemeinschaft unterstützt das Trainingsprogramm mit 1,8 Millionen Euro aus ihrem Impuls- und Vernetzungsfonds. Neben der Ausbildung im Labor sowie der Arbeit am Promotionsthema bearbeiten die Teilnehmer in Symposien, Vorlesungen und „Summer Schools“ sowie in Wochenend-Klausurtreffen Spezialthemen. Zusätzlich erwerben sie Schlüsselkompetenzen, etwa wirtschaftliche, patentrechtliche und Management-Kenntnisse.

Neue Infrastruktur für die Europäische Forschung EATRIS – European Advanced Translational Research Infrastructure for Medicine – ist eines von sechs Projekten aus dem Bereich Lebenswissenschaften innerhalb des Europäischen Strategieforums für Forschungsinfrastrukturen (ESRFI), das sich für die nächste Förderphase bewerben darf. Koordinator des Projektes ist Prof. Rudi Balling, wissenschaftlicher Geschäftsführer des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung. In den nächsten zwei Jahren sollen die beteiligten Partnerinstitute pan-europäische Managementstrukturen aufbauen. EATRIS soll dazu führen, dass Ergebnisse aus der medizinischen Grundlagenforschung in Zukunft schneller in die Anwendung und damit zum Patienten gebracht werden als bislang.



Das EATRIS-Konzept

Biotech-Training für Forscher aus den ASEAN-Staaten

Zweiundzwanzig junge Wissenschaftler aus Südostasien – vom Biomediziner aus Thailand, dem Biotechnologen aus Indonesien bis zum Umweltmikrobiologen aus Vietnam und dem Biochemiker aus den Philippinen – nahmen an einem einjährigen Trainingsprogramm in „Moderner Industrieller Biotechnologie“ teil, das von der GBF und InWEnt koordiniert und finanziert wurde mit Unterstützung durch die Zentralstelle für Arbeitsvermittlung, die UNESCO und die BioRegion. Das Programm enthielt neben Vorlesungen, Laborbesuchen, praktischen Demonstrationen und wissenschaftlichen Exkursionen auch ein dreiwöchiges Training zum Thema „Technologietransfer“. Darüber hinaus arbeiteten die Teilnehmer 4 Monate wissenschaftlich in einem Labor einer Firma oder eines Forschungsinstituts und wurden in Kursen in die deutsche Sprache und Kultur eingeführt. Mit dem Programm soll der wissenschaftliche und industrielle Austausch zwischen Deutschland und den ASEAN-Staaten gefördert werden. Ein Ergebnis dieser Kurse, die jetzt zum 7. Mal veranstaltet wurden, ist ein Internet-basiertes virtuelles Netzwerk: www.asag-biotechnetwork.org.

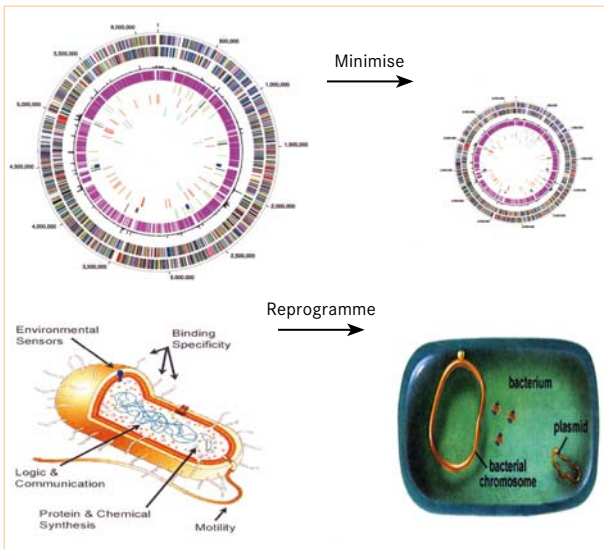


Gruppenfoto der Teilnehmer des InWEnt-GBF-Kurses 2005 während der Verabschiedungszeremonie in der Vertretung des Landes Niedersachsen in Berlin Foto: HZI, Jonas

Programmierung bakterieller Katalysatoren à la carte

Vereinfachen und reprogrammieren. Dies ist das Motto des neuen Forschungsprojektes „PROBACTYS“, das von Dr. Vitor Martins Dos Santos am Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung koordiniert wird. Ziel des Projektes ist es, bakterielle Zellen zu isolieren, indem man sie aus großen Einheiten genetischen Materials herauslöst. So kreiert man ein kleines „factory chassis“, das anschließend mit einer Reihe von hochkoordinierten, wandlungsfähigen genetischen

Segmenten verknüpft wird. Ein sicherer Beweis für das Voranschreiten dieses Initialprojektes wäre die Entwicklung einer Anzahl von Katalysatoren, die ihren Einsatz bei der maßgeschneiderten Entwicklung neuer interessanter Produkte im medizinischen, biochemischen oder Umwelt-Bereich finden. Dieses EU-finanzierte Projekt ist eines der ersten europäischen Projekte im entstehenden Bereich der Synthetischen Biologie, das beide Ziele verfolgt: zum einen das Design und die Fabrikation biologischer Komponenten und Systeme, die noch nicht in der Natur vorkommen, und zum anderen die Nachgestaltung und Fabrikation existierender biologischer Systeme. Dieses stark fachübergreifende Konsortium bindet neben dem HZI das Pasteur Institut in Paris, das Imperial College in London, das CSIC in Madrid, die TU Delft und das Beijing Genome Institut sowie BioMedal, ein KMU der Biotech-Branche, ein.



Projektkonzept: Vereinfachen und Reprogrammieren Grafik: HZI

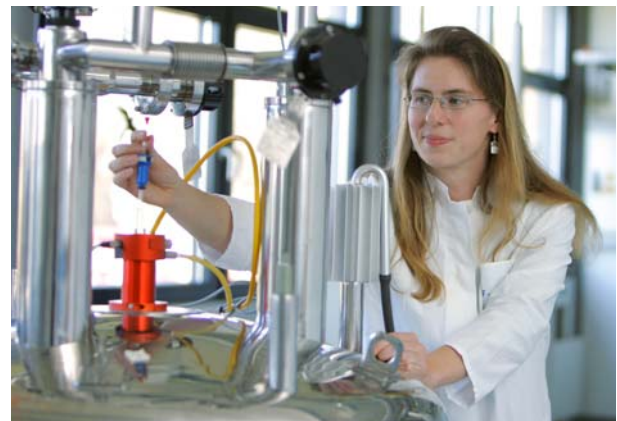
Systembiologie des Stresses bei Pseudomonas Das Verständnis dafür, wie Bakterien auf Stress reagieren, ist erforderlich, um neue Produktionsprozesse auf mikrobieller Basis zu erarbeiten oder neue Interventionsstrategien gegen Pathogene zu entwickeln. Das PSYMO Projekt, das von Dr. Vitor Martins dos Santos und Prof. Ken Timmis am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung koordiniert wird, hat das Ziel, ein systembiologisches Gerüst zu erarbeiten, bei dem experimentelle Arbeit und das Erstellen mathematischer Rechenmodelle ineinander greifen. Auf diese

Weise soll erforscht werden, wie *Pseudomonas putida* – ein wandlungsfähiges Bakterium von großer biotechnischer Bedeutung – bei einer Auswahl industriebezogener Prozesse auf Stress reagiert. Aufgrund seiner systematischen Beschaffenheit wird dieses integrierte Gerüst die Grundlage für die Erforschung neuer biotechnologischer Prozesse bilden. Darüber hinaus wird es für das Verständnis zellulärer Prozesse, die an der Interaktion von Wirten mit infektiösen opportunistischen Pathogenen, wie dem gefährlichen *Pseudomonas aeruginosa*, beteiligt sind, nützlich sein. Dieses von ERA-NET finanzierte PSYMO-Projekt ist interdisziplinär und bindet 18 Institutionen in 5 Ländern ein.

Gründung von Helmholtz Hochschul-Nachwuchsgruppen

Im Mai 2005 wurde die erste Helmholtz Hochschul-Nachwuchsgruppe unter der Leitung von Dr. Susanne Häußler am HZI (früher GBF) eingerichtet. Sie wurde der Medizinischen Hochschule Hannover angegliedert.

Am 1. März 2007 wurde eine zweite Helmholtz Hochschul-Nachwuchsgruppe am HZI ins Leben gerufen. Die Leitung übernahm Dr. Christiane Ritter, die zuvor in den USA am Salk-Institut, La Jolla, Kalifornien, gearbeitet hatte.



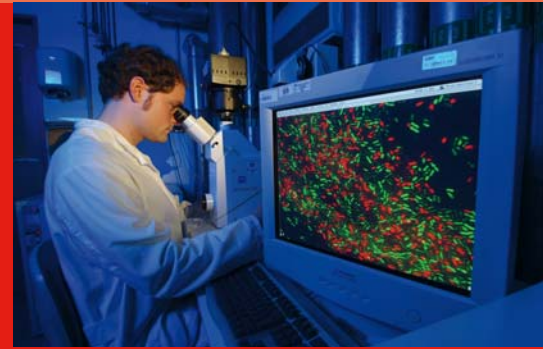
Dr. Christiane Ritter während der Arbeit am NMR

Foto: HZI, Gramann

FOKUS

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

SONDERBEITRÄGE



Abbildungen auf diesen Seiten von links nach rechts: Mathias Müsken analysiert Bilder von Pseudomonas aeruginosa Bakterien, die in einem Biofilm gewachsen sind, mittels Fluoreszenzmikroskopie | Antje Ritter bei der Gewinnung von absolutem Tetrahydrofuran | Larissa Jundt isoliert biologisch aktive Substanzen mittels HPLC | Fotos: HZI, Bierstedt



- 26 Das „Sozialverhalten“ von Bakterien: Ein neuer
Ansatz zum Verständnis chronischer Infektionen**
- 32 Die Chemische Pipeline – Forschungsprogramm
und Infrastruktur für die Entdeckung und
Evaluierung von neuen Antiinfektiva**



Das „Sozialverhalten“ von Bakterien: Ein neuer Ansatz zum Verständnis chronischer Infektionen

AUTOR | Priv.-Doz. Dr. Susanne Häußler | Helmholtz Hochschul-Nachwuchsgruppe Chronische Pseudomonas Infektionen | sus@helmholtz-hzi.de

Die Erfolge der modernen Medizin werden zunehmend durch chronisch opportunistische Infektionen beeinträchtigt. Chronische Infektionen sind schwer zu therapieren, da die Erreger nicht nur gegenüber der Immunantwort des Wirtes, sondern auch gegenüber den gängigen antimikrobiellen Therapien weitestgehend resistent sind. Ein Hauptgrund dafür, dass Bakterien im menschlichen Organismus überleben, ist, dass sie sich in sogenannten Biofilmen zusammen schließen. Hier sind die Bakterien von einer Schutzhülle umgeben, die sie sehr wirksam vor Angriffen des Immunsystems oder Antibiotika schützt.

Pseudomonas aeruginosa ist nicht nur ein wichtiger opportunistischer Erreger und ursächlich an vielen nosokomialen* Infektionen beteiligt, sondern das Bakterium ist auch ein Modellorganismus für Untersuchungen über die komplexen Vorgänge bakterieller Persistenz. Die Aufklärung der molekularen Mechanismen, die der Biofilm-Ausbildung zugrunde liegen, genauso wie die Rolle der interbakteriellen Kommunikation sollten neue Einblicke in die Pathogenität von *P. aeruginosa* geben, neue Impulse bei der Versorgung chronisch infizierter Patienten liefern und dazu beitragen, geeignete Ziele für eine pharmakologische Interferenz zu identifizieren.

Chronische Infektionen sind Biofilm-Infektionen

Heutzutage stehen uns sehr effiziente Antibiotika zur Verfügung und gemeinsam mit erfolgreichen Impfprogrammen hat ihr Einsatz in der industrialisierten Welt dazu geführt, dass akute Infektionskrankheiten weitestgehend beherrscht werden. Allerdings scheinen die heute zur Verfügung stehenden Antibiotika weit weniger wirksam gegenüber solchen bakteriellen Erregern zu sein, die chronische Infektionen verursachen. Bei diesen Infektionen reicht es nicht mehr aus, einzelne Bakterien vom Infektionsort zu isolieren, zu kultivieren, zu identifizieren und einer Antibiotikaempfindlichkeitstestung zu unterziehen, um eine erfolgreiche Therapie einleiten zu können. Häufig kann zwar eine prolongierte Antibiotikagabe mit empfindlich getesteten Antibiotika die absolute Keimlast reduzieren, sie vermag es aber nicht, die Infektion zu beseitigen.

Insbesondere durch neue Behandlungsmethoden, aber auch aufgrund des steigenden Alters unserer Bevölkerung, werden chronische Infektionen immer häufiger und machen heute schon ca. 2/3 aller Infektionskrankheiten in den Industrienationen aus. Chronische Infektionen verursachen nicht nur hohe Kosten – im Gegensatz zu akuten Infektionen zeichnen sie sich durch einen langsam fortschreitenden Verlauf aus, der letztendlich zu einem vollständigem Funktionsverlust des betroffenen Organs führen kann.

Darüber hinaus wird chronischen Infektionen eine ursächliche Rolle bei der Entstehung von Krebs zugeschrieben, wie etwa Leberkrebs nach Hepatitis C-Infektionen, Magenkrebs nach *Helicobacter*-Infektionen und sogar Arteriosklerose durch persistierende Chlamydien-Infektionen. Ein Hauptgrund für die Etablierung einer chronischen Infektion – neben einer intrazellulären Persistenz – ist der Zusammenschluss von Bakterien innerhalb sogenannter Biofilme. Diese Biofilme sind bakterielle Gemeinschaften, in denen die Bakterien zumeist auf einer Oberfläche heften und eine Schutzhülle ausbilden, die zum großen Teil aus bakteriellen Exopolysacchariden besteht. Durch diese werden die Bakterien wie durch einen Klebstoff zusammengehalten und äußerst wirksam vor diversen Umwelteinflüssen und vor Angriffen des Immunsystems oder durch Antibiotika geschützt. Biofilme finden wir nicht nur bei chronischen Infektionen, sondern sie sind die Hauptwachstumsform von Bakterien überhaupt, also auch vor allem in unserer Umwelt. Im medizinischen Bereich zeigen morphologische Daten eindrucksvoll das Wachstum von diversen bakteriellen Erregern innerhalb von Biofilmen, insbesondere auf Fremdkörpern wie Kathetern oder Implantaten. Daneben gehören vor allem Karies, Gallengangsinfektionen, Osteomyelitiden, Endokarditiden und die Infektion der Mukoviszidose-Lunge mit *Pseudomonas aeruginosa* zu den häufigsten chronischen Biofilm-Infektionen.

* nosokomial leitet sich vom griechischen Wort „nosokomeion“ ab und bedeutet Krankenhaus (nosos = Krankheit und komeo = sich darum kümmern)

***Pseudomonas aeruginosa*: Modellkeim chronischer Infektionen**

In den letzten Jahren wird zunehmend der bakterielle Erreger *P. aeruginosa* als Modellorganismus eingesetzt, wenn es um Untersuchungen der bakteriellen Adaptation an einen chronisch persistierenden Infektionsstatus geht. *P. aeruginosa* ist ein ubiquitär verbreitetes gram-negatives Stäbchen, das nicht nur in der unbelebten Umwelt im feuchten Milieu seinen natürlichen Lebensraum hat, sondern auch als Infektionserreger bei Pflanzen, Tieren und Menschen gefürchtet ist. *P. aeruginosa* ist ein fakultativ pathogenes Bakterium und einer der bedeutendsten Erreger von Krankenhaus-Infektionen. Zu schweren Infektionen kommt es insbesondere bei immunsupprimierten Patienten, auch beatmungsassoziierte Pneumonien und Wundinfektionen bei Verbrennungspatienten sind häufige und komplikationsreiche Infektionen. Eine besondere Bedeutung hat die Infektion der Mukoviszidose-Lunge mit *P. aeruginosa*. Durch eine chronische Infektion kommt es zu einer progredienten Verschlechterung der Lungenfunktion, die mit >90 % die häufigste Todesursache der Mukoviszidose-Patienten ist. Eine intensiviertere Antibiotikatherapie verbessert zwar die klinische Situation erheblich, vermag aber die chronische Infektion der Lunge nicht vollständig und dauerhaft zu beseitigen.



Abb. 1. Diverse Kolonie-Morphologien von *P. aeruginosa* auf Columbia Blutagar isoliert aus einer chronisch infizierten Mukoviszidose-Lunge. Foto: HZI

***P. aeruginosa* Biofilm-Morphotypen** Im Kontext mikrobieller Pathogenität bei Mukoviszidose wurde die Aufmerksamkeit in den letzten Jahren auf mukoide Isolate fokussiert. Diese produzieren große Mengen an extrazellulärem Alginat. Dieses Exopolysaccharid bildet unter Biofilm-Wachstumsbedingungen eine effektive Antibiotika-Diffusions-Barriere und schützt die Bakterien sehr wirksam vor Phagozytose. Allerdings finden sich in der Mukoviszidose-Lunge typischerweise auch andere *P. aeruginosa*-Morphotypen (Abb. 1), z.B. langsam wachsende Sub-Populationen. Diese morphologischen Varianten produzieren kleine Kolonien auf Nähragar, was zu ihrer Namensgebung „small colony variants“ (SCV) geführt hat. Ihre Bedeutung blieb lange unterschätzt und da anfängliche Studien ein deutlich vermindertes Virulenzpotenzial zeigten, wurden sie als morphologische Varianten eingestuft, die bei akuten Infektionen keine Rolle spielen. Erst in den letzten 10 Jahren wurde den SCV-Morphotypen zunehmend Beachtung geschenkt und die besondere Bedeutung dieser Erregerform erkannt: Langsam wachsende Mikroorganismen sind häufig Verursacher von chronisch persistierenden bakteriellen Infektionen. Und auch langsam wachsende Sub-Populationen (SCV) von bakteriellen Erregern, die sonst eher akute Infektionen hervorrufen, verdienen Aufmerksamkeit im Zusammenhang mit chronisch persistierenden Infektionen. Ca. 3% aller *P. aeruginosa* positiven Mukoviszidose Sputum-Proben sind ebenfalls SCV positiv. Diese SCVs zeigen eine leicht erhöhte Resistenz gegenüber einer großen Bandbreite von Antibiotika und ihr Auftreten korreliert mit schlechten Lungenfunktionsparametern und mit einer antibiotischen Inhalationstherapie.

Klinische *P. aeruginosa* SCV Isolate sind eine sehr heterogene Gruppe, die verschiedenste phänotypische Merkmale aufweisen. Es gibt allerdings eine große Untergruppe von *P. aeruginosa* SCVs, die eine besonders ausgeprägte Fähigkeit zur Biofilmbildung zeigen und im Vergleich zu ihren Wildtypen einen Überlebensvorteil unter stationären Wachstumsbedingungen haben. Charakteristischerweise haften die Bakterien innerhalb von Biofilmen an einer Oberfläche und auch aneinander. Dies kann durch die Produktion von bakteriellen Polysacchariden verstärkt werden, aber auch durch die Expression von hydrophoben Zellanhängseln wie Pili oder Fimbrien, die die Bakterien untereinander

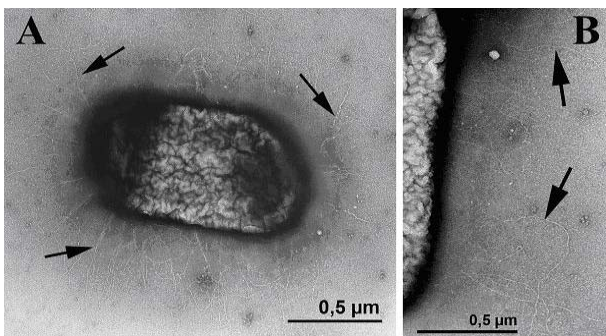


Abb. 2. Expression von Fimbrien in *P. aeruginosa*. Sie vermitteln eine Aggregation der Bakterien untereinander und eine Heftung an Oberflächen. Foto: HZI, Rohde

vernetzen und die Bindung an eine Oberfläche ermöglichen (Abb. 2). Es konnte gezeigt werden, dass *P. aeruginosa* Mutanten mit einem Defekt in den sogenannten „chaperone usher pathway“ (*cupA*) Genen nicht mehr in der Lage waren, Biofilme auszubilden. Funktionelle Analysen von ausgewählten Mutanten, die einen phänotypischen Switch von einem Wildtyp-Phänotyp zu einer Biofilm-bildenden SCV aufzeigten, deuteten darauf hin, dass das *cupA* Genkluster den SCV Phänotyp determiniert und mit der Fähigkeit verknüpft ist, Biofilme zu bilden. Durch den Einsatz von Transkriptom- und Proteom-Techniken sowie der Elektronenmikroskopie und Immunoblots konnten wir zeigen, dass das *cupA* Genkluster für die Fimbrien-Ausbildung in *P. aeruginosa* essentiell ist, und dass die Expression dieser *cupA* Gene über die Aktivität von Proteinen mit sogenannten GGDEF oder EAL Domänen gesteuert wird. Diese

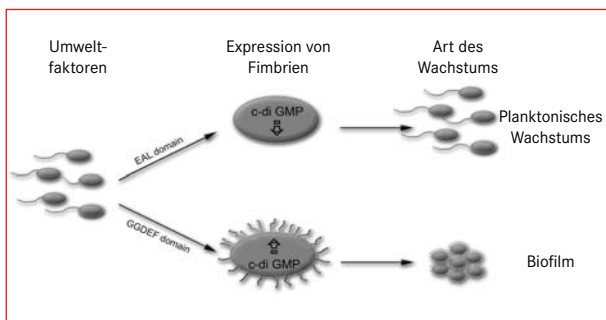


Abb. 3. Umweltfaktoren beeinflussen über eine Modellierung der intrazellulären *c-di-GMP* Spiegel die Fimbrien-Expression in *P. aeruginosa* und damit das Wachstum innerhalb von Biofilmen.

Domänen üben eine Enzymfunktion aus und beeinflussen den intrazellulären Spiegel von einem kürzlich identifizierten offensichtlich universellen bakteriellen Signalmolekül, dem zyklischen di-Guanylat (*c-di-GMP*). GGDEF bzw. EAL Domänen sind häufig in Proteinen mit einer Signaltransduktionsfunktion anzutreffen, d.h. ihre Aktivität wird durch unterschiedliche Umweltsignale, wie etwa die Temperatur beeinflusst. Dies würde bedeuten, dass auch die Fimbrien-abhängige Biofilmbildung in *P. aeruginosa* maßgeblich durch Umweltsignale reguliert wird (Abb. 3). Das Verständnis der molekularen Mechanismen, die den Wechsel von der frei schwimmenden Wachstumsform zur Biofilm Wachstumsform bewirken – und damit einer bakteriellen Adaptation an einen chronisch persistierenden Infektionsstatus –, ist von essentieller Bedeutung bei der Entwicklung von neuen therapeutischen Strategien zur Bekämpfung von chronischen Infektionen.

Diversität garantiert Überleben Eine heterogene Population, also morphologische Varianten eines klonalen Stammes mit verschiedenen Formen und Stoffwechseltypen, ist weit weniger anfällig gegenüber wechselnden Umweltbedingungen als eine Monokultur. Der Grund: Je nach Umweltreiz ist die Wahrscheinlichkeit, dass es zumindest eine resistente Sub-Population gibt, größer als bei einer homogenen Population. Interessanterweise finden wir nicht nur in der Mukoviszidose-Lunge, in der die Bakterien innerhalb von Biofilmen persistieren, sondern auch in *in vitro* im Reagenzglas gewachsenen Biofilmen, verschiedene bakterielle Phänotypen, die sich dort innerhalb von kürzester Zeit etablieren. Sie unterscheiden sich nicht nur morphologisch voneinander, sondern weisen auch sehr unterschiedliche Charakteristika auf, etwa in Bezug auf ihre Beweglichkeit oder auf ihre Resistenz gegenüber verschiedenen Umweltreizen und auch gegenüber Antibiotika. Diese morphologische Vielfalt spielt scheinbar eine Schlüsselrolle bei der Etablierung einer chronischen Besiedelung und entsprechend groß sind die Anstrengungen diverser Forschungsvorhaben, die molekularen Mechanismen dahinter zu verstehen. Eine starke treibende Kraft für die Ausbildung von varianten Morphotypen innerhalb einer Population sind bekanntermaßen Mutationen und Selektion. Mit dem Ziel, Mutationen zu identifizieren, die in einem Biofilm Habitat selektioniert werden, haben wir in Zusammenarbeit mit Affymetrix einen Microarray hergestellt, der das gesamte *P. aeruginosa* Genom abbildet. Eine vergleichende Hybridisierung von chromosomaler DNA ist schon einmal erfolgreich zur Detektion von Mutationen angewendet worden – für eine Metronidazol-Resistenz in *Helicobacter pylori*.

Interbakterielle Kommunikation Eine der aufregendsten Entdeckungen der letzten Jahrzehnte war die Aufklärung der interbakteriellen Kommunikation und die Erkenntnis, dass auch Bakterien ihr Verhalten aufeinander abstimmen.

Gram-negative Bakterien tun dies über niedermolekulare Signalmoleküle. Diese so genannten „Autoinducer“ werden von Autoinducer-Synthetasen produziert und in das umgebende Medium abgegeben. Wenn die bakterielle Population

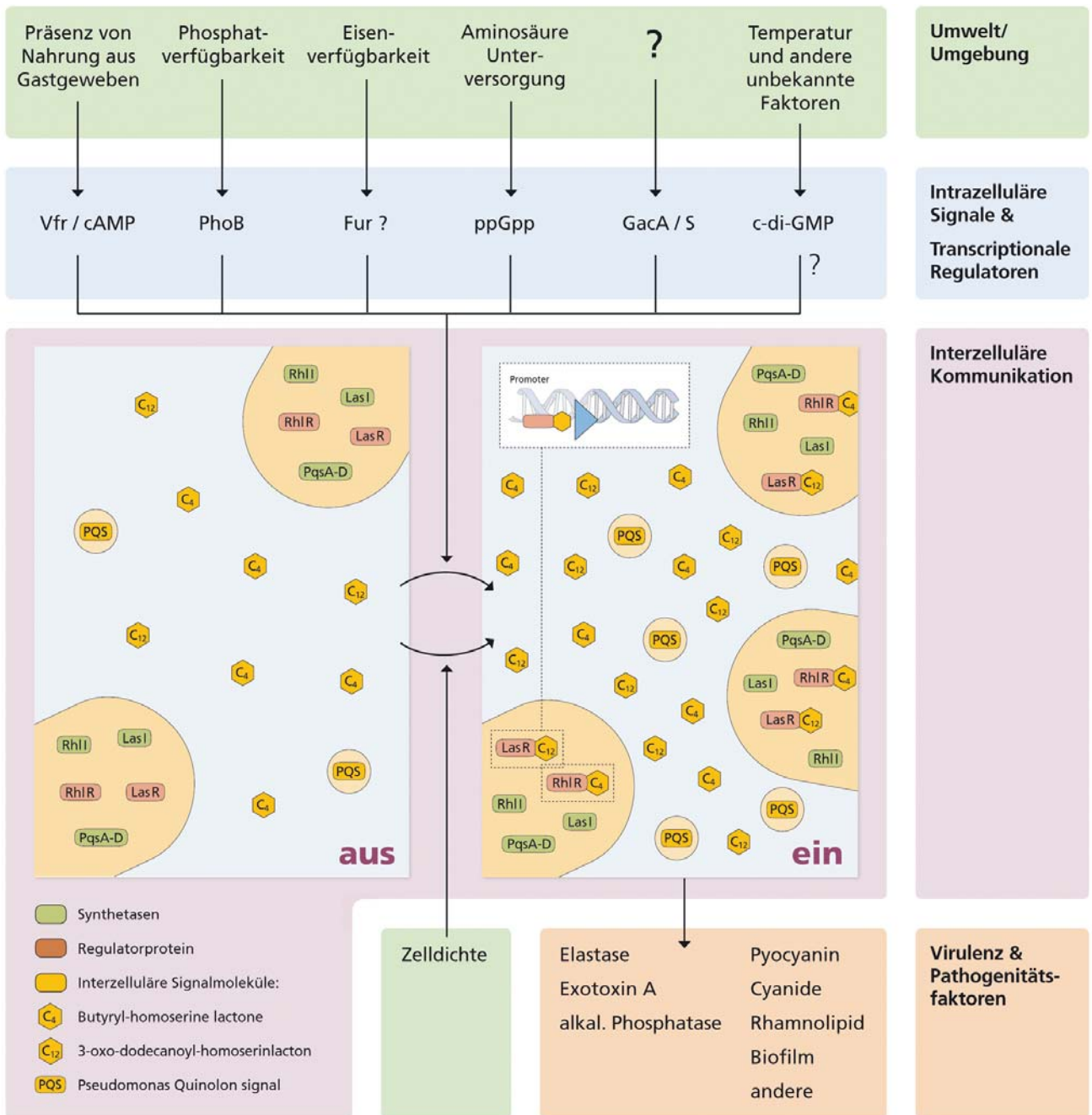


Abb. 4. Der Einfluss von Umweltfaktoren auf die Expression von intra- und interbakteriellen Signalmolekülen in *P. aeruginosa*.

Grafik: HZI, Klimek

eine gewisse Dichte erreicht hat, dann erreicht auch die Konzentration dieser Autoinducer einen Schwellenwert. Sie verbinden sich dann mit den sogenannten Regulatorproteinen und triggern die Produktion von Zelldichte-abhängig regulierten Faktoren. Diese Form der interbakteriellen Kommunikation wird auch „Quorum Sensing“ genannt, da ein bestimmtes Quorum, also eine kritische Masse an Bakterien, nötig ist, um die Produktion dieser regulierten Faktoren in der gesamten Population zu induzieren. Viele dieser an die interbakterielle Kommunikation gekoppelten bakteriellen Faktoren sind Virulenzfaktoren, und ein kooperatives Verhalten kann zum Wohle der Gesamtheit der Population von außerordentlicher Bedeutung sein – beispielsweise auch bei der Etablierung und vor allem der Aufrechterhaltung von Biofilmen. In *P. aeruginosa* gibt es zwei hierarchisch organisierte Quorum Sensing-Systeme: das las und rhl System. Die Autoinducer gehören zu der Familie der Homoserinlaktone und regulieren die Expression von über 200 Genen, die meisten davon Virulenzfaktoren. Erst kürzlich ist ein drittes interbakterielles Signalmolekül identifiziert worden, das mit den beiden Homoserinlaktone-vermittelten Quorum Sensing Systemen interferiert. Dieses 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone wird auch als *Pseudomonas* quinolone Signal (PQS) bezeichnet und induziert insbesondere das rhl System und die Produktion von davon abhängigen Virulenzfaktoren. Wir haben die Biosynthese von PQS analysiert und gezeigt, dass PQS eine essentielle Rolle bei der bakteriellen Eisen Homeöostase spielt. Eine detaillierte Analyse der Verbindungen zwischen dem Homoserinlaktone-regulierten Quorum Sensing System, dem PQS Regulon und dem Eisen-Regulon wird in Zukunft eine interessante Herausforderung sein.

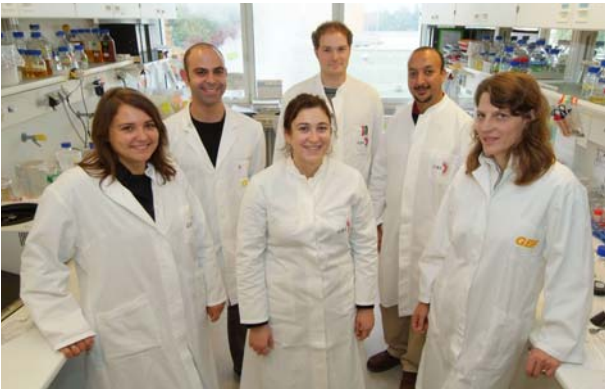
Verbindungen von inter- und intrazellulären Signalwegen

Komplexe bakterielle Adaptationsprozesse erfordern nicht nur Informationen über die unmittelbare Umgebung, wie die Zelldichte, sondern auch Informationen über den intrazellulären physiologischen Status der Zelle. C-di-GMP, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP) und guanosine-3,5-bis(pyrophosphate) (ppGpp) sind häufig vorkommende sekundäre Metabolite, die regulatorische Systeme aktivieren und dabei auf Umweltfaktoren reagieren. Interessanterweise werden die intrazellulären Signalwege nicht nur direkt durch Umweltfaktoren beeinflusst, sondern es gibt auch eine Verbindung zum Quorum Sensing in *P. aeruginosa* (Abb. 4). Dies impliziert, dass die Virulenzfaktorproduktion in *P. aeruginosa* sowohl von der bakteriellen Zelldichte als auch von Umweltfaktoren abhängig ist und zeigt damit die enge Verknüpfung von inter- und intra-bakteriellen Signalwegen auf.

Einer für alle – alle für einen. Die Entdeckung des kooperativen Verhaltens von Bakterien hat erst kürzlich zu der Einführung des Terminus „Soziomikrobiologie“ geführt, auch deshalb, weil sich Soziologen und Mikrobiologen mit erstaunlich ähnlichen Fragestellungen beschäftigen: Wie beeinflusst die Umwelt im Vergleich zu genetischen Faktoren das Verhalten? Es ist von großer Bedeutung, dass wir es in den Biofilmen nicht mehr mit einzelnen Bakterien zu tun haben, sondern mit Bakterien, die in einer Gemeinschaft organisiert sind. Diese Organisation verschafft ihnen zusätzliche Mechanismen der Anpassung, die über eine übliche Reaktion auf Stresssituationen mit einem spezifischen Gen-Expressionsprofil auf Einzelzellebene weit hinausgehen. Tatsächlich wurde in der letzten Dekade die orthodoxe Vorstellung einer bakteriellen Population als einer homogenen Gemeinschaft von Geschwisterzellen ersetzt durch eine mehr dynamische Sichtweise des bakteriellen Lebens in der Gemeinschaft, in der die Bakterien zum Wohle der Gesamtpopulation miteinander kooperieren.

Wir finden immer mehr Hinweise auf eine – auch durch Signalmoleküle – regulierte bakterielle Reaktion auf Umweltstress und die Forschung daran mag ganz neue Aspekte des bakteriellen Lebens in der Gemeinschaft aufdecken. Eine gezielte pharmakologische Interferenz mit diesen Systemen könnte eine Basis für eine neue antimikrobielle Therapiestrategie bilden.

Ausblick Wir stehen erst am Anfang eines weiten Weges zum Verständnis der bakteriellen Mechanismen, die zur Persistenz von chronischen Infektionen beitragen. In den letzten Jahren hat sich *P. aeruginosa* als Modellorganismus etabliert und in Studien über bakterielle Adaptationsmechanismen in chronischen Infektionen standen Untersuchungen über die molekularen Mechanismen der phänotypischen Diversität, der Biofilm-Etablierung und der interbakteriellen Kommunikation im Vordergrund. Alle drei Mechanismen sind essentiell an der Entstehung von chronischen Infektionen beteiligt. Es ist jedoch nötig noch einen Schritt weiter zu gehen und das Zusammenspiel dieser Mechanismen im Rahmen des bakteriellen Verhaltens in der Gemeinschaft zu untersuchen. Erst dann werden wir in der Lage zu sein, die komplexen Grundlagen mikrobieller Pathogenität bei chronischen Infektionen zu verstehen. Und diese sind die Basis, um schließlich dringend benötigte alternative Therapie-Strategien zu entwickeln, die auch bei chronischen Infektionen erfolgreich sein werden.



Das „Chronische Pseudomonas Infektionen“ Team
(von links nach rechts): Vanessa Jensen, Yusuf Nalca, Caroline Zaoui, Mathias Müssen, Ahmed Haddad, Susanne Häußler

Foto: HZI, Bierstedt

Susanne Häußler, geboren 1968, Studium der Humanmedizin (Medizinische Hochschulen Lübeck und Hannover). Staatsexamen 1994, Promotion 1995 an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH). 1994-1995 AiP in der Inneren Medizin (Marienhospital Vechta) und in der Medizinischen Mikrobiologie (MHH). 1996-2003 Assistenzärztin (Med. Mikrobiologie, MHH). Seit 2002 Fachärztin für Medizinische Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie. 2004 Habilitation. 2003-2005 Projektleiterin in der Abteilung für Zellbiologie, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (heute Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, HZI), Braunschweig. Seit 2005 Leiterin einer Helmholtz-Hochschul-Nachwuchsgruppe am HZI.

Literatur

Albert, T. J., Dailidienė, D., Dailidienė, G., Norton, J. E., Kalia, A., Richmond, T. A., Molla, M., Singh, J., Green, R. D. & Berg, D. E. (2005) Mutation discovery in bacterial genomes: metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Nature Methods* **2**, 951-953.

Bredenbruch, F., Geffers, R., Nimtz, M., Buer, J. & Häussler, S. (2006) The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal (PQS) has an iron-chelating activity. *Environmental Microbiology* **8**, 1318-1329.

Bredenbruch, F., Nimtz, M., Wray, V., Morr, M., Müller, R. & Häussler, S. (2005) Biosynthetic pathway of *Pseudomonas aeruginosa* 4-hydroxy-2-alkylquinolines. *Journal of Bacteriology* **187**, 3630-3635.

Häussler, S., Tummler, B., Weissbrodt, H., Rohde, M. & Steinmetz, I. (1999) Small-colony variants of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Clinical Infectious Diseases* **29**, 621-625.

Häussler, S., Ziegler, I., Lottel, A., von Gotz, F., Rohde, M., Wehmhöfner, D., Saravanamuthu, S., Tümmler, B. & Steinmetz, I. (2003) Highly adherent small-colony variants of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Journal of Medical Microbiology* **52**, 295-301.

Parsek, M. R. & Greenberg, E. P. (2005) Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in Microbiology* **13**, 27-33.



Die Chemische Pipeline – Forschungsprogramm und Infrastruktur für die Entdeckung und Evaluierung von neuen Antiinfektiva

KORRESPONDIERENDER AUTOR | Dr. Ronald Frank | **Abteilung für Chemische Biologie** | rfr@helmholtz-hzi.de

CO-AUTOREN | Dr. Klaus Gerth | Arbeitsgruppe Mikrobielle Wirkstoffe | Prof. Dr. Markus Kalesse | Abteilung für Medizinische Chemie | Dr. Dirk Menche | Nachwuchsgruppe Struktur und Funktion von Antibiotika | Prof. Dr. Ursula Bilitewski | Arbeitsgruppe Molekulare Mechanismen

Die biomedizinische Forschung und ihre Anwendungen entwickeln sich insbesondere durch die Aufklärung der den biologischen Prozessen zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen. Die Identifizierung von molekularen Interaktionspartnern, die wesentlich an solchen zellulären Prozessen beteiligt sind, erfordert die experimentelle Beeinflussung der betrachteten Prozesse mit genetischen (durch Mutationen etc.) oder biochemischen (durch Einsatz von agonistischen oder antagonistischen Proteinliganden) Mitteln. Letzteres führt zu potenziellen Wirkstoffkandidaten in Form von chemischen Verbindungen. Ihre Entdeckung schafft eine direkte Verbindung zur pharmakologischen Wirkstoffentwicklung und die Translation in die klinische Anwendung. Die Anzahl der verfügbaren chemischen Liganden für biochemische Untersuchungen ist jedoch sehr limitiert. Die am HZI zur Verfügung stehende Expertise in den Bereichen Naturstoffforschung, Genomik, synthetische und kombinatorische Chemie/Biochemie ist eine leistungsfähige Konstellation, die solche Liganden zur Verfügung stellen kann, und ist ein deutlicher Standortvorteil für die Erforschung von Infektionskrankheiten. Fünf Forschungsprojekte, die der Identifizierung, Analyse, chemischen Synthese und biologischen Evaluierung von bioaktiven Substanzen gewidmet sind, wurden jetzt in die „Chemische Pipeline“ integriert. Damit soll die systematische Entdeckung von neuen antiinfektiven Substanzen und von neuen therapeutischen Prinzipien für medizinische Interventionen voran getrieben werden.

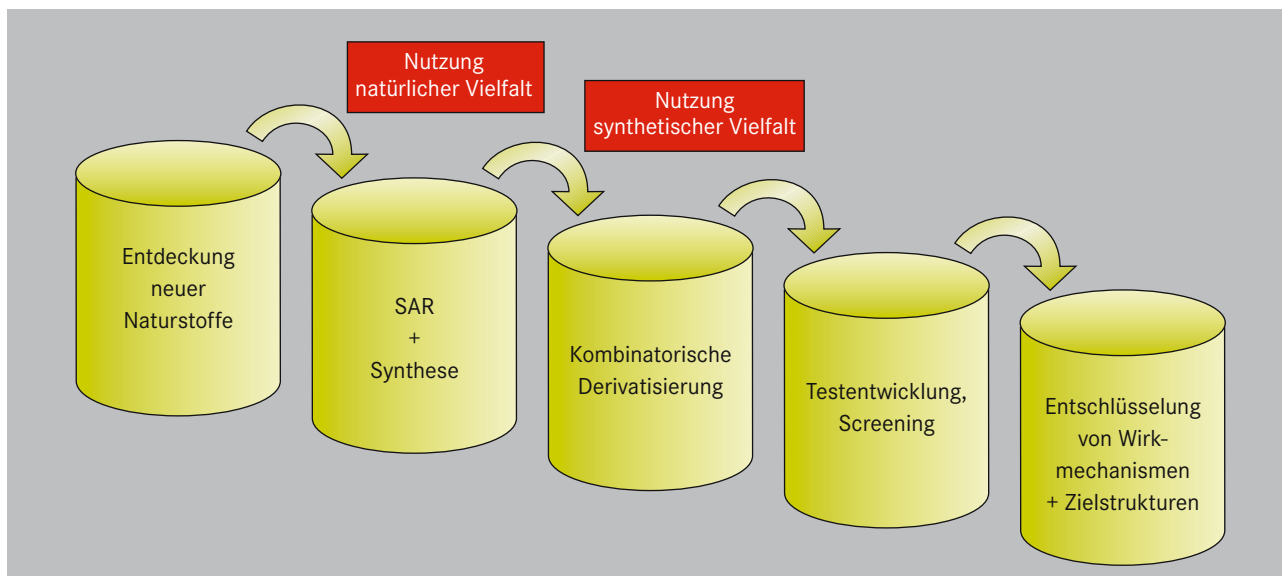
Die Mission der Chemischen Pipeline Die Widmungsaufgabe eines nationalen Zentrums für Infektionsforschung besteht in der Entwicklung von effektiven Maßnahmen zur Krankheitsprävention und Therapie. Antibiotika-Therapie ist zur Zeit die wichtigste Maßnahme im Kampf gegen bakterielle Infektionen, wird aber zunehmend durch die Entstehung und Verbreitung von Resistenzen eingeschränkt. Es besteht ein dringender Bedarf für die Entwicklung neuer Generationen von Antiinfektiva, da nicht mehr behandelbare Pathogene sich immer weiter ausbreiten. Die Suche nach innovativen biologisch aktiven Substanzen ist daher von größter Wichtigkeit, und die Chemie ist eine der Säulen, auf denen das HZI sein Infektionsforschungsprogramm stützt.

Die Integration von Chemie in die biologische/biotechnologische Forschung hat eine lange Tradition am Zentrum und bildet ein Alleinstellungsmerkmal unter den Gesundheitsforschungszentren der HGF. Der frühere Bereich „Naturstoffe“ hat einen äußerst wertvollen Kenntnis- und Erfahrungsschatz bzgl. der Entdeckung von biologisch aktiven Sekundärmetaboliten aus Bakterien aufgebaut. Eine Reihe von neuen Wirkstoffen wurden hier entdeckt, von denen manche das Potenzial für die klinische Anwendung zeigen (siehe Beitrag von H. Reichenbach). Die Abteilung

„Chemische Biologie“ (früher Arbeitsgruppe „Molekulare Erkennung“) hat Nucleinsäure- und Peptid-basierte kombinatorische chemische Synthesen eingeführt und biologische Screeningmethoden entwickelt, die für die systematische Untersuchung von Fragestellungen der Zellbiologie, der Wirt-Pathogen-Interaktionen, der Immunologie und der funktionellen Proteom-Analyse angewandt werden.

Mit der Schließung des Bereichs Naturstoffe wegen des altersbedingten Ausscheidens der Leiter, G. Höfle und H. Reichenbach, wurden die Aktivitäten neu strukturiert, um einen kontinuierlichen Zugang zu diesen wertvollen biologisch aktiven Substanzen sicherzustellen. Die Integration der entsprechenden HZI-Aktivitäten in ein koordiniertes Programm mit dem Namen „Chemische Pipeline“ wurde dem Aufsichtsrat vorgeschlagen, extern evaluiert und Anfang 2005 gestartet.

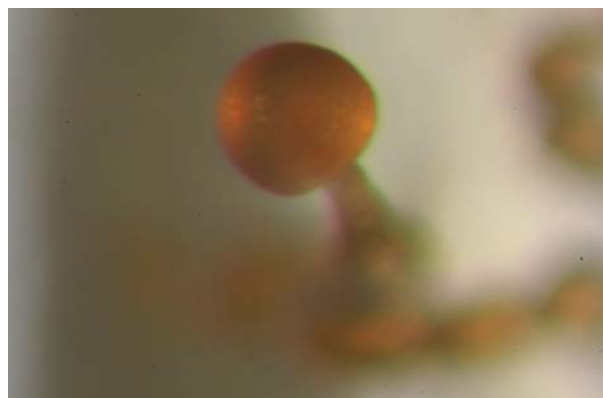
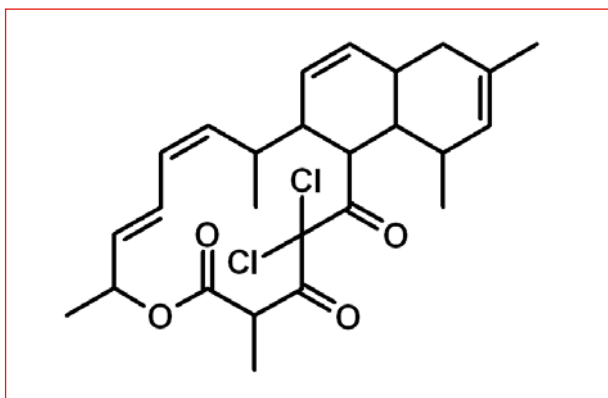
Im Fokus der Chemischen Pipeline steht die Entdeckung, Erzeugung und Charakterisierung von neuen bioaktiven kleinen Molekülen sowie die Identifizierung von deren zellulären Interaktionspartnern und den Mechanismen ihrer Aktivität. Durch eine enge Verbindung von Naturstoffforschung mit synthetischer und kombinatorischer Chemie/



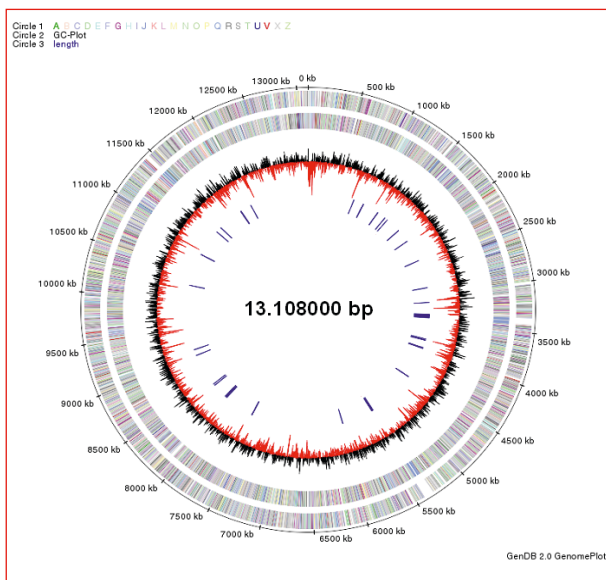
Die Chemische Pipeline

Biochemie wird sowohl die natürliche als auch die synthetische molekulare Vielfalt an chemischen Verbindungen für die neuen Entwicklungen des Zentrums in mikrobieller Pathogenese und Zellbiologie eingesetzt. Die Pipeline hat direkte Verknüpfung mit allen Abteilungen und Arbeitsgruppen des Zentrums, den Sonderforschungsbereichen an denen das Zentrum beteiligt ist, der Technischen Universität Braunschweig und auch mit anderen Instituten der HGF.

Es bestehen dynamische Interaktionen mit vielen weiteren nationalen sowie internationalen Gruppen außerhalb des Zentrums in Forschungsinstituten und Industrieunternehmen. Die Chemische Pipeline ist einer der Initiatoren des „ChemBioNet“ (www.chembionet.de), ein nationales Netzwerk von Infrastruktur und Expertise für die Unterstützung der Chemischen Biologie in der akademischen Forschung.

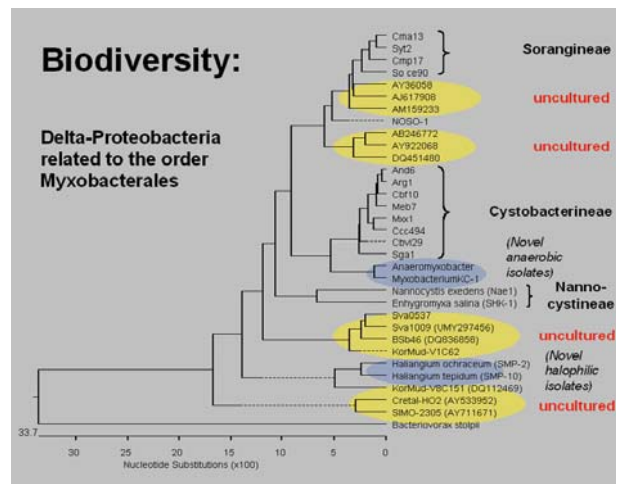


Im Verlauf der Arbeiten an unserem Forschungsinstitut haben wir die Myxobakterien als eine wertvolle Quelle neuer und klinisch bedeutsamer Wirksubstanzen erschlossen. Hier abgebildet (links) ist der Wirkstoff Chlorotonil A (Reichenbach and Höfle 1999) (Gerth et. al. 2003). Myxococcus stipitatus, ein seltener Vertreter der Myxobakterien (rechts), wurde kürzlich in einem Screening als Produzent eines neuartigen Metaboliten entdeckt. Allgemein gilt die Feststellung: je mehr Sekundärstoffe aus einer bestimmten Produzentengruppe bekannt sind, um so größer die erforderlichen Isolier- und Screening-Anstrengungen, die man auf sich nehmen muss, um neue Wirkstoffe zu finden. Dies gilt in zunehmendem Maße auch für die Gruppe der Myxobakterien. Foto: HZI, Gerth



Durch unsere Kenntnisse zweier vollständig sequenzierter Genome von Vertretern der Myxobakterien, das von *Mycococcus xanthus* und *Sorangium cellulosum*, haben wir neue Einsichten über das biochemische Potenzial dieser einmaligen Gruppe gleitender Bakterien gewonnen. Das Genom von *Sorangium cellulosum* So ce56 wurde, gefördert durch das GenoMik Projekt des BMBF, sequenziert und annotiert und erwies sich als das größte bisher bekannte bakterielle Genom (R. Müller, K. Gerth, A. Pühler). Es wurden mehr Polyketid Synthase Gen Cluster gefunden als Sekundärstoffe von diesem Stamm produziert werden. Solche „ruhenden“ Polyketid Synthase- und auch nichtribosomale Peptid Synthetase Gen Cluster scheinen bei Myxobakterien üblich zu sein. Sie sind für die Zukunft eine vielversprechende Quelle, um sie mit Hilfe molekularbiologischer Werkzeuge im Produzenten zu exprimieren oder aber die kompletten Biosynthese Gene in fremden Wirtszellen heterolog zu exprimieren (Bode and Müller 2006).

Mikrobielle Diversität und die Entdeckung neuer Naturstoffe Die Arbeitsgruppe „Mikrobielle Wirkstoffe“ (K. Gerth und R. Müller) übernimmt die Aufgabe eine neue chemische Diversität von Naturstoffen aus breit gestreuten Produzentengruppen gleitender Bakterien zu erschließen. Neuartige und veränderte Wirkstoffe werden der Pipeline zur Verfügung gestellt, um so den Kooperationspartnern zu ermöglichen, mit Hilfe kombinatorischer Chemie oder chemischer Derivatisierungen aussichtsreiche Leitstrukturen für den Kampf gegen Krankheitserreger zu optimieren bzw. Wirkmechanismen aufzuklären. In Zeiten schwindender



Einige dieser Organismengruppen scheinen marinen Ursprungs zu sein, andere sind terrestrisch. Sie sind offensichtlich mit den bekannten Unterordnungen der Myxobakterien, den Sorangineae, den Cystobacterineae und den Nannocystineae verwandt, aber auch mit den neuen Gruppen, wie den fakultativ anaeroben, anaeroben und marinen Myxobakterien, die erst vor einigen Jahren entdeckt wurden. Da die bisher bekannten Gruppen der Myxobakterien hervorragende Produzenten neuer Wirkstoffe sind und auch das kürzlich entdeckte salzabhängige Bakterium der Gattung *Haliangium* eine neue pilzhemmende Substanz produziert (Fudou et al. 2001), glauben wir, dass die Isolierung „Neuer Gruppen von Myxobakterien“ den Weg zu neuen Quellen an Wirksubstanzen eröffnen wird.

Personalkapazitäten sind ausgeklügelte und nachhaltige Ansätze gefragt, um das chemische Potenzial dieser erfolgreichen Gruppe von Bakterien weiter zu erschließen. Doch wie werden die neuen Antibiotika und pilzhemmenden Wirkstoffe entdeckt?

Funktionale Genomforschung und Systembiologie: Unsere durch das BMBF Programm „GenoMik-Plus“ geförderten Arbeiten ermöglichen es, die bisherigen Untersuchungen weiter zu führen und sogar auszuweiten um die globale Regulation des Sekundärstoffwechsels zu untersuchen. Die enge und sehr erfolgreiche Zusammenarbeit mit dem Institut für Pharmazeutische Biotechnologie in Saarbrücken verbindet hervorragend unsere Expertise in der Mikrobiologie (z.B. dem Kultivieren dieser Organismen und Optimierung der Produktion), der Biotechnologie (wie z.B. die Fermentationserfahrungen), der Chemie (mit Naturstoff Reinigung

und Strukturaufklärung) mit dem Wissen auf dem Gebiet der Molekularbiologie und der genetischer Manipulation dieser Organismen, einer analytischen Biochemie und dem genetischen Wissen unserer Partner.

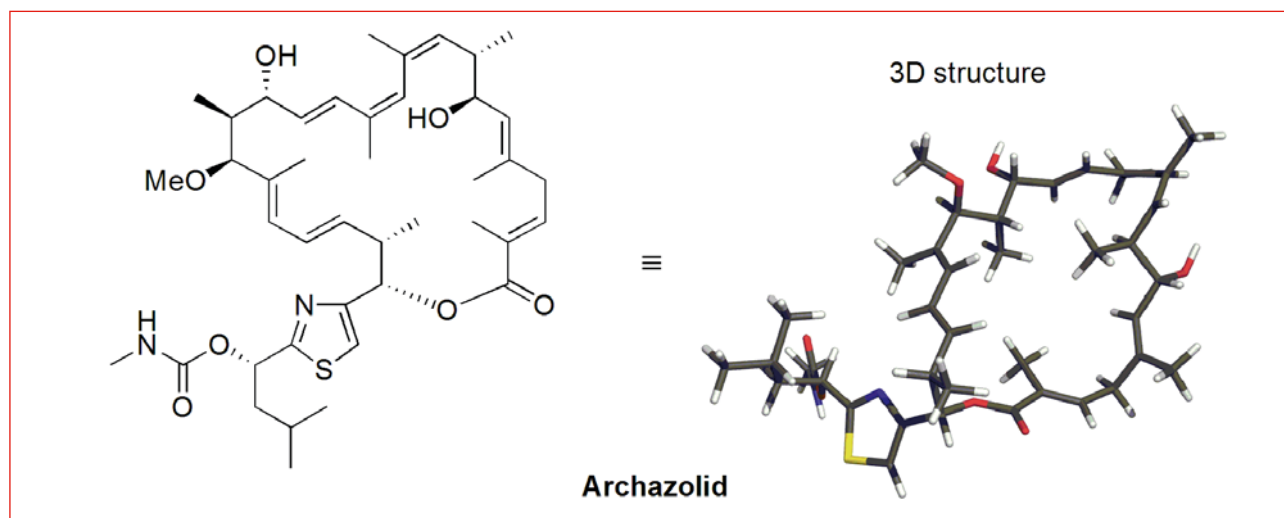
Mikrobielle Diversität als Quelle von Innovation: Ein andersartiger, jedoch nicht weniger faszinierender Forschungsansatz ist die Erschließung neuer Gruppen von Wirkstoffproduzenten aus der überwältigenden Mehrheit bisher nicht kultivierter bzw. kultivierbarer Mikroorganismen. Ökologische Untersuchungen zum Metagenom der unterschiedlichsten Habitats auf der Grundlage von 16S rDNA Sequenzierungen zeigten die Existenz vieler bisher nicht bekannter Vertreter der δ -Proteobakterien, die den Myxobakterien nahe stehen. Sie belegen klar ein weiteres Potenzial für biologisch aktive Naturstoffe. Die Schwierigkeiten diese unerforschten Mikroorganismen kultivieren zu können werden in Zukunft durch unsere wachsende Erfahrung zur heterologen Expression von Biosynthese Genen in geeigneten Wirtsorganismen, wie den „thermophilen Myxobakterien“, gelöst werden. Entsprechende Studien laufen bereits (Gerth and Müller 2005).

Neue Wirkorte und unsere Sammlung von Myxobakterien: Kurzfristig werden wir neue Metabolite dadurch finden, dass wir die vorhandenen Extrakte von Kulturen auf bisher „übersehene“ Metabolite hin überprüfen. Hierzu werden „Hochdurchsatz“-Screening-Methoden auf LC-MS basierend aufgebaut, die es ermöglichen solche Verbindungen zu detektieren.

Gleichzeitig werden alternative biologische Testsysteme entwickelt, z.B. für die Suche nach Hemmern von bakteriellen Antibiotika Efflux Systemen. Diese ermöglichen die Entdeckung von Naturstoffen mit neuartigen Wirkmechanismen und hoher Relevanz für die Therapie von Infektionserkrankungen.

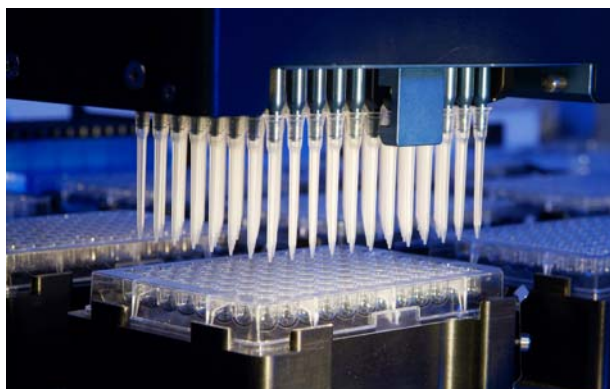
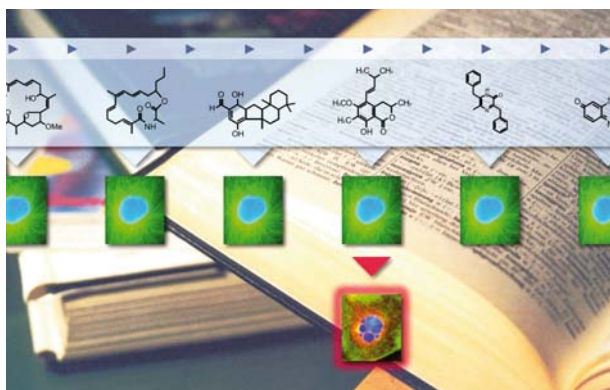
Chemische Naturstoffsynthese Forschungen in der Abteilung ‘Medizinische Chemie’ (Prof. Markus Kalesse) und der angegliederten Nachwuchsgruppe ‘Struktur und Funktion von Antibiotika’ (Dr. Dirk Menche) beschäftigen sich mit der chemischen Entwicklung von naturstoff-abgeleiteten Antibiotika. Die über viele Jahrzehnte an der GBF (jetzt Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung) aus Myxobakterien isolierten Verbindungen sind eine besonders vielversprechende Quelle für neuartige bioaktive Leitstrukturen. In diesem Zusammenhang klären wir die genaue 3D Struktur von potenten neuen Leitstrukturen auf, um im Detail deren Wirkungsmechanismus zu analysieren, untersuchen Methoden zur Synthese derartiger Strukturen und studieren die strukturellen Voraussetzungen für biologische Aktivität, um modifizierte, abgeleitete Strukturen mit verbesserten chemischen und biologischen Eigenschaften für die weitere präklinische Entwicklung zu erhalten.

Zur Entwicklung neuer Wirkstoffe ist es notwendig, die genaue molekulare Architektur derartiger Verbindungen vollständig zu verstehen. Die pharmakophoren Gruppen



Archazolid (oben) und Tedanolid (nicht gezeigt) sind potente Makrolid-Antibiotika aus dem Myxobakterium *Archangium gephyra* und dem karibischen Feuerschwamm *Tedania ignis*. Beide Verbindungen wurden erstmals von den Arbeitsgruppen Menche (Archazolid) und Kalesse (Tedanolid) totalsynthetisch hergestellt. (Ehrlich et al. 2006)

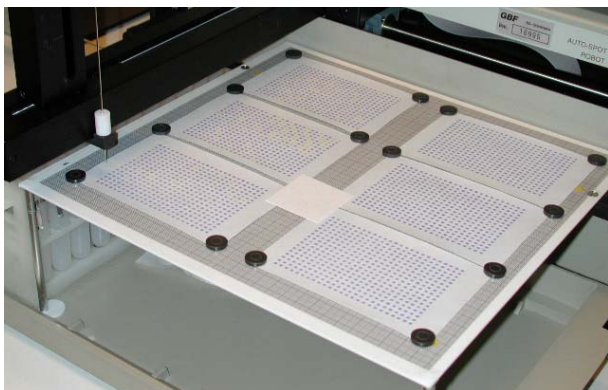
müssen identifiziert sein und die globale Struktur, die oft für ihre Selektivität und Spezifität verantwortlich ist, muss aufgeklärt werden. Dies kann durch moderne spektroskopische Methoden erfolgen. Verlässlicher und generell anwendbar ist jedoch die Bereitstellung von Analoga durch chemische Synthese. Dieser Ansatz beruht zunächst auf einer Synthese der authentischen Naturstoffe. Dies ermöglicht im Anschluss daran dann die Implementierung automatisierter Techniken. Dadurch sind eine Vielzahl abgewandelter neuer Verbindungen zugänglich, die jedoch nach wie vor der ursprünglichen Leitstruktur sehr ähnlich sind. Im Rahmen dieser generellen Vorgehensweise haben wir kürzlich die genaue 3D-Struktur der Makrolid-Antibiotika Archazolid (Hassfeld et al., 2006), Etnangien, Chivosazol (Janssen et al., 2007) und der neuen Anti-Tuberkulose-Leitstruktur Thuggacin aufgeklärt.



Auf der Suche nach einer bioaktiven Substanz wird zunächst ein geeigneter Biotest entwickelt, der die gewünschte Aktivität nachweist. Große Sammlungen verschiedener chemischer Substanzen als auch Serien von Analogen mit gemeinsamen Grundstrukturen (Chemische Bibliotheken) werden dann systematisch in miniaturisierten Hochdurchsatz-Screeningverfahren getestet. Collage: HZI, Klimek; Foto: HZI, Bierstedt

Die Naturstoffsynthese stellt also den Ausgangspunkt für die Medizinische Chemie dar. Ein thematischer Schwerpunkt sind bakterielle RNA-Polymerase-Inhibitoren, aber wir arbeiten auch auf dem neuen potentiellen anti-TB-Wirkstoff Thuggacin sowie mit Verbindungen, die mit dem Aktin-Skelett wechselwirken. Ziel der auf diese Weise etablierten Synthesen ist es, nicht nur Derivate durch konventionelle Synthese zu erhalten, sondern auch die Implementierung von automatisierter Synthese wie der SPOT-Methodik. Ein genaues Verständnis der räumlichen Anordnung dieser neuen Leitstrukturen sollte einen signifikanten Einfluss auf die Medizinische Chemie haben. Zu diesem Zeitpunkt sollten dann Medizinische Chemie und Chemische Biologie sich hinsichtlich Automatisierung und Informationsaustausch kombinieren, um optimierte neue Strukturen bereitzustellen.

Die Suche in der synthetischen Vielfalt Die Entdeckung von neuen Verbindungen mit einer gewünschten biologischen Aktivität ist in der Regel ein empirischer Vorgang. Die Abteilung „Chemische Biologie“ (R. Frank) führt dazu ein systematisches Durchsuchen (Screening) von großen Substanzsammlungen („Bibliotheken“) durch. Dies umfasst den Aufbau einer Sammlung von unterschiedlichen wirkstoffähnlichen Verbindungen und die Entwicklung von Screeningverfahren und zielgerichteten Tests (Assays) für die zu untersuchenden biologischen Prozesse. Ergänzend zu den oben beschriebenen Naturstoffisolierungen und -synthesen setzen wir die Methoden der chemische Synthese von ausgewählten Grundstrukturen (molekulare Gerüste) kleiner organischer Moleküle ein. Durch kombinatorische Synthesen der Moleküle können große Serien (chemische Bibliotheken) von Analoga schnell hergestellt werden. Unsere Bioassays sind primär darauf ausgerichtet, relevante vorselektierte molekulare Prozesse oder zelluläre Zielmoleküle (Targets) zu untersuchen. Für die Entschlüsselung des genauen molekularen Mechanismus der Aktivität von identifizierten Substanzen benutzen wir neben den klassischen biochemischen Verfahren zum Einen die Methoden der „Affinitäts-Proteomanalyse“ und zum Anderen die der „Chemisch-genetischen Interaktionsanalyse“ mit einem kompletten Satz von 4700 Einzelgen-Deletionsmutanten des Modellorganismus *Saccharomyces cerevisiae*. Wir entwickeln und unterhalten außerdem zentral für das ganze Zentrum die erforderlichen Verfahren und die Infrastrukturen zur Nutzung der Substanzsammlungen. Dazu gehören Logistik und Automaten des Hochdurchsatzscreenings (HTS), die HTS kompatible Testentwicklung und die Bio/Cheminformatik-Werkzeuge für die Datenauswertung. Das Projekt selbst führt Studien zur bakteriellen Adhäsion, Invasion und Biofilmbildung sowie zur Zellproliferation durch.

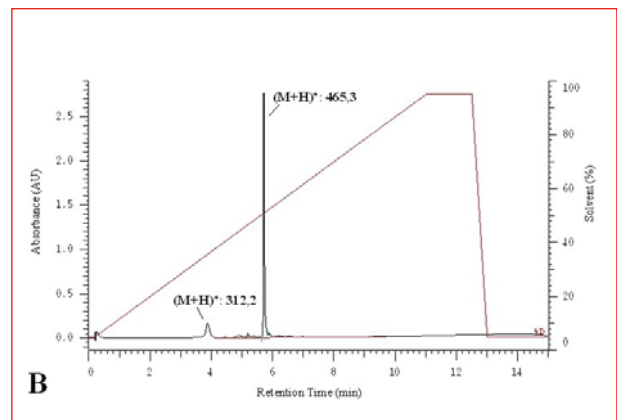
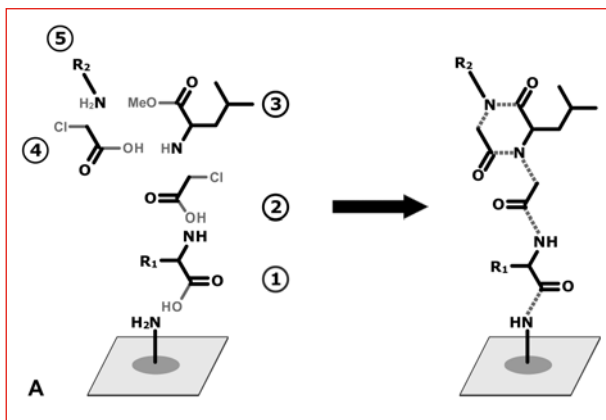


Viele unserer Methodenentwicklungen für parallele kombinatorische chemische Synthese und Screening basieren auf der SPOT Synthese (Frank 1992), durchgeführt auf Zellulosemembranen (oben); Varianten dieser Methode sind u.a. der „Patch Array“ bestehend aus getrennten hydrophilen Bereichen (Kissen – Patch) auf einer hydrophoben Polypropylenmembran (Beutling et al. 2004), entwickelt z.B. für das parallele zellbasierte Screening mit löslichen Substanzen (unten); der „Bio-Disc-Synthesizer“ (Dimans et al. 2004) für die Erzeugung von Substanzarrays auf einer Compact-Disk Oberfläche (Mitte).

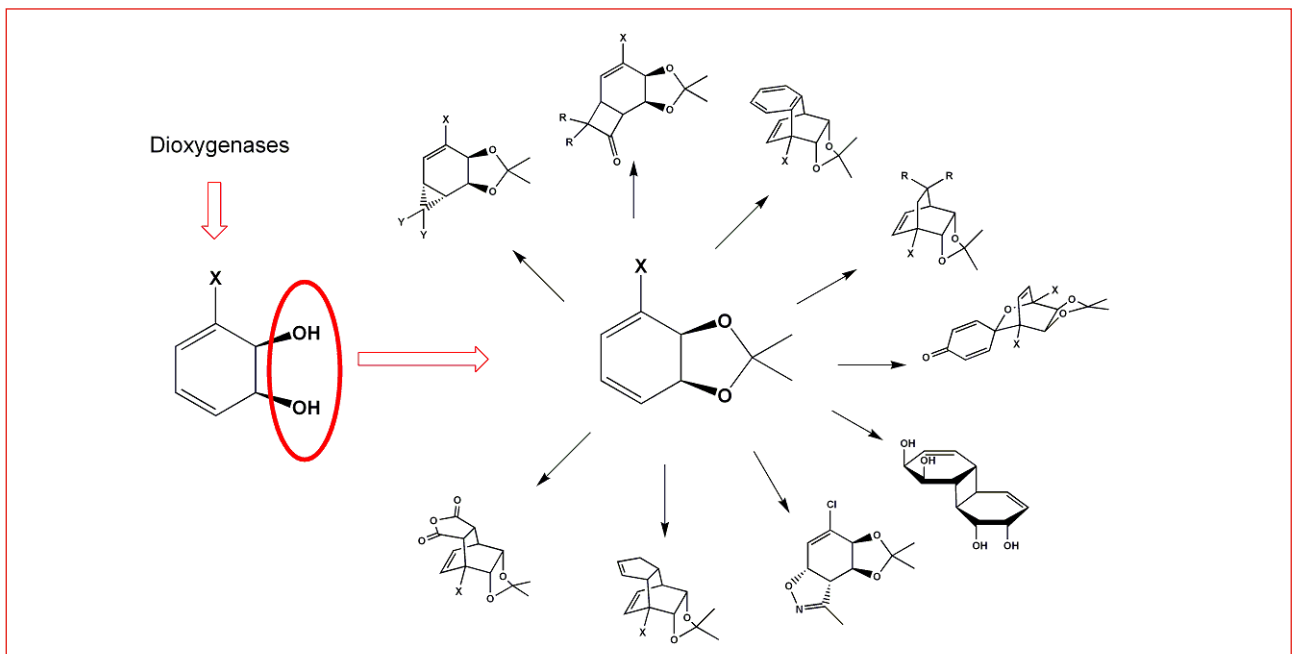
Fotos: HZI, Bierstedt

Für die effiziente multiple und parallele Synthese und für das Screening von Substanzbibliotheken verwenden wir insbesondere planare Festphasenträger (Frank 2002b). Eine zentrale Methodik für unser Bibliotheks-Syntheseprogramm ist die SPOT Synthese, entwickelt 1990 (Frank 1992), die es erlaubt, parallel bis zu 20.000 chemische Reaktionen durch Verteilung von sub-Mikroliter Volumina von Reagenzlösungen auf kleine individuelle Synthesepositionen (Spots) auf einem Cellulose-Membranträger durchzuführen. Solche membrangebundenen Substanzanordnungen (Arrays) können direkt in Screeningexperimente auf der Basis von Proteinbindung oder enzymatischer Transformation eingesetzt werden. Alternativ können die Spots der Synthesemembran separiert und die einzelnen Substanzen abgespalten werden, z.B. für die Verwendung in zellbasierten Tests, die lösliche Substanzen benötigen (Frank 2002a). Für eine weitere Miniaturisierung solcher Arrays und für die Herstellung von großen Zahlen von Array-Kopien aus einer einzigen SPOT-Synthesemembran haben wir ein spezielles neues Verfahren für die Herstellung synthetischer Peptid-/Substanzbibliotheken in Form von chemischen Mini- oder Mikroarrays entwickelt (der SC² Prozess®). Dieses Verfahren ist eine Erweiterung der SPOT Methode, das die vorteilhaften Eigenschaften von Cellulose-gebundenen Molekülen beibehält (Dikmans et al. 2006). Peptidarrays werden durch das Plattform-Projekt „Peptidsynthese“ für Forschungsprojekte am Institut allen interessierten Arbeitsgruppen zur Verfügung gestellt. Unsere technologieorientierte Arbeit zielt auf eine weitgehende Automatisierung, Miniaturisierung, Anpassung an zunehmend komplexere zelluläre Testsysteme und deren Hochdurchsatzfähigkeit.

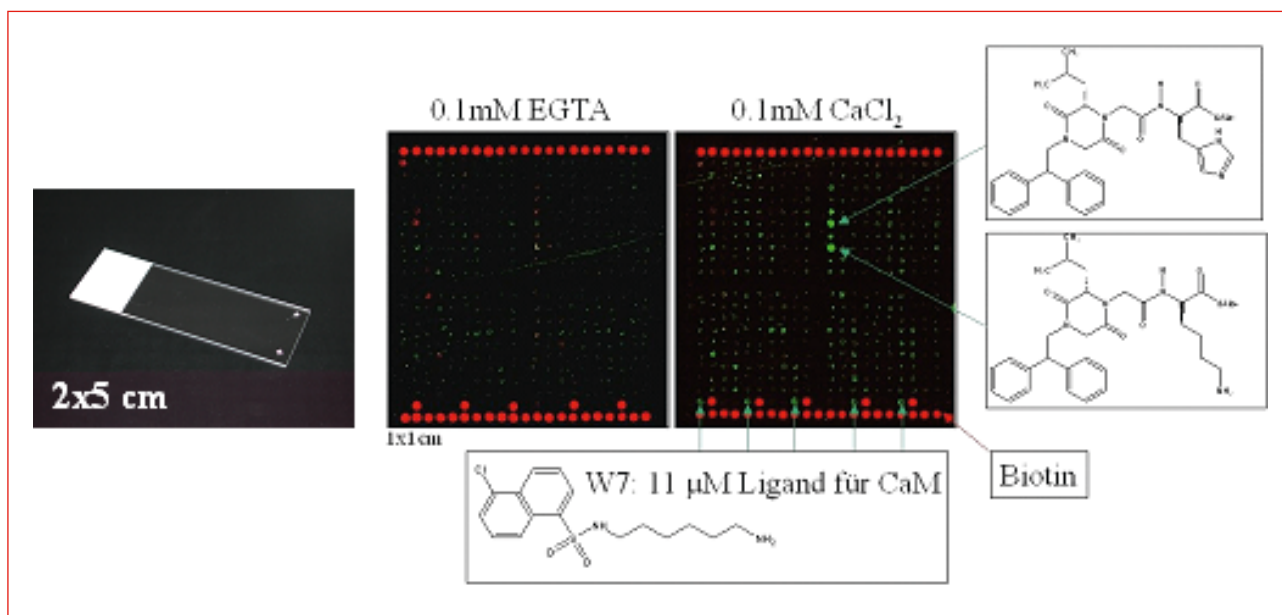
Unsere Methoden wurden ursprünglich für die Peptidsynthese und die Identifizierung von Peptidliganden für Proteinstrukturen entwickelt und wurden primär in Untersuchungen von Protein-Protein Wechselwirkungen und in der Immunologie eingesetzt. Unterstützt mit einer Förderung durch das BMBF (Leitprojekt „The Drug Discovery Machine“ unter Leitung der Evotec AG) und durch das Nationale Genom-Forschungsnetz (NGFN), haben wir erfolgreich damit begonnen, unsere synthetischen Methoden auf andere Arten von wirkstoffähnlichen synthetischen Molekülen anzuwenden (Niggemann et al. 2002). Das Repertoire an synthetischen Reaktionen wurde außerdem durch milde enzymatische Transformationen erweitert, die auf chemisch empfindliche, naturstoffähnliche Molekülstrukturen angewendet werden können.



Unsere grundlegende synthetische Methodik: Für die schrittweise chemische Erzeugung (A) von unseren Substanzbibliotheken verwenden wir ausschließlich Festphasensynthesen und führen die Kopplung von kleinen Bausteinen (Monomeren) und auch Mischungen davon durch. Die Start-Monomere (1) werden auf dem festen Träger verankert, entweder in Form einer stabilen Verbindung für die Herstellung von kovalent gebundenen Produkten oder über einen abspaltbaren Linker, der die Freisetzung des Produkts in Lösung ermöglicht. Reaktionsausbeuten werden durch eine Reihe von Modellsynthesen optimiert, um Rohprodukte von >80% Reinheit gemäß HPLC und Massenspektrometrie (B) zu ergeben. Auf diese Weise können z.B. mit der SPOT-Synthese Molekülbibliotheken von mehreren Tausend bis zu mehreren Milliarden Substanzen für das Screening in biologischen Tests schnell synthetisiert werden. Die Abbildung stellt exemplarisch die schrittweise Synthese eines Diketopiperazins durch Kopplung einer Aminosäure (1), Reaktion mit Chloressigsäure (2), Kopplung eines Aminosäuremethylesters (3), erneute Reaktion mit Chloressigsäure (4) und Kopplung eines Amins (5) gefolgt von einer in situ Zyklisierung dar.



Ein Beispiel für eine zentrale biochemische Transformation, deren Produkt in viele Folgereaktionen eingesetzt werden kann. Unsere Expertise bzgl. der Biotransformation von kleinen Molekülen profitiert teilweise von Arbeiten der früheren Arbeitsgruppe „Mikrobielle Transformationen“ am Zentrum (Leitung Prof. Kieslich), die uns eine große Sammlung von mikrobiellen Stämmen und Fermentationsprotokollen in Form einer Bio/Datenbank zur Verfügung gestellt hat. In den letzten Jahren haben wir verstärkt Verfahren zur genetischen Veränderung von Enzym-Substrat-Spezifitäten erarbeitet (Zielinski et al. 2006) und Expertise bzgl. der Biotransformationen mit zwei Enzymfamilien aufgebaut: Aryl-hydroxylierende Dioxygenasen und Sucrose-verwendende Glycosyltransferasen.

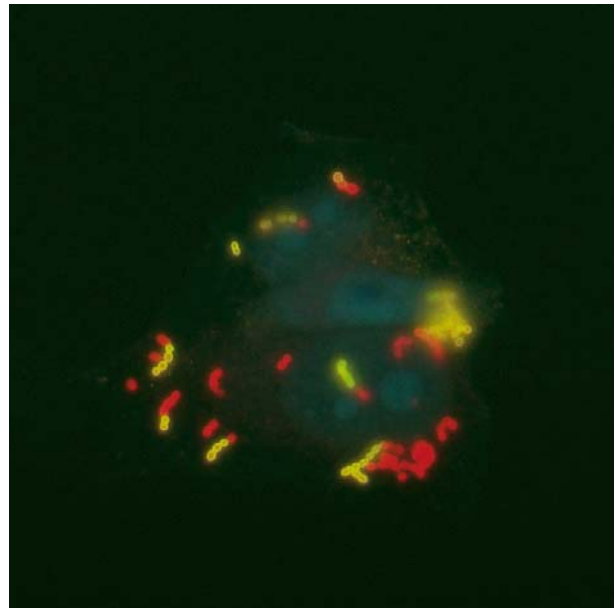
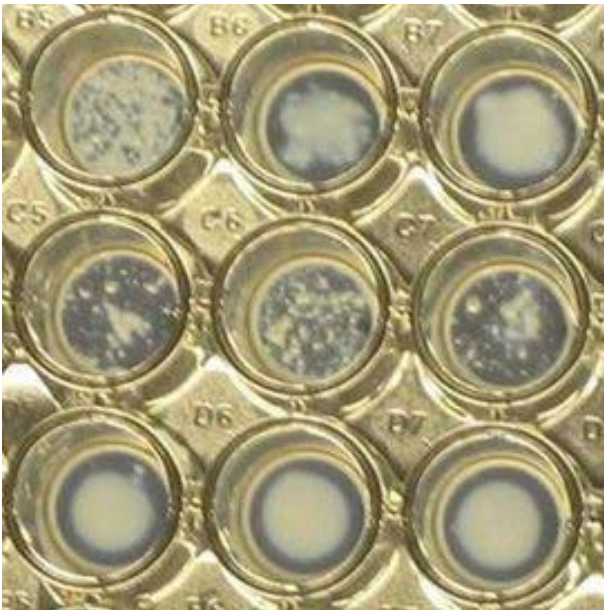


Ein Microarray von Diketopiperazinen, hergestellt durch den neuen SC^2 -Prozess auf einem Mikroskop-Glasträger, wurde mit Calmodulin (CaM) in Abwesenheit (mit EGTA, links) und Anwesenheit (rechts) von Calciumionen untersucht. Es wurden zwei neue Liganden für CaM gefunden. W7 ist ein bekannter niedermolekularer Ligand; Biotin diente als Kontrolle und wurde durch Zugabe von markiertem Streptavidin zum Test detektiert. – Die Synthese der Diketopiperazine erfolgte, wie beschrieben, durch SPOT Synthese, mit der Abweichung, dass eine spezielle, säureempfindliche Aminozellulose-Membran benutzt wurde. Die einzelnen Spots auf der Membran wurden nach der Synthese mit Hilfe einer Ausstanzvorrichtung separiert und die erhaltenen Papierscheibchen in starker Säure aufgelöst. Die Lösungen der Zellulose, an die die Substanzen noch immer kovalent gebunden waren, wurden anschließend auf eine planare Oberfläche, in diesem Fall einen Mikroskop-Glasträger, aufgedruckt und adsorbiert. Wir nennen diesen Prozess „Spotting Compound-Support Conjugates“: SC^2 . Ein Standard-Zellulosespot ergibt 0,5 ml einer Stammlösung, von der nach geeigneter Verdünnung Picolitermengen zum Drucken von bis zu 108 Mikroarraykopien verwendet werden können.

Aktuell sind mehr als 90.000 Verbindungen in unterschiedlichen Formaten archiviert und werden in Screening-Kampagnen eingesetzt. Die HZI Substanzsammlung enthält

- über 100 Naturstoffe der GBF-Sammlung von Sekundärmetaboliten aus Myxobakterien
- 7.000 niedermolekulare Verbindungen, käuflich erworben bei EMC Microcollections (Tübingen)
- 15.000 niedermolekulare Verbindungen von der ChemBioNet Sammlung
- 40.000 niedermolekulare Naturstoffhybride (in der Abteilung hergestellte synthetische Rekombinationen von Naturstofffragmenten).
- über 25.000 Zellulose-konjugierte niedermolekulare Substanzen (Diketopiperazine, Triazine, Benzimidazole, etc.)

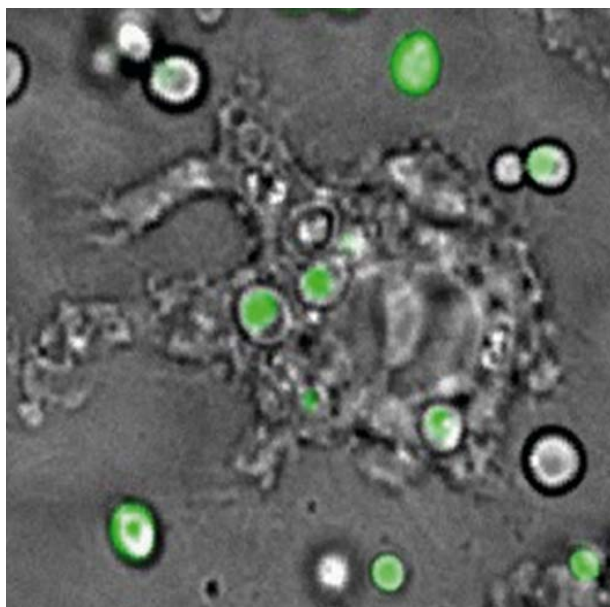
Seit den ersten beiden Jahren unserer neuen Forschungsausrichtung auf die chemische Biologie von Infektionskrankheiten haben wir erfolgreich die erforderliche Infrastruktur und die Methoden aufgebaut. In dieser Zeit wurden außerdem bereits sehr vielversprechende kleine Moleküle mit potenziellen Anti-Tumorwirkungen (p27 stabilisierende Proteasomeninhibitoren), antiviralen Aktivitäten (Proteasomeninhibitoren) und antiinfektiven Wirkungen (Interferon-Verstärker) in unseren Substanzsammlungen neu entdeckt. Zusätzlich wurden synthetische Adjuvantien basierend auf Derivaten von MALP-2 hergestellt, einem Makrophagenaktivierenden Lipopeptid, das am Zentrum von P. Mühlradt entdeckt worden war. Auch andere Lipidstrukturen wurden für die Vakzinforschung hergestellt (Rharbaoui 2002). Wir werden diese Forschungsarbeiten weiterhin mit unserer Expertise bzgl. chemischer Synthese unterstützen.



Beispiele für die Bioassay-Entwicklung und -Anwendung in der Abteilung. Links: Klinische Isolate des Bakteriums *Staphylococcus epidermidis* von kolonisierten zentralvenösen Kathetern wurden in Mikrotiterplatten kultiviert und mit potenziellen Wirkstoffen behandelt. Untere Reihe: normaler Biofilm in 96-Well Mikrotiterplatte, die beiden oberen Reihen zeigen den Effekt auf die Biofilm-Architektur verursacht durch synthetische Peptide (Zusammenarbeit mit W. Bausch, Klinikum Braunschweig); Rechts: Assay für die Invasion von HEP2-Zellen durch das Bakterium *Streptococcus pyogenes*. Die differenzielle Anfärbung zeigt interne Streptokokken in rot und externe in gelb. Die wirkstoffabhängigen Unterschiede im Verhältnis von internen zu externen Bakterien werden analysiert. Kooperation mit S. Chhatwal (Abt. MPAT). Foto (li): HZI; Foto (re): HZI, Rohde

Identifizierung der molekularen Angriffspunkte von Antiinfektiva Unter den Infektionskrankheiten, die im Zusammenhang mit Krankenhausaufenthalten vor allem in Patienten mit einem geschädigten Immunsystem ausbrechen, sind Pilzkrankungen von größter Bedeutung. Auch wenn einige geeignete Antibiotika existieren, treten doch zunehmend Resistenzen und Nebenwirkungen auf, so dass neue Strategien zu ihrer Bekämpfung dringend benötigt werden. Deshalb haben wir derzeit unsere mechanistischen Untersuchungen auf solche Verbindungen fokussiert, die A) eine antibiotische Wirkung auf den wichtigsten potentiell pathogenen Pilz *Candida albicans* zeigen, oder B) die Funktionen von Makrophagen beeinflussen, die wir als Repräsentanten des angeborenen Immunsystems ausgewählt haben.

Auf der molekularen Ebene stimuliert die Erkennung von *C. albicans* durch Makrophagen intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden, die zur Expression von Genen führen, wie der Stickstoffmonoxidsynthase (NOS) oder verschiedener Zytokine in den Makrophagen sowie von Stressabwehr-Proteinen (Stress durch Nährstoffmangel, osmotischer oder oxidativer Stress) in *C. albicans*. Wir etablierten daher Tests für die Bestimmung von Stickstoffmonoxid (NO) und von Zytokinen (TNF- α , IL-6) im Zellkulturmedium einerseits und der Phagozytoseaktivität der Makrophagen andererseits. Wir konnten zeigen, dass diese Parameter tatsächlich durch die Anwesenheit ausgewählter chemischer Verbindungen beeinflusst werden. So führte auch in unseren Tests die Inkubation der Makrophagen mit Cytochalasin B, einer Verbindung, die die Struktur des Aktinzytoskeletts stört, zu einer reduzierten phagozytotischen Aktivität. Dagegen waren



Fluoreszenz-markierte *Candida albicans* Zellen (grün) treffen auf einen Makrophagen (Zelllinie RAW 264.7) und werden durch Phagozytose eliminiert. Foto: HZI, Rohde

Stimulationen der Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) oder von Zytokinen durch einige Naturstoffe, die als Mikrotubuli-aktive Substanzen bekannt waren, bislang noch nicht beschrieben worden. Außerdem konnten wir zeigen, dass Substanzen wie der Kinaseinhibitor Purvalanol, die nicht notwendigerweise zytotoxisch sind, die Produktion von Zytokinen oder NO unterdrücken. Um die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen aufzuklären, etablierten wir auch die 2D-Gelelektrophorese zur Proteinanalytik (Proteomics), wobei wir uns auf den Nachweis phosphorylierter Proteine konzentrierten.

Bei Untersuchungen mit *C. albicans* beobachteten wir einen starken Einfluss des genetischen Hintergrundes auf die Empfindlichkeit für verschiedene Fungizide, da 3 von 5 untersuchten Wildtyp-Stämmen sich als resistent gegenüber Verbindungen erwiesen, die in der Vergangenheit durch ihre wachstumshemmende Wirkung auf *Hansenula anomala*, auch als *Pichia anomala* bezeichnet, und durch die intrazelluläre Akkumulation von Glycerin aufgefallen waren. Wir etablierten Testprotokolle für Metabolite und Enzyme aus dem Glycerinstoffwechsel, die eine Untersuchung von wenigen μL Zellextrakt erlaubten. Außerdem stehen uns verschiedene *C. albicans* Mutanten, in denen einzelne Gene aus Stressabwehrkaskaden inaktiviert sind, sowie die komplette Sammlung von 4700 lebensfähigen *S. cerevisiae* Mutanten, in denen jeweils ein Gen inaktiviert ist, zur Verfügung. Durch Empfindlichkeitsprofile von Mutanten und zugehörigem Wildstamm sollten die Signalwege deutlich werden, die an der Wirkung der Fungizide beteiligt sind. Erste Ergebnisse bestätigen, dass die Stressabwehr-Signalwege tatsächlich mögliche Targets für die von uns ausgewählten Fungizide sind. Diese Untersuchungen werden durch vergleichende Genexpressionsanalysen mit resistenten und empfindlichen Stämmen vervollständigt. Mit einem systembiologischen Ansatz soll das dynamische Verhalten der intrazellulären Netzwerke als Antwort auf Behandlungen der Zellen mit Substanzen analysiert werden, um über mathematische Modelle die Reaktionen zu erkennen, die durch diese Substanzen beeinflusst wurden.

Danksagung Wir danken dem ehemaligen Leiter des Bereichs Mikrobiologie, Prof. Kenneth Timmis, für seine Unterstützung der Chemical Pipeline in ihrer Gründungsphase. Außerdem danken wir allen Mitarbeitern und Kooperationspartnern, die in den entsprechenden anschließenden Projektberichten aufgeführt sind.



Ronald Frank Geboren 1948, studierte Chemie an der Universität Hamburg, Diplom 1974, Promotion zum Dr. rer. nat. am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg 1979. Post-Doc an der GBF in der Arbeitsgruppe DNA-Synthese 1980-1984. Arbeitsgruppenleiter an der GBF/HZI seit 1985, Leiter der Abteilung für Chemische Biologie seit 2003. Mitgründer der AIMS Scientific Products, 1998.



Klaus Gerth Geboren 1946, studierte Biologie und Chemie an der Universität Freiburg von 1967-1973, Diplom 1973 (Institut für Mikrobiologie), Promotion zum Dr. rer. nat. an der Universität Freiburg 1975. Seit 1975 Arbeitsgruppenleiter an der GBF, jetzt HZI, wo er vor allem über Myxobakterien als Quelle von Sekundärmetaboliten gearbeitet hat. Höhepunkte waren dabei die Entdeckung von Soraphen als Fungizid und die Arbeiten über das Krebstherapeutikum Epothilon.



Markus Kalesse Geboren 1961, studierte Chemie an der Universität Hannover, Diplom 1989, Promotion zum Dr. rer. nat. am Institut für Organische Chemie 1991. Post-Doc an der Universität von Wisconsin (Madison, USA) 1991-1992. C3-Professor an der Freien Universität von Berlin 2001-2003. Professor (C4) für Organische Chemie an der Universität Hannover seit 2003, Novartis-Lecturer 2004/5; Leiter der Abteilung für Medizinische Chemie am HZI seit 2005.



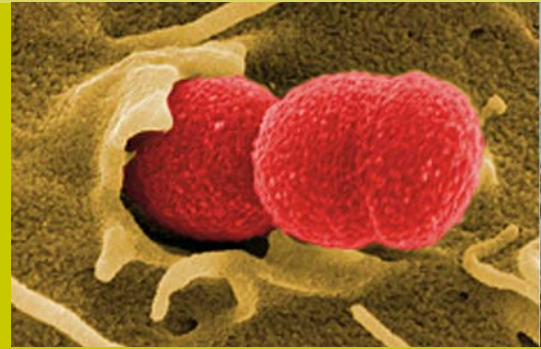
Dirk Menche Geboren 1972, studierte Chemie und Biochemie an der Universität Würzburg, Diplom 1998, Promotion zum Dr. rer. nat. am Institut für Organische Chemie 2002. Post-Doc am Institut für Organische Chemie der Universität Köln, 2002, und an der Universität Cambridge, 2002-2004. Seit 2005 Leiter einer Nachwuchsforschergruppe für Medizinische Chemie (Struktur und Funktion von Antibiotika) am HZI. Habilitand am Institut für Organische Chemie der Universität Hannover.



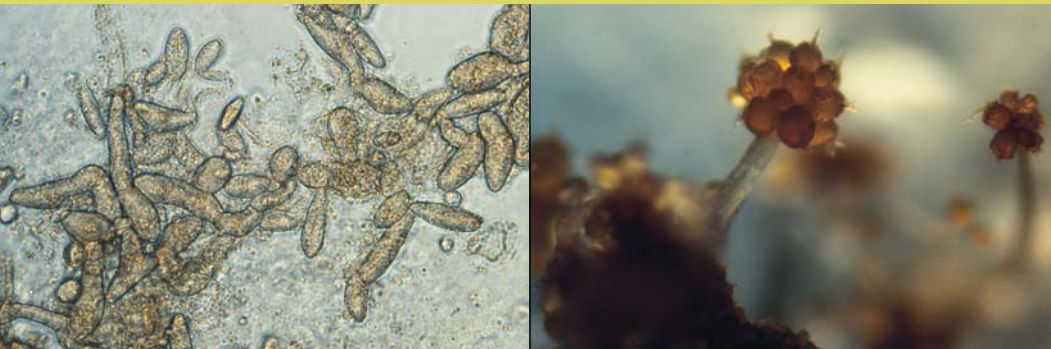
Ursula Bilitewski Geboren 1959, studierte Chemie an der Universität Münster, Diplom 1983, Promotion zum Dr. rer. nat. am Institut für Physikalische Chemie 1987. Post-Doc am gleichen Institut. Seit 1988 als Wissenschaftlerin und Projektleiterin an der GBF, jetzt HZI, tätig. 1994 Habilitation im Fach Biochemie an der TU Braunschweig. Seit 2000 Vorsitzende der Arbeitsgruppe „Biochemische Methoden“ innerhalb der Wasserchemischen Gesellschaft der GDCh.

Literatur

- Beutling,U., Tegge,W., Zander,N. & Frank,R.(2004) High-Throughput Synthesis and Screening without Wells and Walls. In: "Solid Phase Synthesis & Combinatorial Libraries 2004", (R. Epton, ed.) Mayflower Worldwide Ltd., Kingswinford, UK, Chp. 43, 191-194.
- Bode,H.B., Müller,R. (2006) Analysis of myxobacterial secondary metabolism goes molecular. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **33**, 577-588
- Dikmans,A., Beutling,U., Schmeisser,E., Thiele,S., & Frank,R. (2006) SC²: A novel process for manufacturing multipurpose high-density chemical microarrays. *QSAR and Combinatorial Sciences (QCS)* **25(11)**, 1069-1080.
- Dikmans,A.J., Morr,M., Zander,N., Adler,F., Türk,G. & Frank,R. (2004) A new compact disc format of high density array synthesis applied to peptide nucleic acids and *in situ* MALDI analysis. *Molecular Diversity* **8**, 197-207.
- Frank,R. (2002a) The SPOT-synthesis technique: Synthetic peptide arrays on membrane supports. In: Methods of parallel peptide synthesis and their contributions to deciphering molecular interactions in the immune system. (C. Granier, ed.) *Journal of Immunological Methods* **267**, 13-26.
- Frank,R. (2002b) High-density synthetic peptide microarrays: emerging tools for functional genomics and proteomics. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* **5**, 429-440.
- Frank,R. (1992) Spot-Synthesis: An easy technique for the positionally addressable, parallel chemical synthesis on a membrane support. *Tetrahedron* **48**, 9217-9232.
- Fudou,R., Iizuka,T., Sato,S., Ando,T., Shimba,N. & Yamanaka,S. (2001) Haliangicin, a novel antifungal metabolite produced by a marine myxobacterium. 2. Isolation and structure elucidation. *Journal of Antibiotics* **54**, 153-156
- Gerth,K. & Müller,R. (2005) Moderately thermophilic Myxobacteria: novel potential for the production of natural products. Isolation and characterization. *Environmental Microbiology* **7**, 874-880
- 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
- Hassfeld,J., Steinmetz,H., Fares,C., Carlomagno,T. & Menche,D. (2006) Stereochemical Determination of Archazolid A and B, Highly Potent Vacuolar-Type ATPase Inhibitors from the Myxobacterium *Archangium gephyra*. *Organic Letters* **8**, 4751-4754.
- Janssen,D., Albert,D., Jansen,R., Müller,R., Kalesse,M. & Chivosazole,A. (2007)Elucidation of the absolute configuration. *Angewandte Chemie*, submitted for publication.
- Kalesse,M., Christmann,M., Bhatt,U., Quitschalle,M., Claus,E., Saeed,A., Burzlaff,A., Kasper,C., Haustedt,L.O., Hofer,E., Scheper,T. & Beil,W. (2001) The Chemistry and Biology of Ratjadone. *ChemBioChem* **2(9)**, 709-714.
- Niggemann,J., Frank,R., Michaelis,K., Zander,N. & Höfle,G. (2002) Natural product-derived building blocks for combinatorial synthesis: structural diversity by fragmentation and recombination of natural products from Myxobacteria. *Journal of the Chemical Society, Perkins Transactions* **1**, 2490-2503.
- Reichenbach,H. & Höfle,G. (1999) Myxobacteria as producers of secondary metabolites. In: Grabley S, Thieriecke R (eds) Drug discovery from nature. Springer Verlag, Berlin, pp 149-179
- Rharbaoui,F., Drabner,B., Borsutzky,S., Winckler,U., Morr,M., Ensoli,B., Mühlradt,P.F. & Guzman,C.A. (2002) The Mycoplasma-derived lipopeptide MALP-2 is a potent mucosal adjuvant. *European Journal of Immunology* **32**, 2857-2865.
- Zielinski,M., Kahl,S., Standfuß-Gabisch,C., Cámara,B., Seeger,M. & Hofer,B. (2006) Generation of novel-substrate-accepting biphenyl dioxygenases through segmental random mutagenesis and identification of residues involved in enzyme specificity. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 2191-2199.



Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Streptococcus pyogenes Bakterien (Serumtyp M3) dringen in eine menschliche Epithelzelle (HEp-2) ein | Das mittlere und rechte Bild zeigen zwei von Reichenbach und Mitarbeitern entdeckte Myxobakterien: Nannocystis exedens pulla (mi) und Chondromyces robustus (re) | Fotos: HZI, Rohde (li) | Reichenbach (mi & re)



- 46 Bakterielle Pathogenität: Ansichten einer anderen Welt, beobachtet mit hochauflösender Feldemissionsrasterelektronenmikroskopie**

- 54 Naturstoffe: eine unverzichtbare Quelle für neue Wirkstoffe**



Bakterielle Pathogenität: Ansichten einer anderen Welt, beobachtet mit hochauflösender Feldemissionraster-elektronenmikroskopie

AUTOR | Dr. Manfred Rohde | Abteilung für Mikrobielle Pathogenität und Impfstoffforschung | mro@helmholtz-hzi.de

Pathogene Bakterien haben im Laufe der Zeit vielfältige Strategien entwickelt, um sich an Wirtszellen zu binden und in diese einzudringen. Veränderungen des zellulären Zytoskeletts sind ein Merkmal des sogenannten zipper-ähnlichen oder trigger-ähnlichen Invasionsprozesses. Andere pathogene Bakterien hingegen nutzen schon vorhandene endozytotische Wege der Wirtszelle aus, um selbst einzudringen oder sie vermitteln Signalübertragungen durch die Injektion von Proteinen in die Wirtszellen durch besonders ausgebildete Injektionssysteme. Viele dieser Wege wurden durch lichtmikroskopische Untersuchungen wie Phasenkontrast, Immunfluoreszenz und Konfokale Mikroskopie, gefunden und teilweise aufgeklärt. Besonders die hochauflösende Konfokale Mikroskopie hat für das Verständnis des so genannten „crosstalk“ zwischen Pathogen und Wirtszelle entscheidend beigetragen. Es zeigte sich jedoch ein entscheidender Nachteil der konfokalen Bilder: Nur markierte Strukturen, Farben, vor dunklem Hintergrund können abgebildet werden. Die Konfokale Mikroskopie kann also nicht die durch die Immunfluoreszenz markierten Strukturen im Referenzraum der Wirtszelle gleichzeitig mit den Farben abbilden. Besonders für die Rasterelektronenmikroskopie (REM/SEM) wurde gezeigt, dass dieses Abbildungsverfahren in der Lage ist, Beobachtungen anderer Verfahren erheblich zu erweitern, und es damit zur detaillierteren Aufklärung der Mechanismen beitragen kann. Nur SEM-Studien zeigten die morphologisch unterschiedlichen Ereignisse, die beim Eindringen von pathogenen Bakterien nach dem zipper- und trigger-ähnlichen Mechanismus ablaufen. Die Einführung der Feldemissionsrasterelektronenmikroskopie (FESEM) erlaubte einen weiteren Schritt hin zur hochaufgelösten Darstellung und Beschreibung der Invasionsmechanismen. Sie ermöglichte gleichzeitig die Abbildung von mit Antikörpern- und Gold-markierten Pathogenitätsfaktoren auf den Bakterien mit bis zu 200.000-facher Vergrößerung. Moderne FESEM Geräte sind oftmals mit Kryo-Einheiten versehen, die in Kombination mit Hochdruckgefrieren eine Abbildung unter vitrifizierten Bedingungen ermöglichen. Dies erlaubt eine nahezu artefaktfreie Abbildung der biologischen Proben.

Die elektronenmikroskopische Plattform des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung ist mit einem Zeiss FESEM DSM982 Gemini mit einem EDX-System zur Elementanalyse und einer Kryo-Einheit ausgestattet. Die Möglichkeiten, die die FESEM bietet, werden von vielen Gruppen innerhalb des Zentrums in Anspruch genommen. Eine der Hauptaufgaben besteht in der Entwicklung oder Weiterentwicklung von Methoden für die ultrastrukturelle und morphologische Analyse und die Immunmarkierung von Proteinen mittels FESEM. Die Techniken werden besonders zur Beschreibung der Adhäsion und Invasion von unterschiedlichsten pathogenen Bakterien in Wirtszellen eingesetzt. Präparationsprotokolle wurden auf die spezifischen Bedürfnisse in der bakteriellen Pathogenität zugeschnitten. Gleichzeitig wurden neue Methoden entwickelt, um Pathogenitätsfaktoren auf der Bakterienoberfläche oder der Wirtszellmembran mit Immun-FESEM zu lokalisieren. Ebenfalls wurden Gold-markierte Pathogenitätsfaktoren in Studien eingesetzt, um den „crosstalk“ zwischen Pathogen und Wirtszelle aufzuklären. Zusätzlich ist die elektronen-

mikroskopische Plattform mit zwei Transmissionselektronenmikroskopen (TEM) ausgestattet, um die Immunlokalisierung von Pathogenitätsfaktoren aus den FESEM-Studien zu unterstützen und auf die Lokalisierung in bakteriellen Zellen oder in der Wirtszelle auszuweiten, die in den FESEM-Studien nicht zugänglich sind. Weiterhin wird die TEM eingesetzt, um die intrazelluläre Bewegung (trafficking) der pathogenen Bakterien in der Wirtszelle zu verfolgen.

Historischer Rückblick auf die Entwicklung der Rasterelektronenmikroskopie Im Jahre 1930, als der erste Prototyp eines TEMs vor der Vollendung stand – entwickelt durch Max Knoll und Manfred von Ardenne in Berlin-Lichterfeld – wurde auch ein SEM-Prototyp konstruiert. Leider war die Auflösung dieses ersten Rasterelektronenmikroskopes nicht besser als die von Lichtmikroskopen. Während der folgenden 30 Jahre wurden einige Verbesserungen durch Zworykin in den RCA Laboratories in den USA und durch McMullan und Oatley an der Universität Cambridge in England vorgenommen. Es dauerte dann noch bis in die

Mitte der 1960er Jahre bevor das erste kommerzielle SEM, das Mark Stereocam I, durch die Firma Cambridge eingeführt wurde. Von da an haben sich mehrere Firmen wie Zeiss, Philips (heute FEI), Cambridge, Hitachi und Jeol mit der Entwicklung moderner SEMs befasst. Die Firma Zeiss hat 1985 das erste digitalisierte SEM, das Model DSM950, entwickelt und verkauft. Ganz besonders die Entwicklung eines Feldemissionsemitters als Elektronenquelle erlaubte eine bis dahin nicht mögliche Auflösung in der SEM von 1 nm bei einer Beschleunigungsspannung von 15 kV oder 4 nm bei nur 1 kV Beschleunigungsspannung.

Funktionsprinzip eines Rasterelektronenmikroskopes

Die Elektronenquelle und die verwendeten magnetischen Linsen im SEM sind mit denen im TEM vergleichbar. Beim TEM werden die Linsen zur Bildentstehung nach dem Durchstrahlen einer dünnen Probe auf einem phosphorierenden Leuchtschirm verwendet. Die Linsen im SEM dagegen, erzeugen einen fein fokussierten Elektronenstrahl, der über eine meist leitfähige Probe zeilenweise gerastert wird. Das Auftreffen der Elektronen auf die Probe generiert eine Anzahl von verschiedenen Signalen. Ein solches Signal stellen z.B. die niederenergetischen Sekundärelektronen dar, die aus der äußersten Schicht der Probe resultieren. Diese SE-Elektronen werden mit einem Everhart-Thornley SE-Detektor oder einem Inlens-SE-Detektor aufgenommen.

Wie wird das eigentliche Bild im SEM erzeugt? Für jeden Punkt auf der Probe, der von dem Elektronenstrahl getroffen wird und von dem SE-Elektronen emittiert werden, wird auf dem Monitor ein Pixel erzeugt. Die Helligkeit des Pixels ist direkt proportional zu den emittierten SE-Elektronen auf der Probenoberfläche. Da die Elektronen über die gesamte Probe geführt werden, entsteht ein kontinuierliches Bild, das aus vielen unterschiedlichen Schwarz- und Weißtönen besteht. Dies ist mit einem üblichen Schwarz-Weiß-Bild vergleichbar, wo Licht und Schatten ebenfalls eine Tiefenwirkung erzeugen.

Die Auflösung im SEM wird hauptsächlich durch die Spotgröße des Elektronenstrahls auf der Probenoberfläche erreicht. Eine gebräuchliche Vergrößerung der konventionellen SEMs, die mit einer Wolframkathode ausgerüstet sind, liegt beim etwa 5000-fachen. Geräte mit einer Lanthanhexaborid-Kathode (LaB₆), die eine wesentlich höhere Strahlintensität erreichen, wurden danach entwickelt. Mit diesen erzielte man eine Auflösung von etwa 5 nm bei einer Beschleunigungsspannung von 20 kV und Vergrößerungen bis zum 30.000-fachen. Diese Geräte wurden dann erstmals für die Untersuchungen zur Adhäsion und Invasion von pathogenen Bakterien eingesetzt. Jedoch war es mit diesen SEMs noch nicht möglich, Gold-markierte Pathogenitätsfaktoren auf der

Oberfläche von Bakterien nachzuweisen. Nur die Einführung der Feldemissionskathode, um 1980, erlaubte eine Auflösung von 1 nm bei 15 kV. Dadurch wurden Vergrößerungen der Proben bis zum 200.000-fachen im täglichen Gebrauch möglich, so dass Goldpartikel in Immun-FESEM-Studien mit 5 nm gut aufgelöst werden konnten.

Ebenfalls von großer Bedeutung für die Darstellung der Wechselwirkungen zwischen pathogenen Bakterien und Wirtszellen ist die gute Auflösung von 2 nm bei 5 kV oder 4 nm bei nur 1 kV. Dies erlaubte erstmalig eine reale Abbildung der Oberfläche der Probe. In Abb. 1 wird eine vergleichende Darstellung der Auflösung eines Lanthanhexaborid SEMs (Abb. 1A) und eines FESEMs mit der Schottky-Kathode (Abb. 1B) derselben Probe gezeigt. Die Abbildung des Bakteriums *Escherichia coli* EPEC (enteropathogene *E. coli*) bei einer Beschleunigungsspannung von 10 kV im SEM mit einer LaB₆-Kathode zeigt undeutliche Strukturen der Zelloberfläche ohne jeden Detailreichtum. Das mit dem Feldemissionsgerät aufgenommene Bild zeichnet sich durch hochaufgelöste Detailstrukturen aus, obwohl für diese Aufnahme nur eine Beschleunigungsspannung von 1 kV verwendet wurde.

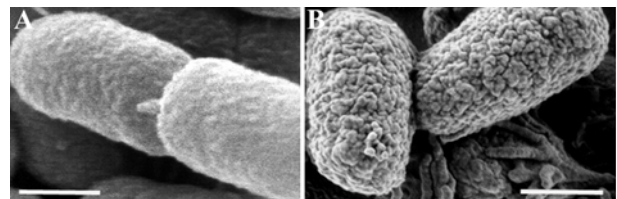


Abb. 1. Vergleich der Auflösung. Ein mit einer Lanthanhexaborid ausgestattetes konventionelles SEM ist nicht in der Lage, das Proteinmuster auf der Zelloberfläche von *Escherichia coli* EPEC bei einer Beschleunigungsspannung von 10 kV aufzulösen (A), während ein FESEM dieses Proteinmuster mit großem Detailreichtum auflöst, obwohl eine zehnfach niedrigere Beschleunigungsspannung von 1 kV verwendet wurde (B). Die Maßstäbe entsprechen 1 μ m.

Elektronenoptische Abbildung von Wirt-Pathogen-Interaktionen

Voraussetzung für optimale Abbildungen in der FESEM ist eine exzellente Erhaltung der Ultrastruktur der Proben. Dies wird erreicht durch Fixierung mit Glutaraldehyd und Formaldehyd mit anschließender Entwässerung mit Aceton oder Ethanol. Für biologische Proben ist eine Kritische-Punkt-Trocknung mit flüssigem CO₂ unabdingbar. Abschließend werden die Proben meist mit einem dünnen Goldfilm versehen, um die elektrische Leitfähigkeit der Proben herzustellen. Dadurch kann man kontrastreiche und kristallklare Aufnahmen, wie in Abb. 2 gezeigt, erzielen.

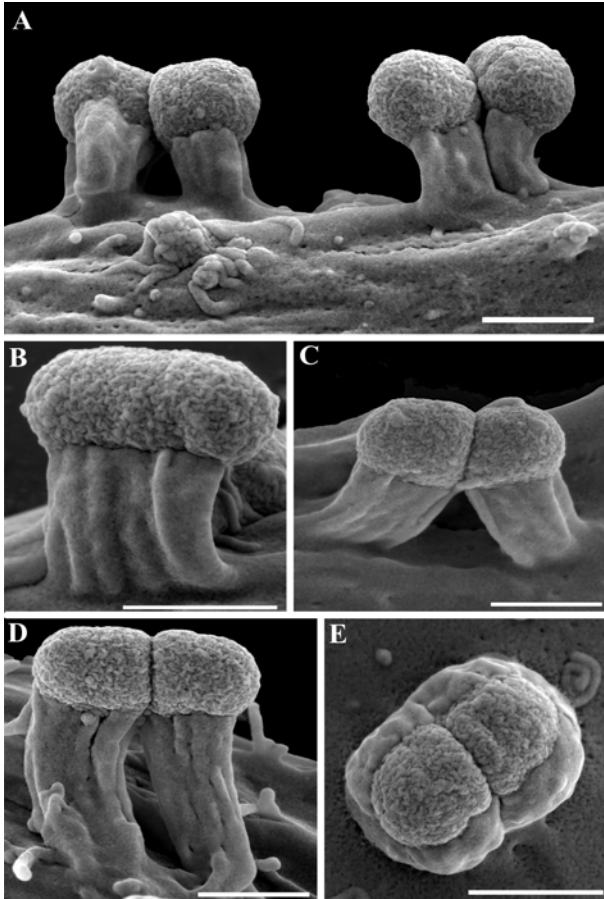


Abb. 2. Aktinpodest-Bildung durch *E. coli* EPEC auf Fibroblasten. Die Aufnahmen zeigen die Aktinpodeste unter verschiedenen Beobachtungswinkeln, A-D Seitenansichten, E Aufnahme von oben. Die Maßstäbe entsprechen $0,5 \mu\text{m}$.

In Abb. 2 sind hochauflösende Abbildungen der Ausbildung von Aktinpodesten gezeigt, hervorgerufen durch *E. coli* EPEC auf Fibroblasten, unter verschiedenen Beobachtungswinkeln. Sie werden durch Kippen des Probenhalters in Relation zum einfallenden Elektronenstrahl erreicht. In Abb. 2A-D sind Seitenansichten der Aktinpodeste gezeigt, während in Abb. 2E eine Ansicht von oben auf einen Podest dargestellt ist.

Natürlich zeigen solche FESEM-Aufnahmen neben dem wissenschaftlichen Aspekt auch eine besondere Ästhetik der Natur – mit hochauflösenden rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen kann man die natürliche Schönheit und deren Mechanismen erforschen, wenn diese zusätzlich noch mit einem fotografisch geschulten Auge aufgenommen werden.

Die in Abb. 2 gezeigten Bilder geben *per se* eine überzeugende Darstellung der Entstehung der Aktinpodeste, aber die Frage erscheint erlaubt, ob die FESEM-Studien weitergehende Informationen im Vergleich zu konfokalen Bildern der Aktinpodestbildung liefern. Dass hochauflösende FESEM Aufnahmen eine wesentliche Erweiterung bekannter Informationen im Vergleich zu lichtmikroskopischen Abbildungen bieten, zeigen die Abb. 3 und 4. In Abb. 3 sind zehn Schnitte einer konfokalen Z-Serie des Aufnahmeprinzips von *Streptococcus pyogenes* mit einem Zeiss LSM510 Meta System abgebildet. Das Wirtszellaktin wurde mit Phalloidin Alexa-Grün gefärbt, während die Streptokokken mit einem anti-Streptokokken-Antikörper und einem sekundären Antikörper, gekoppelt an Alexa-Rot, markiert wurden. Die konfokale Z-Serie zeigt, dass es zu Aktinansammlungen im Umfeld der Streptokokken kommt, da man eine Aktinwolke (grün) um die eindringenden Streptokokken vorfindet.

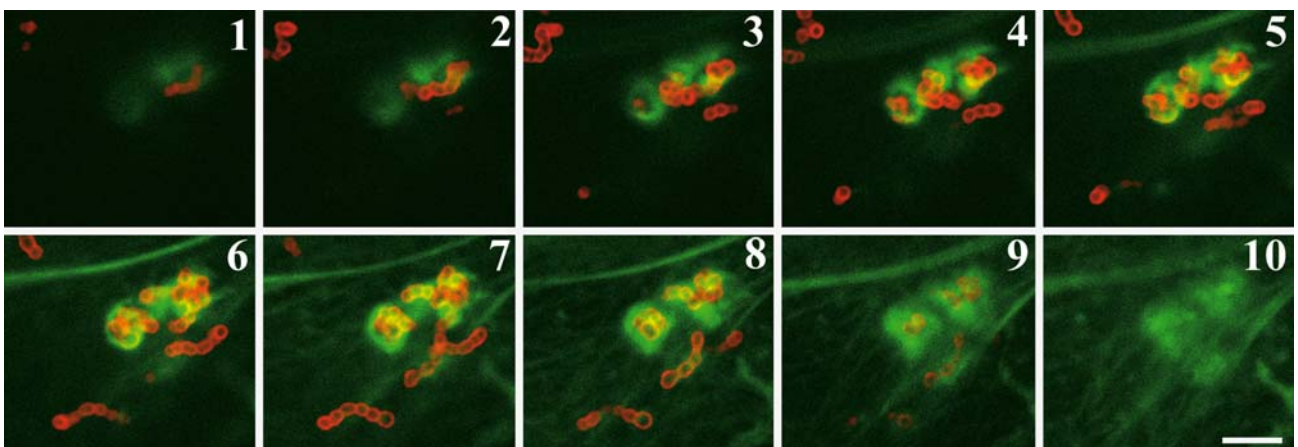


Abb. 3. Konfokale Z-Schnitte von in humane Endothelzellen (HUVEC) eindringenden *Streptococcus pyogenes*. Die Streptokokken (rot) sind von Aktinwolken der Wirtszelle (grün) am Ort der Invasion umgeben. Die Maßstäbe entsprechen $2,5 \mu\text{m}$.

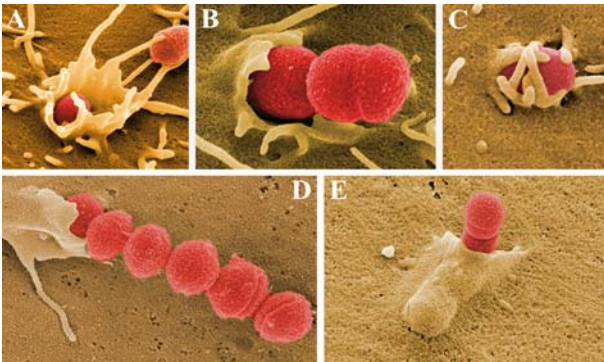


Abb. 4. Unterschiedliche Invasionsmechanismen klinischer Isolate von *S. pyogenes*. In A und C ist die Invasion von Serotyp M1 Streptokokken gezeigt; C zeigt das Eindringen von Serotyp M3 Streptokokken in humane Epithelzellen (HEp-2). In D und E ist die Invasion von Serotyp M3 in humane Endothelzellen (HUVEC) dargestellt.

Jedoch zeigen diese Bilder nicht die ultrastrukturelle Anordnung des Aktins um die Streptokokken, sondern beweisen nur, dass Aktin an der Invasion beteiligt ist. Ob der Invasionsprozess zipper-ähnlich ist, indem die Wirtszellmembran sich ganz eng anliegend über die Streptokokken schiebt, oder ob ein trigger-ähnlicher Prozess mit einer ausgeprägten Membranausstülpung des Aktins am Ort der Anheftung der Bakterien auf der Wirtszelle vorliegt, oder ob ganz andere Aktinveränderungen beteiligt sind, ist nicht zu erkennen.

Ein Vergleich dieser konfokalen Bilder mit denen von FESEM Aufnahmen, wie in Abb. 4, zeigt, dass man die unterschiedlichsten Aktinveränderungen während des Invasionsprozesses der verschiedenen klinischen Isolate von Streptokokken abbilden kann. Die Invasion kann mit ausgeprägten Aktinveränderungen einhergehen, die die invadierenden Streptokokken umschließen (Abb. 4A) oder man detektiert bei anderen Isolaten nur kleine Aktinveränderungen auf der Wirtszelle (Abb. 4B), oder ein sehr enger Kontakt mit den Wirtszellmikrovilli kann beobachtet werden (Fig. 4C). Das Streptokokken-Isolat, das in den konfokalen Bildern in Abb. 3 gezeigt wird, invadiert die Wirtszellen mit einem zipper-ähnlichen Mechanismus, indem die Wirtszellmembran die Bakterien eng umschließt (Abb. 4D und E). Anzumerken bleibt, dass dieser Mechanismus nicht durch die konfokale Z-Serie aufgeklärt werden konnte. Wie schon gesagt, zeigen die konfokalen Bilder eben nur eine farbige Darstellung von markierten Strukturen in einem dunklen Hintergrund, womit keine Informationen über die umgebenden zellulären Strukturen abgebildet werden können, um eine detaillierte Aussage über den Invasionsmechanismus zu erhalten.

Ein anderes Beispiel für einen neu gefundenen Invasionsweg von Gruppe A Streptokokken, der nur mit Hilfe der FESEM aufgeklärt werden konnte, ist in Abb. 5 dargestellt. Streptokokken, welche das Streptokokken-Fibronektin-bindende Protein I (SfbI) besitzen, induzieren nach Bindung an das extrazelluläre Protein Fibronektin einen Signalweg. Er führt zur Aufnahme durch wirtseigene Caveolae, die Komponenten eines zellulären endozytotischen Weges sind. Die Streptokokken nutzen somit einen vorhandenen endozytotischen Weg aus, um das eigene Überleben und Persistenz im Wirt zu erreichen, da die intrazellulären Streptokokken nicht mit den Lysosomen bei der Caveolae-vermittelten Aufnahme verschmelzen. Der Prozess beginnt mit der Aggregation von Caveolae um anheftende Bakterien (Abb. 5A), die dann durch Fusion eine große Membraneinstülpung (Invagination) ausbilden (Abb. 5B), durch die die Streptokokken in die Wirtszelle eindringen (Abb. 5C). Die intrazellulären Bakterien befinden sich dann in einem neuen zellulären Kompartiment, den sogenannten Caveosomen.

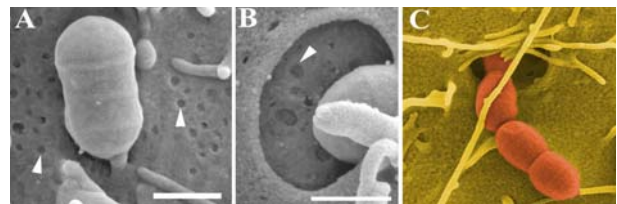


Abb. 5. Fibronektin-SfbI vermittelte Invasion unter Ausnutzung von Caveolae. Caveolae (Pfeilspitzen) aggregieren um adhären Streptokokken (A) und fusionieren zu großen Membraneinstülpungen (B). Durch diese werden nachfolgend die Streptokokken aufgenommen und befinden sich dann intrazellulär in einem neuen Zellkompartiment dem sogenannten Caveosomen. Die Maßstäbe entsprechen 0,5 μm .

Nachweis einer neuen Protein-umhüllten Struktur des Typ IV Sekretionssystems von *Helicobacter pylori*

H. pylori ist für eine Reihe von Magen-Darmkrankheiten verantwortlich und dem Bakterium wird ebenfalls eine Rolle bei der Entstehung von Magenkrebs zugeschrieben. *H. pylori* des Typs 1 besitzen eine sogenannte cag-Pathogenitätsinsel, die für das Typ IV Sekretionssystem codiert. Für das Typ IV Sekretionssystem wurde nachgewiesen, dass es für die Injektion des Cag-Proteins in die Wirtszelle verantwortlich ist, was zur Sekretion von Interleukin-8 durch die Wirtszelle führt. Antikörper, die gegen zwei verschiedene Proteine des Typ IV Systems hergestellt wurden, markieren zwei unterschiedliche Bereiche des Bakteriums (Abb. 6). Der Antikörper HP0527 wurde gegen ein Protein des *H. pylori* Typ IV Systems hergestellt, das homolog zum virB10 Protein ist, der

Antikörper HP0532 wurde gegen das virB7-homologe Protein des pflanzenpathogenen Bakteriums *Agrobacterium tumefaciens* hergestellt. In *A. tumefaciens* wurde das Typ IV Sekretionssystem erstmals entdeckt, eingehend beschrieben und charakterisiert. Wie in Abb. 6A zu erkennen, markiert der Antikörper HP0527 eine bakterielle Struktur, die als ein Anhängsel der Bakterien angesehen werden kann. Im Gegensatz dazu markiert der andere Antikörper HP0532 einen Bereich auf der Oberfläche der Bakterien (Abb. 6B). Mehr ultrastrukturelle Information war in den hochaufgelösten konfokalen Bildern nicht zu erkennen. Betrachtet man *H. pylori* jedoch bei Vergrößerungen vom bis zu 100.000-fachen im FESEM, konnte man eine filamentöse Oberflächenstruktur detektieren, die sich hauptsächlich am Pol der Bakterien be-

findet (Abb. 7A). Weiterhin konnte der Aufbau der Anhängsel aufgeklärt werden. Die Anhängsel bestehen aus einer inneren nadelförmigen Struktur, die nur teilweise – oder wenn die Bakterien in Kontakt mit Wirtszellen sind, auch vollständig – mit Proteinen umhüllt ist (Abb. 7A).

Mit der Einführung von sogenannten hochauflösenden Inlens-SE-Detektoren in moderne FESEMs, die im Falle des Zeiss Gemini oberhalb der Objektivlinse eingebaut sind, war es möglich, kontrastreiche und hochaufgelöste Bilder zu erhalten, die es sogar erlauben, nur 2 nm große Goldpartikel aufzulösen. Dies machte es erstmals möglich, Immunmarkierungen auch im FESEM als sogenannte Immun-FESEM durchzuführen und somit stellt diese neue Technik eine

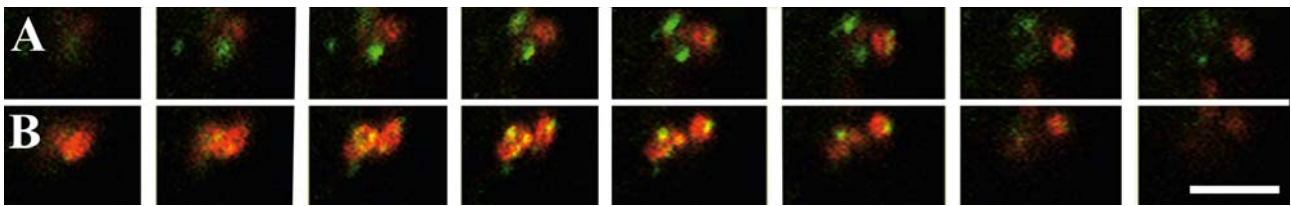


Abb. 6. Konfokale Z-Schnitte von zwei Immunfluoreszenz-markierten Proteinen des Typ IV Sekretionssystems von *Helicobacter pylori*. Der Antikörper HP0527/virB10 markiert eine filamentöse Struktur an der Bakterienzelle (A) während der Antikörper HP0532/virB7 einen distinkten Bereich auf der Bakterienzelloberfläche markiert (B). Der Maßstab entspricht 2 µm.

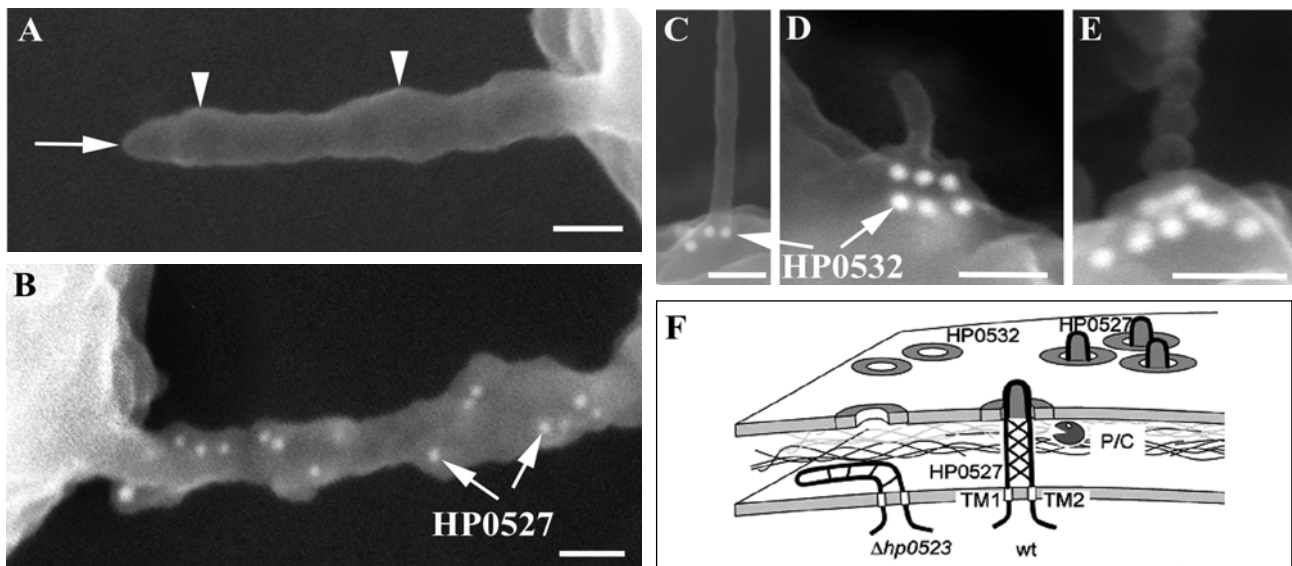


Abb. 7: FESEM Analyse der filamentösen Struktur des Typ IV Sekretionssystems und Immun-FESEM. A zeigt den Aufbau der filamentösen Struktur aus einer inneren, starren Nadel (Pfeil), die mit Protein entweder teilweise oder ganz umhüllt ist (Pfeilspitzen). Das auf der Nadel aufgelagerte Protein kann mit dem Antikörper HP0527/virB10 und Protein A Goldpartikeln markiert werden (B, Pfeile). In Gegensatz dazu markiert der Antikörper HP0532/virB7 ein Protein, das an der Basis der Nadel in der bakteriellen Zellwand sitzt (C-E). F zeigt eine schematische Darstellung der Sekretion und des Assembly aufgrund der FESEM Befunde. Die Maßstäbe entsprechen 100 nm.

entscheidende Erweiterung der sonst meist üblichen Immunmarkierungen dar. Sonst werden sie vorwiegend als Post-embedding auf Ultradünnschnitten für die TEM ausgeführt. Die Immun-FESEM hat den entscheidenden Vorteil, dass ein Gold-markiertes Protein im typischen 3-D ähnlichen ultrastrukturellen Umfeld abgebildet werden kann.

Der Einsatz der beiden Antikörper HP0527/virB10 und HP0532/virB7 in Immun-FESEM-Studien zeigte, dass das vom HP0527/virB10 detektierte Protein nur in dem Protein zu finden ist, das die innere nadelähnlichen Struktur umhüllt (Fig. 7B). Der andere Antikörper HP0532 weist dagegen nur ein Protein nach, welches an der Basis der nadelförmigen Struktur sitzt. (Fig. 7C-D). Dieses Protein bildet somit die Basis aus, durch die die Nadel synthetisiert wird, an der dann das andere Protein entlang wandert. Keiner der beiden untersuchten Antikörper zeigt jedoch eine Reaktion mit der inneren nadelähnlichen Struktur. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Anhängsel, die in Kontakt mit den Wirtszellen treten, deutlich mehr aufgelagertes Protein und Goldmarkierungen zeigen als diejenigen, die nicht in Kontakt sind. Diese Immun-FESEM-Studien erlaubten eine schematische Darstellung der HP0527 Sekretion und des Assemblyprozesses vorzuschlagen (Fig. 7F).

Elektronenmikroskopie (EM) wurde lange als eine Methode angesehen, die nur eine statische Momentaufnahme abbilden kann. Mit der Zeit hat sich diese Ansicht verändert und relativiert. Es wurde gezeigt, dass sich mit EM sehr wohl auch kinetische oder dynamische Prozesse verfolgen lassen, die von z.B. einer Signaltransduktion ausgelöst wurden. Als Beispiel sei an „pulse-chase“ oder an Immunmarkierungsexperimente erinnert, in denen die Proben nach definierten Zeitabständen nach Induktion des Signals fixiert und nachfolgend analysiert werden.

Wie weiter oben schon ausgeführt, binden SfbI-tragende Streptokokken an Fibronectin, was als ein Brückenmolekül für die Bindung an $\alpha 5\beta 1$ -Integrin fungiert. Für die Integrine ist bekannt, dass diese eine Signalvermittlung nur auslösen, wenn sie als Aggregate (cluster) auf der Zelloberfläche vorliegen. Wurde das SfbI-Protein nun an 15 nm große Goldpartikel gebunden und diese SfbI-Goldpartikel dann zusammen mit humanen Endothelzellen (HUVEC) inkubiert, konnte der einsetzende Prozess der Integrinaggregation mit Hilfe der FESEM verfolgt werden. In Abb. 8A ist gezeigt, dass die SfbI-Goldpartikel nur aus einzelnen oder doppelten Goldpartikeln bestehen. Nach 15 min Inkubation auf HUVEC erkennt man eine mehr oder weniger statistische Verteilung der Goldpartikel (Abb. 8B, weiße Punkte). Nach 45 Minuten konnte man schon eine Aggregation der Goldpartikel erkennen und man findet einige Caveolae in der Nähe der Goldkomplexe (Abb. 8C, Pfeilspitzen). Nach 1 h wurden die Goldkomplexe

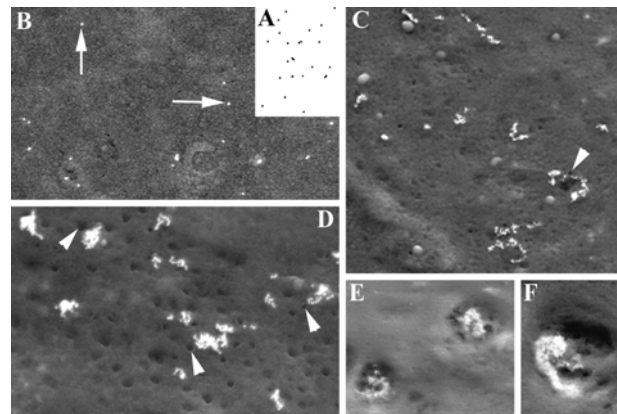


Abb. 8. Indirekte Visualisierung der Integrin-Aggregation auf der Oberfläche von humanen Endothelzellen (HUVEC). SfbI umhüllte Goldpartikel (A) binden an $\alpha 5\beta 1$ Integrine über Fibronectin. Nach 15-minütiger Inkubation erkennt man eine statistische Verteilung der Goldpartikel auf der Zelloberfläche (B). Nach 45 Minuten kommt es zur Aggregation der Goldpartikel (C) und einige wenige Caveolae (Pfeilspitzen) sind in der Nähe zu erkennen. Nach 1 h Inkubation kommt es zu größeren Goldaggregaten und zahlreiche Caveolae befinden sich in der Nähe der Goldaggregate (D, Pfeilspitzen). Nach 2 h setzt die Bildung der großen Membraneinstülpungen ein, durch die die Goldaggregate in die Zelle aufgenommen werden (E und F).

größer und zahlreiche Caveolae waren um die Goldkomplexe zu erkennen (Abb. 8D, Pfeilspitzen). Nach 2 h findet man die gesamten SfbI-Goldpartikel in den Membraneinstülpungen und bei der Aufnahme in die Wirtszellen (Abb. 8B, E und F). Dies entspricht dem identischen Aufnahmeprozess für SfbI-tragende Streptokokken in die Wirtszelle. Diese zeitabhängigen kinetischen Studien zeigen durch eine indirekte Visualisierung über die SfbI-Goldpartikel nicht nur die Aggregation der Integrine auf der Wirtszelloberfläche, sondern auch die durch die aggregierten Integrine ausgelösten Signalvermittlung. Diese führt zur Ansammlung von Caveolae um diese Aggregate, was letztlich zur Aufnahme der SfbI-Goldpartikel in die Zelle führt.

Abbildung der Pneumokokkenkapsel und Bindung an extrazelluläre Proteine durch Kryo-FESEM Werden Proben konventionell für die FESEM hergestellt, ist die Entwässerung mit organischen Lösungsmitteln wie Ethanol und Azeton oft ein Problem. Dadurch können Artefakte in die Proben eingeführt werden, besonders wenn es sich um wasserreiche Strukturen von Bakterien, wie etwa die Kapsel, handelt. Um dieses Problem zu umgehen, hat man in der EM Kryotechniken eingeführt, hier besonders auch für die TEM, wie Hochdruckgefrieren, Gefrierbruch mit Gefrierätzung und Gefriersubstitution. Nur sehr wenige EM-Labore beschäftigten sich in den vergangenen 20 Jahren mit Kryo-Studien in der REM. Während der letzten Jahre – besonders nach der Einführung der FESEM-Geräte – erlebten die Kryomethoden auch im SEM Sektor einen Aufschwung, erkennbar an Artikeln in der Fachliteratur und in der Anerkennung der Kryo-FESEM durch Zell- und Mikrobiologen.

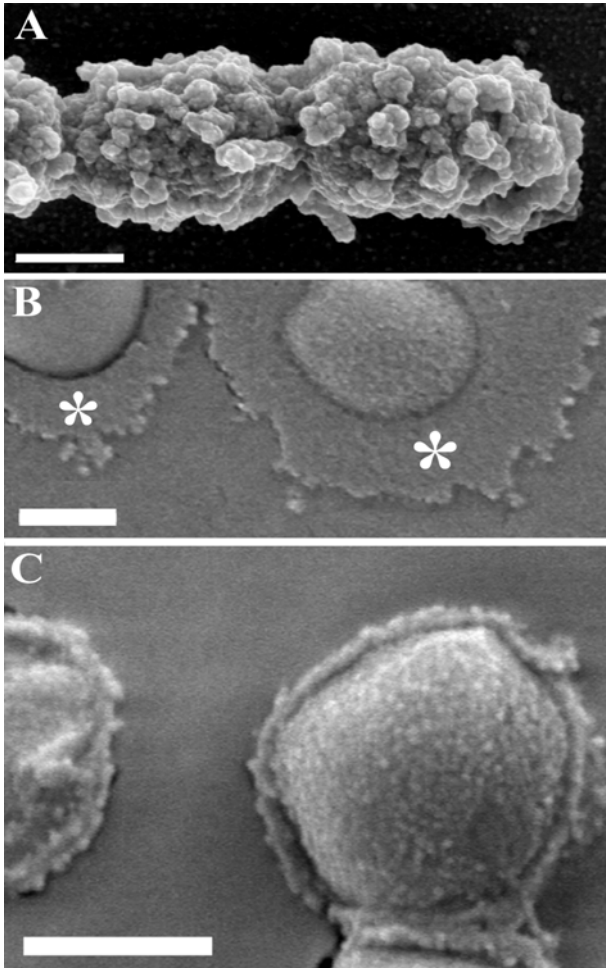


Abb. 9. Vergleich von konventionell und mit Kryotechniken präparierten Kapseln von Pneumokokken. In A ist das Kollabieren der hoch hydratisierten Kapsel nach Entwässerung und Kritische-Punkt-Trocknung dargestellt. Nach Einfrieren in flüssigen Stickstoff und Gefrierbruch mit anschließendem Gefrierätzen ist die Pneumokokken Kapsel von extrazellulären Bakterien sehr gut erhalten (B, Sterne) und darstellbar. Keine Kapseln besitzen jedoch hingegen intrazelluläre Pneumokokken (C), die damit während der Invasion die Kapsel verlieren. Dieses Phänomen ist als Phasenvariation bekannt. Der Maßstab entspricht $0,5 \mu\text{m}$ in A und die Maßstäbe in B und C entsprechen $0,25 \mu\text{m}$.

Die polysaccharidreiche Kapsel von *Streptococcus pneumoniae* ist ein wichtiger Pathogenitätsfaktor der Pneumokokken, die z.B. gegen Phagozytose durch Immunzellen schützt. Da – bedingt durch die Polysaccharide – die Kapsel sehr stark hydratisiert ist, stellt die Erhaltung der Kapselstruktur einen hohen Anspruch an die Präparation für die elektronenmikroskopische Beobachtung. Mit Kapsel-stabilisierenden Agenzien wie z.B. Lysin in Verbindung mit Ruthenium-Rot, war es möglich, die Kapsel im TEM mit guter Struktur-erhaltung darzustellen. Präparierte man die Proben jedoch parallel auch für die FESEM, zeigte sich, dass diese sehr empfindliche Kapselstruktur nach Trocknung, auch nach der Kritischen-Punkt-Trocknung, kollabiert (Abb. 9A). Diese Trocknungsartefakte konnten nur umgangen werden, in dem die Proben in flüssigem Stickstoff eingefroren wurden

und dann im Kryo-Zusatz eines FESEM gefriergebrochen und gefriergeätzt wurden. Das FESEM zeigt dann eine vollkommen vitrifizierte Kapsel um die Pneumokokken (Abb. 9B, Sterne). Zusätzlich erlaubte diese Methode, den Kapseldurchmesser von unterschiedlichen klinischen Pneumokokkenisolaten zu messen. Und das nahe an der *in vivo* Struktur, was sonst durch keine andere Methode möglich ist. Mit Hilfe der Kryo-FESEM ließ sich eindeutig nachweisen, dass die Pneumokokken die Kapsel beim Eindringen in die Wirtszelle verlieren wie Bild in Abb. 9C für isolierte intrazelluläre Pneumokokken belegt. Intrazelluläre Bakterien weisen keine Kapselstruktur mehr auf. Diese Phasenvariation konnte hier erstmalig mit SEM-Studien belegt werden.

Ein anderes Beispiel für Kryo-FESEM ist in Abb. 10 abgebildet. Studien mit radioaktiv-markiertem Kollagen IV zeigten, dass Stämme von *S. pyogenes* Kollagen über zuvor gebundenes Fibronectin auf der Oberfläche binden und dass rekombinantes SfbI-Protein ebenfalls zur Kollagen IV Bindung fähig ist. Mit Kryo-FESEM Studien zweier *Streptococcus gordonii* Stämme, dem Wildtyp und einem die Fibronectin-bindende Bindungsdomäne des SfbI-Proteins exprimierenden Stamm, konnte diese Matrixproteinbindung an die Streptokokkenoberfläche erstmals abgebildet werden. Der Wildtyp zeigte im Kryo-Gefrierbruch das typische Bild eines Grampositiven Bakteriums (Abb. 10A). Dagegen ist die Zelloberfläche des SfbI-exprimierenden Stammes mit einer dicken Schicht umgeben, die aus Fibronectin und Kollagen besteht (Abb. 10B, Sterne). Interessanterweise sind die Bakterien durch die Kollagenbindung untereinander vernetzt und bilden Aggregate (Abb. 10B, großes Bild). Der Wildtyp-Stamm bildet hingegen nur lange zusammenhängende Ketten aus (Abb. 10, A). Dass die an der Bakterienoberfläche gebundene Schicht tatsächlich aus Kollagen besteht, wurde mit Hilfe von spezifischen Antikörpern und Goldpartikeln in Immunmarkierungen am Ultradünnschnitt nachgewiesen. Die dunklen Punkte repräsentieren gebundene kollagen-spezifische gebundene Antikörper (Abb. 10C).

Die kollagenbindenden Stämme der Streptokokken können zudem Kollagenfasern besiedeln (Abb. 10D). Durch die direkte Abbildung der Kollagenbindung auf der Bakterienzellwand und der beobachtbaren Besiedlung von Kollagenfasern im Wirt konnte mit Hilfe der FESEM ein neuer Aggregations- und Kolonisierungsmechanismus von Gruppe A Streptokokken nachgewiesen werden.

Ausblick Die Verwendung der Elektronenmikroskopie (EM) ist zur Klärung von biologischen Fragestellungen in den letzten Jahrzehnten mehr und mehr zurückgegangen, obwohl vielfältigste Methoden erarbeitet wurden und nur die EM Fragestellungen beantworten kann, die durch andere Abbildungsmethoden nicht zugänglich sind. Es scheint so, dass

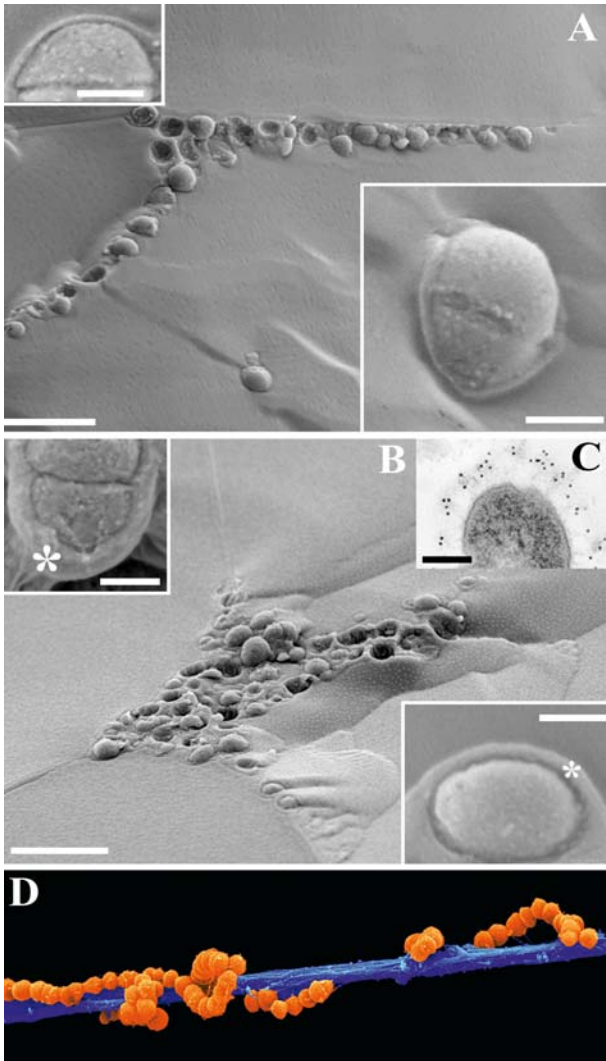


Abb. 10. Matrixprotein-Bindung von *SfbI*-exprimierenden *S. gordonii* Stämmen. Kryo-FESEM wurde verwendet um die Kollagen IV-Bindung auf der Zellwand von *SfbI*-exprimierenden *S. gordonii* zu visualisieren. Der Gefrierbruch vom Wildtyp-Stamm zeigt das charakteristische Bild eines Gram-positiven Bakteriums (A) während die *SfbI*-tragenden *S. gordonii* von einer dicken Schicht bestehend aus Fibronektin und Kollagen umgeben sind (B, Sterne). Ebenfalls findet man die Bakterien über Kollagen vernetzt, was an der Aggregation der Bakterien im Vergleich zum Wildtyp erkennbar ist (B). Diese Aggregate verhindern die Phagozytose durch Neutrophile. In C ist eine Immunmarkierung von Kollagen mit Hilfe eines spezifischen Antikörpers im Ultradünnschnitt gezeigt (TEM Aufnahme). In D ist die Bindung von *SfbI*-exprimierenden *S. gordonii* an Kollagenfasern des Typs I dargestellt. Die Maßstäbe entsprechen 5 μm in den großen Bildern in A und B; sonst 0,5 μm .

mit der Einführung von neuen und modernen Verfahren wie Videomikroskopie und Konfokaler Mikroskopie in der Lichtmikroskopie, der Einsatz elektronenmikroskopischer Methodiken immer weiter zurückgedrängt wurde. Ein kurzer Blick in eher mikrobiologisch oder zellbiologisch orientierte Fachzeitschriften zeigt eindeutig, dass die ehemals häufig gezeigten EM-Bildtafeln früherer Jahre mehr und mehr

durch farbige konfokale Bildtafeln ersetzt wurden. Ebenfalls wurden in den letzten Jahren die Immunfluoreszenz-Methoden rasant weiterentwickelt, wie z.B. Fluoreszenzresonanz-Energietransfer (FRET), um biochemische Reaktionen in lebenden Zellen zu verfolgen oder die 2-Photonen Konfokale Mikroskopie. Obwohl einige der lichtmikroskopischen Methoden soweit verfeinert wurden, dass Auflösungen von bis zu 100 nm erreichbar sind, bleibt die EM nach wie vor die Methode der Wahl mit genügend hoher Ortsauflösung. Etwa um eine sensitive Lokalisierung von Proteinen mit einer gleichzeitigen Darstellung der umgebenden Ultrastruktur in Bakterien oder in eukaryontischen zellulären Kompartimenten zu kombinieren.

Mit der Einführung von hochauflösenden FESEM-Geräten kam es zu einer Wiederbelebung des Interesses an elektronenmikroskopischen Verfahren in der Biologie. Die in diesem Artikel beschriebenen im FESEM hochaufgelöst dargestellten Interaktionen zwischen Wirt und Pathogen belegen, dass die Rasterelektronenmikroskopie das ideale Abbildungsverfahren ist, um solche Interaktionen zu beschreiben und deren Mechanismus aufzuklären. Um aber einen Einblick in die Abläufe in die Wirt-Pathogen Interaktionen zu gewinnen, muss zukünftig die hochauflösende FESEM-Methode Hand in Hand mit lichtmikroskopischen Methoden, genetischen, biochemischen und molekularen Lösungsansätzen einhergehen. Nur so können die bis heute nicht ganz im Detail verstandene Geheimnisse der pathogenen Bakterien und ihrer Wechselwirkungen mit den Wirtszellen aufgeklärt werden. Neue Entwicklungen in elektronenmikroskopischen Präparationsverfahren wie Hochdruckgefrieren, Gefriersubstitution und Kryo-Elektronentomografie, zusammen mit der Weiterentwicklung der Transmissionselektronenmikroskopie und Rasterelektronenmikroskopie, werden es ermöglichen, neue Einblicke in das faszinierende Zusammenspiel von Wirt und pathogenem Bakterium aufzuzeigen und deren Mechanismus zu verstehen.

Alle Fotos: HZI, Rohde

Manfred Rohde geboren 1955, studierte Biologie und Mikrobiologie an der Universität Göttingen; Dipl.-Biol. 1980; Promotion zum Dr. rer.nat. am Institut für Mikrobiologie, Göttingen 1983; Post-Doc am Institut für Mikrobiologie Göttingen, 1983-1985, Research Associate am Department of Biochemistry, University of Adelaide, Adelaide, Australien, 1985-1986; Post-Doc am Institut für Mikrobiologie, Göttingen, 1986-1988; seit Juni 1988 Wissenschaftler an der GBF (Gesellschaft für Biotechnologische Forschung GmbH), Braunschweig, heute Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung.



Naturstoffe: eine unverzichtbare Quelle für neue Wirkstoffe

AUTOR | Prof. Dr. Hans Reichenbach | Leiter (im Ruhestand) der früheren Abteilung für Naturstoffchemie | hre@helmholtz-hzi.de

Vor drei Jahrzehnten starteten wir an der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung – jetzt Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung – ein Forschungsprojekt über Naturstoffe aus Bakterien. Dieses Projekt wurde möglich durch die enge Zusammenarbeit der Abteilungen Biologie der Naturstoffe und Naturstoffchemie, schloss aber auch andere Abteilungen des Zentrums ein, wie etwa die Instrumentelle Analytik und die Bioverfahrenstechnik. Bereits in einem frühen Projektstadium interessierten sich Industriepartner für unsere Arbeit und prüften unsere Verbindungen auf Anwendungsmöglichkeiten in Medizin und Landwirtschaft. Im Lauf der Jahre und mit wachsender Erfahrung weitete sich das Projekt erheblich aus. Zuletzt hatten wir etwa 600 Verbindungen aus 114 verschiedenen Grundstrukturen isoliert und charakterisiert. Viele dieser Verbindungen waren völlig neu und hatten häufig interessante und ungewöhnliche Wirkmechanismen. Das spiegelt sich in mehr als 1000 Veröffentlichungen aus Laboratorien auf der ganzen Welt wider – über Teil- und Totalsynthesen, Untersuchungen zum Wirkmechanismus, die Verwendung der Substanzen als Sonden bei biochemischen und physiologischen Studien oder über Untersuchungen zur Genetik des Syntheseapparats. Drei Verbindungen Sorangicin, Melithiazol und Soraphen wurden intensiv bezüglich ihrer Praxisrelevanz bearbeitet und Epothilon durchlief alle drei Stufen der klinischen Tests als Antitumormedikament.

Weshalb haben wir nun ein solches Forschungsprogramm aufgegriffen? Naturstoffe – meist handelt es sich um Sekundärmetabolite – spielen eine wichtige Rolle in der Medizin und eine nur wenig geringere auch in der Landwirtschaft. Von 877 neuen niedermolekularen Medikamenten, die von 1981 bis 2002 weltweit eingeführt wurden, waren 50 - 60% Naturstoffe oder von solchen durch Derivatisierung abgeleitet beziehungsweise aus Naturstoff-Leitstrukturen synthetisiert. Dieser Beitrag steigt noch im Bereich der Antibiotika (78%) oder der Zytostatika für die Krebsbehandlung (74%). Die hohe Ausbeute an bioaktiven Substanzen bei Naturstoffen erklärt sich aus der Rolle, die diese für ihre Produzenten spielen: Sie wurden für Interaktionen mit Biomolekülen selektioniert. Auch wenn wir in vielen Fällen nicht wissen, welche Aufgaben sie im Leben ihrer Produzenten übernehmen, kann man doch erkennen, dass sie einen Selektionsvorteil haben müssen, denn für ihre Biosynthese wird ein komplexer genetischer Apparat benötigt, der ohne Selektionsdruck sicher nicht erhalten bliebe. Und unter den Strukturvarianten, die von einem Organismus gebildet werden, sind die Hauptkomponenten fast immer die wirksamsten, also für diese Wirkung optimiert. Die genau festgelegten biologischen Effekte erzielen die Naturstoffe durch ihre chemischen Vielfalt und sterische Komplexität, die weit über das hinausgeht, was bei synthetischen Verbindungen normalerweise erreicht werden kann. Um eine spezifische Wirkung zu erzielen, muss sich eine Substanz an einer bestimmten Stelle des Zielmoleküls – praktisch immer einem Protein – in einen Schlüssel-Schloss Mechanismus einfügen. So eine enge Wechselwirkung setzt eine passende Raumstruktur und ein

in engen Grenzen festgelegtes Muster an reaktiven Gruppen bei dem Wirkstoff voraus. Die Zielproteine haben selbst eine definierte Raumstruktur bei begrenzter Flexibilität, und das stellt hohe Anforderungen an die Konfiguration einer selektiv interagierenden Substanz. Dem können jeweils nur sehr wenige Verbindungen gerecht werden.

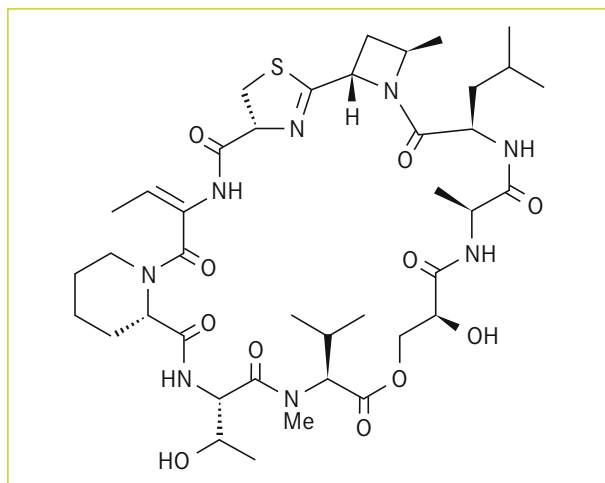


Abb. 1. Die Aufklärung des Wirkmechanismus einer neuen Verbindung ist alles andere als trivial und kann leicht Jahre in Anspruch nehmen. Nach Ergebnissen des NCI haben die Vioprolide, die nur auf eukaryontische Zellen zytotoxisch wirken, einen Wirkmechanismus, der von dem aller anderen Wirkstoffe verschiedenen ist. Ihn aufzuklären gelang bis heute aber nicht.

Das riesige Reservoir an chemisch ganz unterschiedlichen Naturstoffen bietet die besten Voraussetzungen, um eine solche Verbindung zu finden. Erstaunlicherweise, und trotz der eben gemachten Einschränkungen, haben manchmal Verbindungen mit völlig verschiedener chemischer Struktur denselben spezifischen Effekt. So blockieren z.B. Rifampicin und Sorangicin beide die eubakterielle RNA Polymerase, indem sie selektiv an die β -Untereinheit des Enzyms binden. Tatsächlich beobachtet man sogar eine erhebliche Kreuzresistenz zwischen den beiden. Oder Paclitaxel und Epothilon binden beide an β -Tubulin und stabilisieren dadurch die Mikrotubuli des Zellskeletts. In beiden Fällen überlappen die Bindestellen, sind aber nicht völlig identisch. Sobald ein Wirkstoff entdeckt ist, lässt sich auch seine Bindungsstelle am Zielprotein bestimmen und die Wechselwirkung erklären. Die Hoffnung, neue Wirkstoffe auf Basis der Kenntnis des Zielmoleküls *de novo* entwickeln zu können, hat sich allerdings bislang nicht erfüllt. In der Regel sind die Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff und Protein zu subtil und das vergleichsweise riesige Zielmolekül zu komplex, um die erfolversprechenden Regionen zuverlässig identifizieren zu können. Ein weiterer Vorteil bei einem Screening von Naturstoffen ist zudem, dass man dabei auch Wirkorte entdecken kann, an die bislang noch niemand gedacht hat. Das war bei einigen unserer Myxobakteriensubstanzen tatsächlich der Fall, etwa bei Soraphen, Ambruticin und Myxothiazol.

Weshalb wirken Naturstoffe auch auf Proteine, gegen die sie sicher nicht entwickelt wurden? Wirkstoffe aus Bakterien wirken beispielsweise auf Proteine des menschlichen Stoffwechsels und gegen Stoffwechselerkrankungen – obwohl die Produzenten dieser Naturstoffe nie mit den menschlichen Zielmolekülen konfrontiert wurden. Die Erklärung dafür ist, dass die Evolution von Proteinen nicht in erster Linie auf einer Variation der Aminosäuresequenzen beruht. Deren Variationsmöglichkeit hätte in der Tat astronomische Ausmaße. So ergeben sich für ein Protein mittlerer Größe mit 250 Aminosäuren 2×10^{325} mögliche Sequenzen; allerdings hätten die meisten davon energetisch äquivalente Konformationen und wären daher nicht brauchbar für ein Protein mit einer festgelegten Funktion. Statt dessen sind die Zehntausenden verschiedenen Proteine, die sich etwa im menschlichen Körper finden, nur aus schätzungsweise 600 bis 800 verschiedenen Domänen aufgebaut. Diese Domänen sind kompakte, meist globuläre Teilstücke von Proteinen. Sie sind 50 bis 350 Aminosäuren lang und zeigen feststehende Faltungsmuster und stabile Konformationen. Neue Proteine scheinen während der Evolution hauptsächlich durch Austausch und Abänderung von Domänen zu entstehen. Ein Protein kann aus einer einzigen Domäne oder

aus bis zu einem Dutzend verschiedener Domänen bestehen, die dann gewöhnlich unterschiedliche Funktionen im Protein erfüllen. Eine bestimmte Domäne kann in verschiedenen Proteinen mit ganz unterschiedlichen Aufgaben vorkommen. Viele dieser Domänen sind schon seit sehr langer Zeit im Umlauf und tauchen in ganz verschiedenen Organismen auf – bis hinunter zu den Bakterien. So wird verständlich, dass Naturstoffe auf Proteine mit wechselnder Funktion in unterschiedlichen Lebewesen wirken können, wenn diese Proteine aus strukturell ähnlichen Domänen aufgebaut sind.

Die Bedeutung von Naturstoffen bei der Entdeckung neuer Medikamente. Mit den Naturstoffen steht für Screenings eine riesige Anzahl an höchst vielfältigen Strukturen mit feststehender Stereochemie zur Verfügung, die auf Wechselwirkung mit Biomolekülen selektioniert sind. Bislang ist es mit keinem anderen Ansatz möglich, eine solche Fülle an aussichtsreichen chemischen Substanzen und Einsichten zu liefern. Dennoch hat die Industrie nach starkem Interesse an Naturstoffen in den 1970er und 80er Jahren ihre Forschung auf diesem Gebiet mehr und mehr zurückgefahren. Das könnte der Hauptgrund dafür sein, warum die Zahl an neuen chemischen Leitstrukturen von jährlich durchschnittlich 30 auf 17 zurückgegangen ist.

Warum hat nun die Industrie ihr Interesse an Naturstoffen verloren? Dafür gibt es verschiedene Gründe. Einer ist: zu langsam und zu teuer. Naturstoffe kommen in Extrakten üblicherweise in komplexen Gemischen vor, die viele der ausgefeilten modernen Screening-Tests nicht gut vertragen. Auch kann der Nachschub an weiterem Material Schwierigkeiten bereiten. Jedoch haben analytische und präparative Chemie wie auch die Synthese immer komplexerer Moleküle in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte gemacht. Ferner wurden die Substanzmengen, die für Screening und Strukturaufklärung benötigt werden, dramatisch reduziert. Dazu haben moderne Geräte die Identifizierung aktiver Komponenten in Gemischen und den Ausschluss bereits bekannter Substanzen (Deconvolution) erheblich verbessert

Ein zweiter Grund für das nachlassende Interesse an Naturstoffen ist die Konkurrenz um Forschungsgelder. In den letzten Jahrzehnten hat die Industrie große Summen in die Entwicklung von kombinatorischen Synthesen und Substanzbibliotheken investiert. Während dieser Ansatz für den Chemiker den Reiz einer intellektuellen Herausforderung haben mag und ja auch eine große Zahl an Verbindungen geliefert hat, ist das Ergebnis für den Pharmakologen bisher noch sehr dürftig. Das mag sich mit der Zeit ändern,

etwa durch Anwendung einer anspruchsvolleren Chemie und durch Einsatz von Strukturelementen, die durch den Abbau von Naturstoffen gewonnen wurden. Die chemische Abwandlung von natürlichen Leitstrukturen wurde natürlich schon immer praktiziert. So wurden z.B. Ixabepilone (Bristol-Myers Squibb) und ZK-EPO (Schering) aus jeweils 300 semisynthetischen bzw. synthetischen Varianten von Epothilon ausgewählt. Denn die gute Wechselwirkung zwischen Wirkstoff und Zielmolekül ist nur eine Vorbedingung für ein gutes Medikament: Ebenso wichtig sind Nebenwirkungen, die Stabilität im Körper, das Eindringen in Organe und Zellen, die Elimination und andere pharmakokinetische und pharmakodynamische Eigenschaften.

Was nun die Kosten der Naturstoff-Forschung angeht, so ist ein Blick auf die Gesamtaufwendungen für ein neues Medikament aufschlussreich. Die Ausgaben für das neue Anti-HIV Medikament Fuzeon werden auf mehr als 600 Millionen Euro geschätzt - ohne die Kosten der Vermarktung. Davon gingen mehr als 300 Millionen Euro in klinische Studien und nur etwa 6 Millionen in die Basisforschung. Die Kosten für das Auffinden einer guten neuen Leitstruktur sind offensichtlich vernachlässigbar im Vergleich zur Evaluierung und zur Entwicklung eines Produktionsprozesses.

Ein dritter Grund für die Skepsis gegenüber Naturstoffen sind die Beschränkungen beim Sammeln biologischer Materials - einschließlich Bodenproben - in vielen Teilen der Welt, durch die Rio Konvention zum Schutz biologischer Diversität von 1992. Sie macht das Aushandeln von Verträgen mit den verschiedenen Regierungen erforderlich, wobei diese oftmals weit überzogene Forderungen stellen.

Produzenten von Naturstoffen Das wirft die Frage nach den Produzenten von Naturstoffen auf. Derzeit mögen mehr als 150.000 Naturstoffe bekannt sein, wobei allerdings viele davon strukturell miteinander verwandt sind. Die meisten von ihnen wurden bei Pflanzen entdeckt, die ja von jeher als Ausgangsmaterial zur Behandlung menschlicher Krankheiten verwendet wurden. In neuerer Zeit wurden durch die Ethnopharmakologie die Kenntnisse von Naturvölkern über Heilpflanzen genutzt, aber auch systematische Untersuchungen der chemischen Inhaltsstoffe von Pflanzen werden seit Jahrzehnten an vielen Orten durchgeführt. Die Erforschung der Sekundärmetabolite von Mikroorganismen wurde dagegen erst möglich, nachdem die allgemeine Mikrobiologie in den 1930er und 40er Jahren einen ausreichenden Entwicklungsstand erreicht hatte. Davor sind nur sehr wenige Anwendungen mikrobieller Naturstoffe bekannt. Beispiele sind die Ergot-Alkaloide im Mutterkorn-Pilz in der

Geburtsheilkunde, um die Uteruskontraktion anzuregen, oder, ausgefallener, die Verabreichung von Fliegenpilzen (*Amanita muscaria*) an schwedische und finnische Krieger vor der Schlacht, um ihre Aggressivität zu erhöhen (auch um Fliegen in Fliegenfallen zu töten). Heutzutage sind mikrobielle Sekundärstoffe eine sehr wichtige Quelle insbesondere, aber nicht nur, für Wirkstoffe gegen Bakterien und Pilze. Mikrobielle Produkte haben darüber hinaus den Vorzug, dass ihre Gewinnung nicht von Klima, Jahreszeit und Lokalität abhängt, da sie in großen Bioreaktoren mit bis zu 400m³ Inhalt durchgeführt werden kann. In den vergangenen 30 Jahren haben Meerestiere, meist solche, die sich von Plankton ernähren, wie Schwämme, Korallen und Tunikaten, viele interessante Stoffe geliefert. Nicht wenige von diesen sind mit mikrobiellen Substanzen nahe verwandt, und sehr wahrscheinlich stammen die meisten von ihnen von den mikrobiellen Futterorganismen dieser Tiere. Im Gegensatz zu Pflanzen, bei denen viele Familien reich an Sekundärstoffen sind, ist bei Mikroorganismen deren Bildung auf wenige Gruppen beschränkt. Als wir unser Programm 1975 initiierten, waren neben einer kleinen Gruppe von Schimmelpilzen nur drei Gruppen von Bakterien als gute Produzenten von Naturstoffen bekannt: die Actinomyceten, bei weitem die ergiebigste Quelle mit über 10 000 Verbindungen, die Bacillus-Arten und die Pseudomonaden. Da diese Gruppen schon seit 35 Jahren als gute Produzenten bekannt waren, wurde es zunehmend aufwendiger, neue Strukturen bei ihnen zu finden. Wir beschlossen deshalb, zunächst einmal nach einer neuen Quelle für Sekundärstoffe zu suchen. Mit etwas Glück hatten wir damit fast auf Anhieb Erfolg, als wir auf die Myxobakterien stießen. Wir hatten mit diesen Organismen schon früher gearbeitet, so dass wir Erfahrung mit ihrer Isolierung und Kultivierung hatten und so, in Zusammenarbeit mit der Abteilung Naturstoffchemie, ohne großen Zeitverlust ihre Produkte isolieren konnten - was nicht zuletzt an den idealen Arbeitsbedingungen am Zentrum lag.

Deltaproteobacteria Myxobakterien sind Eubakterien, gehören in die Klasse der Deltaproteobacteria, leben im Boden und umfassen etwa 50 Arten. Ihre stäbchenförmigen Zellen bewegen sich gleitend-kriechend und bilden leicht schleimige, sich über die Kulturplatte ausbreitende zusammenhängende Schwarmkolonien. Myxobakterien sind soziale Organismen mit hochentwickelten Kommunikationssystemen. Unter ungünstigen Umweltbedingungen wandern Hunderttausende von Zellen zusammen, häufen sich auf und bilden Fruchtkörper. Das können einfach schleimige köpfchenförmige Massen sein (*Myxococcus*), aber auch kleine Bäumchen mit Stielen, die an ihren Enden Sporangien



Abb.2. Für unser Screening mußten ständig neue Stämme isoliert werden. Am Ende hatten wir 7000 Stämme von Myxobakterien beisammen, die größte Sammlung, die jemals zusammengebracht und weltweit zugänglich gemacht wurde. Sie wurde jetzt an die Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) abgegeben. Nebenbei entdeckten wir 9 neue Arten, 5 neue Gattungen und 2 neue Familien, der größte Zuwachs in der Myxobakterientaxonomie in den letzten 80 Jahren. Beispiele dafür sind, von links nach rechts, (gezeigt werden Fruchtkörper) a) *Byssovorax cruenta*, ein Zellulosezersetzer; b) *Nannocystis exedens* ssp. *pulla*; und c) *Chondromyces robustus*. Fotos: Reichenbach

tragen (z.B. bei *Stigmatella* und *Chondromyces*). Die meisten Myxobakterienfruchtkörper sind 0,1 bis 1 mm groß und oft mit bloßem Auge zu sehen. Im Innern der reifenden Fruchtkörper verwandeln sich die vegetativen Zellen in trockenresistente Myxosporen. In diesem Zustand kann das Bakterium 5 bis 15 Jahre getrocknet bei Zimmertemperatur überleben. Myxobakterien haben die größten von Bakterien bekannten Genome. Das Genom eines Stamms von *Sorangium cellulosum*, eines Zellulosezsetzers, ist 13,04 Mbp groß, und damit rund dreimal so groß wie das *E. coli* Genom.

Warum bilden Myxobakterien so viele Sekundärstoffe?

Darüber läßt sich nur spekulieren. Einer der Gründe könnte sein, dass Myxobaktérienschwärme in ihrem Habitat ortsgelunden und deshalb gezwungen sind, ihren Platz zu verteidigen. Auch könnten sich Myxobakterien durch Abtöten und Abbau von anderen Organismen wichtige Nährstoffe verschaffen. Ferner leben die meisten Myxobakterien davon, andere Bakterien zu zerlegen. Sie sind ständig mit Fremd-DNA konfrontiert und könnten so Stücke davon aufsam-meln, die für die Synthese von Sekundärstoffen brauchbar sind. Tatsächlich scheint das Epothilon Gencluster einen Abschnitt zu enthalten, der von einem anderen Organismus stammt. Die Analyse des Metagenoms im Boden legt nahe, dass dort noch viele Tausende unbeschriebener Bakteri-erarten leben, so dass im Habitat der Myxobakterien ein gewaltiger Vorrat an Genen vorliegen dürfte. Übrigens sind nicht alle Myxobakterien gleichermaßen reich an Sekun-därstoffen. Als gute Produzenten fanden wir die Gattungen *Sorangium*, *Polyangium*, *Chondromyces*, *Myxococcus*, *Cysto-bacter*, *Archangium* und *Stigmatella*. Auch die Herkunft der Stämme könnte eine gewisse Rolle spielen. Stämme, die aus Proben aus kalten und gemäßigten Klimaten isoliert wur-den, sind oft solchen aus wärmeren Gegenden unterlegen. Viele Stämme synthetisieren gleichzeitig mehrere – nach unserer Erfahrung bis zu sieben – chemisch verschiedene Verbindungen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen.

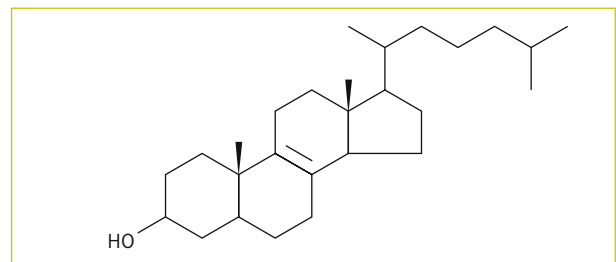


Abb. 3. Einige Myxobakterien synthetisieren auch sehr un-gewöhnliche Primärmetabolite, z.B. Steroide. Steroide sind zwar typische Bestandteile eukaryontischer Zellen, doch kennt man nur ein einziges anderes Bakterium, das diese Substanzen synthetisiert.

Verbindungen aus Myxobakterien Nur zwei der Substanzen waren bereits von anderen Bakterien bekannt: Althiomycin – von einem Streptomyceten – und Pyrrolnitrin – von Pseudomonaden. Weitere sind strukturell verwandt mit bekannten bakteriellen Metaboliten – Argyrin, Tartrolon, Thiangazol, Ratjadon, Saframycin – oder mit Substanzen aus Meerestieren – Chondramid, Apicularen, Saframycin. Letztere sind besonders bemerkenswert, da bisher nur sehr wenige Myxobakterien im marinen Lebensraum gefunden wurden. Viele Myxobaktériensubstanzen sind jedoch völlig neu. Meist handelt es sich um Polyketide oder Peptide, die beide an Multienzymkomplexen synthetisiert werden. Die Peptide enthalten häufig sehr ungewöhnliche Aminosäuren. In einigen Fällen – Myxovirescin, Epothilon, Tubulysin – findet man in den Polyketidsynthesen Polypeptidsynthese-Module. Einige Strukturen wirken ziemlich ausgefallen, etwa Thiangazol mit drei Thiazolringen und einem Oxazol hintereinander, ähnlich dem Tantazol aus einem Cyanobakterium, oder Tartrolon B, einer von nur vier bekannten Bor-haltigen Naturstoffen.

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung ist der Wirkmechanismus einer Verbindung von entscheidender Bedeutung. Viele unserer Mykobakteriensubstanzen zeigen biologische Aktivität, was mit unseren Screening-Methoden zusammenhängt. Denn anfangs benutzten wir ausschließlich Kulturen von Bakterien, Hefen, Schimmelpilzen und tierischer Zellen zur Substanzfindung. Später, nachdem hochentwickelte HPLC Apparaturen zugänglich wurden, analysierten wir dann auch die Kulturextrakte direkt und entdeckten so Metabolite, die in unseren biologischen Testsystemen keine Wirkung zeigten. Dieses Vorgehen ist allerdings nur dann sinnvoll, wenn die neuen Substanzen anschließend in die ausgefeilten und hochspezialisierten Screening-Tests eingeschleust werden, wie sie z.B. die Pharmaindustrie verwendet.

Vielleicht unsere aufregendste Entdeckung sind fünf Mykobakteriensubstanzen, die auf das Zytoskelett eukaryontischer Zellen wirken. Das ist ein äußerst seltener Wirkmechanismus bei mikrobiellen Sekundärstoffen. Rhizopodin hat eine dramatische Wirkung auf das Aussehen der Zellen: Tierische Zellen, z.B. Mausfibroblasten, werden größer, runden sich ab und bilden lange, verzweigte Ausläufer. Der Grund ist ein Zerfall des fibrillären F-Aktins in der Zelle, das für die Gestalt, Bewegung und die Trennung der Tochterzellen mittels eines kontraktiven Aktinrings bei der Zellteilung verantwortlich ist. Der Rhizopodin-Effekt ist irreversibel: Die Zellen werden vielkernig, fahren fort zu wachsen und bleiben mehrere Wochen lang am Leben. Die Chondramide haben die entgegengesetzte Wirkung: Sie fördern die Aktin-Polymerisation und stabilisieren das F-Aktin, was ebenfalls große, vielkernige Zellen entstehen lässt. Der Chondramid-Effekt gleicht dem von Phalloidin, einem der Toxine des Grünen Knollenblätterpilzes (*Amanita phalloides*). Chondramid verhindert sogar die Bindung von Phalloidin an das F-Aktin, besetzt also dieselbe Bindestelle.

Als potentielle Antitumorsubstanzen sind Verbindungen, die auf das Tubulinskelett wirken, erfolgversprechend, denn sie blockieren die Mitose und lösen damit eine Apoptose aus. Von diesen fanden wir zwei Typen. Disorazol bringt die Mikrotubuli in der Zelle bei einer Dosis unter 100 pM zum Verschwinden und führt auch *in vitro* in μM Konzentration zur Depolymerisation der Mikrotubuli. Eine ähnliche Wirkung hat das Tubulysin, entfernt verwandt mit Dolastatin 10, das ursprünglich aus einem Seehasen (*Dolabella auricularia*) isoliert wurde, tatsächlich aber von einem marinen Cyanobakterium (*Symploca spec.*) produziert wird, das der Schnecke als Futter dient. Untersuchungen zum Wirkmechanismus von Tubulysin zeigten sehr ähnliche morphologische Veränderungen in den Zellen, wie sie für

Dolastatin 10 beschrieben wurden. Die Biosynthese von Tubulysin durch *Pyxidicoccus fallax* – ehemals *Angiococcus disciformis* – erfolgt durch ein Hybridenzym aus Nicht-ribosomaler Peptidsynthetase und Polyketidsynthase, benötigt aber zusätzliche modifizierende Enzyme, die nicht im Tubulysin-Gencluster kodiert sind.

Epothilon Der bislang wichtigste Beitrag der Mykobakterien ist das Epothilon, das, ähnlich wie Paclitaxel, die Tubulin-Polymerisation fördert und die Mikrotubuli stabilisiert. Der Wirkstoff hält den Zellzyklus in der G2/M Phase an, bevor bei der Kernteilung die Chromosomen aufgeteilt werden, und löst eine Apoptose aus. Er dürfte aber weniger toxisch als die oben erwähnten tubulinaktiven Substanzen sein, weil er die Mikrotubuli in sich nicht teilenden Zellen bestehen lässt, wenn er auch ihre Dynamik aufhebt. Denn Mikrotubuli spielen bei intrazellulären Transportvorgängen eine zentrale Rolle. Epothilon ist besonders dadurch wertvoll, dass es von zellulären Exportmechanismen nicht erfasst wird und auch auf bestimmte Mutationen im β -Tubulin nicht reagiert, die Resistenz gegen Paclitaxel bewirken. Deshalb wirkt es selbst noch auf Krebszellen, die vielfachresistent sind, so genannte MDR Zellen. Es könnte also noch Patienten retten, die auf andere zytotoxische Substanzen nicht mehr ansprechen. Die Entdeckung des Wirkmechanismus von Epothilon 1995 löste in Forschungsinstituten und in der Pharmaindustrie weltweit enorme Aktivitäten aus. Seitdem erschienen mehr als 500 Artikel über (Total-)Synthesen, Strukturanaloga, Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, biochemische Reaktionen, Biosynthese, Genetik sowie präklinische und klinische Studien. Mehrere klinische Kandidaten wurden von Bristol-Myers Squibb, unserem Partner (Ixabepilone), Novartis (Patupilone und Methylthioepothilon), Schering (ZK-EPO oder Sagopilone) und Kosan/Hoffmann-La Roche (KOS-1584) eingeführt.

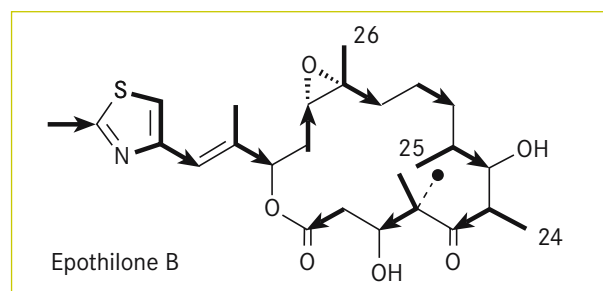


Abb. 4. Epothilon B entsteht biosynthetisch aus Acetat, Propionat, Cystein und einer einzelnen Methylgruppe, wie durch die Pfeile angezeigt.

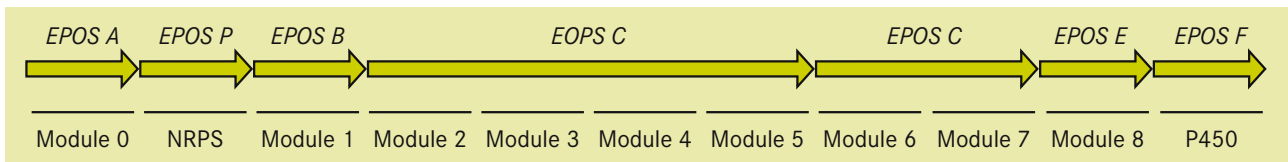


Abb. 5. Wie für mikrobielle Sekundärmetabolite typisch, sind die Gene für die Epothilon-Synthese in einem Cluster aus 56 000 Basenpaaren vereint (voll sequenziert und patentiert bei Novartis: Molnar et al., *ChemBiol* 7: 97, 2000). Man beachte, daß die Polyketidsynthase ein Modul mit einer nicht-ribosomalen Peptidsynthetase, EPOS P, enthält.

Ixabepilone hat inzwischen Phase III durchlaufen und wahrscheinlich wird dafür in naher Zukunft bei der FDA die Zulassung beantragt.

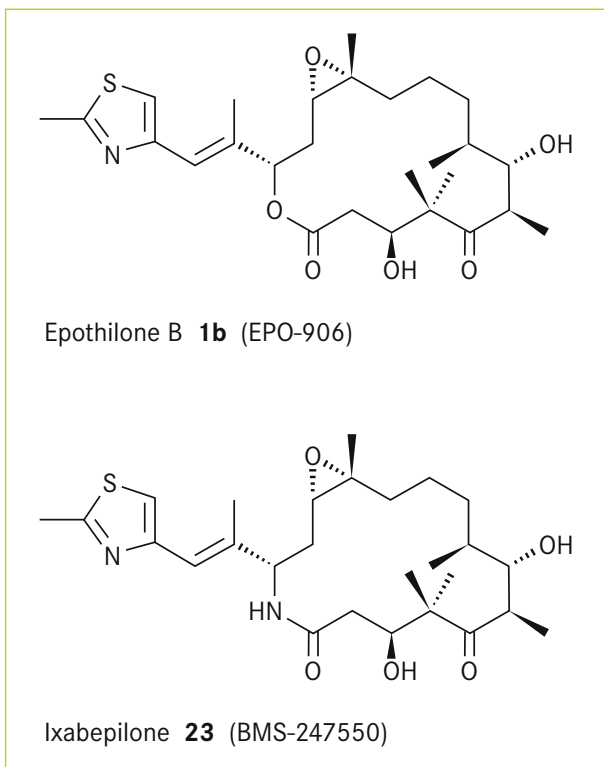


Fig. 6. In Ixabepilone, dem klinischen Kandidaten von Bristol-Myers Squibb, ist die Lacton-Gruppe (der Sauerstoff im Ring) durch ein Lactam ersetzt, um die Substanz besser vor dem Angriff von Esterasen im menschlichen Körper zu schützen.

Was lässt sich nun aus dieser Geschichte lernen? Wenn man sich darauf einlässt, ein neues Forschungsgebiet zu erschließen, ist es naiv, rasche Erfolge zu erwarten. Neue Methoden sind zu entwickeln, was zeitaufwendig und wenig lohnend ist, denn darüber kann man nicht viel publizieren. Man macht unvermeidlich Fehler, übersieht interessante Anwendungsmöglichkeiten, findet nicht zur rechten Zeit passende Partner, muss kritische Entscheidungsträger überzeugen. Doch mit Geduld, Ausdauer und etwas Glück rechtfertigen die Ergebnisse am Ende die Anstrengung und veranlassen vielleicht sogar andere Wissenschaftler, das Forschungsprojekt weiterzuführen.



Prof. Reichenbach Geboren in Karlsruhe 1936. Studierte Biologie, Chemie und Geographie an den Universitäten in Karlsruhe, Kiel, München und Freiburg. Staatsexamen (Freiburg 1961) und Promotion (Karlsruhe 1965). Post-doctoral Fellow 1966–1968 (Minneapolis, Morgantown). Wissenschaftlicher Assistent 1968–1975 (U. Freiburg: Prof. Drews), Habilitation 1971 (Allgemeine Mikrobiologie, U. Freiburg). Seit 1975 an der GBF in Braunschweig als Leiter der Abteilungen Mikrobiologie (1975–1984) und Biologie der Naturstoffe (seit 1994). Apl. Professor an der Technischen Universität Braunschweig (1976). Seit 2001 im Ruhestand.

FOKUS

BERICHTE AUS DER FORSCHUNG

SONDERBEITRÄGE



Die Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Matthias Weide von der Arbeitsgruppe Prozesstechnik während der Vorbereitungen zu einer Fermentation | Peggy Riese bei der Vorbereitung einer PCR Reaktion | Elena Reinhard bei der Vorbereitung einer ELISA Platte mittels Pipettierroboter. | Fotos: HZI, Bierstedt



62	Infektion und Immunität
98	Genom- und Gesundheitsforschung
101	Gene, Umwelt und Gesundheit
105	Technologische Plattformen
114	Veröffentlichungen



PROGRAMM „INFEKTION UND IMMUNITÄT“

PROGRAMMSPRECHER | Prof. Dr. Jürgen Wehland | Abteilung für Zellbiologie | jwe@helmholtz-hzi.de

Weltweit rufen Infektionserreger etwa ein Drittel aller krankheitsbedingten Todesfälle beim Menschen hervor. Zwar haben verbesserte Hygiene und die Verfügbarkeit von Antibiotika und Impfstoffen in den letzten Dekaden eine kontinuierliche Verringerung von Infektionen bewirkt, aber die Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika führt dazu, dass viele bakterielle Infektionserreger mit Medikamenten nicht mehr zu bekämpfen sind. Weltweite Reisetätigkeit und globaler Warenaustausch haben zum epidemieartigen Ausbruch bisher unbekannter Krankheiten wie AIDS oder vermeintlich ausgerotteter Infektionen wie der Tuberkulose geführt.

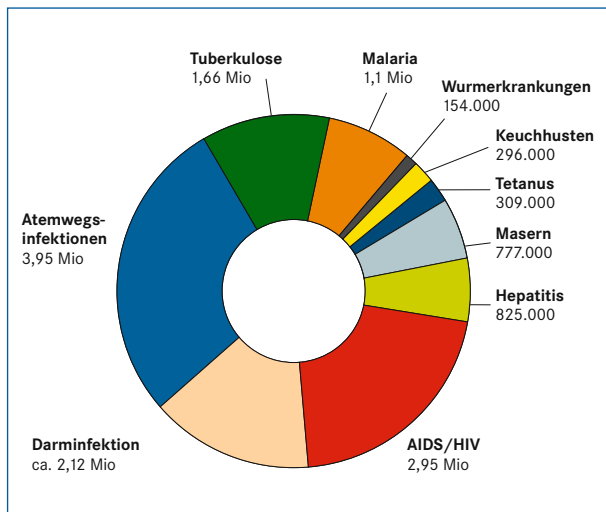
In den westlichen Industriegesellschaften bekommen Infektionskrankheiten gerade durch die moderne Maximalmedizin eine neue unerfreuliche Bedeutung: Bei Transplantationen oder auf Intensivstationen werden immunsupprimierte Patienten behandelt, die besonders anfällig gegen opportunistische Erreger sind und intensiver infektionsmedizinischer Behandlung bedürfen. Darüber hinaus kommt es trotz eines modernen Antibiotikamanagements in Kliniken immer wieder zur Bildung neuer Resistenzen. Sie verschlechtern sowohl bei akuten als auch bei chronischen oder persistenten Infektionen die Heilungschancen erheblich. Diese Situation erfordert dringend, dass neue Strategien zur Diagnose, Prävention und Therapie von Infektionskrankheiten entwickelt werden. Dafür ist es unbedingt notwendig, dass die Grundlagenforschung die Mechanismen erforscht, die während einer Infektion zwischen Pathogen und Wirt eine Rolle spielen, um auf dieser Basis neue Strategien für die Diagnose, Prophylaxe und Therapie zu entwickeln. Insbesondere für die Entwicklung neuer Impfstoffe muss untersucht werden, wie das Immunsystem des Wirtes auf das Eindringen des Krankheitserregers reagiert und wie ein Immunschutz entsteht. Nicht zuletzt muss aufgeklärt werden, welchen Einfluss Umweltfaktoren, wie Ernährung und Pathogenreservoirs, auf den Verlauf einer Infektion und ihre Bekämpfung haben.

Opportunistische Infektionen stellen nicht nur für immungeschwächte Personen sondern auch für eine alternde Bevölkerung ein erhebliches Problem dar. Trotz dieser mehr als alarmierenden Entwicklungen sind die Möglichkeiten für die Etablierung neuer Diagnostika und effektiver therapeutischer Strategien besser als je zuvor. Die systematische Genomanalyse kann Informationen über potenzielle Wirkstoffziele bezüglich der Entwicklung neuer antimikrobieller Wirkstoffe liefern. Ein detaillierteres Verständnis der Funktionen individueller Gene – insbesondere die Interaktionen zwischen mikrobiellen und Wirtszellgenen – bildet die Grundlage für die gezielte Entwicklung chemotherapeutischer Ansätze. Die funktionelle Genomanalyse eröffnet auch die Möglichkeit, molekulare Mechanismen von Immunreaktionen und die genetische Suszeptibilität bzw. Resistenz des Wirtes gegenüber Infektionskrankheiten besser zu verstehen. Unsere Kenntnis der molekularen und zellulären Bestandteile des Immunsystems ermöglicht es zudem, Immuntherapien einzusetzen, die weit über die Prophylaxe hinausgehen und therapeutische Interventionen einschließen.

Unser ständig erweitertes Verständnis des Immunsystems geht weit über dessen protektive Funktionen bei Infektionskrankheiten hinaus und eröffnet neue Möglichkeiten der klinischen Intervention, die über die verbesserte Prophylaxe hinaus auch neue Therapien ermöglichen wird. Das Immunsystem schützt den Wirtsorganismus nicht nur gegen Mikroorganismen, sondern ist auch darauf spezialisiert, veränderte zelluläre Antigene zu detektieren. Diese interne Überwachung ermöglicht die Entdeckung und Beseitigung schädlicher Veränderungen in Geweben und Organen. Wir verstehen hingegen kaum, wie bestimmte Mikroorganismen das Immunsystem unterwandern oder umgehen und dann latente oder chronische Infektionen verursachen.

Im Forschungsprogramm „Infektion und Immunität“ des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung liegt der Schwerpunkt der Grundlagenforschung in der Aufklärung von Infektions- und Immunitätsmechanismen. Gerade die Schnittstelle dieser Arbeitsgebiete stellt ein sehr großes Potenzial für die Entwicklung neuer Wirkstoffe und Strategien für die Prävention und Behandlung von Infektionskrankheiten dar.

Ziel des Programms ist es, die elementaren Mechanismen der Entstehung und Entwicklung von Infektionskrankheiten zu verstehen. Dazu werden nicht nur Modell-Mikroorganismen und ihr Pathogenitätsverhalten untersucht, sondern auch die Immunantwort des Wirts detailliert analysiert. Die individuellen molekularen und zellulären Schritte im Verlauf eines Infektionsprozesses sollen aufgeklärt werden, ebenso wie die Mechanismen, die bestimmte Mikroorganismen entwickeln, um Krankheiten zu verursachen. Ferner wollen wir detaillierte Einblicke in die grundlegenden Abwehrmechanismen gewinnen, die es dem Wirtsorganismus ermöglichen, Infektionen zu kontrollieren und zu eliminieren. Hierauf aufbauend werden neue Strategien und Mittel entwickelt um Infektionskrankheiten zu bekämpfen und zu behandeln.



Infektionskrankheiten weltweit: Todesfälle pro Jahr

Quelle: PathoGenoMik Report 2003

Die Themenbereiche des Forschungsprogramms

- Mikroorganismen
- Pathogenese
- Immunbiologie
- Prävention und Therapie



Mikroorganismen

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | Bereich Mikrobiologie | gsc@helmholtz-hzi.de

Mikrobielle Infektionen stellen nach wie vor eine ernsthafte Gefahr für die menschliche Gesundheit dar. Obwohl eine große Auswahl an Antiinfektiva zur Verfügung steht, sind die Erkrankungs- und Sterblichkeitsraten durch Infektionen weiterhin auf hohem Niveau – sowohl in Entwicklungsländern als auch in den Industrienationen. Voraussetzung für die Entwicklung neuer Ansätze zur Bekämpfung von Infektionen ist eine vollständige Einsicht in die Prozesse, durch die pathogene Mikroorganismen Krankheiten verursachen sowie die Identifizierung der daran beteiligten mikrobiellen Faktoren. Die Aufgabe der Forschungsprojekte dieses Themenbereichs ist daher die Untersuchung der Biologie solcher Erreger bis zum molekularen Niveau mit dem Ziel, Virulenzfaktoren zu identifizieren. Diese Virulenzfaktoren werden dann strukturell und funktionell charakterisiert. Dies beinhaltet auch die Untersuchung des Einflusses auf zelluläre Netzwerke und ihre Rolle in der mikrobiellen Kommunikation.

Es werden verschiedene genetische, biochemische und zellbiologische Ansätze verfolgt, um Einblick in die Rolle wichtiger Virulenzfaktoren verschiedener pathogener Mikroorganismen zu erhalten. Untersucht werden Pathogene mit klarer klinischer Relevanz, wie Streptokokken, Pneumokokken, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia* und Influenza-Virus. Die ausgewählten Erreger decken ein breites Spektrum an biologischen Eigenschaften ab. Gruppe A-, Gruppe G- und Gruppe C-Streptokokken verursachen eine Reihe von Erkrankungen in Menschen. Darunter sind lebensbedrohliche invasive Infektionen und Folgeerkrankungen wie rheumatisches Fieber. Pneumokokken haben eine herausragende Bedeutung als Verursacher schwerer Lungenentzündungen und Hirnhautentzündungen. Oralstreptokokken sind nicht nur Verursacher von Karies und Parodontose, sondern haben klinische Relevanz durch ihr erhebliches Potenzial, Sepsis und Endokarditis zu verursachen. *Pseudomonas aeruginosa* ist bei Mukoviszidose-Patienten der dominierende Erreger in chronischen Lungeninfektionen.

Eine oft anzutreffende Überlebensstrategie pathogener Mikroorganismen ist Diversität unter den Stämmen einer Spezies. Dieses Thema beinhaltet deshalb Sequenzanalysen und anschließende vergleichende Analysen, um herauszufinden, warum manche Stämme ein höheres Pathogenitätspotenzial haben als andere eng verwandte Stämme. Einsicht in die genetischen Pfade, beispielsweise in Verbindung mit Stoffwechselwegen, soll helfen, Zielmoleküle für neu zu entwickelnde antimikrobielle Medikamente zu identifizieren.

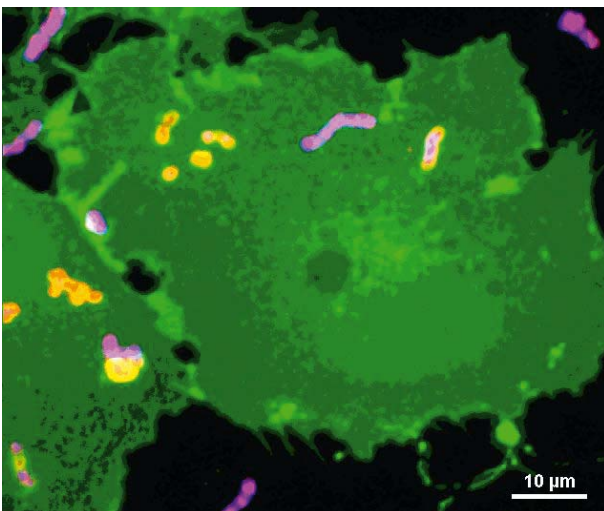
Um diese Ziele zu erreichen, wurden die folgenden vier Projekte aufgestellt, die aufgrund der vielfältigen hier vorhandenen Expertise synergistisch zusammenwirken:

Identifizierung und Charakterisierung von Virulenzfaktoren aus Gruppe A-, Gruppe G- und Gruppe C-Streptokokken, Oralstreptokokken und Pneumokokken. Der Schwerpunkt liegt auf Faktoren, die für verschiedene Manifestationen verantwortlich sind. Zur epidemiologischen Untersuchung von Streptokokkeninfektionen werden speziell entwickelte DNA-Microarrays eingesetzt. Funktionelle Untersuchungen der identifizierten Faktoren schließen Interaktionen mit Wirtszellen und der extrazellulären Matrix ein, um Zielmoleküle für die therapeutische und prophylaktische Intervention zu identifizieren.

Bislang zeigen die zur Verfügung stehenden Medikamente zur Therapie von Lungeninfektionen mit *P. aeruginosa* nur unzureichende Wirkung, gemindert durch die Bildung mikrobieller Biofilme. Molekulare Mechanismen der Biofilmbildung sowie die Evolutions- und Adaptationsmechanismen von *P. aeruginosa* werden in einem Projekt untersucht. Das erworbene Wissen wird der Entwicklung neuer antimikrobieller Behandlungen dienen.

Zell-Zell-Kommunikation (Quorum Sensing) ist ein wichtiger pathogener Prozess, der an der Entstehung von Biofilmen beteiligt ist. Das Verstehen der intermikrobiellen Kommunikation und der Eingriff in diese, eröffnet neue Möglichkeiten, die Bildung von Biofilmen zu behindern. Über solche Mechanismen könnten bestehende Therapien verbessert oder gar neue entwickelt werden. In diesem Projekt werden die Mechanismen der Biofilmbildung in *Streptococcus mutans* untersucht und die beteiligten Faktoren identifiziert. Die Suche nach Inhibitoren der Biofilmbildung ist somit ein wichtiges Ziel des Projekts.

Mikroorganismen exprimieren eine ganze Reihe von Virulenzfaktoren, die es ihnen ermöglichen, eine Infektion zu etablieren und der Immunantwort des Wirtes zu entgehen. Um zu verstehen, wie diese Faktoren mit Prozessen der Wirtszelle interferieren, wird ein strukturellbiologischer Ansatz verfolgt. In den letzten beiden Jahren lag der Fokus auf dem Typ-III Sekretionssystem bestimmter Gram-negativer Pathogene und den Virulenzfaktoren des Influenza-Virus. Diese Analysen sollen zum Verständnis der molekularen Pathogenitätsmechanismen beitragen und die Grundlagen für den Entwurf neuer Kontrollstrategien bilden.



Invasion der Streptokokken in Endothelzellen. Endothelzellen wurden mit GFP-fusioniertem Rac1 (grün) transfiziert und anschließend mit Streptococcus pyogenes infiziert. Nach einer Stunde wurden intrazelluläre und extrazelluläre Streptokokken differentiell angefärbt. Streptokokken die sich außerhalb der Zelle befinden erscheinen Magenta, während die intrazellulären Bakterien in rotgelb dargestellt sind. Foto: HZI, Rohde



01.1 Strukturanalyse von Virulenzfaktoren

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dirk Heinz | Bereich Strukturbiologie | dih@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Isa Astner | Karsten Bruns | Carina Büttner | Dr. Susanne Freese | Dr. Joop van den Heuvel | Dr. Hartmut Niemann | Dr. Alok Sharma | Dr. Wolf-Dieter Schubert | Jörg Schulze | Dr. Victor Wray

Bakterien, Viren und andere mikrobielle Krankheitserreger infizieren den Wirt mit einem überschaubaren Arsenal verschiedener Virulenzfaktoren, die gezielt in Wirtszellprozesse eingreifen. Dadurch ermöglichen sie etwa die Ausbreitung des Erregers im Wirt oder entgehen der Immunantwort. Ziel dieses Projekts ist die Strukturaufklärung mikrobieller Virulenzproteine unter Verwendung von Röntgenstrukturanalyse oder Kernresonanzspektroskopie (NMR), um die vielfältigen Mechanismen der Pathogenese besser zu verstehen. Daraus sollen neue Strategien zur Bekämpfung der Erreger entwickelt werden. Ein weiteres Projekt befasst sich mit der Strukturanalyse wichtiger Stoffwechsellzyme.

Typ III-Sekretionssysteme: Infektion über die Nadel

Gram-negative pathogene Bakterien, wie z. B. die Pesterreger verfügen über ein sogenanntes Typ III Sekretionssystem

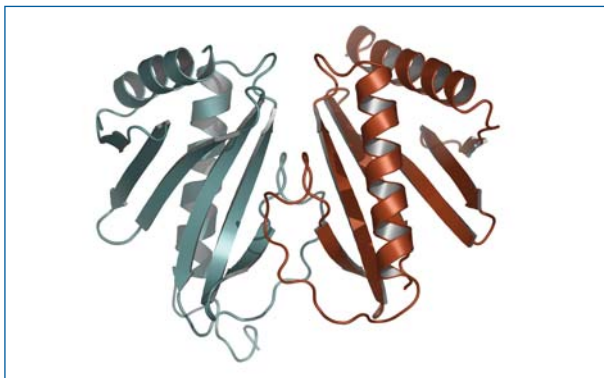


Abb. 1. Die Struktur von *SycT*, dem Chaperon der *Yersinia* Protease *YopT*



Abb. 2. Die erste Kristallstruktur von 5-Aminolävulinat-Synthase

(T3SS). Darüber wird eine bestimmte Klasse von Virulenzfaktoren, die sogenannten Typ III Effektoren, mit einer feinen Nadel in die Wirtszelle injiziert. Damit die Effektoren in die Wirtszelle gelangen können, müssen sie in der Bakterienzelle über sogenannte Chaperone in einer translokationskompetenten Konformation gehalten werden. Die Struktur von *SycT* (Abb. 1), des Chaperons für die *Yersinia* Protease *YopT* legt nahe, dass *SycT* einen 2:1-Komplex mit *YopT* bildet und diesen über zwei hydrophobe Bereiche in einer teilgefalteten Konformation fixiert. Das human-pathogene Bakterium EPEC transloziert ebenfalls über ein T3SS den Membranrezeptor Tir, der die Anheftung der Bakterien an Darmzellen ermöglicht. Tir wird in seiner phosphorylierten Form spezifisch vom Wirtspolypeptid Nck erkannt, wodurch weitere für die Infektion wichtige Prozesse in Gang gesetzt werden. Die Struktur der SH2-Domäne von Nck im Komplex mit einem Tir-Phosphopeptid zeigt erstmals diese Wirt-Pathogen-Interaktion bei atomarer Auflösung.

Virulenzfaktoren des Grippevirus Das Influenza A Virus (IAV) ist einer der verbreitetsten Erreger mit dem Potenzial, katastrophale Pandemien auszulösen – bei Mensch und Tier. Das wird aus den letzten drei Pandemien ersichtlich. Der schwerste Ausbruch war die „Spanische Grippe“ (1918-19), die viele Millionen Todesfälle weltweit zur Folge hatte.

Von dem neuen Aminosäure-Protein PB1-F2, erstmals erwähnt 2001, ist mittlerweile bekannt, dass es durch das Zerreißen von Mitochondrien zur Tödlichkeit von IAV beiträgt. Kürzlich haben wir die erste Struktur und die ungewöhnliche Oligomerisierung dieses preapoptotischen Proteins vorgestellt und ein Modell für die mitochondriale Interaktion vorgeschlagen. Unsere Erkenntnis soll helfen, die grundlegenden molekularen Mechanismen der Pathogenität hochinfektöser IAV-Stämme zu verstehen.

ALAS, ein Schlüsselenzym der Hämbiosynthese Tetrapyrrole wie das Häm sind biologisch bedeutende Farbstoffe, die als Kofaktoren bei zahlreichen Enzymen und Proteinen für das Leben auf dieser Erde eine fundamental wichtige Rolle spielen. Die ringförmigen Moleküle werden in der Natur aus kleineren Bausteinen gebildet. Der erste Schritt wird durch die 5-Aminolävulinat-Synthase (ALAS) katalysiert, deren Fehlfunktion beim Menschen zu schweren Anämien führen kann. Die erste Kristallstruktur (Abb. 2) einer ALAS erklärt nicht nur den katalytischen Mechanismus des Enzyms bei atomarer Auflösung, sondern zeigt ebenfalls die strukturellen Konsequenzen von Mutationen im Enzym, die zu menschlichen Erkrankungen, wie z. B. Anämien und Porphyrien führen können.



01.2 Pathogenese von chronischen *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen

PROJEKTLEITERIN | Priv.-Doz. Dr. Susanne Häußler | Helmholtz Hochschul-Nachwuchsgruppe Chronische *Pseudomonas* Infektionen | sus@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Florian Bredenbruch | Andree Meissner | Caroline Zaoui | Yusuf Nalca | Vanessa Jensen | Mathias Müsken

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 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.

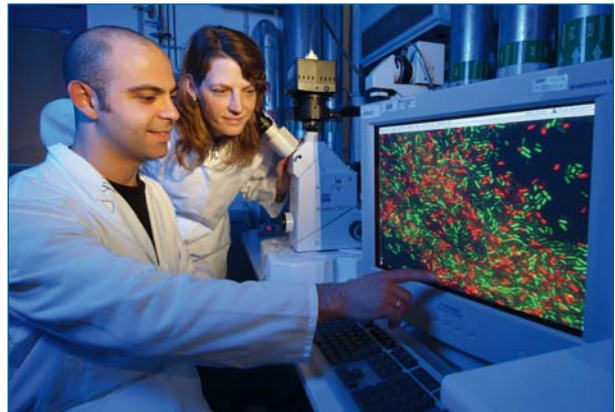
Diversität erleichtert das Überleben *Pseudomonas aeruginosa* ist der dominante pathogene Erreger der chronischen Infektion der Lunge von Mukoviszidose Patienten. Obwohl die meisten Patienten mit nur einem *P. aeruginosa* Klon kolonisiert sind finden wir verschiedene bakterielle Morphotypen in der Lunge.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

Wir haben zuvor gezeigt, dass eine adhärenzte Untergruppe von sogenannten "Small Colony Variants" (SCVs) in der Lunge von Mukoviszidose Patienten selektioniert wird. Ein Umschalten zu einem auto-aggregativen biofilmbildenden SCV Phänotyp scheint dabei mit der Expression des "Chaperone Usher Pathway" (*cupA*) Genklusters assoziiert zu sein. *CupA* kodiert für bakterielle Fimbrien und wird über eine Modulation eines bakteriellen Signalmoleküls, dem zyklischen di-GMP (*c-di-GMP*), reguliert. Künftig werden wir uns auf die Identifikation von *cupA* kodierten Fimbrien in klinischen Isolaten und Fimbrien-Antigenen in explantierten Lungen konzentrieren.

Wir interessieren uns weiterhin für die Identifikation von Mutationen, die der Diversität *P. aeruginosa* in Biofilmen zugrunde liegen. Eine neue Mikroarray-Hybridisierungsmethode lässt die Identifizierung von Mutationen in *Helicobacter pylori* zu. In Zusammenarbeit mit Affymetrix haben wir einen *P. aeruginosa* Array hergestellt, der das gesamte Genom abdeckt. Damit wollen wir Mutationen identifizieren, die in *P. aeruginosa* unter *in vitro* Biofilm-Wachstumsbedingungen und *in vivo* im Laufe einer chronischen Infektion

entstehen. Das Wissen um die Genotypen, die zu unterschiedlichen Infektionsstadien selektioniert werden, sollte uns helfen, neue erfolgsversprechende Therapiestrategien zu entwickeln.

Kooperation durch Kommunikation *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 essentiell für die Etablierung von *P. aeruginosa* Biofilmen. Wir haben kürzlich den PQS Biosyntheseweg analysiert und konnten zeigen, dass PQS eine wichtige Rolle bei der bakteriellen Eisen-Homöostase spielt. Die Untersuchung der Verbindungen der interbakteriellen Kommunikation und des PQS Regulators sowie des Einflusses von Umweltfaktoren auf diese wird eine interessante zukünftige Herausforderung sein.



Yusuf Nalca und Dr. Susanne Häußler diskutieren über die Darstellung von *Pseudomonas aeruginosa* Biofilmen im Fluoreszenzmikroskop. Foto: HZI, Bierstedt



01.3 Virulenzfaktoren der Streptokokken und Pneumokokken

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. G. Singh Chhatwal | **Abteilung für Mikrobielle Pathogenität und Impfstoffforschung** | gsc@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Vanessa Barroso | Dr. Katrin Dinkla | Dr. Rikki Graham | Andreas Itzek | Simran Jeet Kaur | Dr. Dave McMillan | Andreas Nerlich | Dr. Patric Nitsche-Schmitz | Silvana Reißmann | Dr. Manfred Rohde | Dr. Susanne Talay

Gruppe A Streptokokken und Pneumokokken sind wichtige Krankheitserreger beim Menschen und verursachen viele verschiedene Krankheiten und Nachfolgeerkrankungen. Auch Gruppe C und G Streptokokken gewinnen als humanpathogene Bakterien an Bedeutung und werden mit der Entstehung des rheumatischen Fiebers in Verbindung gebracht. Trotz verschiedener Antibiotika bleibt die Mortalität und Morbidität durch Streptokokken sehr hoch. Die Identifizierung, molekulare Charakterisierung und Struktur-Funktions-Analyse der Streptokokkenvirulenzfaktoren sind Voraussetzungen, um neue Bekämpfungsstrategien zu entwickeln.

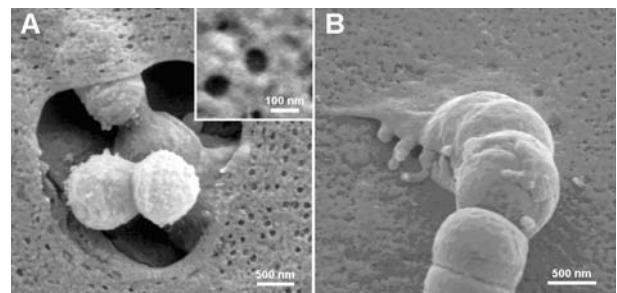
Streptokokkeninvasion und invasive Krankheiten Die Invasion der Streptokokken in Wirtsgewebe und Zellen ist ein wichtiger Schritt in der Pathogenese. Dadurch verursachen Streptokokken nicht nur lebensbedrohliche invasive Krankheiten, sondern sind auch in der Lage, intrazellulär zu überleben. Dadurch umgehen sie die Wirtsimmunabwehr und die Wirkung von Antibiotika. Wir haben die Mechanismen der Invasion und des intrazellulären Überlebens aufgeklärt. Die Aufnahme der Streptokokken findet auf zwei Wegen statt. Die Fibronektin-vermittelte Invasion führt zur Bildung von Caveosomen. Die Fibronektin-unabhängige Invasion führt dagegen zur Bildung von Membranausstülpungen. Intrazelluläres Überleben der Streptokokken ist wichtig für Persistenz und damit für wiederkehrende Infektionen. Da Penizillin nicht in eukaryotische Zellen eindringt, muss die Beseitigung persistenter Streptokokken mit anderen Antibiotika – wie Erythromycin oder Azithromycin – erfolgen.

Gruppe C und Gruppe G Streptokokken bei menschlichen Infektionen Gruppe C (GCS) und Gruppe G (GGS) Streptokokken agieren in Mensch und Tier als kommensale, aber auch als ernsthafte Erreger von Erkrankungen. Gruppe A Streptokokken sind für die Entstehung von akutem rheumatischem Fieber (ARF) und nachfolgender rheumatischer Herzkrankheit (RHD) verantwortlich. GCS und GGS lösen ebenfalls diese Autoimmunerkrankungen beim Menschen aus. Die Bindung und Aggregation von Typ IV Kollagen durch Gruppe A Streptokokken wurde als einer der Mechanismen des ARF beschrieben. GCS- und GGS-Isolate von Tier und Mensch binden ebenfalls Kollagen, aber nur Isolate vom Menschen aggregieren das Kollagen. Ein von uns identifiziertes Streptokokkenpeptid, das für die Aggregation von Kollagen von Bedeutung ist, ist ein wichtiger Marker für rheumatogene Streptokokken.

Virulenzfaktoren alphahämolytischer Streptokokken

Diese Streptokokken – auch Oralstreptokokken gehören dazu –, verursachen nicht nur Zahnentzündungen, sondern auch Blutvergiftungen und Herzklappenentzündungen. Die molekularen Ereignisse, die diese Bakterien in anderen Nischen als der Mundhöhle so gefährlich machen, sind nicht bekannt und müssen dringend untersucht werden. In Zusammenarbeit mit dem Klinikum Leipzig haben wir eine große Sammlung von Oralstreptokokken angelegt und einen DNA-Mikroarray entwickelt. Einige der identifizierten Virulenzfaktoren zeigen Ähnlichkeiten mit Faktoren der betahämolytischen Streptokokken und erklären damit ihr pathogenes Potential.

Proteomanalyse der Pneumokokken Pneumokokken kommen als harmlose Kommensale sowie als Krankheitserreger im Atemweg vor. Um diesen Übergang zu verstehen, haben wir eine Proteomanalyse der Pneumokokken durchgeführt. Damit haben wir zwei Faktoren identifiziert, die in diese Umwandlung involviert sind. Weitere Untersuchungen werden zum Verständnis der Infektionsprozesse und zur Entwicklung neuer Bekämpfungsstrategien führen.



Aufnahme von Streptokokken in humane Zellen. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen die Akkumulation von Caveolae – ca. 60-80 nm große Einstülpungen der Zellmembran (Insert) – und die Bildung eines sog. Caveosomes während der Aufnahme von SfbI-exprimierenden Streptokokken (A). Die Internalisierung von Streptokokken des Serotyps M3, die kein SfbI exprimieren, führt hingegen zur Bildung von Membranausstülpungen (B). Fotos: HZI, Rohde



01.4 Mikrobielle Kommunikation

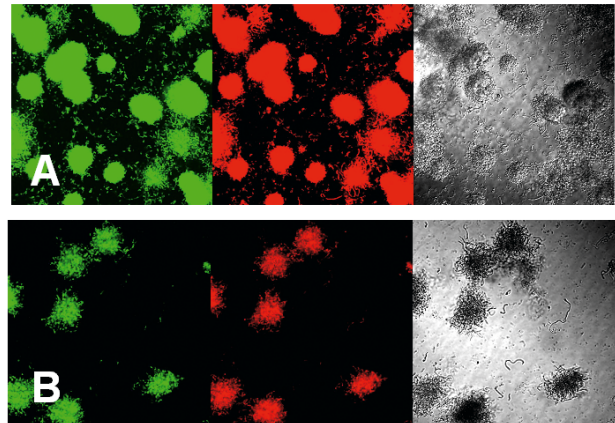
PROJEKTLEITERIN | Priv.-Doz. Dr. Irene Wagner-Döbler | Arbeitsgruppe Mikrobielle Kommunikation | iwd@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Helena Sztajer | Dr. Brigitte Kunze | Dr. Ramiro Vilchez-Vargas | Agnes Bodor | Johannes Leonhäuser | Ina Buchholz

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 Genome-Microarray für *S. mutans* entwickelt, der alle 1950 Gene des Bakteriums enthält. Durch Profilierung des Transkriptoms 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 Kariesprävention dienen könnten.

„Quorum sensing“ in *Roseobacter* Die *Roseobacter* Gruppe ist eine phylogenetisch koherente, physiologisch heterogene Gruppe von *Alphaproteobakterien*, die bis zu 25% aller Bakterien 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.



Biofilm von *Streptococcus mutans* UA 159 kultiviert ohne (A) und mit (B) Ambruticin, eine Verbindung aus Myxobakterien. Das Bild wurde mit einem Konfokalen Laser Scanning Mikroskop aufgenommen; der anaerobe Biofilm wurde mit den Life-/Dead Fluoreszenz-Farbstoffen angefärbt. Foto: HZI

Suche nach Inhibitoren für „Quorum Sensing“ Mit Hilfe von Biotests, 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 der Oberflächen von marinen Seescheiden, Moostierchen und Schwämmen leben. Wir sind nun dabei, diese Inhibitoren aus Kulturüberständen zu isolieren und ihre Wirkungsmechanismen aufzuklären.



Pathogenese

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Werner Müller | Abteilung für Experimentelle Immunologie | wmu@helmholtz-hzi.de

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 wieder. Ein Pathogen kann einerseits kurzzeitiges Unwohlsein zur Folge haben, kann 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 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.

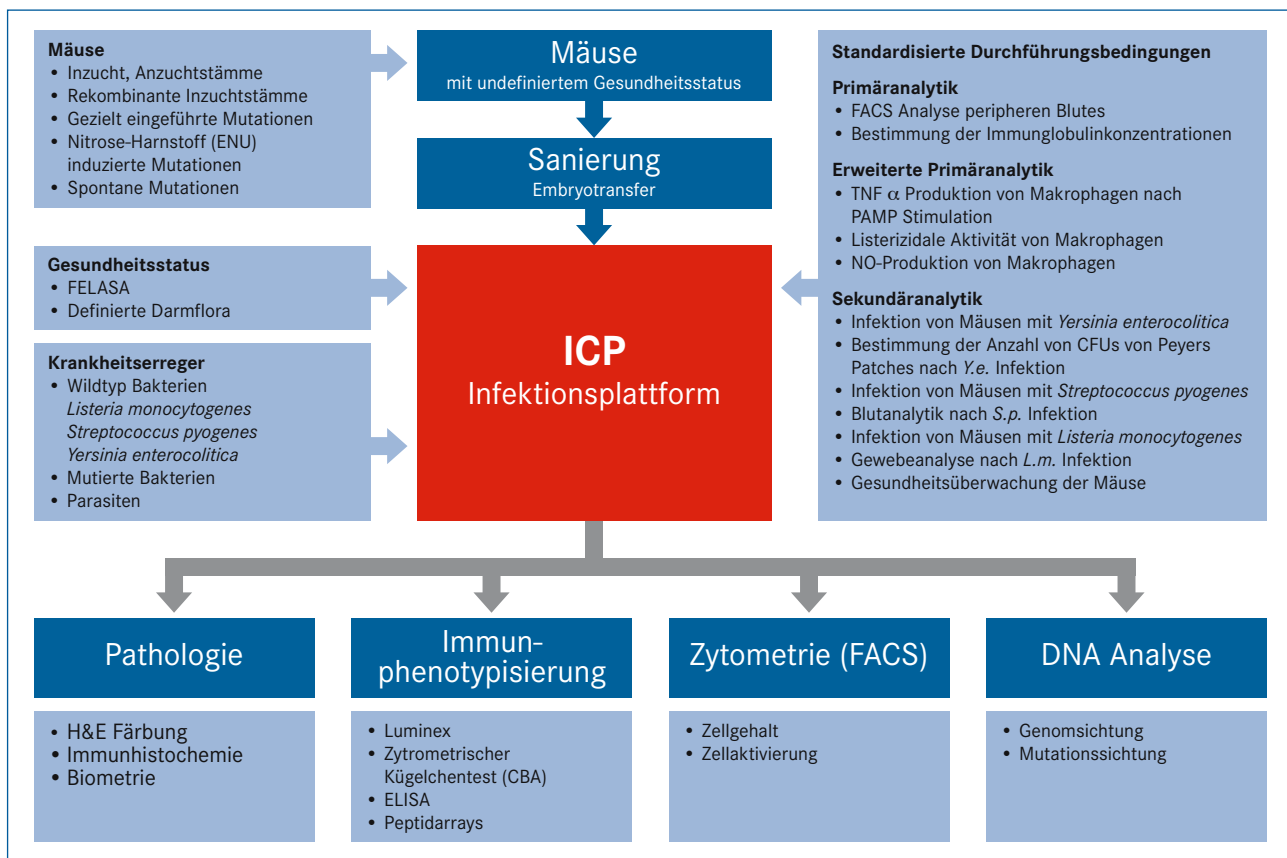
Die Pathogeneseforschung betreiben wir auf den unterschiedlichsten Ebenen. Veränderungen im Proteinnetzwerk werden in der Arbeitsgruppe von Jäntsch mit Hilfe der Proteomforschung analysiert. Die Signalwege der Infektion werden durch das gezielte Ausschalten von Genprodukten mit Hilfe der sogenannten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

Während die oben genannten Arbeitsgruppen auf der Ebene einzelner Zellen arbeiten, basiert die Arbeit der Gruppen Medina, Lengeling, Müller und Schughart auf der Analyse der Infektionen im Organismus. Sie analysieren unterschiedliche Mausmutanten aus verschiedenen Inzuchtstämmen, um die Wirkung der Pathogene in einem vollständigen Organismus zu studieren. Dieser Weg ist wichtig, da in der Kulturschale immer nur ein sehr kleiner Ausschnitt der komplexen Abläufe der Wirt-Pathogen-Interaktion studiert werden kann. Diese Forschungsaktivitäten sind in der „Infection Challenge Platform“ gebündelt, die mit Hilfe des Nationalen Genomforschungsnetz im Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung etabliert werden konnte.

Die Arbeitsgruppe von 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 in der Zukunft vielleicht Ärzte in der Lage sein, Patienten über die Analyse der Gene in individuelle Risikogruppen einzuteilen und so eine spezifische und optimierte Therapie anzubieten.

Die Arbeitsgruppen Lengeling und Müller untersuchen Infektionen in Mäusen, die über gezielte genetische Veränderungen, solche Gene nicht mehr in sich tragen, die in einer Infektabwehr eine Bedeutung haben könnten. Es werden Gene untersucht, die für die Funktion der T-Lymphozyten oder Makrophagen wichtig sind. Diese Mausmutanten werden in Infektionsversuchen mit Bakterien oder Parasiten untersucht.

Die Gruppen Schughart und Medina untersuchen sogenannte „recombinant inbred strains“, um die Anfälligkeit gegenüber Infektionen zu erforschen. Während die Experimente von Lengeling und Müller in genetisch einheitlichen Mauskohorten untersucht werden, repräsentieren die „recombinant inbred strains“ in ihrer Gesamtheit eine viel größere genetische Vielfalt. Durch diese genetische Vielfalt sind diese Mäuse viel näher an der Populationssituation des Menschen, in der jedes Individuum seine eigene individuelle Genzusammensetzung besitzt – außer bei eineiigen Zwillingen. Das Ziel dieser Untersuchungen ist die Identifikation so genannter „modifizier“ 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 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 Millionen unterschiedlicher aber genau definierter Mausgenotypen zu untersuchen, eine Aufgabe, die sehr aufwendig ist, aber ein großes Potenzial hat.



Die Infektionschallenge Plattform wurde durch die Abteilung für Experimentelle Immunologie zusammen mit der Nachwuchsgruppe von Andreas Lengeling entwickelt. Die experimentelle Einheit ermöglicht die Analyse der Mechanismen, die der Infektabwehr zu Grunde liegen. Grafik: HZI

02.1 Molekulare Mechanismen von Wirtszell/Pathogen-Interaktionen

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

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

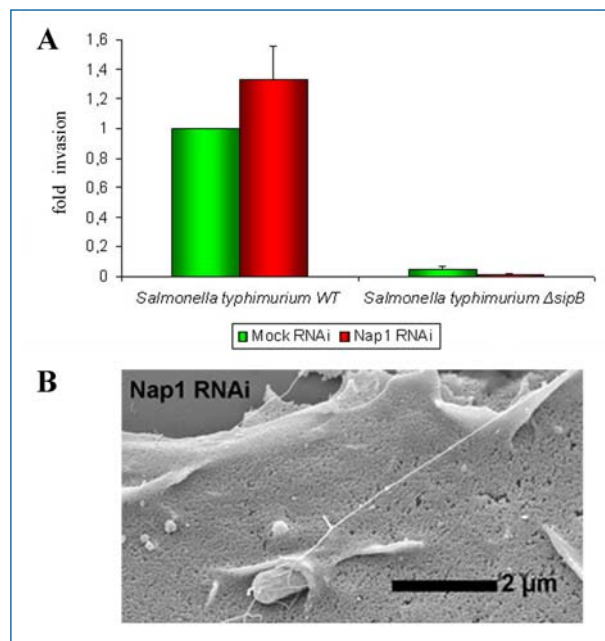
Ziel dieses Projektes ist, die molekularen Mechanismen von Reorganisationsprozessen des Aktinzytoskeletts bei verschiedenen Formen der Pathogen/Wirt-Interaktion zu untersuchen. Aktinfilamente sind ein wichtiger Angriffspunkt der Wirtszelle, da sie auf unterschiedlichste Weise zum Nutzen der Pathogene umfunktioniert werden können. Dies liegt vermutlich an der Vielfalt der Funktionen dieses Filamentsystems, was für zelluläre Bewegungsprozesse wie Migration oder Phagozytose essentiell ist.

Nukleation Die Neubildung von Aktinfilamenten, die Nukleation, wird auch durch den Arp2/3-Komplex katalysiert, der wiederum von Proteinen der WAVE und WASP Familien aktiviert werden muss. Der Arp2/3-Komplex und sein ubiquitär exprimierter Aktivator N-WASP sind für eine Reihe von Pathogen/Wirt-Interaktionen essentiell: für die intrazelluläre Motilität von Shigellen oder die Aktin-abhängige Bewegung von pathogenen *E. coli*-Stämmen (EPEC und EHEC) an der Oberfläche von intestinalen Epithelzellen. In weiterführenden Experimenten konnten wir zudem eine Rolle von N-WASP und Arp2/3-abhängiger Aktinpolymerisation bei der Clathrin-vermittelten Endozytose von Wachstumsfaktorrezeptoren demonstrieren. Diese physiologische Funktion erklärt, warum so unterschiedliche Pathogene wie Vaccinia-Virus oder pathogene *E. coli* diese biochemische Aktivität benutzen.

Aktin-Reorganisationsprozesse Die oben genannten Aktin-Regulatoren interagieren mit kleinen GTPasen der Rho-Familie, und zwar WASP- mit Cdc42 und WAVE-Proteine mit Rac1. Die genetische Deletion von Cdc42 führte zwar zu keiner direkten Beeinträchtigung der Zellbewegung, reduzierte jedoch die Internalin B (InlB)-abhängige Wirtszellinvasion von *Listeria monocytogenes* deutlich. Dieser Invasionsweg erlaubt zum Beispiel das Eindringen der Bakterien in Zellen, denen E-Cadherin fehlt, dessen Expression auf Epithelzellen beschränkt ist. Die direkte Bindung von InlB an den Hepatozyten-Wachstumsfaktorrezeptor c-Met induziert Reorganisationen des Aktinzytoskeletts, die letztlich das Bakterium ins Zytoplasma der Wirtszelle ziehen. Wir konnten zeigen, dass die Aktivierung von Rac1, dessen Interaktion mit WAVE essentiell für die genannten Aktin-Reorganisationsprozesse ist, durch Cdc42 und durch die Phospholipid-Kinase PI3-Kinase ausgelöst wird.

Bakterielle Effektoren Auch Gram-negative Bakterien wie *Salmonella typhimurium* oder *Shigella flexneri* induzieren ihre eigene Phagozytose, um in Wirtszellen einzudringen.

Im Gegensatz zu Listerien wird hier mit Hilfe eines Typ III-Sekretionssystems ein Cocktail von bakteriellen Effektorproteinen ins Zytoplasma der Wirtszelle injiziert, noch bevor die Bakterien eingedrungen sind. Die bakteriellen Effektoren induzieren starke lokale Oberflächenveränderungen, sogenannte ‚Ruffles‘, die vor allem mit der Invasion von Salmonellen verbunden worden sind. Dennoch konnten wir nun zeigen, dass weder der Cdc42/N-WASP-Signalweg noch WAVE-Proteine, die essentiell für die Ausbildung von ‚Ruffles‘ sind, für das Eindringen der Salmonellen benötigt werden. Damit ist das Ausbilden von ‚Ruffles‘ keine Voraussetzung für die Salmonelleninvasion. Die Entdeckung und Charakterisierung der für diese Invasionsprozesse essentiellen Aktin-Regulatoren sind Gegenstand unserer aktuellen Forschung.



(A) Die Invasion von Wildtyp-Salmonellen ist in WAVE-Komplex-defekten Zellen (WAVE-Komplex-Expression aufgrund von Nap1 RNAi reduziert) nicht beeinträchtigt, sondern eher erhöht. $\Delta sipB$ ist eine Salmonellenmutante mit defektem Typ III-Sekretionssystem (Kontrolle für 'unspezifische' Invasion). (B) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Invasionsprozesses in Nap1 RNAi-Zelle. Die normalerweise mit der Invasion verbundenen ‚Ruffles‘ fehlen hier (Kollaboration mit Dr. Manfred Rohde, HZI). Foto: HZI, Rohde



02.2 Identifizierung und Charakterisierung bakterieller Virulenzfaktoren

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

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Uwe Kärst | Dr. Josef Wissing | Tobias Reinl | Roman Fischer | Claudia Hundertmark | Sebastian König | Zofia Magnowska

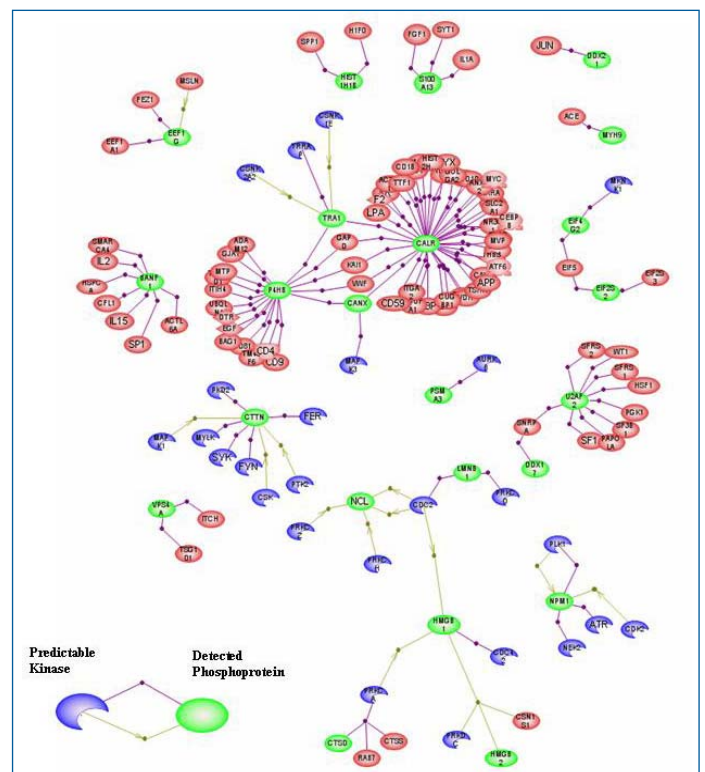
Die Arbeitsgruppe Zelluläre Proteomforschung beschäftigt sich mit der funktionellen Charakterisierung des humanen Erregers *Listeria monocytogenes*. Er verursacht besonders bei immungeschwächten Patienten schwere Erkrankungen wie Meningoenzephalitis, Meningitis sowie vorgeburtliche Infektionen. Alle bislang identifizierten Virulenzfaktoren werden durch den Transkriptionsregulator PrfA reguliert oder gehören zum kürzlich entdeckten VirR-Regulon. Sie nehmen meist unmittelbar an der Wirts-Pathogen-Interaktion teil und können daher als Teil der sekretierten Proteinfraction oder des bakteriellen Oberflächenproteoms analysiert werden.

Neue bakterielle Virulenzfaktoren Durch vergleichende Proteomanalysen des pathogenen EGD-e-Wildtypstamm mit verschiedenen *prfA* Mutanten und nicht-pathogenen Listerienstämme wie *L. innocua* sind neue Virulenzfaktoren identifiziert worden. Dabei standen vor allem das Sekretom und die Oberflächenproteine von *Listeria* im Fokus der Forschung, wie Lipoproteine, deren zelluläre Verankerung die Lipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase (Lgt) vermittelt. Eine Deletion des *lgt*-Genes beeinflusst das intrazelluläre Wachstum der Bakterien in eukaryotischen Zelllinien und führt zu einer Sekretion von Lipoproteinen in den Kulturüberstand. Das erleichtert die Detektion PrfA-abhängiger Lipoproteine deutlich. Im Gegensatz zu früheren Studien in *E. coli* konnte in Listerien gezeigt werden, dass die Lipidierung durch Lgt keine Voraussetzung für die Aktivität der Lipoprotein-spezifischen Signalpeptidase II (Lsp) ist. Zudem konnte gezeigt werden, dass das Transmembranprotein Lmo1695 – ein Bestandteil des VirR-Regulons – essentiell für die Lysinierung von (Di)phosphatidylglycerol ist. Lmo1695 vermittelt Resistenz gegen antimikrobielle Peptide und trägt maßgeblich zur listeriellen Pathogenität bei.

Signaltransduktion infizierter Wirtszellen Die Proteomforschung gewinnt zunehmend an Bedeutung in der Zellbiologie und für die Entschlüsselung komplexer Pathogen/Wirtszell-Interaktionen. Forschungsaktivitäten fokussieren auf die Entwicklung bioinformatischer Strategien zur umfassenden Interpretation massenspektrometrischer Daten. Zudem dienen sie der zeitabhängigen Charakterisierung von Signaltransduktionsprozessen, in von Pathogenen beeinflussten Wirtszellen. C-Met- und E-Cadherin-Signalwege dienen dabei als Modellsysteme zur Etablierung von quantitativen Phosphoproteomanalysen mittels IMAC, iTRAQ™ und LC-MS/MS. Zwei bakterielle Oberflächenproteine können die Invasion induzieren und ihre zellulären Rezeptoren sind bekannt: Internalin B (InIB) bindet an die Rezeptor-Ty-

rosin-Kinase c-Met (HGFR), wohingegen Internalin A (InIA) mit E-Cadherin interagiert. Beide Virulenzfaktoren nutzen die Signaltransduktion der Wirtszelle zur koordinierten Reorganisation des Actinzytoskeletts und ermöglichen so die Invasion der Bakterien in die Wirtszelle.

2006 konnten verschiedene „State-of-the-art“-Technologien erstmals kombiniert und für quantitative Regulationsstudien von Phosphorylierungsstellen an Proteinkinasen eingesetzt werden. Derzeit ist die native Aufreinigung von ca. 40% des humanen Kinoms und der Zugang zu neuen Phosphorylierungsstellen möglich. Unterschiedliche Epithelzelllinien werden durch rekombinant hergestellte Proteine für 2 bis maximal 30 Minuten stimuliert. Ziel dieser Studien ist eine zeitabhängige Analyse der phosphorylierungs-abhängigen molekularen Prozesse. Anhand erster Daten konnten bereits Hypothesen über die an der Invasion beteiligten Signalwege der Wirtszelle entwickelt werden.



Quantitative Phosphoproteomanalysen in Kombination mit „Reverse Network Engineering“ ermöglicht die Vorhersage von neuen Kinasen, die am InIA/E-Cadherin Signalweg beteiligt sind. Grafik: HZI



02.3 Signalübertragung zum Aktinzytoskelett

PROJEKTLEITERIN | Dr. Theresia Stradal | Arbeitsgruppe Signaltransduktion und Motilität | ths@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Jan Hänisch | Kai Städing | Stefanie Weiß

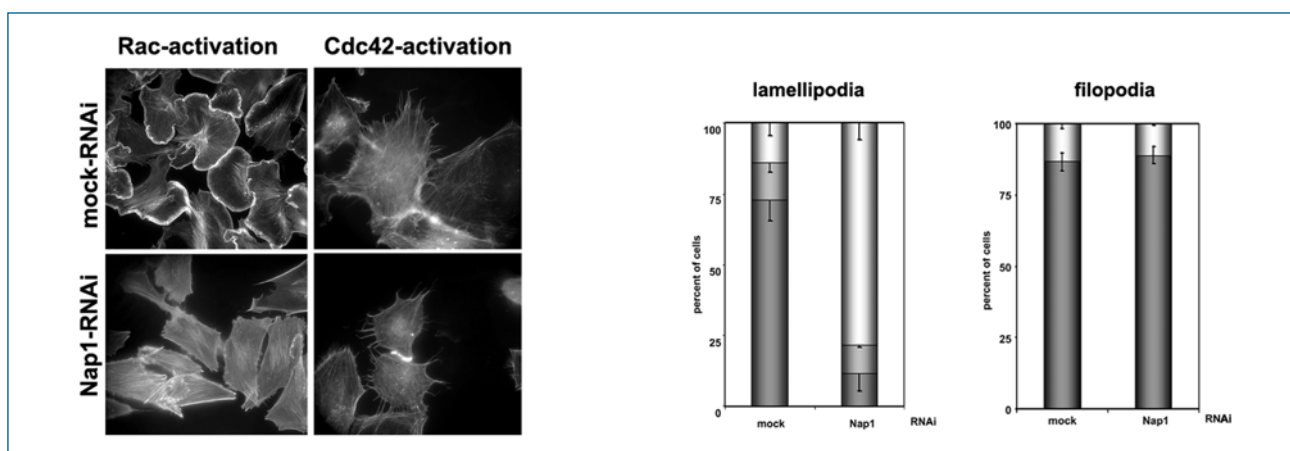
Zahlreiche zelluläre Prozesse sind von dynamischen Veränderungen des Aktinzytoskeletts abhängig. Dazu gehören zum Beispiel die Zellwanderung während der Embryonalentwicklung, chemotaktische Bewegungen von Immunzellen und das Einwandern von Fibroblasten bei der Wundheilung. Eine große Anzahl Aktin-bindender Proteine sorgt für den dynamischen Umbau des Aktinzytoskeletts. Ein wichtiger Faktor der Neubildung von Aktinfilamenten, der Nukleation, ist dabei der durch so genannte „nucleation promoting factors“ (NPFs) aktivierte Arp2/3-Komplex. Die exakten Signalübertragungswege und Steuerungsmechanismen der Aktin-Polymerisation sind aber noch nicht vollständig aufgeklärt. Die Strukturen, mit denen wir uns hauptsächlich beschäftigen, sind Aktin-vermittelte Vorschübe an der Zellperipherie, die je nach Form als Lamellipodien oder Filopodien bezeichnet werden.

Die Entdeckung, dass ähnliche dynamische Veränderungen des Aktinzytoskeletts auch bei den Wechselwirkungen zwischen bakteriellen Pathogenen und Wirtszellen auftreten, hat das Forschungsgebiet stark beeinflusst.

Lamellipodien und der WAVE-Komplex Die WAVE-Proteine sind wichtige Mitglieder der NPF-Familie und spielen eine bedeutende Rolle für die Rac1-vermittelte Bildung von Lamellipodien. Der Mechanismus der Aktivierung von WAVE über die kleine GTPase Rac1 war lange ungeklärt, da Rac nicht direkt an WAVE binden kann. Dies war Anlass für uns, nach dem fehlenden Bindeglied zu suchen. Wir

konnten nachweisen, dass zwei weitere Proteine – das Nck-assoziierte Protein 1 (Nap1) und das spezifisch mit Rac assoziierte Protein 1 (Sra-1) – über die Abi-Proteine die molekulare Verbindung zwischen Rac und WAVE herstellen. Aufgrund unserer und anderer Arbeiten ist inzwischen allgemein anerkannt, dass der aus diesen Untereinheiten zusammengesetzte ubiquitäre WAVE-Komplex essentiell für die Rac1-vermittelte Lamellipodienbildung ist.

Filopodien – unabhängig von WAVE- und Arp2/3-Komplex Wenn man durch die Technik der RNA-Interferenz die Aktivität des WAVE-Komplexes in Zellen unterdrückt, so stellt sich heraus, dass Cdc42-induzierte Filopodienbildung völlig unbeeinträchtigt ist – im Gegensatz zur Rac1-vermittelten Lamellipodienbildung. Diese Ergebnisse waren insofern unerwartet, weil frühere Arbeiten Hinweise darauf gaben, dass Filopodien aus lamellipodiale Material geformt werden. Um nun zu klären, ob trotz der fehlenden Rolle des WAVE-Komplexes zumindest der Arp2/3-Komplex für Filopodienbildung notwendig ist, haben wir auch die Aktivität dieses Proteinkomplexes mit RNA-Interferenz unterdrückt. Arp2/3 RNAi führte zu vielfältigen zellulären Defekten, jedoch die Filopodienbildung war wiederum unverändert. Daraus schließen wir, dass Filopodien von einer anderen Maschinerie als dem Arp2/3-Komplex gebildet werden. Diese versuchen wir derzeit zu identifizieren. Zudem konnten wir durch unsere Untersuchungen die Rolle neuer F-Aktin Bündelungsproteine bei der Filopodienbildung beschreiben.



Inaktivierung des WAVE-Komplexes durch RNA Interferenz (Nap1-RNAi) führt zur Unterdrückung von Rac1-vermittelten Lamellipodien, aber nicht von Cdc42-vermittelten Filopodien. Dunkelgraue Balken: Zellen mit Lamellipodien (links) bzw. Filopodien (rechts). Hellgrau: Zellen ohne die jeweiligen Strukturen. Fotos: HZI



02.4 Genetik von Infektionssuszeptibilität und Funktion von Makrophagen

PROJEKTLEITER | Dr. Andreas Lengeling | Nachwuchsgruppe Infektionsgenetik | ale@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Jens Böse | Dr. Bastian Pasche | Phillip Hahn | Meike Küting

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Aufklärung genetischer Mechanismen der Infektionssuszeptibilität. Wir versuchen neu gewonnene Erkenntnisse zu nutzen, um verbesserte Tiermodelle für humane Infektionserkrankungen zu entwickeln. Die Anfälligkeit gegenüber Infektionserkrankungen wird durch eine komplexe Interaktion von Wirt- und Umweltfaktoren bestimmt. Die Genetik des Wirts spielt bei der Ausprägung von Infektionsempfindlichkeiten eine entscheidende Rolle. Dabei sind häufig mehrere Gene beteiligt, die durch komplexe Interaktionen miteinander die genetische Prädisposition an Infektionen zu erkranken, beeinflussen. Dies macht es insbesondere in genetisch heterogenen, humanen Populationen schwierig, Krankheitsgene für Infektionsanfälligkeiten zu identifizieren. Unser Labor nutzt daher die Maus als Tiermodell, um Grundlagen der Immunabwehr und Mechanismen von Entzündungsprozessen zu erarbeiten – das Immunsystem der Maus ist dem des Menschen in vielen Aspekten sehr ähnlich.

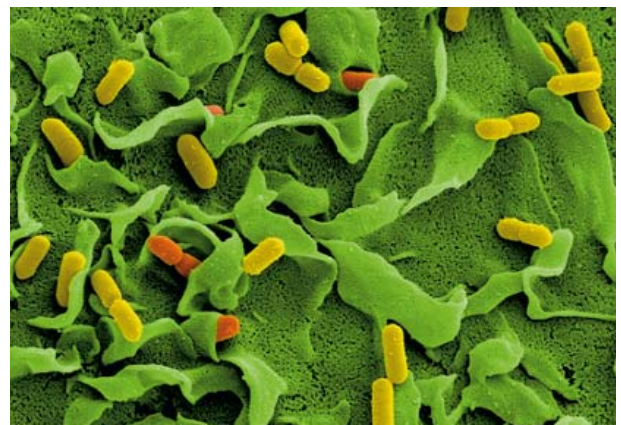
Genetisch Grundlagen von Infektionsempfindlichkeiten

Wir nutzen am HZI verschiedene Mausmutanten und Mausinzuchtstämme, um Gene zu identifizieren, die mit einer Resistenz oder Empfindlichkeit von Mäusen gegenüber verschiedenen Erregern assoziiert sind – etwa Streptokokken, Listerien, Filarien und Influenza-Viren. Dazu haben wir am HZI eine „Infektions-Challenge-Plattform (ICP)“ aufgebaut, die es ermöglicht, systematisch und standardisiert den Immunstatus von infizierten Mäusen zu charakterisieren. Im letzten Jahr ist es uns gelungen in Kooperation mit Prof. Libert (Universität Gent) zu zeigen, dass SPRET/Ei-Mäuse besonders resistent gegenüber LPS-induziertem, septischem Schock und Infektionen mit dem intrazellulären Erreger *Listeria monocytogenes* sind. Dies beruht auf einem Defekt der SPRET/Ei-Maus, das Zytokin Interferon- β in ausreichender Menge zu produzieren und hilft uns, molekulare Prozesse besser zu verstehen, die mit der Entwicklung einer Sepsis verbunden sind.

In einem zweiten Projekt interessieren wir uns für die Funktion von Makrophagen. Sie sind wichtige Effektorzellen des angeborenen Immunsystems. Wir versuchen zentrale Moleküle für ihre Funktion zu identifizieren, die mit Infektionen und Entzündungsprozessen zusammenhängen. Kürzlich ist es uns gelungen zu zeigen, dass ein als *Jmjd4b* bezeichnetes Protein essentiell für die Regulation von Entzündungsreaktionen in Makrophagen ist.

Entwicklung eines neuen Mausmodells für humane

Listeriose In Kooperation mit dem Bereich für Strukturbiologie konnten wir ein neues Mausmodell für Listeriose etablieren. Die Listeriose wird verursacht durch das intrazelluläre, Gram-positive Bakterium *Listeria monocytogenes*. In immunsupprimierten Patienten kann die Listeriose zur Entwicklung von Sepsis und Meningitis führen. Für die Listeriose gab es bisher kein Mausmodell, das der natürlichen oralen Infektion im Menschen entspricht. Durch eine Modifizierung des bakteriellen Invasins Internalin A konnte die Interaktion mit seinem Wirtsrezeptor E-Cadherin verstärkt werden, so dass eine hoch affine Bindung jetzt auch am Mausrezeptor möglich ist. Die modifizierten Listerien können den Darmtrakt der Maus infizieren, was uns neue Möglichkeiten eröffnet, Mechanismen der Erregerausbreitung im Wirt zu studieren.



Invasion von *Listeria monocytogenes* EGD in menschliche dendritische Zellen. Foto: HZI, Rohde



02.5 Pathogenese von *Streptococcus pyogenes* im Mausmodell

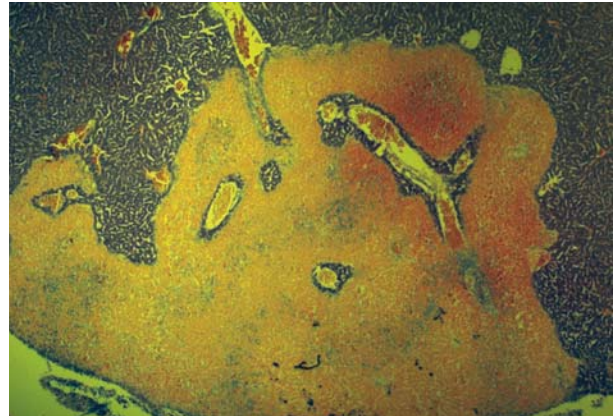
PROJEKTLEITERIN | Dr. Eva Medina | Arbeitsgruppe Infektionsimmunologie | eme@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Oliver Goldmann | Dr. Maren von Köckritz-Blickwede | Torsten Loof

Streptococcus pyogenes ist ein weit verbreitetes humanes Pathogen, das eine Vielzahl verschiedener Krankheitsbilder verursachen kann: milde Infektionen, wie Pharyngitis, Tonsillitis oder Impetigo und sehr schweren Infektionen wie Nekrotisierende Faszitis oder das Streptokokken Toxic-Shock-Syndrom. *S. pyogenes* verursacht seit den 80er Jahren eine steigende Zahl schwerer invasiver Infektionsverläufe. Gegenwärtige Methoden zur Prophylaxe und Therapie nutzen chemotherapeutische Ansätze. Langfristig sind jedoch Impfstoffe die effektivere Strategie, um die globale Krankheitsbelastung durch dieses Pathogen zu senken.

Genetisch anfällige Bevölkerungsgruppen Da gerade genetisch anfällige Bevölkerungsgruppen von einer Impfstrategie profitieren würden, ist ein besseres Verständnis der Wirtsgenetik von großer Bedeutung. Im Falle von *S. pyogenes* haben Studien gezeigt, dass sich Individuen in der Anfälligkeit gegenüber Infektionen mit diesem Erreger aufgrund ihrer unterschiedlichen genetischen Ausstattung unterscheiden, obwohl sie mit demselben Streptokokkenstamm infiziert sind.

Maus-Inzuchtstämme sind wertvolle Modelle für menschliche Populationen, um ein besseres Verständnis für die Anfälligkeit gegenüber Streptokokkeninfektionen zu erlangen, denn Mäuse mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund unterscheiden sich deutlich hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber Infektionen mit dem Erreger *S. pyogenes*. Während einige Mausstämme (z.B. BALB/c) sehr resistent und fähig sind, die Infektion zu kontrollieren, sind andere Stämme (z.B. C3H/HeN) sehr viel anfälliger und zeigen eine starke Ausbreitung und Vermehrung der Bakterien, eine schwere Sepsis und sterben an der Infektion. Wir haben untersucht, ob anfällige Mäuse von einer Immunisierung gegen *S. pyogenes* Infektionen profitieren können. Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine Impfung sowohl genetisch resistenten als auch genetisch anfälligen Mäuse erlaubt, die Infektion zu kontrollieren und eine Resistenz auszubilden. Aus diesem Grund könnte die Einführung eines funktionsfähigen Impfstoffes deutlich dazu beitragen, schwere und invasive Infektionsverläufe zu reduzieren oder ganz zu eliminieren.



Organschaden an der Leber verursacht durch *S. pyogenes* im Mausmodell. Foto: HZI

Natürliche Killerzellen gegen das „Streptokokken Toxic Schock Syndrom“ (STSS). Das Streptokokken Toxic Schock Syndrom ist mit einer hohen Mortalitätsrate assoziiert. Sein Wiederaufflammen weckt das Interesse daran, die Entwicklung dieses Krankheitsbildes besser zu verstehen und neue, effektive Behandlungsstrategien zu entwickeln. Die Entwicklung neuer Behandlungsstrategien ist durch die Komplexität der Immunabwehr keine leichte Aufgabe. Eines unserer Ziele war, Zellpopulationen zu identifizieren, die an der Entstehung des Streptokokken-induzierten septischen Schocks beteiligt sind. Hierzu wurde ein Mausmodell verwendet, das die Entwicklung dieses Krankheitsbildes im Menschen widerspiegelt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass unter anderem Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) am progressiven Verlauf des Streptokokken-induzierten Septischen Schocks beteiligt sind. Sie wirken als Verstärker der inflammatorischen Reaktion. Durch das Ausschalten, von NK-Zellen konnte die Überlebenszeit infizierter Mäuse deutlich verlängert werden und es konnten die Pathologie und die Entwicklung von Organschäden positiv beeinflusst werden.

Dies ist ein Beispiel dafür, wie wertvoll die Identifizierung solcher Wirtszellpopulationen für zukünftige klinische Applikationen sein kann.



02.6 Systemgenetik von Infektion und Immunität

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

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Dunja Bruder | Dr. Lothar Gröbe | Dr. Robert Geffers

Ziel dieses Projektes ist, die komplexen genetischen Netzwerke zu beschreiben, die für die Suszeptibilität gegenüber Infektionskrankheiten oder die Regulation des Immunsystems verantwortlich sind. Hierfür werden umfangreiche phänotypische Studien an Mauspopulationen durchgeführt, die sich jeweils in ihrem genetischen Hintergrund unterscheiden. Auf diese Weise können viele phänotypische Eigenschaften und Genexpressionsmuster mit genetischen Unterschieden in Zusammenhang gebracht werden. Dieser Ansatz nennt sich „Systemgenetik“ („Systems Genetics“). Wir wenden diesen systembiologischen Ansatz an, um die grundlegenden molekularen Mechanismen in zwei gesundheits-relevanten Bereichen zu verstehen: Bei der Wirtantwort eines Säugerorganismus gegenüber einer Infektion mit dem Influenzavirus und bei der Analyse der Regulation des Immunsystems.

Suszeptibilität des Wirtes für Infektionen mit dem Influenzavirus Jedes Jahr verschulden Influenza-Infektionen weltweit ungefähr 500 Millionen, und in Deutschland, rund 500 000 schwere Krankheitsfälle. Ca. 10.000 Menschen sterben in Deutschland jährlich an einer Influenza-Infektion. Die Bedeutung des Mausmodells konnte sowohl für den historischen Influenza A/H1N1 Subtyp als auch für die neu aufgetretene hochpathogene Vogelgrippe vom Subtyp A/H5N1 demonstriert werden.

In unserer Forschungsgruppe analysieren wir Faktoren der Suszeptibilität des Wirtes, die an einer Infektion mit dem Influenzavirus beteiligt sind, indem wir unterschiedliche rekombinante Inzucht-Mausstämme infizieren. Pathologie, Verlauf der Krankheit und Immunantwort werden untersucht und eine vollständige Genomexpressionsanalyse der Lunge durchgeführt. Dieses Vorgehen erlaubt uns, diejenigen genomischen Regionen zu identifizieren, die an der Suszeptibilität oder der Resistenz des Wirtes gegenüber einer Influenza-Infektion beteiligt sind. Zudem können wir mit diesen Daten die zu Grunde liegenden Gen-regulatorischen Netzwerke entschlüsseln.

Von einzelnen Gen-Interaktionen zu regulatorischen Netzwerken Wenn das Immunsystem einer Infektion ausgesetzt ist, muss es seinen Verteidigungsmechanismus sehr kontrolliert aktivieren. Um die Immunantwort so zu gestalten, dass der Angreifer getötet aber das übrige Gewebe des Wirtes intakt bleibt, ist eine komplexe Interaktion zwischen Effektor T-Zellen und regulatorischen T-Zellen notwendig. Wir analysieren die Expressionsprofile von verschiedenen rekombinanten Inzucht-Mausstämmen auf genomweiter

Ebene und verknüpfen Genexpressionsdaten mit genotypischen Daten. Auf diese Weise können einzelne regulatorische Interaktionen als quantitative Eigenschaften beschrieben werden. Darüber hinaus können durch Unterschiede in den Expressionsprofilen ganze Sätze von Zielgenen, die durch denselben genomischen Locus kontrolliert werden, als Gruppen ko-regulierter Gene identifiziert werden. Mit einer solchen systematischen Herangehensweise lassen sich „Master“-Regulator-Gene und regulatorische Netzwerke identifizieren und Interaktionsnetzwerke erstellen.

Ein weltweites Netz für komplexe Genetik Unsere Aktivitäten sind stark in verschiedene nationale und internationale Netzwerke auf dem Gebiet der Systemgenetik eingebunden. Das Deutsche Netzwerk für Systemgenetik (German Network for Systems Genetics - GeNeSys) wird von unserer Arbeitsgruppe koordiniert und das „Complex Trait Consortium“ (CTC) stellt ein weltweites wissenschaftliches Netzwerk dar, an dem sich unsere Arbeitsgruppe aktiv beteiligt. Beide Konsortien haben das Ziel, die Vielzahl von Daten, die im Zusammenhang mit Studien über komplexe genetische Erbgänge bei der Maus gesammelt werden, in einer einzigen öffentlichen Datenbank, genannt „GeneNetwork“, zusammenzufassen. GeneNetwork wurde von unserem Kooperationspartner am University Health Science Centre in Memphis, Tennessee, entwickelt.



Modell eines Influenzavirus Grafik: HZI, Miessen

02.7 Die Biologie der Immunantwort

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Werner Müller | Abteilung für Experimentelle Immunologie | wmu@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Mariela Bollati Fogolin | Dr. Martin Hafner | Dr. Angela Schippers | Dr. Michele Bionotto | Dr. Ursula Frischmann | Dr. Anne Fleige | Dr. Ida Retter | Dr. Blair Prochnow | Nicolas Fasnacht | Marina Greweling | Annika Kochut | Karina Nawrath | Fabio Pisano | Mandy Reichenbach

Das Mausgenom ist entziffert – ebenso wie das des Menschen. Die Ergebnisse zeigen, dass viele Gene von Maus und Mensch sehr ähnlich sind. Die Abteilung für Experimentelle Immunologie entwickelt neue Mausmutanten, die die Analyse von Mechanismen von menschlichen Krankheiten ermöglichen. Wir generieren genetisch veränderte Mauslinien, die exakt geplante genetische Veränderungen tragen. Sobald diese Mauslinien zur Verfügung stehen, werden sie untersucht, um die Funktion der Gene besser zu verstehen. Dazu haben wir eine sogenannte „Infektion-Challenge-Plattform“ entwickelt, die die Analyse von Infektionen in Mausmutanten ermöglicht.

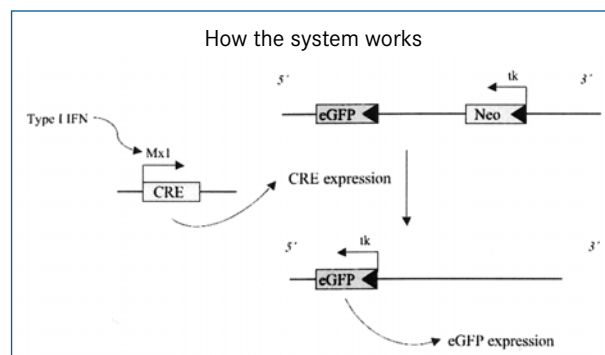
Ein Modell für chronische Darmerkrankungen des Menschen Wir haben eine Mausmutante entwickelt, in der der Botenstoff Interleukin-10 fehlt. Sie entwickelt in einer normalen Maushaltung spontan eine chronische Darmentzündung. Mit einer definierten Darmflora ausgestattet – wie in der Infektion Challenge-Plattform –, bleibt sie gesund. Dies zeigt, dass sowohl unser Genom, als auch die Umgebung, in der wir leben, einen großen Einfluss auf die Entwicklung chronisch-entzündlicher Erkrankungen hat. In der Infektion-Challenge-Plattform können wir nun gezielt untersuchen, welche Keime die chronische Darmentzündung in den Interleukin-10 defizienten Tieren auslösen. Dazu werden diese Mausmutanten gezielt mit bestimmten, potenziell krankmachenden Bakterien oder Parasiten besiedelt.

Das Zytokinnetzwerk kontrollieren In der Abteilung nutzen wir neben der Entwicklung „einfacher“ Mausmutanten, auch solche, in den gezielt die Gene ein- bzw. ausgeschaltet werden können. Wir haben diese Methode der konditionalen Mausmutanten auf das in allen Zellen der Maus vorhandene Interleukin-10-Gen angewendet. Das Genprodukt wird von vielen Zellen des Körpers gebildet. Wenn wir nun das Interleukin-10-Gen gezielt in T-Lymphozyten ausschalten, so entwickeln diese sogenannten T-zellspezifischen Mausmutanten eine chronische Darmentzündung. Das Interleukin-10, das von den T-Zellen des Darms gebildet wird, ist daher besonders wichtig für die Kontrolle des mukosalen Immunsystems. Therapien chronischer Darmerkrankungen sollten deshalb die T-Lymphozyten als ein therapeutisches Ziel betrachten.

Wird das Interleukin-10-Gen gezielt in Makrophagen ausgeschaltet, ergibt sich ein vollkommen anderes Bild. Diese Tiere entwickeln keine chronische Darmentzündung, werden jedoch empfindlich gegenüber einem septischen Schock. Also ist von Makrophagen gebildetes Interleukin-10 in der Lage, einen septischen Schock zu verhindern. Nur in T-Lymphozyten inaktiviertes Interleukin-10 schützt die Tiere immer noch vor einem septischen Schock.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die konditionale Mutagenese von Genen, die Komponenten des Zytokinnetzwerks kodieren, neue wichtige Einblicke in das Zytokinnetzwerk geben. Es ist entscheidend, welcher Zelltyp zu einem gegebenen Zeitpunkt ein bestimmtes Zytokin produziert – besonders für die computergestützte systembiologische Analyse des Zytokinnetzwerks.

Suche nach kleinen Molekülen Konditionale Genveränderung lässt sich auch einsetzen, um zellbasierte Testsysteme zu entwickeln, die *in vitro* einen Signalweg des Zytokinnetzwerks abbilden. Sie dienen der Suche nach neuen biologisch aktiven Substanzen, die eventuell später als Grundlage für neue Medikamente dienen können. Wir haben eine Zelllinie entwickelt, die nach der Zugabe von Typ-I Interferonen in der Zellkultur ein grünfluoreszierendes Protein stabil produziert. Damit haben wir die vollständige Naturstoffbank des Institutes – erfolgreich – nach kleinen Molekülen durchsucht, die die Wirkung von Typ-I-Interferon verstärken oder verhindern.



Das System zur Analyse von Typ-I-Interferon Signaltransduktion. Die Zelllinie enthält ein Rekombinase Gen (Mx Cre), das durch Typ-I-Interferon angeschaltet wird. Diese Rekombinase wirkt wie ein Genschalter und schaltet ein Gen, das für ein grünfluoreszierendes Gen kodiert, an. Die Zelle beginnt zu leuchten. Grafik: HZI.

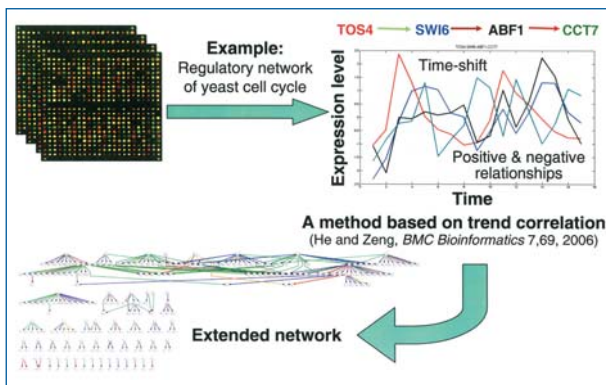


Entzündung und Immunität

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

Erste, schnelle Reaktionen des Organismus auf Infektionen sind Entzündung und eine Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Diese Ereignisse wiederum sind Voraussetzung für die anhaltende „adaptive Immunantwort“, die für die Eliminierung von Pathogenen verantwortlich ist. Die schnellen Reaktionen werden von den befallenen Zellen selbst ausgelöst und danach von einer Vielzahl von Blutzellen, Leukozyten und Lymphozyten geregelt. Dabei wird die Kommunikation dieser Zellen sowohl durch niedermolekulare Komponenten wie Prostaglandine oder Proteine, den Zytokinen und Oberflächenmolekülen geregelt. Diese Interaktionen steuern die schnelle und die adaptive Immunantwort. Sowohl die schnelle wie auch die lang anhaltende Immunreaktion kann durch Fehlsteuerung zu Schäden führen – etwa einem toxischen Schock oder Autoimmunität. Im Thema „Entzündung und Immunität“ wird versucht, Schlüsselvorgänge und verantwortliche Moleküle in diesen Vorgängen zu identifizieren; einerseits, um ein grundlegendes Verständnis für die normalen Vorgänge zu erhalten, andererseits, um die Ursachen der Fehlsteuerungen zu verstehen. Dabei sollen sowohl molekulare Zielstrukturen für die Entwicklung von Pharmaka als auch direkte therapeutische Ansätze und Impfstoffe gefunden werden.

Schwerpunkte des Topics sind in zunehmendem Maße das Interferonsystem, das als Antwort auf virale und bakterielle Infektionen aktiviert wird. Ausserdem wird die T-Zell Antwort in der Dichotomie von Abwehr und Toleranz und intrazelluläre Signaltransportvorgänge bis zur Regulation der Expression einzelner Gene und deren Einbindung in regulatorische Netzwerke studiert. Während die meisten Forschungsansätze mit der Maus als Modell arbeiten, wird in Einzelfällen auch der Mensch analysiert oder als Lieferant für Zellen herangezogen. In Fällen, in denen das Geschehen im ganzen Organismus wegen der Komplexität der Untersuchungen nicht untersucht werden kann, werden einzelne Aspekte in Zellkultur erforscht. Hierbei kommen zunehmend Methoden zum Einsatz, die es erlauben, die kultivierten Zellen wieder funktionsfähig in die Maus zu integrieren und dadurch die Konsequenzen spezifischer, *in vitro* eingeführter Veränderungen beobachten zu können. Hierbei spielen methodische Entwicklungen eine wichtige Rolle. Neuere Ansätze verfolgen die Beschreibung inter- und intrazellulärer Vorgänge als Teile von komplexen Netzwerken durch mathematische Methoden. So werden bioinformatische Methoden eingesetzt, um die experimentellen Arbeiten bei der Interferonregulation und der Biologie T-regulatorischer Zellen systembiologisch zu beschreiben.



Aufklärung regulatorischer Netzwerke aus Expressionskinetiken mit Hilfe bioinformatischer Methoden Grafik: HZI.

03.1 Strukturanalyse des angeborenen Immunsystems

PROJEKTLEITER | Dr. Wolf-Dieter Schubert | Arbeitsgruppe Molekulare Wirt-Pathogen Interaktionen | wds@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Gregor Hagelüken | Thomas Wollert | Maike Bublitz

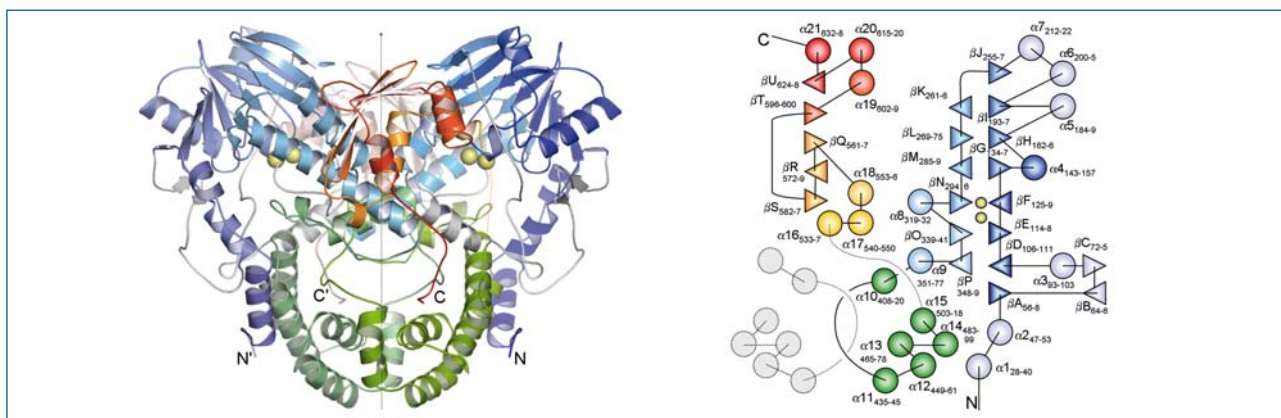
In der Arbeitsgruppe "Molekulare Wirt-Pathogen Interaktionen (MHPI)" des Bereichs Strukturbiologie (SB), befassen wir uns schwerpunktmäßig mit den molekularen Details der breit angelegten menschlichen Verteidigungsmechanismen gegenüber Infektionskeimen, der angeborenen Immunität. Außerdem arbeiten wir an den molekularen Strategien, die pathogene Bakterien nutzen, um den Wirt zu infizieren. Im folgenden wird eine solche Strategie eines pathogenen Bakteriums exemplarisch vorgestellt.

Zahnpasta als Nahrungsmittel Das Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* ist sowohl ein weit verbreiteter Bewohner vieler Gewässer und feuchter Habitate, wie auch ein gefährlicher Keim, der beim Menschen chronische Infektionen wie cystische Fibrose/Mukoviszidose und akute Entzündungen hervorrufen kann. Der Erreger *P. aeruginosa* zeichnet sich insbesondere durch seine hartnäckige Widerstandsfähigkeit gegenüber alltäglichen Putzmitteln aus. Dies führt dazu, dass dieses meist harmlose Bakterium, zu dem am häufigsten übertragenen Krankenhauskeim geworden ist. Andererseits ist *P. aeruginosa* ein gerngesehener Bewohner von Kläranlagen und kommt besonders geballt in von Menschen verunreinigten Gewässern vor. Ein Grund für diese breite Anpassungsfähigkeit dieses Bakteriums ist darauf zurückzuführen, dass *P. aeruginosa* die Fähigkeit besitzt, eine Gruppe von Molekülen abzubauen, die primären Alkylsulfate. Ein besonders prominentes Mitglied dieser Familie ist das SDS (Natriumdodecylsulfat oder Natriumlaurylsulfat), das insbesondere in Shampoos, Zahnpasten und weiteren schäumenden Reinigungsmitteln eingesetzt wird. Der Einzeller nimmt die Bruchstücke dieser Moleküle auf und verwertet sie als Nahrungsquelle.

Wir haben diese Eigenschaft von *P. aeruginosa* näher untersucht und fanden, dass dieser Keim ein Enzym, SdsA genannt, produziert und es an seine Umgebung sekretiert. SdsA ist in der Lage, SDS und ähnliche Verbindungen zu erkennen und es in eine Sulfatgruppe und ein Alkylalkohol zu spalten. Um den zugrunde liegenden Mechanismus zu verstehen, haben wir das Enzym SdsA in größeren Mengen produziert, kristallisiert und mittels Röntgenkristallographie die Raumstruktur erarbeitet.

Inhibitoren für SdsA Das Enzym SdsA aus *P. aeruginosa* besteht aus zwei ineinander verschlungenen Polypeptidketten, je in ähnlichen Farben links und rechts der zentralen Symmetrieachse gezeigt. Jede Kette beginnt am Amino- oder N-terminus (als „N“ annotiert) und läuft mal als Schlaufe (Faden), α -Helix (Spirale) oder β -Faltblattstrang (breiter Pfeil) bis zum Ende, dem Carboxy-Terminus („C“). Farblich sind drei Domänen hervorgehoben: Ein blaue katalytische Domäne, ein grüne Dimerisierungsdomäne und eine in Orangetönen gehaltene Substratbindende Domäne. Letztere erkennt zur Spaltung geeignete Moleküle und leitet diese über eine wasserabweisende Rutsche zur katalytischen Domäne weiter. Diese Domäne bindet zwei positiv geladene Zinkionen (gelbe Kugeln), die ein Wassermolekül so stark polarisieren, dass es das SDS angreift und spaltet.

Wir haben zudem nach Inhibitoren des SdsA gesucht, die von SdsA gebunden aber nicht gespalten werden können. Spuren dieser Inhibitoren, zu Reinigungs- oder Hygienemitteln hinzugefügt, würden SdsA inaktivieren und *P. aeruginosa* die Nahrungsgrundlage entziehen. Einen solchen Inhibitor haben wir in dem Molekül 1-Decansulfonsäure gefunden. Es ist dem SDS chemisch sehr ähnlich, wird durch SdsA jedoch nicht umgesetzt.



Zwei schematische Strukturformen SdsA von *Pseudomonas aeruginosa*. Grafik: HZI



03.2 Signalübertragung und Genregulation

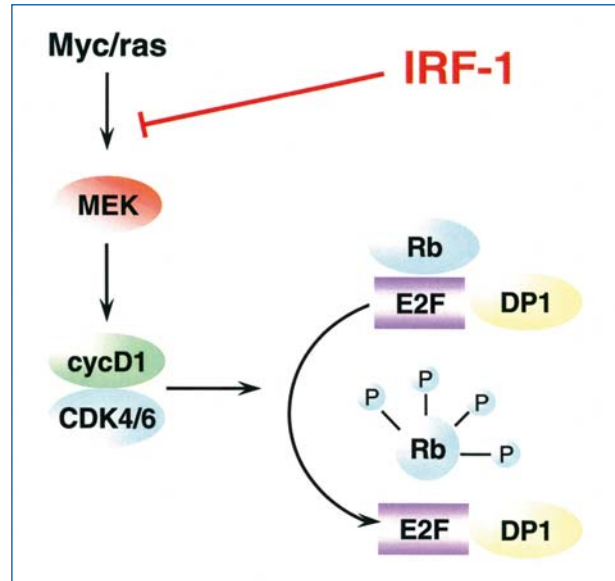
PROJEKTLEITER | Priv.-Doz. Dr. Gerhard Gross | Abteilung für Genregulation und Differenzierung | ggr@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Thomas Böldicke | Dr. Andrea Hoffmann | Katjana Klages | Dr. Mario Köster | Dr. Andrea Kröger | Julia Pulverer | Virginia Seiffart | Sandra Shahab | Anja Wiese

Der Angriff eines Krankheitserregers induziert viele Aktivitäten in der Wirtszelle einschließlich die der angeborenen Immunantwort und Entzündungsreaktionen. Mehrere Untersuchungen in unserem Projekt beschäftigen sich mit der Rolle von Interferonen als einem zentralen Abwehrmechanismus nach einer Infektion. Interferone schützen Zellen vor Virusinfektion, stimulieren das angeborene und das erworbene Immunsystem und beeinflussen entscheidend das Wachstum und das Überleben von Zellen. Unter den Forschungsprojekten, die sich mit dem Interferonsystem auseinandersetzen, charakterisiert eines den Interferon Regulatory Factor-1 (IRF-1) und seine Auswirkungen auf Zell- und Tumorentwicklung. Ziel in diesem Projekt ist die Aufklärung des Signalnetzwerkes, das für die verschiedenen IRF-1-abhängigen Effekte verantwortlich ist.

IRF-abhängige Genregulation IRF-1 ist ein Transkriptionsfaktor, der durch eine ganze Reihe von Zytokinen, Viren und Interferonen induziert wird. Als Transkriptionsfaktor aktiviert IRF-1 auf breiter Ebene Gene, die für eine Inhibition der Zellproliferation, der Tumorentwicklung und der Modulierung der Immunantwort verantwortlich sind. Eine der bedeutendsten Eigenschaften von IRF-1 ist seine Fähigkeit die Veränderung verschiedener Tumorzelllinien zu normalen Zellen zu bewirken. Untersuchungen zur Genexpression zeigen, dass 60% der Gene, die bei Tumorentwicklung dereguliert sind, IRF-1-abhängig wieder zur normalen Expressionshöhe zurückkehren. Damit weist man nach, dass IRF-1 einen zentralen Regulator der Tumorentwicklung darstellt.

Regulation des Zellzyklus Eine andere Eigenschaft der IRF-1-Expression in Tumorzellen ist, diese in der G1-Phase des Zellzyklus zu arretieren. Unsere Untersuchungen zeigen, dass dies insbesondere auf eine Inhibition der Cyclin D1-Expression zurückzuführen ist, einem Faktor, der in vielen Tumorzellen infolge der permanenten Aktivierung des MAPK-Signalweges hochreguliert ist. IRF-1 unterdrückt die Hochregulation der Cyclin D1-Expression durch eine Inhibition des MAPK-Signalweges. Die IRF-1-abhängige Blockierung der Cyclin D1-Expression ist somit ausreichend, um Tumorzellen zu normalen Zellen zu revertieren und die Tumorbildung zu verhindern. Zur Zeit untersuchen wir weitere Gene, die durch IRF-1 bei der Kontrolle des Zellzyklus, der Tumorentwicklung und bei der Abwehr von Infektionen reguliert werden.



IRF-1 verhindert die MAPK-abhängige Stimulierung der Cyclin D1-Expression. Aktivatoren der Zellproliferation und Tumor-induzierende Signale aktivieren den MAPK-Signalweg (MEK), was zur Stimulierung der Cyclin D1 (cycD1) Transkription führt. Cyclin D1 reguliert die Cyclin-abhängigen Kinasen (CDK) 4/6, um pRB zu phosphorylieren und zu inaktivieren. Diese Repression von pRB führt zur Progression des Zellzyklus. Grafik: HZI



03.3 Epigenetische Prinzipien der Genregulation

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jürgen Bode | Arbeitsgruppe Epigenetische Regulationsmechanismen | jbo@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Manfred Wirth | Dr. André Oumard | Dr. Angela Gluch | Dr. Melita Vidakovic | Sandra Broll | Silke Winkelmann | Junhua Qiao | Sören Turan | Andreas Venghaus

Unsere Studien fokussieren auf die funktionelle Organisation genomischer Loci, die Wirt-Pathogen Wechselwirkungen steuern. Im Zentrum stehen die Typ I Interferon-Gencluster von Mensch und Maus. Entzündungsprozesse werden durch Typ I Interferone unterdrückt und damit von Modulatoren der Interferon-Induktion kontrolliert. Interessant ist hierbei ein regulatorisches Netzwerk, das das Faktorenpaar YY1/YY2, das modifizierende Enzym PARP-1 und Elemente der Zellkernstruktur beinhaltet. Letztere werden klassifiziert und stehen für die Konstruktion neuer Vektoren bereit, die die rationale Generierung transgener Zelllinien und -organismen ermöglichen.

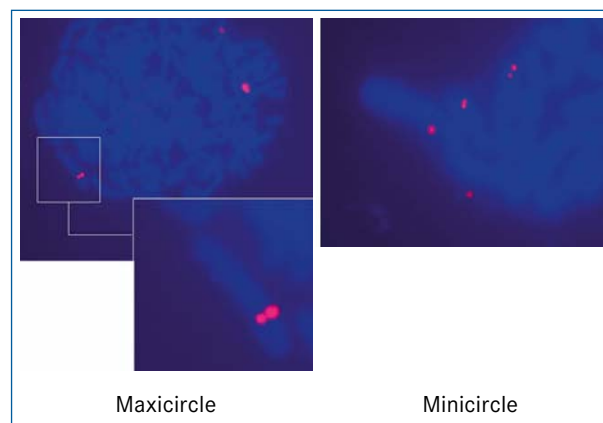
SIDD Analyse von Interferon(I) Induktionsprinzipien Die Zellkernarchitektur ist durch die dynamische Assoziation von „scaffold/matrix attachment regio“-Elementen (S/MARs) mit dem Kernskelett bestimmt. S/MARs begrenzen genomische Regionen auf zellspezifische Weise. Da sie keine Sequenzhomologie, aber gemeinsame strukturelle Prinzipien aufweisen, erfordert ihre Analyse neue Ansätze. Diese haben zu neuen Anwendungen des SIDD-Algorithmus geführt, der zudem neue Prinzipien der Gen-Fernkontrolle aufdeckt – so haben ‚DNase I hypersensitive Stellen‘ eine Entsprechung im SIDD-Profil. Diese Untersuchungen haben signifikante Unterschiede in der Regulation der Interferon- β Gene in Mensch (huIFN- β) und Maus (muIFN- β) aufgezeigt.

Nichtvirale Episome Nichtvirale Episome wurden auf der Grundlage eines huIFN- β assoziierten S/MAR Elements als zirkuläre Vektoren entwickelt. Wir konnten ‚Minicircles‘ in Zellen einführen – zirkuläre Vektoren ohne prokaryotische Anteile. Die Beseitigung der bakteriellen Sequenzen durch ortsspezifische Rekombination führt zu einer Erweiterung der Klonierungskapazität und einer Etablierbarkeit ohne Selektionsdruck. Zudem eliminiert sie jene Sequenzanteile, die sonst zum Ziel zellulärer Abwehrstrategien werden. Somit entstand ein stabil replizierendes Vehikel mit großem Potenzial in verschiedenen gentherapeutischen und biotechnologischen Ansätzen.

Kassettenaustauschtechnologie (RMCE) Das „RMCE“-Verfahren beruht auf Mutanten der Erkennungsstellen (FRT(mut)). Mit einem Satz aus zwei unterschiedlichen FRT-Mutanten lässt sich eine genomische „Adresse“ erstellen, wobei sich Sequenzen zwischen den FRTs gegen ein gleichartig konstruiertes „gene-of-interest“ (GOI) austauschen

lassen. Dabei wird das Gen eingeführt. Derzeit wird die Palette der RMCE-Anwendungen durch „Multiplexing“-Varianten erweitert. Diese erlauben entweder die simultane Modifikation mehrerer genomischer Adressen oder den schrittweisen Ausbau von Chromatindomänen. Voraussetzung sind vier FRT-Stellen, in denen sich jedes Mitglied von allen anderen in vier Positionen unterscheidet, um Kreuzreaktionen zu verhindern. Wir haben zu diesem Zweck sieben neue Mutanten hergestellt, die gegenwärtig getestet werden.

Halo-FISH Techniken Alle geschilderten Versuchsreihen profitieren von Varianten des FISH-Verfahrens – insbesondere dem Halo-FISH. Sie sind geeignet, unabhängig regulierte Chromatindomänen zu visualisieren, den Status von Episomen zu bestimmen und die Eigenschaften retroviraler Integrationsstellen zu ermitteln. Derartige Ansätze zeigten, dass solche Integrationsereignisse immer an der Flanke von S/MARs erfolgen. Diese Ergebnisse greifen, wenn es gilt, Fehlschläge relevanter gentherapeutischer Ansätze zu erklären und zu vermeiden. Die allgemeine Gültigkeit dieses Prinzips zeigt sich auch darin, dass Halo-FISH Ansätze für endogene Retroviren (HERVs), HIV und SIV die gleichen Regeln aufzeigten.



FISH-Analyse zum zellulären Status von Episomen auf Plasmid- bzw. Minicircle Basis. Im Falle episopmlaler Plasmide sind intensive Doublets mit identischen Positionen auf beiden Chromosomenarmen typisch, wodurch Integration nachgewiesen wird (links). Minicircle-Ansätze zeigen hingegen Signale, die über den gesamten Satz an (Metaphase-) Chromosomen verteilt sind (rechts). Typische Kopienzahlen bewegen sich zwischen 5 und 15. Grafik: HZI, Rohde



03.4 Zelluläre Modelle für die Infektion

PROJEKTLEITERIN | Dr. Dagmar Wirth | **Arbeitsgruppe Modellsysteme für Infektion und Immunität** | dkl@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Sara Bantner | Astrid Bergmann | Dr. Kristina Nehlsen | Dr. Tobias May | Priv.-Doz. Dr. Peter Müller | Pamela Riemer | Upneet Sandhu | Dr. Herbert Weich

Transgene Mäuse, aber auch mit Hilfe von adoptivem Transfer etablierte Mausmodelle, werden erfolgreich eingesetzt, um spezielle Fragestellungen zu Infektion und Immunität zu untersuchen. Für das Studium intrazellulärer Prozesse in einem weniger komplexen Hintergrund bieten sich Zelllinien aus diesen Modellen an. In diesem Projekt fokussieren wir auf die Etablierung neuer Modellzelllinien und transgener Mäuse.

Bei der Erstellung von neuen Mausmodellen steht die strikt kontrollierte Expression der transduzierten Gene im Vordergrund. Dafür haben wir sowohl transkriptionelle als auch genetische Schalter in murine embryonale Stammzellen eingebracht. Derzeit werden transgene Mäuse erstellt, die eine kontrollierte Expression von Transgenen in definierten Geweben erlauben.

Neue Generation rekombinanter Produzentenzellen

Für die Erstellung von transgenen Mäusen, aber auch für die definierte genetische Manipulation von Zellen setzen wir den Rekombinase-vermittelten Kassettenaustausch (RMCE) ein. Dieses Verfahren haben wir mit einem stringenten Selektionsprinzip kombiniert und können damit Transgene effizient und gezielt einbringen. Darüber hinaus haben wir definierte Integrationsorte in murinen embryonalen Stammzellen für den Kassettenaustausch zugänglich gemacht. Dies ermöglicht nun die effiziente Etablierung transgener Mäuse mit vorhersagbaren Expressionseigenschaften.

Mit Hilfe der RMCE-Technologie haben wir eine neue Generation rekombinanter Produzentenzellen zur Produktion von rekombinanten Retroviren hergestellt. In HEK293 Zellen wurde ein hochaktiver chromosomaler Integrationsort für den Kassettenaustausch markiert. Dieser Integrationsort wird nun für die Integration von therapeutischen Retrovirusvektoren verwendet. Diese Zelllinie, Flp293A, erlaubt die effiziente Produktion von rekombinanten Retroviren (2×10^7 ip/10⁶ Zellen) und wird derzeit für die Produktion von therapeutischen Viren evaluiert.

Immortalisierte Zellen Permanente Zelllinien geben aufgrund ihrer genetischen Veränderungen nur eingeschränkt die Eigenschaften der primären Ausgangszellen wieder. Wir haben eine Methode zur konditionalen Immortalisierung von Zellen entwickelt. Hierfür setzen wir ein strikt kontrolliertes Regulationssystem ein, das eine Doxycyclin-abhängige Expression der Immortalisierungsgene gewährleistet. Darüber hinaus erlauben die Kassetten die Transduktion in einem Schritt und die virale Transduktion und damit die effiziente Implementation des Systems in verschiedene Zelltypen inklusive stationärer Zellen.

Endothelzellen Endothelzellen sind eine wichtige Barriere für Pathogene und spielen eine wichtige Rolle in Infektions- und Inflammationsprozessen. Wir untersuchen den Unterschied zwischen Blut- und Lymphendothelzellen hinsichtlich der phenotypischen Eigenschaften, Oberflächenmarkerexpression und Genexpressionsprofilen. Darüber hinaus haben wir Arbeiten zur Prozessierung von Antigenen sowie der Reaktivität dieser Zellen hinsichtlich Inflammationsmediatoren initiiert.

Die Zellen und Mäuse der oben beschriebenen Modelle werden auch eingesetzt um die Wechselwirkungen zwischen Zellen, Implantationsmaterialien und Bakterien zu verstehen. Zellwachstum, Zellphysiologie und RNA Expressionsprofile inklusive einer bioinformatischen Analyse wurden verfolgt. Hierbei konnten wir Zellproliferation, Entzündungsereignisse und den Sterolmetabolismus als wichtige Targets für Ionen aus metallischen Implantationsmaterialien identifizieren.

03.5 Entwicklung und Funktion von T-Zellen

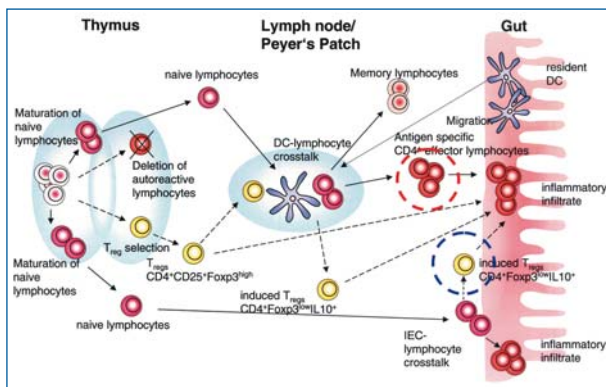
PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Jan Buer | Arbeitsgruppe Mukosale Immunität | jab@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Astrid M. Westendorf | Dr. Robert Geffers | Dr. Wiebke Hansen | Dr. Lothar Gröbe | Dr. Sya Ukena | Diana Fleißner | Simone Reinwald | Andreas Jeron

Im Mittelpunkt unserer Arbeiten stehen die Erforschung von spezifischen Mechanismen der Induktion immunologischer Toleranz und die Regulation pathogen-spezifischer Immunantworten durch funktionelle Genomanalyse. Unser Ziel ist es, neue und hocheffektive Therapieansätze für Erkrankungen mit gestörter Immunfunktion zu entwickeln, wie sie bei chronischen Entzündungen und Infektionserkrankungen vorkommen.

Mukosale Immunität des Gastrointestinaltraktes Im Fokus dieser Arbeiten ist die Erforschung grundlegender Mechanismen mukosaler Immunregulation und deren gezielte „Therapeutische Manipulation“ bei chronischen Entzündungen. Wir haben neue transgene Mausmodelle für mukosale Entzündungen des Darms etabliert und uns mit der Beeinflussung des mukosalen Mikromilieus durch humanpathogene Krankheitserreger und Probiotika beschäftigt.

Um grundlegende Mechanismen T-Zell-vermittelter Immunreaktionen, mukosaler Dysregulation und peripherer Toleranzinduktion bei Erkrankungen des Darms besser zu



Wie werden pathogen-spezifische Immunantworten im Darm reguliert? Das Immunsystem der Schleimhäute des Darms (mukosales Immunsystem) steht vor der schwierigen Aufgabe, dass es gegenüber einer Vielzahl von Nahrungsbestandteilen tolerant sein muss und gleichzeitig eine effiziente Barrierefunktion gegenüber potentiellen Pathogenen (Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten) darstellen muss. Hierfür ist eine feinabgestimmte Wechselwirkung von Epithelzellen, Antigen-präsentierenden Zellen und Effektorzellen erforderlich. Wir konnten in den letzten Jahren grundlegende Mechanismen T-Zell-vermittelter Immunreaktionen, mukosaler Dysregulation und peripherer Toleranzinduktion bei Erkrankungen des Darms aufklären und zeigen, dass insbesondere der lokalen Immunregulation durch regulatorische T-Zellen eine besondere Bedeutung für die Aufrechterhaltung des mukosalen Gleichgewichts zu kommt. Grafik: HZI

verstehen, haben wir eine transgenes Mausmodell etabliert. Es beruht auf der transgenen Expression eines Modellantigens – des Influenza Hämagglutinins (HA) – in Epithelzellen des Darms. In diesem Modell konnten wir einen wichtigen Mosaikstein der Pathogenese chronisch-entzündlicher Darm-entzündungen aufklären. Das Modellsystem wird inzwischen von nationalen und internationaler Kooperationspartner genutzt, um die Zusammenhänge von Infektion, Entzündung und Tumorentstehung im Gastrointestinaltrakt zu entschlüsseln.

Regulatorische T-Zellen Regulatorische T-Zellen (Treg) spielen bei immunologischer Toleranz eine zentrale Rolle. Hat ein Organismus zu wenig dieser Zellen, kann das Immunsystem überreagieren und körpereigenes Gewebe angreifen. In schweren Fällen führt eine solche Reaktion zu Autoimmunerkrankungen wie Rheuma, Multipler Sklerose oder Diabetes vom Typ 1. Die Funktion regulatorischer CD4⁺ T-Zellen bei der Vermeidung von Autoimmunreaktionen im Gastrointestinaltrakt ist gesichert – ebenso wie ihre Rolle bei chronischen Infektionen. Für ein besseres Verständnis der Funktion von Treg-Zellen bei der Vermeidung von autoreaktiven Immunantworten, haben wir Transkriptomanalysen mit unterschiedlichen regulatorischen T-Zellpopulationen in der Maus und am Patienten durchgeführt. Diese Analysen führten zu weiteren interessanten aktivierungs-unabhängigen Markergenen von Treg-Zellen (Neuropilin-1 und GPR83). Die diagnostische Relevanz von Neuropilin-1 als molekularem Marker hat sich im Rahmen klinischer Studien gezeigt. Außerdem haben wir naive T-Zellen durch retrovirale Transduktion von Kandidatengenen manipuliert und anschließend *in vivo* getestet.

In einem aktuellen Forschungsprojekt zur peripheren Immunregulation ist es uns in Kooperation mit Prof. Dr. Christoph Klein (Medizinischen Hochschule Hannover) gelungen, Gfi1 als wichtigen Transkriptionsfaktor für die Reifung und Aktivierung dendritischer Zellen zu identifizieren. Dies führte uns zu einem neuen Schlüsselmolekül: Adaptorprotein p14, mit dem wir ein neues primäres Immundefizienzsyndrom verstehen konnten.

Für die molekulare Charakterisierung von Treg-Zellen im Rahmen klinischer Studien haben wir einen Designerarray mit ca. 350 humanen Treg-assoziierten Transkripten entwickelt und neue molekulare „Pathways“ identifiziert. Wir entwickeln Studien, um mit dieser neuen Technologie gemeinsam mit klinischen Partnern Autoimmun-, Tumor- und Infektionserkrankungen zu charakterisieren. Es ist unser Ziel ein „Signalling-Network“ humaner Treg-Zellen zu generieren, um neue Ansatzpunkte für eine therapeutische Manipulation dieses regulatorischen Netzwerkes zu identifizieren.



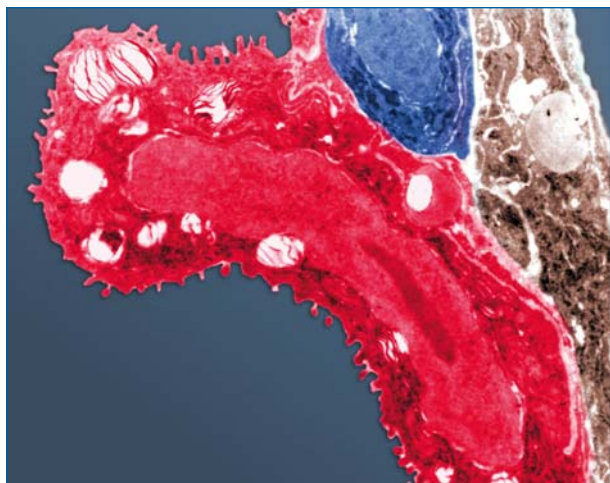
03.6 Mukosale Immunität und Entzündung

PROJEKTLEITERIN | Dr. Dunja Bruder | Arbeitsgruppe Immunregulation | dbr@helmholtz-hzi.de

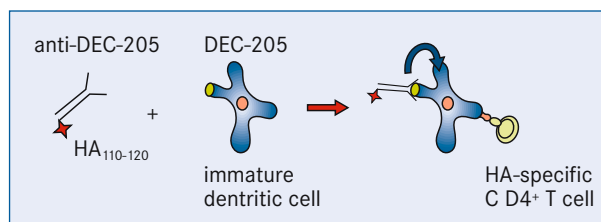
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Marcus Gereke | Milena Tosiek

Die Arbeitsgruppe Immunregulation beschäftigt sich mit der Charakterisierung des Zusammenspiels verschiedener Immunzellen (CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, Epithelzellen und alveolare Dendritische Zellen) in einem transgenen Mausmodell für T-Zell-vermittelte Entzündung in der Lunge. Diese Untersuchungen sollen in Zukunft auch auf Influenza-A-infizierte Mäuse ausgeweitet werden. Ziel ist es, ein besseres Verständnis grundlegender Mechanismen der Entstehung von Autoimmunität und der peripheren Toleranzinduktion zu erlangen. Es sollen auch therapeutische Ansätze zur Immunmodulation getestet werden, die auf der Induktion regulatorischer T-Zellen durch unreife Dendritische Zellen beruhen. Sie wurden im Mausmodell für Typ-1- Diabetes bereits etabliert und erfolgreich angewendet.

Immunregulation in der Lunge In der Vergangenheit haben wir ein transgenes Mausmodell etabliert, das auf der Expression des Influenza-Hämagglutinins in der Lungenschleimhaut basiert. Verpaart man diese Mäuse mit Mäusen, die reaktive T-Zellen spezifisch für dieses Protein tragen, kommt es zu einer schweren Entzündung in der Lunge. Chronische Antigenstimulation in der Lungenschleimhaut führt zur Induktion regulatorischer T-Zellen, die der Entzündung entgegenwirken. Wir beschäftigen uns mit den Mechanismen, die dieser Toleranzinduktion zugrunde liegen. Die Epithelzellen, die das krankheitsverursachende Antigen in der Lunge exprimieren, sind aktiv an der Induktion aber auch Regulation T-Zell-vermittelter Immunität in der Lungenschleimhaut beteiligt. Ziel ist es, die komplexen Mechanismen, die Störungen im schleimhautassoziierten



Die Abbildung zeigt, wie ein aktivierter T-Lymphozyt (blau) auf seinem Weg durch das Lungengewebe (braun) in Kontakt mit einer alveolaren Epithelzelle (rot) kommt. Foto: HZI



Zusammenführen von Antigen mit einer unreifen dendritischen Zelle

Immunsystem der Lunge zugrunde liegen, besser zu verstehen und therapeutisch zu beeinflussen. Ein weiterer Aspekt, den wir in Zusammenarbeit mit der Yale University School of Medicine in Zukunft in diesem Mausmodell intensiver bearbeiten werden: Hat eine Influenza Infektion den Verlust immunologischer Toleranz in der Lunge zur Folge und somit Einfluss auf die Induktion von Autoimmunität?

Mausmodell für Autoimmunhepatitis In Kooperation mit der Harvard Medical School haben wir ein neues Mausmodell etabliert, das auf der Deletion des „Autoimmune Regulators“ AIRE basiert. Fehlt dieser Faktor entstehen sowohl beim Menschen, als auch in der Maus Autoimmunerkrankungen. Eine erste Charakterisierung der Mäuse hat gezeigt, dass der Gendefekt zur Entwicklung von Autoimmunhepatitis führt. Molekulare Analysen deuten darauf hin, dass ähnlich wie in der Lunge auch in der Leber periphere Toleranzmechanismen greifen, die zu einer Expansion regulatorischer T-Zellen am Ort der Entzündung führen. Bisher gibt es wenige geeignete Mausmodelle für Autoimmunhepatitis. Daher könnten weiterführende Untersuchungen der immunologischen Toleranz in der Leber AIRE-defizienter Mäuse wertvolle Einblicke in die Mechanismen dieser Erkrankung liefern.

Therapeutische Intervention bei Typ-1-Diabetes In einem weiteren transgenen Mausmodell für Typ-1-Diabetes haben wir erfolgreich einen Ansatz zur therapeutischen Intervention getestet. Er beruht darauf, dass ein Bauchspeicheldrüsen-spezifisches Proteinantigen unreifen Dendritischen Zellen über ein Antikörpertargeting zugeführt wird. Eine Stimulation diabetogener T-Zellen über diese unreifen Dendritischen T-Zellen führt in Mäusen mit Veranlagung zu Typ-1-Diabetes zur Induktion regulatorischer T-Zellen, die den Ausbruch der Erkrankung verhindern. Derzeit führen wir eine BMBF geförderte Studie zur Sicherheit dieses therapeutischen Ansatzes durch. Langfristiges Ziel ist eine mögliche Anwendung dieser therapeutischen Antikörper in klinischen Studien.

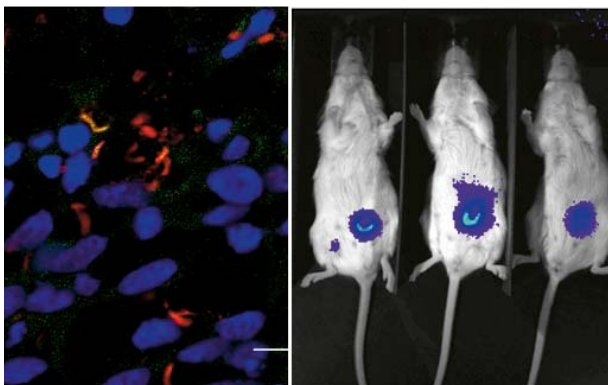


03.7 Immuneffektoren: Moleküle, Zellen und Mechanismen

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

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

Nach dem Eindringen in den Körper infizieren krankheits-erregende Bakterien gezielt bestimmte Organe und Zellen des Wirts. So findet man *Listeria monocytogenes* nach intra-venöser Infektion von Mäusen nur in Milz und Leber. Wir haben uns dabei mit der Milz befasst und konnten zeigen, dass sie hauptsächlich eine bestimmte Art von Makrophagen der Marginalzone infizieren, die den Zelloberflächenmarker ERTR-9 tragen, und zu einem geringeren Ausmaß auch dendritische Zellen und neutrophile Granulozyten. Die infizierten Makrophagen sind höchst wahrscheinlich auch die Zellen, die die ersten Zytokine produzieren, wie z.B. Typ I-Interferone (IFNs). IFNs sind verantwortlich für die Induktion von Apoptose bei T-Zellen während einer Listerien-Infektion.



Tumore, die mit *Salmonellen* kolonisiert sind und induzierbare Leuchtkäfer-Luziferase tragen, wurden immunhistologisch analysiert (Rot = Bakterien, Blau = Zellkerne der Tumorzellen). Gezeigt sind nekrotische Bereiche, in denen keine lebenden Tumorzellen gefunden werden können (links). Die Induktion der Luziferase kann nach Verabreichung des Substrates Luziferin auf der Haut der Maus leuchten und mit einer sensitiven Kamera detektiert werden, ohne dass die Maus getötet werden muss. Fotos: HZI, Westphal, Löbner

Aktivieren von Komplement Die Zellspezifität der Listerien liegt vermutlich daran, dass die Bakterien zelluläre Oberflächenmoleküle zum Eindringen verwenden. Zum Beispiel handelt es sich bei ERTR-9 um ein Lektin, das an die Zuckerstruktur der Zellwand von Listerien bindet. Auch der Komplement-Rezeptor Mac1 scheint beteiligt zu sein. In Mäusen, denen die essentielle Komplement-Komponente C3 fehlte, wurden bestimmte Zellen nicht mehr infiziert. Listerien sind bekannt dafür, dass sie Komplement aktivieren. Deshalb erscheint die Spezifität für einen Komplement-Rezeptor nachvollziehbar.

Bakterien gegen Krebs In einem weiteren Projekt haben wir die erstaunliche Eigenschaft von bestimmten Bakterien ausgenutzt, sich in festen Tumoren anzureichern. Mehrere Stämme von *Salmonellen*, *Escherichia coli* und *Shigella flexneri* wurden getestet. Wir konnten zeigen, dass kurz nach der Verabreichung weniger Bakterien im Tumor zu finden waren. Diese Bakterien waren in der Nähe der Blutgefäße des Tumors zu finden. Im Verlauf der Besiedelung schienen die Bakterien allerdings Nekrosen zu verursachen und kolonialisierten verstärkt den Tumor. Trotzdem konnten diese Tumore nach einer kurzen Phase der Wachstumsinhibition weiter wachsen. Jetzt wollen wir versuchen, die Eigenschaft der getesteten Bakterien auszunutzen, um therapeutische Moleküle wie zum Beispiel Toxine mit Hilfe der Bakterien direkt in den Tumor einzuschleusen. Um dies optimal zu erreichen, wurde ein Problem dieser bakteriellen Vektoren gelöst, denn die Expression rekombinanter Proteine in Bakterien – speziell *in vivo* – stellt für den Mikroorganismus eine extreme Belastung dar. Deshalb haben wir ein System etabliert, das es den Bakterien erlaubt, zunächst den Tumor zu besiedeln und dann erst die Genexpression anzuschalten. Wir haben dazu einen bakteriellen Promotor verwendet, der durch den Zucker L-Arabinose aktiviert werden kann. Wenn wir diesen Promotor verwenden, um die Luziferase des Leuchtkäfers zu exprimieren, können wir die Genexpression mit einer sensitiven Kamera in der lebenden Maus nachweisen. Dieser Promotor ist sehr präzise kontrolliert, so dass selbst bakterielle Suizidgene induzierbar exprimiert werden können. Dies trägt erheblich zur Sicherheit der Bakterien für die Immun- und Gentherapie bei.



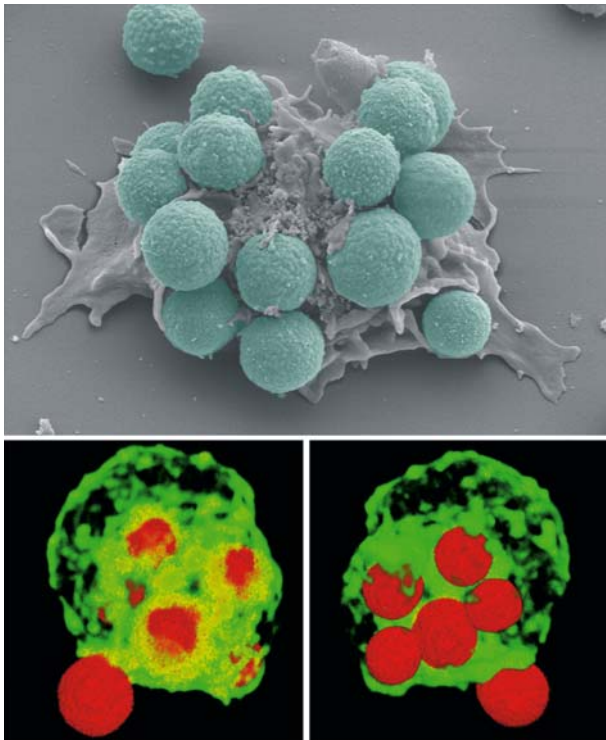
03.8 Bildliche Darstellung der zellulären Dynamik immunologischer Prozesse

PROJEKTLEITER | Dr. Matthias Gunzer | Nachwuchsgruppe Immundynamik | mgu@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Peter Reichardt | Dr. Raluca Niesner | Dr. Cindy Nitschke | Sabine Stegemann | Mike Hasenberg | Priyanka Narang | Bastian Dornbach | Anja Köhler

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

Beobachtung von Immunzellen Obwohl dieser Transportprozess ein zentraler Bestandteil der zellulären Immunität ist, wurde er bisher kaum unmittelbar beobachtet, so dass



Eine dendritische Zelle als Anziehungspunkt für Antigen-spezifische T-Zellen während des Prozesses der T-Zellaktivierung. Die „Spaghetti“-Strukturen drumherum stellen Fasern einer künstlichen extrazellulären Matrix aus 3-D-Kollagenfasern dar. Fotos: HZI, Narang, Rohde, Gunzer

nicht viel über seine Dynamik *in vivo* bekannt ist. In vielen Fällen lassen sich Defekte in der Entstehung der Immunantwort mit einer gestörten Wanderung der DC erklären. Die Immuntherapie von Krebs versucht, DC als Träger für Tumorantigene zu verwenden. Das ungelöste Hauptproblem ist, nicht zu wissen, wie sich DC im Patienten optimal anwenden lassen, ohne ihre eigene Wanderungsfähigkeit zu beeinträchtigen. Methoden, mit denen die normale und gestörte DC-Wanderung *in vivo* sichtbar gemacht werden kann, wären ein nützliches Hilfsmittel: Es könnten neue Aufschlüsse über diesen grundlegenden Prozess gewonnen, Impfverfahren optimiert und Krankheitsprozesse besser verstanden werden. Ein weiterer intensiv untersuchter Aspekt der zellulären Immunität sind die physikalischen Wechselwirkungen der T-Zellen mit den APC während der Antigenpräsentation. Die aktuellen Theorien über diese Wechselwirkungen beruhen auf *in vitro* Untersuchungen. Erst kürzlich konnte man mit bildgebenden Verfahren an explantiertem Lymphgewebe und Lymphknoten *in vivo* auch Erkenntnisse über die sehr dynamischen Wandlungsvorgänge im lymphatischen Gewebe gewinnen. Solche Untersuchungen dürften zu ganz neuen Vorstellungen über die *in vivo* Aktivierung der T-Zellen und die gestörten Abläufe bei Infektionen mit tödlichem Ausgang führen.

Hochauflösende Bilder Mit neuesten mikroskopischen Techniken können wir zelluläre Immunität in ihrem natürlichen Umfeld sichtbar machen. So verschaffen wir uns bessere Kenntnis über die biophysikalische Dynamik, die diesen Prozessen zugrunde liegt. Ein wichtiges Hilfsmittel zum Aufstellen und Überprüfen unserer Arbeitshypothesen ist die Analyse der Zelldynamik in künstlichen extrazellulären Matrizen. Parallel haben wir die Bildgebung in explantierten Lymphknoten und an Lymphknoten in lebenden Mäusen entwickelt. Zu diesem Zweck setzen wir Zeitraffer-Konfokalmikroskopie und Zwei-Photonen-Mikroskopie ein. Mit letzterer lassen sich hoch auflösende Bilder tief aus dem Inneren lebenden Gewebes gewinnen. Um ein komplettes Bild zu bekommen, müssen die Aufnahmeverfahren sowohl auf Seiten der Immuninduktion, als auch der Immunintervention angewandt werden. Dazu untersuchen wir in einem DFG-Projekt die Immunantwort gegen eine Infektion mit dem pathogenen Pilz *Aspergillus fumigatus* in der Lunge lebender Tiere. Davon versprechen wir uns bessere Kenntnisse über die Entwicklung von Immunprozessen, wie sie ihre Funktion erfolgreich erfüllen und wann oder warum sie versagen.



03.9 Bioinformatik zellulärer Netzwerke

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

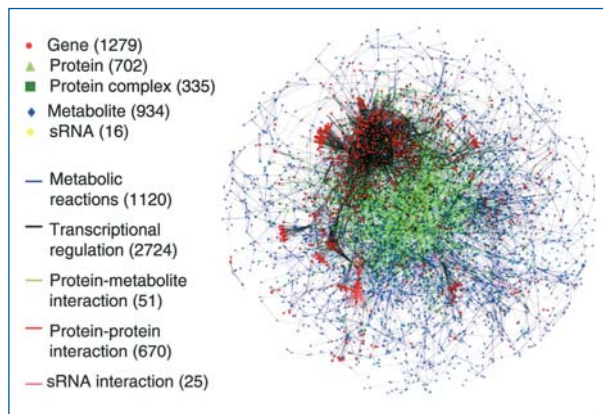
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Michael Stelzer | Dr. Jibin Sun | Dr. Márcio Rosa da Silva | Feng He | Bharani Kumar

Phänotypische Eigenschaften von Zellen entstehen durch Interaktionen zwischen Genen, Proteinen und Metaboliten. Um zelluläre Prozesse und ihre Regulierung verstehen zu können, ist es notwendig, die molekularen Netzwerke vertikal in ein Interaktom zu integrieren und ihre globale Struktur zu untersuchen.

Integriertes molekulares Netzwerk Hierzu konstruierten wir ein integriertes molekulares Netzwerk (IMN) von *Escherichia coli*. Es basiert auf metabolischen Reaktionen, Metabolit-Protein-Interaktionen (MPI) und transkriptionellen Regulationsdaten. Wir untersuchten drei grundlegende Aspekte zellulärer Prozesse: Rückkoppelungsregulation der Genexpression, Netzwerk motive und globale Organisation. Überraschenderweise fanden wir, dass die Rückkoppelungsregulation der Genexpression in *E. coli* exklusiv durch MPIs vermittelt wird und es wurden 69 solcher „feedback loops“ (FBLs) identifiziert. Eine eingehende Analyse des IMN zeigte eine „bow-tie“-ähnliche Verknüpfungstruktur mit drei verschachtelten molekularen Ebenen. Alle FBLs konnten nur im Kern der „bow-tie“-Struktur gefunden werden. Wir entdeckten 13 drei-Knoten-Netzwerk motive einschließlich fünf zusammengesetzter Motive mit zwei verschiedenen Typen von Interaktionen. Die Analyse ihrer Signifikanz in der „bow-tie“-Struktur zeigte: Rund 75% von ihnen sind verknüpft, dabei bilden sie das Rückgrat des sogenannten „giant strong component“ (GSC).

Analyse der Modularität von IMN Ein Gruppierungsparameter war die Modularität – die modulare Analyse erfolgte durch ein integriertes molekulares Netzwerk von *E. coli*. Es wurde herausgefunden, dass eine Gruppierung Gene bekannter ähnlicher Funktion in gut definierten, physiologisch verwandten Modulen signifikant einteilte. Die Identifizierung von Netzwerk motive und diese in Wechselbeziehung mit Modulen hoch verknüpfter Knoten zu bringen, kann ihre potenziell funktionelle Rolle definieren. Zu diesem Zweck entdeckten und analysierten wir 12 hoch signifikante drei-Knoten-Netzwerk motive. Eine Verteilungsanalyse dieser Motive zeigt, dass sie grundlegende Muster der Regulation und Organisation von Genen in Modulen darstellen.

Voraussage funktioneller Verbindung zwischen Genen und/oder Proteinen Um funktionelle Verbindungen zwischen Genen vorhersagen zu können, entwickelten wir eine neue Methode, die als „trend correlation“ (TC) bezeichnet wird. Eine signifikante Anzahl von Genpaaren, die ausschließlich durch die TC-Methode abgeleitet wurden, sind Prozess-, Identitäts- oder Funktionsähnlichkeitspaare, oder sie haben gut dokumentierte biologische Interaktionen. Dazu gehören 443 bekannte Proteininteraktionen und einige bekannte, auf den Zellzyklus bezogene Regulationsinteraktionen. Ferner erreicht der Prozentsatz der Prozess-, Identitäts- und Funktionsähnlichkeitsgene 60,2% bzw. 55,6% für einen p-Schwellenwert von $1E-5$ unter dem gemeinsamen Teil der drei Methoden. Das ist eine gute Basis für weitere experimentelle und funktionelle Untersuchungen. Die TC-Methode kann die bisherigen Methoden zur Vorhersage funktioneller Verknüpfungen in einem biologischen Netzwerk signifikant erweitern und ist vor allem hilfreich bei der Nutzung von Zeit-Serien-Daten.



Interaktom: *E. coli*



Prävention und Therapie

THEMENSPRECHER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Abteilung für Impfstoffentwicklung | cag@helmholtz-hzi.de

Ein Drittel aller Todesfälle, die jährlich weltweit auftreten, werden direkt durch Infektionskrankheiten verursacht. Zudem sind pathogene Mikroorganismen für mindestens 15% neuer Krebserkrankungen verantwortlich und ebenfalls an der Pathogenese vieler chronischer Krankheiten beteiligt. Darüber hinaus wird die Bedrohung der Volksgesundheit durch Infektionskrankheiten durch das weltweite Auftreten multiresistenter Stämme weiter verstärkt. Somit besteht eine Notwendigkeit, neue Ansätze zur Bekämpfung mikrobieller Pathogene zu schaffen. Hauptziel dieser Themen ist die Entwicklung neuer Werkzeuge und Strategien, um ansteckenden Krankheiten vorzubeugen und sie zu therapieren.

Die Forschung im Bereich der Antiinfektiva konzentriert sich sowohl auf die Identifizierung als auch auf die Struktur-/Funktionsanalyse neuer Wirkstoffe sowie auf die Klärung ihrer Wirkungsmechanismen. Für die Suche nach kleinen Molekülen mit antiinfektiver Wirkung werden mikrobielle Extrakte und kombinatorische chemische Bibliotheken eingesetzt. Diese Aktivitäten sind in der „Chemischen Pipeline“ des HZI zusammengefasst.

Innerhalb des Projekts „Mikroorganismenvielfalt und Naturstoffe“ wurde eine neue Gruppe thermophiler und mesothermophiler Myxobakterien hinsichtlich ihres biosynthetischen Potenzials evaluiert. Weiterhin wurden neue Isolate auf ihre Eignung als Wirte für die Expression von Polyketid-Synthase Genclustern überprüft. Auch wurden Studien durchgeführt, um den Mechanismus des antimykotischen Benzolaktons Cruentaren A aufzuklären. Es wurde gezeigt, dass diese Komponente die FOF1 ATPase der Mitochondrien spezifisch hemmt.

Die Projekte „Medizinische Chemie von Antiinfektiva“ und „Entwicklung neuer Antibiotika aus natürlichen Quellen“ konzentrieren sich auf die Naturstoffsynthese und das Design optimierter Analoga. Erst kürzlich konnte die komplette 3D-Struktur der natürlich vorkommenden Makrolidantibiotika Archazolid, Etnangien und Chivosazol sowie die neue Anti-Tuberkulose-Leitstruktur Thuggacin aufgeklärt werden. Neue präparative Methoden wurden entwickelt, welche die effektive und konvergente Synthese von bioaktiven Schlüsselsynthonen, wie den chiralen Aminen oder stereogenen Polyketiden erlauben. Diese Methoden und ein detailliertes Verständnis ihrer molekularen Architektur ermöglichen die komplette Synthese dieser pharmazeutischen Leitstrukturen und bilden die Grundlage für die Entwicklung vereinfachter Analoga mit verbesserten chemischen und/oder biologischen Eigenschaften.

Innerhalb des Projekts „Chemische Biologie von Infektionskrankheiten“ wurden die notwendige Infrastruktur und die Methoden für eine systematische Entdeckung neuer Antiinfektiva auf der Basis kombinatorischer Synthese und Hochdurchsatz-Screening erfolgreich etabliert. Mit Hilfe unseres Wirkstoffarchivs, das zur Zeit über 90.000 Substanzen umfasst, wurden bereits sehr vielversprechende kleine Moleküle mit antitumoraler, antiviraler und antiinfektiver Aktivität entdeckt. Ferner konnten Verbindungen synthetisiert werden, die sowohl als Adjuvantien als auch als Inhibitoren für bakterielle Biofilme fungieren, und darüber hinaus als Substanz für „Quorum-Sensing“-Untersuchungen eingesetzt werden.

Einer der wichtigsten Krankheitserreger von Pilzinfektionen in Krankenhäusern ist *Candida albicans*, welcher besonders bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem auftritt. Auf Grund dieser Tatsache wurde im Projekt „Identifizierung von molekularen Zielen von Antiinfektiva“ ein *in-vitro*-Infektionsmodell von Makrophagen durch *C. albicans* ausgewählt, um Untersuchungen über die zugrunde liegenden Mechanismen durchzuführen. Als Zielverbindungen hat man immunstimulierende/-hemmende Moleküle und Fungizide

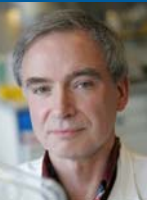
gewählt, deren molekularer Wirkmechanismus noch unbekannt ist. Man hat eine *C. albicans* Mutante identifiziert, die eine erhöhte Empfindlichkeit aufweist. Auf der Wirtsseite deuten erste Ergebnisse darauf hin, dass durch Einwirkung ausgesuchter mykobakterieller Sekundärstoffwechselprodukte Zytokine als direkte Makrophagenantwort ausgeschüttet werden.

Das „Antigen-Anlieferungssysteme und Impfstoffe“-Projekt ist auf die Entwicklung von Werkzeugen und Strategien ausgerichtet, um die Vakzinanlieferung – hauptsächlich über die Schleimhäute – zu optimieren. Das Protein p17 von HIV-1 ist ein strukturelles Protein, das im Lebenszyklus des Virus essentiell ist. Intranasale Immunisierung mit p17 und einem synthetischen Agonisten des „Toll-like“ Rezeptors 2/6 (MALP-2) leiteten eine starke systemische und mukosale Immunantwort ein. Funktionale Charakterisierungsstudien zeigten, dass MALP-2 die Aktivierung und Reifung von B-Zellen fördert, welche wiederum für die Stimulierung der T-Zell-Antwort notwendig ist. Weiterhin wurde eine neue T-Zell-Subpopulation identifiziert, die immunomodulatorische Eigenschaften im nasal-assoziierten lymphoiden Gewebe aufwies. Diese Zellen helfen eine lokale Toleranz zu erhalten, die durch die Anregung der „Toll-like“ Rezeptor-Signalkaskade umgekehrt werden kann. Schließlich wurde ein neuer SopB vermittelter „immune-escape“-Mechanismus in *Salmonella* spp. identifiziert, welcher unterbrochen werden kann, um die Effizienz von Lebend-Impfstoffen zu verbessern.

Das Projekt „Therapeutische zelluläre Impfstoffe“ zielt auf die Entwicklung von Strategien zur Unterbrechung des „immune-escape“-Mechanismus, welcher in chronischen Infektionen aktiv ist. Zur Untersuchung der Interaktionen zwischen Immunzellen und Zielzellen wurden hoch auflösende 3D-„imaging“-Techniken etabliert. Antigenpräsentierende Zellen wurden durch adenovirale Vektoren modifiziert, welche Antigene und immunmodulierende Moleküle kodieren, die zur Verbesserung der Antigenpräsentationskapazität dienen. Zur Evaluierung der modifizierten Zellen wurde ein transgenes Mausmodell etabliert, welches Influenza-Hemagglutinin als Auto- und Ersatz-Tumorantigen benutzt. In einem zweiten experimentellen Modell führte die Aktivierung des Interferon-Regulationsfaktors-1 zur Hemmung des Tumorwachstums. Zur Umsetzung der Grundlagenforschung in Zelltherapien wurden cGMP konforme Produktionspläne für adenovirale Vektoren und modifizierte dendritische Zellen erstellt, welche in einem geschlossenen integrierten Beutelsystem benutzt werden können.



Marita Sylla verfolgt die Konzentrierung eines mikrobiellen Extrakts im Rotationsverdampfer Foto: HZI, Bierstedt



04.1 Mikroorganismenvielfalt und Naturstoffe

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

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Klaus Gerth | Dr. Rolf Jansen | Dr. Brigitte Kunze | Dr. Herbert Irschik | Dr. Gabriella Molinari | Heinrich Steinmetz

Weltweit sind 25 % der Todesfälle auf mikrobielle Infektionen zurückzuführen. Der Kampf gegen resistente Keime erfordert neue und bessere Wirkstoffe, die jedoch – nach Jahrzehnten großer Anstrengung auf der Suche nach solchen – immer schwieriger zu finden sind. Dennoch bleiben auch in Zukunft Naturstoffe und ihre Derivate eine reiche Quelle für neue Leitstrukturen. Mehr als 60 % der zur Zeit verwendeten pharmazeutischen Wirkstoffe sind Naturstoffe und zeichnen sich durch eine hohe chemische Vielfalt aus. Mikroorganismen repräsentieren 90 % der biologischen Diversität und weniger als 1 % von ihnen ist bisher erforscht. Ganz offensichtlich liegt hier ein Schatz, der in Zukunft noch erschlossen werden muss.

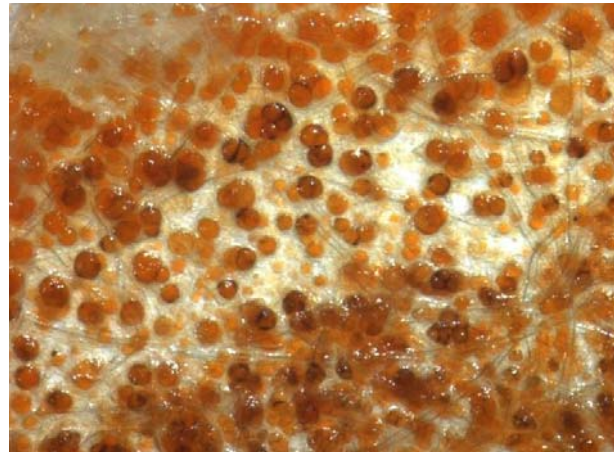
Neue Screening-Modelle für Naturstoffe Unsere Forschungsplanung umfasst die Isolierung und Kultivierung neuer Mikroorganismen und die gleichzeitige Entwicklung neuer Screening-Modelle, um neue Naturstoffe mit neuartigen Wirkmechanismen zu entdecken.

Wir können auf eine große und weiter wachsende Sammlung von mikrobiellen Extrakten zurückgreifen, von Myxobakterien, anderen gleitenden Bakterien und Mikroorganismen aus unerforschten und seltenen Biotopen. Extrakte, die in mehreren parallelen Screens interessante biologische Wirkungen zeigen, werden weiter bearbeitet. Neue Screens werden entwickelt, um neue Aktivitäten zu erkennen – wie etwa Biofilm- oder Neuraminidase Inhibitoren. Chemische Charakterisierungen der ausgewählten aktiven Extrakte werden zeigen, ob die aktiven Komponenten auf neuartige chemische Verbindungen zurückzuführen sind.

Neue Metabolite Eine neue Gruppe mesothermophiler Myxobakterien wurde entdeckt und auf ihr biosynthetisches Potenzial hin untersucht. Gleichzeitig wurden sie auf ihre Eignung als Wirte zur heterologen Expression von Polyketid-Synthese Genclustern hin untersucht – in Zusammenarbeit mit R. Müller, Saarbrücken.

Hunderte von Stämmen anderer gleitender Bakterien wie Flexibakterien oder Lysobakterien wurden gescreent. Etwa 50 % bzw. 70 % erwiesen sich als Produzenten von Wirkstoffen. Neue Metabolite wurden identifiziert und deren Strukturaufklärung ist in Arbeit. Die Aufklärung der kompletten Struktur von Catacandin, einer Verbindung aus Lysobakterien, läuft.

Der Wirkmechanismus von Cruentaren A wurde untersucht. Dieses starke antifungische und zytotoxische Benzolacton wird von dem Myxobakterium *Byssophaga cruenta* produziert. Studien zu diesem unbekanntem molekularen Target zeigten, dass Cruentaren A spezifisch die F_0F_1 ATPase Aktivität in Mitochondrien der Hefe *S. cerevisiae* als auch von Rinderherz Mitochondrien mit IC_{50} Werten von 15-30 nM hemmt. Im Gegensatz dazu hemmen Vertreter der strukturell sehr ähnlichen Benzolacton Enamid Klasse, wie z.B. Apicularen A and Salicylilalamide, spezifisch die V-ATPase.



Fruchtkörper von *Sorangium cellulosum*. Foto: HZI, Gerth



04.2 Medizinische Chemie von Antiinfektiva

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Markus Kalesse | Abteilung für Medizinische Chemie | mka05@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Dr. Jutta Niggemann | Dr. Larissa Jundt

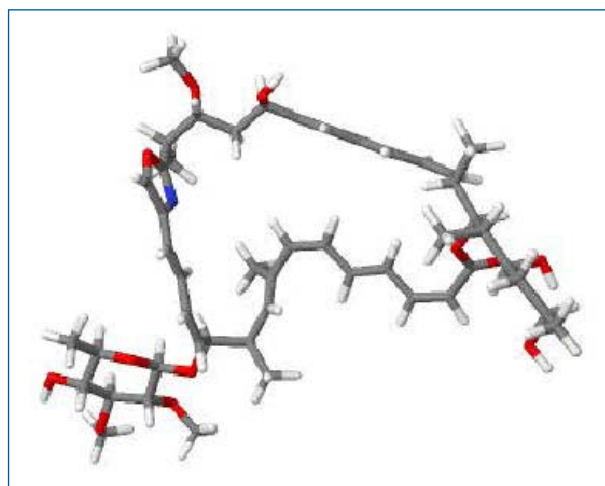
Im Rahmen dieses Projektes werden chemische Synthesen für Antibiotika entwickelt. Über die Generierung von Derivaten und Analoga soll das biologische Profil der Leitstrukturen verbessert und eine detaillierte Aussage über Struktur-Aktivitätsbeziehungen erhalten werden. Die Identifizierung der pharmakophoren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

Synthese von Corallopyronin und Ripostatin 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. Neben der Synthese kann die moderne Spektroskopie dabei wertvolle Hilfestellungen geben.

Die Synthese analoger Strukturen hingegen setzt voraus, dass bereits eine effiziente Synthese des Naturstoffs etabliert wurde. Basierend auf klassischen Synthesen, kann schließlich eine Reihe von fein abgestimmten Derivaten mit Hilfe der oben erwähnten Automatisierungsplattformen erzeugt werden.

Aus diesem Grund beginnt die Synthese optimierter Wirkstoffe mit der Totalsynthese der Naturstoffe. Vor diesem Hintergrund synthetisieren wir Ripostatin, Myxopyronin und Corallopyronin als vielversprechende Inhibitoren der bakteriellen RNA-Polymerase.

Die Optimierung dieser Leitstrukturen zielt auf eine Verbesserung der *in vivo* Aktivität ab, und wir erwarten durch die Synthese der Analoga effizientere Wirkstoffe zur Verfügung stellen zu können. Ein zentraler Ansatzpunkt ist dabei die Verwendung von Festphasen-unterstützten Synthesen und Reagenzien. Wir haben bereits ein Verfahren entwickelt, bei dem das Acyl-Enamin durch eine Umlagerungsreaktion an der festen Phase aufgebaut werden kann. Zusätzlich stehen die erste Totalsynthesen von Corallopyronin und Ripostatin kurz vor ihrem Abschluss.



Die 3D-Struktur von Chivosazol, einem hoch-wirksamen Macrolid-Antibiotikum aus *Sorangium cellulosum*.

Chivosazol und Thuggacin Ein weiteres Projekt beschäftigt sich mit der Strukturaufklärung und Synthese von Chivosazol und dem neuartigen anti-Tuberculose-Wirkstoff Thuggacin.

Das Antibiotikum Chivosazol besitzt 10 unbekannte Chiralitätszentren. Zur Synthese und Identifizierung der SAR müssen diese unbekanntes Chiralitätszentren zunächst bestimmt werden. Dazu haben wir 5 der 10 Stereozentren durch Abbau und chemische Synthese analysiert. Die verbliebenen 5 Zentren konnten durch eine Kombination von NMR-Untersuchungen und Analyse der Aminosäuresequenz der Kettoreduktasen aufgeklärt werden. Gleichzeitig haben wir damit die ersten Schritte in der Totalsynthese abgeschlossen. Mit dem gleichen Ansatz wird die Stereochemie von Thuggacin aufgeklärt, und wir beschäftigen uns bereits mit der Synthese dieses Antibiotikums.



04.3 Entwicklung neuer Antibiotika aus natürlichen Quellen

PROJEKTLEITER | Dr. Dirk Menche | Nachwuchsgruppe Struktur und Funktion von Antibiotika | mch@helmholtz-hzi.de

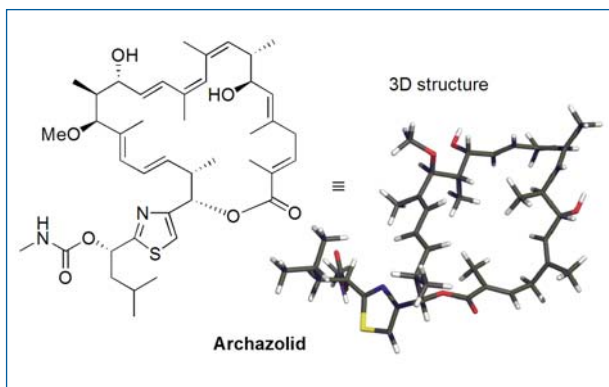
PROJEKTMITARBEITER | Fatih Arikan | Dr. Jorma Hassfeld | Dr. Herbert Irschik | Dr. Rolf. Jansen | Jun Li | Pengfei Li | Sven Rudolph | Dr. Florenz Sasse | Heinrich Steinmetz

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

Im Fokus: chirale Amine Ein besonderes Augenmerk richten wir bei der Entwicklung neuer Synthesemethoden auf chirale Amine. Sie sind als strukturelle Schlüsselbausteine vieler Antibiotika ein wichtiges Synthesziel für biologisch aktive Naturstoffe und Pharmazeutika. Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung neuer – im Vergleich zu bestehenden Verfahren direkteren und effizienteren – Methoden, chirale Amine aufzubauen. Und zwar in nur einer chemischen, stereoselektiven Umwandlung aus leicht zugänglichen Keton-Bausteinen, der so genannten direkten asymmetrischen reduktiven Aminierung. Auf der Basis eines innovativen biomimetischen Konzepts, haben wir eine vollkommen neuartige Methode für die direkte reduktive Aminierung von Ketonen und Aldehyden entwickelt, die auf der selektiven Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen beruht. Die Effizienz dieses Verfahrens zur Synthese bioaktiver Amine haben wir bereits zeigen können. Die milden und nichtsauren Reaktionsbedingungen, zusammen mit der hohen Chemoselektivität des Protokolls, sollten auch An-

wendungen bei komplexen und/oder säurelabilen Substraten ermöglichen. Weiterhin sollte der zugrunde liegende Mechanismus und die modulare Struktur des Organokatalysators die Entwicklung asymmetrischer Varianten gestatten. Zudem sollte er auch die Anwendung unseres Ansatzes auf andere Verfahren ermöglichen, bei denen Imine als Intermediate auftreten. Es ist geplant, diese Methode zur kombinatorischen Synthese von Antiinfektiva einzusetzen.

Archazolid und Etnangien – zwei potente natürliche Antibiotika Neben konventioneller Zielstruktur-orientierter Synthese sind wir an der Entwicklung vereinfachter, equipotenter Analoga interessiert. Computersimulationen und moderne NMR-Techniken zur Bestimmung von Lösungskonformationen ermöglichen das rationale Design derartiger Strukturen. Gegenwärtige Synthesziele sind die komplexen myxobakteriellen Naturstoffe Archazolid und Etnangien – hochpotente Makrolidantibiotika. Während Archazolid ATPasen des Vakuolentyps (V-ATPasen) hemmt, inhibiert Etnangien die RNA-Polymerase. In einem interdisziplinären Ansatz an der Schnittstelle zwischen organischer Chemie, Biochemie und Strukturbiologie werden die Zusammenhänge zwischen Konformation und biologischer Funktion dieser potenten natürlichen Antibiotika untersucht. Über einen innovativen Ansatz mit Hochfeld-NMR-Studien in Kombination mit Molekulardynamiksimulationen haben wir kürzlich die relative Stereochemie und Grundzustandskonformation aufgeklärt. Neben konventionellen Techniken wie konformationsbasierter Konfigurationsanalyse von CH- und HH-dipolaren Kopplungen und NOE*-Experimenten in Kombination mit „Molecular Modelling“, wurden Analysen residualer dipolarer Kopplungen sowie Genom-basierter Methoden angewendet. Dieses Verständnis der 3D-Struktur ermöglicht nun eine gezielte Totalsynthese und gestattet das Design vereinfachter Analoga und ein Verständnis der SAR-Daten.



Die 3D-Lösungsstruktur von Archazolid, ein potentes Makrolid-Antibiotikum aus dem Myxobakterium *Archangium gephyra*.

* Nuklear-Overhauser-Experiment: NMR-Messung, mit der man die Distanz von Protonen im Raum bestimmen kann



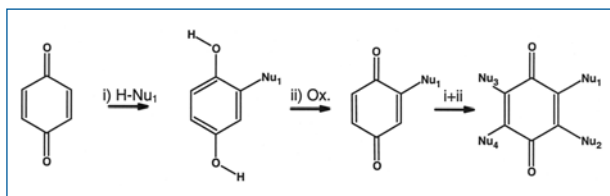
04.4 Chemische Biologie von Infektionskrankheiten

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

PROJEKTMITARBEITER | Ulrike Beutling | Randi Diestel | Dr. Antonius Dikmans | Dr. Bernd Hofer | Denis Koska | Michael Mrosek | Dr. Florenz Sasse | Jens Schneider | Manuela Schüngel | Dennis Schwab | Dr. Werner Tegge | Valentina Wächter | Dr. Peter Washausen | Dr. Arndt Wiemann

Das zentrale Ziel dieses Projektes ist die Aufklärung der molekularen Mechanismen infektiöser Prozessen mittels niedermolekularer Wirksubstanzen. Es werden spezielle Testsysteme entwickelt mit denen bioaktive Substanzen aus großen chemischen Bibliotheken selektiert und analysiert werden. Die Ergebnisse führen zu neuen Antibiotika, Chemotherapeutika und Immunmodulatoren. Das Wissen über ihre Wirkmechanismen eröffnet neue Wege für therapeutische Interventionen.

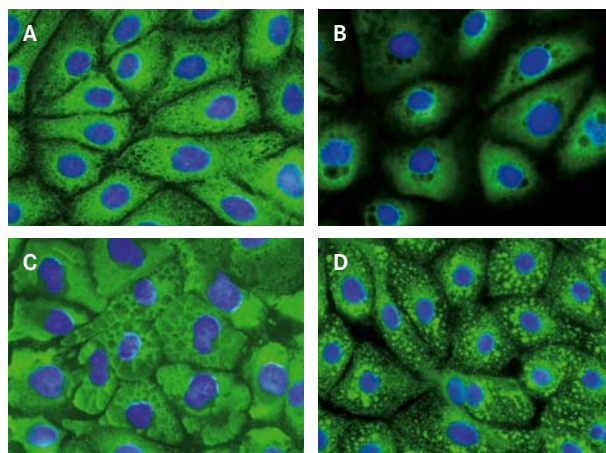
Kombinatorische Chemie Viele unserer Substanzen für die Wirkstoffsuche kommen aus der kombinatorischen Synthese von Analoga aus chemischen Grundstrukturen. Die Wahl der Grundstruktur für die Synthese einer chemischen Bibliothek ist ein wichtiger Schritt. Er muss Aspekte zur chemischen Synthese wie Kompatibilität mit der Synthesetechnologie und zur biologischen Relevanz berücksichtigen. Die Substanzen müssen mit hoher Wahrscheinlichkeit mit biologischen Zielstrukturen (Targets) wie den Proteinen wechselwirken und somit „privilegiert“ für biologische Aktivität sein. Grundstrukturen mit natürlichen Vorbildern sind besonders privilegiert, weil sie durch biologische Moleküle hergestellt werden. Beispielsweise haben wir aus der Grundstruktur p-Benzochinon eine schrittweise Synthese zum Aufbau von Analoga entwickelt. Über eine Michael-Addition nukleophiler Reagenzien werden Hydrochinone gebildet, die über eine Oxidation wieder in das Benzochinongerüst zurückreagieren. Theoretisch kann dies viermal wiederholt werden bis tetrasubstituierte Benzochinone entstehen. Eine Diels-Alder Addition auf der Stufe der bis-substituierten Benzochinone, sowie die finale Derivatisierung der Hydroxylgruppen am Hydrochinon eröffnen weitere Wege zu vielfältigen Analoga. Eine Serie solcher Verbindungen wurde durch Synthese in Lösung hergestellt und auf biologische Aktivität getestet. Ein Protokoll für die Festphasensynthese ist in Entwicklung.



Konzept für eine Reaktionsfolge bei einer Michael-Addition, um eine kombinatorische Bibliothek von Benzochinonderivaten zu erzeugen.

„High Content“ Analyse Die Wahrscheinlichkeit, eine selektive Wechselwirkung zwischen einer Substanz und einem biologischen Target zu finden, steigt mit der Zahl der getesteten Kombinationen – das Prinzip der Hochdurchsatzsuche (HTS). Für eine einzelne Substanz bestimmt daher die Zahl der testbaren Targets den Erfolg der Suche. Eine lebende Zelle ist ein sehr komplexes biologisches System mit einer großen Zahl biologischer Targets. Ihre Gesamtheit bildet das Erscheinungsbild der Zelle, den Phänotyp aus. Eine Zelle reagiert daher auf die Wirkung einer Substanz letztlich mit der Ausbildung eines veränderten Phänotyps. Daher ist das zellbasierte Testen auf die biologische Aktivität einer Substanz auch bei unbekanntem Target sehr erfolgreich. Oft ist schon der beobachtete Phänotyp ein Hinweis auf den Wirkort – später muss das Target aufgespürt werden.

Wir testen deshalb routinemäßig die Wirkung neuer Substanzen auf eine Reihe von ausgewählten Zellkulturen, wie auch im Falle der Benzochinonderivate. Eines verändert das endoplasmatische Retikulum (ER) von Ptk2-Zellen in sehr ähnlicher Weise wie der Naturstoff Corallidictyal aus dem marinen Schwamm Aka coralliphaga. Die chemische Struktur des Corallidictyal weist auch ein Benzochinongerüst auf, das wahrscheinlich das wirksame Pharmakophor ist. Damit ist belegt, dass eine Benzochinon-Bibliothek eine geeignete Substanzsammlung für biologisch aktive Substanzen sein kann.



Phänotypische Effekte von Benzochinonderivaten auf das Endoplasmatische Retikulum (ER) von Ptk2-Zellen. Das ER wurde grün und die Nuklei wurden blau angefärbt. Die Kontrollzellen (A) zeigen ein normales ER-Netzwerk. Die Inkubation von Zellen mit verschiedenen Benzochinonderivaten induziert unterschiedliche Veränderungen in der ER-Struktur. Man kann Vakuolen (B), Kissenähnliche Strukturen (C) und Vesikel beobachten. Fotos: HZI, Sasse



04.5 Molekulare Wirkmechanismen von Antiinfektiva

PROJEKTLEITERIN | Prof. Dr. Ursula Bilitewski | Arbeitsgruppe Molekulare Mechanismen | ubi@helmholtz-hzi.de

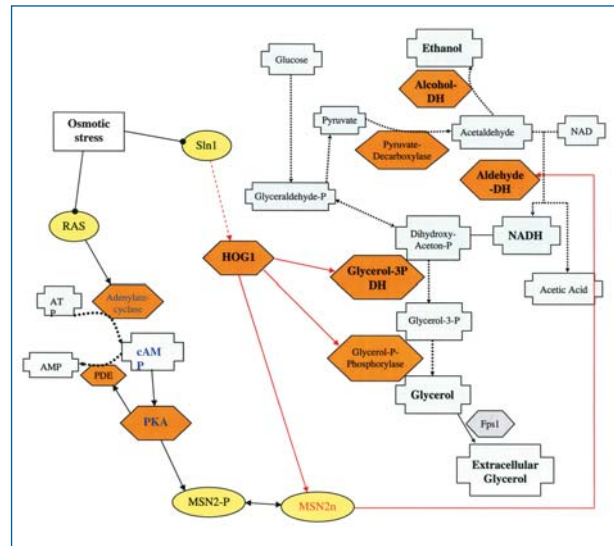
PROJEKTMITARBEITER | Dr. Florenz Sasse | Bianca Lüderitz | Janine Wesolowski | Nina Klippel

Das primäre Screening nach Antibiotika basiert meist auf Untersuchungen zur Wachstumshemmung auf ausgewählte Testorganismen, wie Pilze oder Bakterien. Durch Folgeuntersuchungen werden dann die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen und Angriffspunkte aufgeklärt. Da Infektionen mit Pilzen, besonders bei Patienten mit geschädigtem Immunsystem, an Bedeutung zu nehmen, untersuchen wir derzeit Substanzen, die entweder das Wachstum von Pilzen hemmen oder Funktionen des angeborenen Immunsystems stimulieren können.

Candida albicans als Testorganismus Die myxobakteriellen Sekundärmetabolite Ambruticin, Jerangolid und Pyrrolnitrin (ein Phenylpyrrol) zeigten bei filamentösen Pilzen, aber auch bei einigen Hefen eine wachstumshemmende Wirkung, wobei jedoch der zugrundeliegende Mechanismus nicht im Detail aufgeklärt werden konnte. Bei der Hefe *Hansenula anomala* wurde die Akkumulation von Glycerin beobachtet, so dass vermutet wurde, dass diese Substanzen in die Kaskaden zur Abwehr von osmotischem Stress eingreifen.

Wir entschieden uns, die potenziell pathogene Hefe *Candida albicans* als Testorganismus zu verwenden, von der wir mittlerweile Mutanten erhalten haben. In den Mutanten sind solche Gene deletiert, die mit *S. cerevisiae* Genen homolog und dort in die osmotische Stressabwehr involviert sind. Da Glycerin sowohl als Antwort auf osmotischen Stress gebildet werden kann, als auch ein Nebenprodukt der alkoholischen Gärung unter anaeroben Bedingungen ist, wurden systematisch die Konzentrationen von Ethanol, sowie von intra- und extrazellulärem Glycerin, Sauerstoff, verschiedenen Enzymen und der Zellzahl als Konsequenz aus verschiedenen Stressbedingungen bestimmt. Der beobachtete zeitliche Verlauf lässt sich über mathematische Modelle des Kohlenstoff-Metabolismus in Hefen zumindest qualitativ simulieren, so dass sich Hemmungen der Atmungskette von einer Induktion der Glycerin-Produktion unterscheiden lassen.

Makrophagen als Repräsentanten des angeborenen Immunsystems Wir wählten die Makrophagenzelllinie RAW 264.7, um Wechselwirkungen zwischen Pilzen und Vertretern des Immunsystems zu studieren. Dabei kommt es zunächst zur Phagozytose, also zur Internalisierung des Pathogens, und danach zu seiner Abtötung durch „chemische Waffen“ der Makrophagen. Dazu gehören ein niedriger pH-Wert und abbauende Enzyme im Phagolysosom, sowie reaktive Sauerstoff- und Stickstoffmoleküle, wie H_2O_2 und NO. Außerdem stimulieren Makrophagen andere



Einige Metaboliten und Proteine des Netzwerkes für Antworten auf osmotischen Stress bei *S. cerevisiae*: Hyperosmotischer Stress führt zur Aktivierung der MAPKinase HOG1 über das Sensorprotein Sln1 und zur Hemmung des cAMP-abhängigen Stoffwechselweges via Ras-Proteine. Die Aktivierung des HOG-Weges induziert die Expression von Glycerin-3-phosphat Dehydrogenase, die das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Glycerinbiosynthese ist. Eine geringe Aktivität der cAMP-abhängigen Proteinkinase unterstützt die nicht phosphorylierte Form des allgemeinen Stressantwort-Transkriptionsfaktors MSN2, der im Nukleus lokalisiert ist (MSN2n). Parameter, von denen eine dynamische Antwort ausgeht, sind fett gekennzeichnet.

Zellen des Immunsystems durch Botenstoffe, wie Interleukine oder TNF α . Diese Signalmoleküle werden als Folge von Signaltransduktionskaskaden gebildet, die ihren Ursprung an den Rezeptoren haben, mit denen die Pathogene erkannt werden.

Chemische Substanzen können diese Wege stören, indem sie Proteineigenschaften verändern, wie zum Beispiel die Polymerisationsgeschwindigkeit von Aktin. Aber auch die Produktion der Signalstoffe kann durch geeignete Inhibitoren beeinflusst werden, so dass wir mit Untersuchungen an den Proteinkaskaden begonnen haben. Hinzu kommen Einflüsse des Pathogens selber, die zum Beispiel zu einer schwächeren Phagozytoseaktivität für lebende *C. albicans* im Gegensatz zur *S. cerevisiae* führen, die auch mit chemischen Substanzen beeinflussbar sein sollten.

04.6 Antigen-Anlieferungssysteme und Impfstoffe

PROJEKTLEITER | Prof. Dr. Dr. Carlos A. Guzmán | Abteilung für Vakzinologie | cag@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Pablo D. Becker | Dr. Stefan Borsutzky | Prof. Dr. Jan Buer | Dr. Thomas Ebensen | Dr. Heike Gabriel-Jürgens | Andreas Jeron | Dr. Claudia Link | Miriam Nörder | Dr. Faiza Rharbaoui | Peggy Riese | Dr. Kai Schulze | Tetyana Yevsa | Dr. Astrid M. Westendorf | Beata Zygmunt

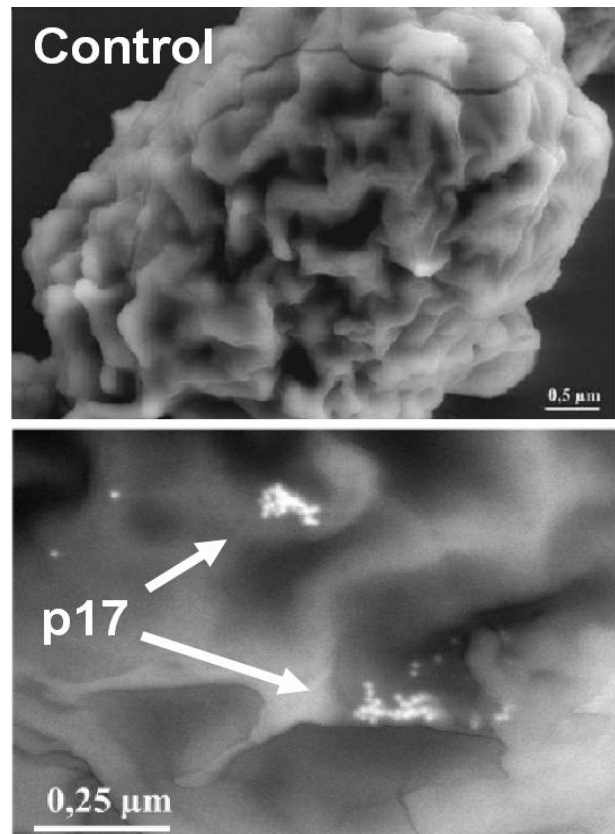
Impfungen sind die kostengünstigste Strategie zur Vorbeugung mikrobieller Infektionen. Das Ziel des Projektes ist es, Werkzeuge und Strategien zu entwickeln, die das Verabreichen von Impfstoffantigenen – besonders über die Schleimhäute – verbessern.

Mukosale Impfung mit dem HIV-1 Matrixproteins p17

Das Strukturprotein p17 unterstützt die Replikation und Ausbreitung von HIV und ist essentiell für den viralen Lebenszyklus. Sowohl durch p17-spezifische, neutralisierende Antikörper, also auch durch CT-Lymphozyten, bricht AIDS verzögert aus. Die intranasale Impfung mit p17 und dem TLR2/6-Agonisten MALP-2 stimulierte starke humorale und zelluläre Immunantworten sowohl systemisch als auch mukosal. Die gebildeten Antikörper blockierten die Bindung von p17 an dessen Rezeptor und neutralisierten so die virokinetische Aktivität des Proteins. Die Ergebnisse zeigen, dass Impfstoffformulierungen, die auf MALP-2 und p17 basieren auch in Verbindung mit anderen regulatorischen oder Struktur-Proteinen attraktive Kandidaten für die Entwicklung eines Impfstoffes gegen HIV/AIDS sind.

MALP-2 aktiviert B-Zellen Funktionale Studien an Zellkulturen aus TLR2-, T-Zell- und B-Zell-defizienten Tieren haben gezeigt, dass MALP-2 die Aktivierung und Reifung von sowohl folliculären als auch von B-1a-Zellen und B-Zellen aus der marginalen Zone über TLR2 fördert. Darüber hinaus führte MALP-2 zu einem Anstieg der IgM- und IgG-sekretierenden Zellen. Die Immunisierung von B-Zell-defizienten Mäusen zeigte überdies, dass B-Zellen für die MALP-2-abhängige Verstärkung der T-Zellantworten unentbehrlich sind. Die Stimulation von B-Zellen ist scheinbar ein Grundmechanismus, der für die Effizienzsteigerung von Impfstoffen genutzt werden kann.

Identifizierung einer neuen T-Zell-Subpopulation in nasal-assoziiertem Lymphgewebe (NALT) Es konnte eine neue „B220^{low}CD3^{low}CD4⁺CD8⁺CD19⁺c-kit⁺“-Subpopulation mit einem T-Zell-Vorläufer-Phenotyp in NALT von Mäusen identifiziert werden. Die Fas-unabhängige Apoptose stellt ihren Hauptzelltodmechanismus dar. Diese Zellen sind in der Lage, die Aktivierung reifer T-Zellen negativ zu regulieren. Interessanterweise zeigten sie eine hohe Expression von TLR2 und wurden nach der Stimulation von NALT mit MALP-2 aktiviert. Diese Subpopulation scheint Immunantworten dadurch modulieren zu können, dass sie mit ihrem pro-apoptotischen Status und ihrer suppressiven Aktivität ein lokales, tolerierendes Milieu erzeugt, das jedoch durch Stimulation der TLR-Signalkaskade wieder rückgängig gemacht werden kann.



Bindung des HIV-Matrixproteins p17 an seinen Rezeptor auf der Oberfläche von B-Lymphozyten (s. Pfeile) Fotos: HZI

SopB-vermittelte Umgehung der Immunabwehr von Salmonellen

Das Effektorprotein SopB wird über das Typ-III-Sekretionssystem ausgeschleust und dient Salmonellen zur Umgehung von Abwehrmechanismen. So zeigten der Wildtypstamm und abgeschwächte *sseC*- oder *aroA*-Mutanten stärkere zytotoxische Eigenschaften gegenüber dendritischen Zellen (DC) als ihre SopB-defizienten Derivate. DC, welche mit *sseC-sopB*-, *phoP-sopB*- und *aroA-sopB*-Mutanten infiziert wurden, exprimierten vermehrt Aktivierungsmarker und verstärkten die Antigenprozessierung und -präsentation. Das Einbringen der *sopB*-Mutation in die abgeschwächten *sseC*-, *phoP*- und *aroA*-Stämme führte nach oraler Immunisierung zu einer Verstärkung der humoralen und zellulären Immunantworten. Die Inaktivierung des *sopB*-Gens führt somit zu einer Abschwächung der Virulenz und spielt eine wichtige Rolle für die Effizienzsteigerung *Salmonella*-basierter Impfstoffe.



04.7 Therapeutische zelluläre Vakzine

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

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

Eine wichtige Aufgabe der zellulären Immunantwort ist es, persistent infizierte Zellen und Tumorzellen zu erkennen und zu eliminieren. Persistierende Krankheitserreger und Tumorzellen haben Mechanismen entwickelt, mit der sie der Immunabwehr entkommen. Diese sind ein grundlegendes Problem für eine effiziente Immuntherapie. Die Induktion immunologischer Toleranz und Anergie sowie anderer Eigenschaften, die verhindern, dass das Immunsystem die Erreger erkennt, blockieren eine wirksame Immunantwort. Und das obwohl die prinzipielle Reaktion gegen die Zielmoleküle nachweisbar ist.

Um eine Immuntherapie solcher Krankheiten möglich zu machen, ist ein besseres Verständnis der relevanten Zell-Zell-Interaktionen notwendig, sowie das Verifizieren der Ergebnisse im Tiermodell.

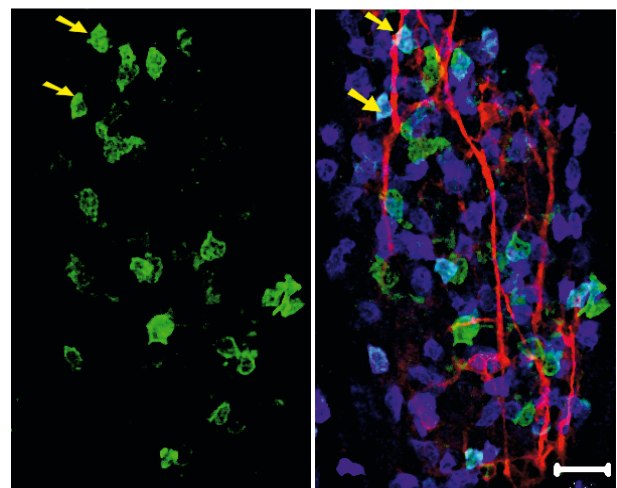
Darstellung zellulärer Interaktionen Die hochkomplexen und dynamischen Interaktionen bei der Aktivierung und Inaktivierung der zellulären Immunantwort finden zum großen Teil in spezialisierten Organen statt – etwa in Lymphknoten, Milz und im lymphatischen Gewebe des Darms. Für ihre Visualisierung haben wir spezielle Färbeprotokolle und Software-Tools entwickelt, so dass die gleichzeitige, räumlich hochaufgelöste Darstellung von bis zu sechs verschiedenen Zelltypen möglich ist. Mit diesen Techniken konnten die Interaktionen von Zellen des Immunsystems mit Blut- und Lymphgefäßen, neuronalen Zellen und Bindegewebe dargestellt werden. Dafür und für die Analyse des dynamischen Verhaltens in normalem und infiziertem Gewebe wurde die konfokale Laserscanning-Mikroskopie eingesetzt. Noch detailliertere Darstellung der Gewebsstrukturen wurden mit Hilfe der Elektronenmikroskopie erreicht.

Funktionelle Analyse in Mausmodellen: Die Eigenschaften der Zellen können mit spezifischen Vektoren gezielt modifiziert werden. Die Auswirkungen auf die Immunantwort können dann im Mausmodell untersucht werden. Das erste transgene Modell verwendet das Hämagglutinin des Influenza A-Virus als künstliches Antigen in den Inselzellen des Pankreas oder als Tumorantigen. Nach Immunisierung mit dendritischen Zellen kann so untersucht werden, ob die Toleranz gegen die normalen HA-Antigene durchbrochen wird und eine spezifische Antwort gegen die Transgene ausgelöst wird, was unter den bisherigen Bedingungen nicht nachweisbar war.

Im zweiten Modell lässt sich Tumorwachstum durch Aktivierung des Transkriptionsfaktors IRF-1 hemmen. Es zeigte sich, dass die IRF-1 vermittelte Transkriptionaktivierung MHC I und IFN- β hochreguliert – wichtige Gene im Zusammenhang mit der Immunabwehr. Das deutet darauf hin, dass IRF-1 Tumorwachstum auch über angeborene und adaptive Immunmechanismen bekämpft.

Verfahren zur Herstellung humaner Zellen für die Therapie:

Im Rahmen des InnoBag-Projekts hat ein Konsortium aus klinischen und industriellen Partnern ein System für die reproduzierbare, flexible und GMP-konforme Herstellung von genetisch modifizierten autologen dendritischen Zellen entwickelt. Dafür wurden cGMP-fähige Verfahren für die Herstellung adenoviraler Vektoren und dendritischer Zellen etabliert. Für die Zellen wurde ein Verfahren in Zellkulturbeuteln entwickelt, das von der Abnahme der Patientenzellen durch Apherese, über die Zellisolierung, Differenzierung, den adenoviralen Gentransfer und die Ausreifung, bis zum eingefrorenen Endprodukt komplett geschlossen bleibt. Für den Transfer in die Praxis wurden entsprechende Herstellungsanweisungen entwickelt. Basierend auf diesen Erfahrungen werden wir in einem neuen InnoNet-Projekt die Möglichkeiten für die Anwendung zellulärer Therapeutika durch spezifisch modifizierte Beuteloberflächen weiter ausbauen.



Mehrfarbige Ansicht von Darmnervenfasern, die von B- und T-Zellen umgeben sind. B-Zellen, T-Zellen und Nerven in den Darmzotten wurden jeweils mit anti-B220 (grün), anti-CD3 (blau) und anti-*PGP9.5* (rot) gefärbt. Die gelben Pfeile markieren Zellen, die positiv für anti-B220 und CD3 in engem Kontakt mit Nervenfasern sind. Maßstab = 20 μm Foto: HZI, Rohde

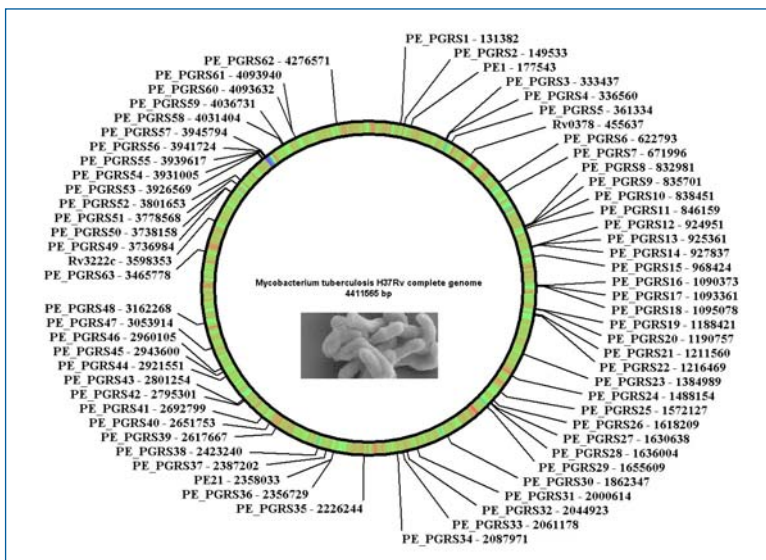


PROGRAMM „GENOM- UND GESUNDHEITSFORSCHUNG“

PROGRAMMSPRECHER | Prof. Dr. Dirk Heinz | Bereich Strukturbioogie | dih@helmholtz-hzi.de

Krankheiten sind häufig das Resultat eines komplexen Wechselspiels zwischen genotypischen und phänotypischen Eigenschaften. Neben genetisch bedingten Defekten oder Anlagen, tragen insbesondere auch Faktoren wie Alter, Lebensweise und Umweltbelastungen des Patienten sowie Wechselwirkungen zwischen Krankheitserregern und Wirt zu Krankheitsprozessen bei. Die vergleichende Analyse von Genominformationen ist ein unverzichtbares Element, um die Beziehungen zwischen Genotyp und Phänotyp verstehen zu lernen. Nur dann können sie zu prognostischen und diagnostischen Zwecken in der Gesundheitsvorsorge genutzt werden. Zu klären ist dabei 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. Dieses Forschungsprogramm beinhaltet somit eine Kombination aus der experimentellen Charakterisierung von Genomfunktionen und umfassender genomgestützter Bioinformatik. Zudem werden die spezifischen Wechselwirkungen zwischen Genprodukten – Proteinen– und ihren Liganden über chemisch-synthetische Ansätze untersucht. Das Design und die Herstellung synthetischer Mimetika mit diskontinuierlichen Bindungsstellen ermöglicht den Zugriff auf neuartige Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen mit biomedizinischen Anwendungspotential.



Kampf gegen Tuberkulose. Die Genomkarte von *M. tuberculosis* zeigt die Familie von Elementen, die wahrscheinlich in Wirt/Pathogen-Interaktionen involviert ist. Collage: HZI



01 Inhibitoren von Protein-Ligand-Interaktionen

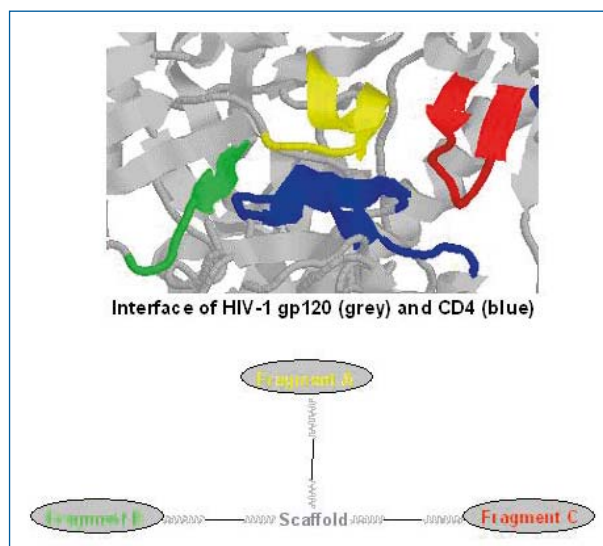
PROJEKTLEITERIN | Priv.-Doz. Dr. Jutta Eichler | Arbeitsgruppe Konformationelle Protein-Ligand-Interaktionen | jei@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Numan Akyol | Raimo Franke | Dr. Cornelia Hunke | Dr. Ulf Strijowski | 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 Bindungsstellenmimetika 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 nichtlinear und diskontinuierlich 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 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.



Schnittstelle von HIV-1 gp 120 (grau) und CD4 (blau) (oberer Teil der Abbildung); synthetische Mimetik der CD4-Bindungsstelle von gp120 (unterer Teil der Abbildung). Die Abbildung wurde folgender Veröffentlichung entnommen: Raimo Franke, Tatjana Hirsch, Heike Overwin, Jutta Eichler (2007) Synthetische Mimetika der CD4-Bindungsstelle von HIV-1 gp120 für das Immunogen-Design. *Angewandte Chemie* 119(8): 1275-1277. Online-Veröffentlichung am 9.1.2007. DOI: 10.1002/ange.200603274. Mit freundlicher Genehmigung des VCH-Wiley Verlages.



02 Analyse und Nutzung von DNA-Sequenzdaten

PROJEKTLEITER | Dr. Helmut Blöcker | Abteilung für Genomanalyse | hbl@helmholtz-hzi.de

PROJEKTMITARBEITER | Sabin Bhuju | Dr. Michael Böcher | Igor Deyneko | Michael Jarek | Yulia Kalybeava | Dr. Rosa Martínez | Dr. Gabriele Nordsiek | Rosalila Peneido | Maren Scharfe | Dr. Oliver Schön | Prof. Dr. Mahavir Singh | Dr. Matthias Stehr

Im Mittelpunkt dieses Projektes steht die genomweite Untersuchung und eingehende Analyse genetischer Informationen. Dies umfasst die Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierung und die Annotation der Genfunktionen auf der Ebene der Stoffwechsel- und Regulationswege. Zur Zeit sind 50 Prozent unserer Arbeiten bioinformatischer Natur.

Sequenzanalyse-Projekte Die DNA-Sequenzierung ist eine Schlüsseltechnologie für die moderne biologische Forschung. Wir vergleichen Sequenzen klinischer Isolate von Krankheitserregern wie *M. tuberculosis* und fokussieren auf Gene, die an der Virulenz, Persistenz, Antibiotikaresistenz und Wirtspräferenz beteiligt sind. Wir arbeiten derzeit an der Komplettssequenzierung und Analyse des X-Chromosoms vom Schimpansen (internationales Konsortium), und wir haben vermutete krankheitsassoziierte Genomabschnitte von Pferden, Schweinen und Rindern analysiert. Derzeit untersuchen wir bakterielle Lebensgemeinschaften aus dem Mäusedarm, um den Einfluss der Ernährung auf die Darmflora zu studieren (Metagenomik). Nach der Sequenzierphase der Genome von *Sorangium cellulosum*, *Bordetella petrii* und *E. coli* Nissle 1917, nähern wir uns dem Abschluss ihrer Tiefenannotation.

„MycoGenomes“ Unterstützt vom EU-Projekt „NEWTB-DRUGS“, konnten wir zahlreiche Zielmoleküle für persistente Tuberkulose und gegen mehrfach-resistente *Mycobacterium tuberculosis* Stämme identifizieren. Das Target Protein NrdI ist an der mycobacteriellen DNA Synthese beteiligt und das Zielmolekül ALADH an der Zellwandsynthese – beides zentrale Angriffspunkte für neue TB-Medikamente. Beide Proteine wurden bis zur Homogenität gereinigt und biochemisch charakterisiert. NrdI ist nicht im Wirt vorhanden, und wird bei intrazellulärem Stress in Makrophagen hochreguliert. Es liegt im reduzierten Zustand als Monomer, im oxidierten Zustand als Dimer vor und die beiden für die Dimerisierung zuständigen Cysteine sind identifiziert.

Wir konnten Kristalle des mycobacteriellen ALADH erhalten. Zusätzlich haben wir PCR-Bedingungen für mehr als 40 „GC-rich genetic elements“ (PE-PGRS) aus *M. tuberculosis* etabliert. Sie zeigen hohe Sequenzähnlichkeit und werden intensiv in der Tuberkuloseforschung bearbeitet – vor allem im Zusammenhang mit moderner Impfstoffentwicklung und Medikamentenforschung.



„Going analog!“ Eine neue Bioinformatik-Technologie wurde entwickelt und erfolgreich angewendet, wo konventionelle Methoden zum Etablieren neuer Prinzipien und der Entdeckung neuer funktioneller Eigenschaften versagen. Foto: HZI

Für das HT-Wirkstoffscreening konnten wir ein neues *in-vitro*-Testsystem für Hemmstoffe der RNA Polymerase entwickeln und optimieren. Das System benötigt keine aufwendigen Markierungsschritte mehr und nutzt natürliche Nukleotide als Substrat.

Neuartige Bioinformatik-Technologie Wir nutzen Anwendungen der Signaltheorie (digitale Bildverarbeitung, Spracherkennung) für die funktionsorientierte Analyse von Biomolekülen. Wir suchen nach Ähnlichkeiten, Homologien und Analogien, die auf vergleichenden Betrachtungen von physikochemischen Eigenschaften statt auf Statistik von Buchstaben beruhen und die Laborergebnisse bestätigen. Für DNA ist inzwischen unser Weg als Verfahren etabliert, das ähnliche Programme für die funktionale Analyse von DNA-Abschnitten ersetzen wird. Zusätzliche Hardware-Unterstützung (DSP-Karten) erlaubt es, große eukaryotische Genome in akzeptabler Zeit zu durchsuchen – all dies mit artifizialen und natürlichen Sequenzen. Für 38 verschiedene Eigenschaftsparameter wurden systematisch Selektivität und Sensitivität untersucht. Die Ergebnisse bestätigen, dass unser System in der Lage ist, eigenschaftsabhängige Ähnlichkeiten aufzuspüren, wo Buchstaben-basierte Systeme scheitern.

Unsere Software „FeatureScan“ ist frei verfügbar über eine Webseite oder als Web Service, der strikt nach den Standards der „HOBIT-Initiative“ der Helmholtz-Gemeinschaft aufgebaut wurde (<http://genome.helmholtz-hzi.org/featurescan>).



PROGRAMM „GENE, UMWELT UND GESUNDHEIT“

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

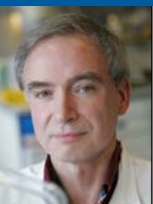
Mikroorganismen sind allgegenwärtig und, da sie in weitaus extremeren Umweltbedingungen leben können als höhere Organismen, definieren ihre Lebensräume die Biosphäre. Mit ihrer Aktivität haben Mikroorganismen großen Einfluss auf globale Prozesse wie den Kohlenstoffkreislauf und die globale Erwärmung,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

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

Mit dem Forschungsprogramm verfolgen wir das Ziel, Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen als Funktionseinheiten zu verstehen, die entscheidenden Wechselwirkungen bei der Steuerung ihrer Aktivitäten aufzuklären und Eingriffsmöglichkeiten zu entwickeln und zu validieren, die zu einer Optimierung mikrobieller Aktivitäten führen. Dabei sollen nutzbringende Aktivitäten mikrobieller Gemeinschaften gefördert und zerstörerische unterdrückt werden. Und durch Erkundung der Formenvielfalt sollen neue Produkte und Stoffwechselprozesse der Mikroorganismen entdeckt werden. Charakterisiert wird das Forschungsprogramm durch Arbeiten auf verschiedenen Ebenen – Gen, Organismus, Lebensgemeinschaft, Reagenzglas, Chemostat, natürlicher Lebensraum – und fachübergreifende Expertisen wie mikrobielle Ökologie, Physiologie, Stammesgeschichte, Biochemie, analytische Chemie, Genetik/Genomforschung, Bioinformatik und Modellierung. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse werden sich dabei zwar prinzipiell auf einen großen Teil aller Mikroorganismen-Gemeinschaften anwenden lassen, unsere Forschung konzentriert sich aber auf solche Lebensgemeinschaften, die entweder beim Menschen Krankheiten auslösen können, oder in extremer Umgebung leben. Ein wichtiges Ziel des Programms besteht darin, Beiträge zur nachhaltigen Entwicklung unserer Gesellschaft zu leisten.



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



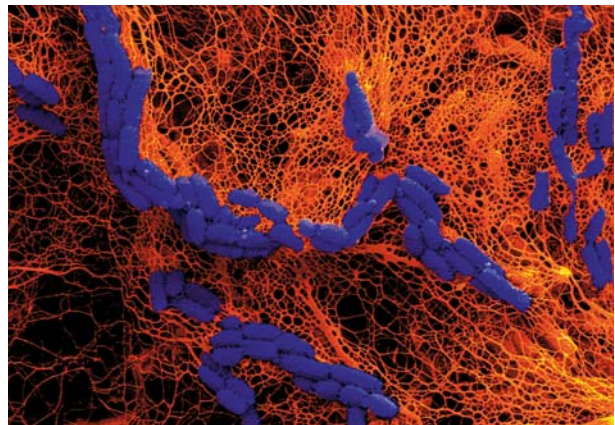
01 Funktionelle Genomik und Nischenspezifität

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

PROJEKTMITARBEITER | Ana Beloqui | Piotr Bielecki | Christoph Gertler | Dr. Peter Golyshin | Dr. Olga Golyshina | Nuria Jimenes-Garcia | Amit Neelkanth Kachane | Dr. Hyung-Soo Kim | Dr. Oleg Kotsyurbenko | Audrey Leprince | Dr. Heinrich Lünsdorf | Dr. Vitor Martins-Dos-Santos | Taras Nechitaylo | Dr. Andrew Oxley | Jacek Puchalka | Dr. Julia Sabirova | Britta Scheithauer | Amelia Silva | Carsten Strömpl | Leah Tsuma | Robert Witzig

Alcanivorax borkumensis ist eines der weit verbreiteten „hydrocarbonoclastischen“ Meeresbakterien. Sie nutzen als Kohlenstoff- und Energiequelle ausschließlich die Kohlenwasserstoffe, aus denen sich Öl zusammensetzt. In unverschmutztem Meerwasser sind sie nur in niedrigen Konzentrationen nachweisbar, vermehren sich aber im Falle einer Ölverschmutzung explosionsartig. *A. borkumensis* ist einzigartig, da es in ölverschmutztem Meerwasser und in Mikrokosmen-Experimenten, in denen Meerwasser Öl zugegeben wird, die mikrobielle Gemeinschaft dominiert. Es ist ein Paradebeispiel für hydrocarbonoclastische Bakterien und wurde daher für die Genomsequenzierung und funktionelle Genomanalyse ausgesucht. Diese Analysen zeigten eine Reihe wichtiger Determinanten für die Verwertung eines breiten Spektrums aliphatischer Kohlenwasserstoffe. Die *in silico* Analyse der Daten in Kombination mit einer Proteomanalyse deuten darauf hin, dass Kohlenwasserstoffe die Produktion von membranständigen Monoxygenasen induzieren. Diese sind am Zusammenspiel von Rubredoxinen/Rubredoxinreduktasen an der terminalen Oxidation von Kohlenwasserstoffen beteiligt. *Alcanivorax borkumensis* hat eine Vielzahl von Determinanten, die die Aufnahme von Nährstoffen und Oligoelementen in der nährstoffarmen Hochsee ermöglichen. Ebenso wie Determinanten für spezifische Systeme, die Biofilme an der Grenzfläche von Öl und Wasser produzieren sowie für die Biotensidproduktion und Stressreaktionen auf Umweltveränderungen. Diese Eigenschaften verschaffen *Alcanivorax* einen erheblichen Vorteil gegenüber anderen Konkurrenten in ölverschmutzten marinen Systemen und erklären die Dominanz dieses Organismus beim marinen Ölabbau. Die Sequenzierung des Genoms von *Alcanivorax borkumensis* ist ein Meilenstein auf dem Weg zur Entwicklung einer biologischen Bekämpfungsmethode von Ölverschmutzungen im Meer.

Biotechnologisches Potential von *Alcanivorax* Die funktionelle Genomanalyse von *Alcanivorax* hat zudem ein erhebliches biotechnologisches Potenzial aufgezeigt. Zum einen hat eine durch Transposon-Mutagenese erzeugte Mutante mit Defekten an nischenspezifischen Funktionen, einen völlig unerwarteten Phänotyp entwickelt. Sie zeigte eine massive Überproduktion und extrazelluläre Ablagerung von Polyhydroxyalkanoaten (PHA)-Speicherstoffen, die ein begehrter Rohstoff für die Produktion von Biokunststoffen sind. Eines der ökonomischen und technischen Hauptprobleme der Nutzung von PHAs für die Herstellung



Alcanivorax borkumensis SK2 überproduziert nach Mutation durch das *tesB*-ähnliche Hydroxyacyl-CoA-spezifische Thioesterasegen, Polyhydroxyalkanoate, die auch ausgeschieden werden. Foto: HZI, Lünsdorf

von Biokunststoffen liegt in der Extraktion der normalerweise intrazellulären PHA-Granula in den produzierenden Bakterien. Dies wird durch die vorliegende Mutante umgangen, daher ist dieser Organismus eine potenzielle „petrochemisch-biologische Fabrik“, die aus Ölrückständen umweltschonende, biologisch abbaubare Kunststoffe produzieren kann.

Ferner konnten durch eine Expressionsdatenbank von *Alcanivorax* eine Anzahl neuartiger Carboxylesterasen mit hohen spezifischen Aktivitäten (mit 100-200% höherer Aktivität im Vergleich zu herkömmlichen bekannten Esterasen) gefunden werden. Sie zeigen ausgezeichnete Enantioselektivität ($E > 100$) bezüglich der dynamischen kinetischen Racematspaltung einer Vielzahl chiraler Produkte – etwa (R)-Geranylacetat und (L)-Tryptophanmethylester, (R)-Menthylacetate, Methyl(R)-3-bromo-2-methylpropionat und N-benzyl-D-prolineethylester. Diese Eigenschaften machen die Enzyme aus *Alcanivorax* interessant für die Synthese einiger Feinchemikalien, wie etwa einige pharmazeutisch relevante Vorstufen bei der Medikamentenherstellung.



02 Metabolische Vielfalt

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

PROJEKTMITARBEITER | Hamdy Aly | Dr. Beatriz Camara | Dr. Howard Junca | Macarena Marin | Dr. Hannes Nahrstedt
| Britta Scheithauer | Robert Witzig | Dr. Melissa Wos

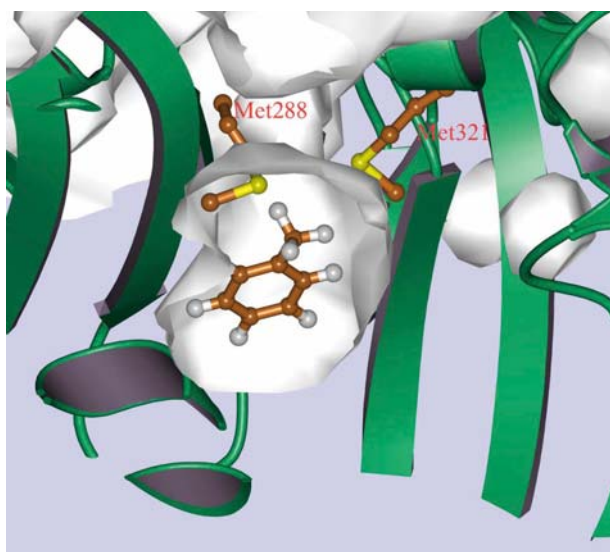
Das Ziel dieses Projektes ist es, metabolische Prozesse unter *in situ* Bedingungen zu quantifizieren, vorherzusagen und zu beeinflussen. Um die Aktivitäten und Anpassungsfähigkeiten bakterieller Gemeinschaften zu verstehen, werden detaillierte Untersuchungen an Reinkulturen und Modellgemeinschaften durchgeführt und Methoden entwickelt, die eine Analyse in komplexen Gemeinschaften erlauben. Das Projekt konzentrierte sich bislang auf den Metabolismus aromatischer Schadstoffe. Nun wird es hinsichtlich des gastrointestinalen Ökosystems weiterentwickelt, da die dortige Mikroflora eine signifikante Auswirkung auf die menschliche Gesundheit hat. Aufgrund ihrer hohen metabolischen Diversität haben diese Mikroorganismen großen Einfluss auf den Umsatz von Nährstoffen und anderen Nahrungsbestandteilen, wie Flavonoiden aus Pflanzenmaterial.

Neue Biokatalysatoren Trotz der Schwierigkeit bei der Isolierung von Bakterien in Reinkultur ist dies ein wichtiger Ansatz, um detaillierte Information über Abbauewege und metabolische Netzwerke zu erhalten. So gewannen wir neue Informationen über den Umsatz Dioxin-ähnlicher Verbindungen durch mikrobielle Oxygenasen. Zudem wurde die Fähigkeit einer neuen *Pseudomonas* Art zum Abbau von Salicylsäuren als Zwischenprodukten beim Metabolismus

Dioxin-ähnlicher Verbindungen analysiert. Sie nutzt sowohl äußerst ungewöhnliche Abbauewege als auch Enzyme, die mit bisher beschriebenen nur entfernt verwandt sind.

Analyse der Funktion mikrobieller Gemeinschaften

Eine detaillierte Übersicht über die Abbaugene in verschiedenen Umweltkompartimenten wird unser Wissen über das Abbaupotenzial und die Entwicklung mikrobieller Gemeinschaften deutlich verbessern. Es wurden genetische „fingerprinting“-Methoden eingesetzt, um die Diversität und Verteilung von Genen zu erfassen, die für Oxygenasen als Schlüsselenzyme des Schadstoffabbaus kodieren. Eine signifikante Diversität in mit Benzol kontaminierten Bodenproben wurde durch „Fingerprinting“ des zentralen Teils – der die Substratspezifität dieser Enzyme bestimmt – belegt, jedoch dominierten sogenannte Isopropylbenzol Dioxygenasen. Genauere Analyse zeigte, dass sich diese in Aminosäuren unterscheiden, die in der Substratbindetasche lokalisiert sind. Während Isolate, die Isoleucin- und Leucin-Reste im aktiven Zentrum des Proteins aufwiesen, Benzol und Toluol abbauten, konnten solche mit zwei sperrigen Methionin-Resten, die anscheinend das aktive Zentrum verkleinern, nur Benzol abbauen. Dies zeigt, dass extreme Umweltbedingungen Genvarianten selektionieren, die für Enzyme mit verändertem aktiven Zentrum kodieren, das an die Schadstoffe angepasst ist.



Modell des aktiven Zentrums einer Isopropylbenzol Dioxygenase. Der Einfluss zweier sperriger Methionin-Reste ist gezeigt, sowie das Substrat Toluol im aktiven Zentrum. Grafik: HZI

Gemeinschaften in Gallengang-Stents Gallengang-Stents sind Katheter, die eingepflanzt werden, um Blockierungen des Gallengangs zu umgehen. Die in den menschlichen Körper eingeführte künstliche Oberfläche neigt dazu, mit Mikroorganismen bewachsen zu werden. Durch die Bildung von Biofilmen verstopfen die Stents und müssen ersetzt werden. Für Strategien gegen die Biofilmbildung, sind bessere Kenntnisse über die Bakterien, die den Stent besiedeln, nötig. Dazu wurde die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft in Stents aus verschiedenen medizinischen Kliniken untersucht. Hierbei wurden im Biofilm überwiegend Mitglieder der Magen-Darm-Mikroflora nachgewiesen. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Entwicklung der Zusammensetzung des Biofilms äußerst stark vom jeweiligen Patienten abhängt.



03 Biofilm-Lebensgemeinschaften in Umwelt und Gesundheit

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

PROJEKTMITARBEITER | Jörgen Haneke | Dr. Heinrich Lünsdorf | Dr. Alexandre Macedo | Sonja Pawelczyk | Esther Surges

Dieses Projekt verfolgt das Ziel, Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen als Funktionseinheiten besser zu verstehen und durch Erkundung der Artenvielfalt von Mikroben neue Stoffwechselwege zu finden. Mit unseren Forschungsarbeiten konzentrieren wir uns auf Lebensgemeinschaften, die in Biofilm-Gemeinschaften leben, um so die Grundlage für deren Kontrolle zu legen.

Dynamische Biofilm-Entwicklung auf PCB Untersucht wurde die Fähigkeit von Mikroorganismen-Gemeinschaften, xenobiotische Substanzen aus verschmutzten Lebensräumen zu verarbeiten. Von einem solchen Standort wurden Bodenproben genommen und dienten als Impfpflanzen für die Zucht von Biofilmen auf polychlorierten Biphenylen (PCBs). Wir konnten dabei unter dem Mikroskop beobachten, dass die Bakterien zunächst nicht – wie erwartet – direkt auf dem PCB-Öltropfen wuchsen, sondern nur um ihn herum.



Ein inerter Träger wurde 5 Monate lang im Tiefenwasser (>25m) im Tagebergbausee bei Merseburg-Ost ausgesetzt. Auf der Abbildung wird es während des Herausgehens, einer Gemeinschaftsarbeit mit Wissenschaftlern vom UFZ Halle-Leipzig, gezeigt, wie es mit Biofilmen auf der Oberfläche bewachsen ist. Das Tiefenwasser dieses Sees ist kalt und enthält hohe Salzkonzentrationen. Wir haben hier viele Bakterien gefunden, die sonst nur aus antarktischen Gewässern bekannt sind.

Foto: HZI, Abraham

Nach etwa sieben Tagen nahm die Artenvielfalt in der Gemeinschaft zu und die Bakterien besiedelten den Tropfen. Dabei begann der vorher recht homogene Biofilm, verstärkt Aggregate zu bilden. Zugleich veränderte sich auch die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft und die Artenzahl stieg noch weiter an. Obwohl zu Beginn bereits ein Abbau niedrig chlorierter Verbindungen des PCB beobachtet wurde, kam dieser mit der Besiedlung des Tropfens nahezu zum Erliegen. Nach 21 Tagen und der vollständigen Besiedlung des PCB-Tropfen setzte jedoch ein erneuter Abbau ein, der dann auch die höher chlorierten Verbindungen umfasste. Wir vermuten nun, dass sich im Biofilm anaerobe Bereiche gebildet haben, in denen eine reduktive Dechlorierung dieser Substanzen einsetzte, die dann weiter aerob verstoffwechselt wurden. Damit konnten wir erstmalig eine solche Kopplung zwischen anaerobem und aerobem Abbau in Biofilmen charakterisieren.

Biofilme aus stark salzhaltigen Bergbauseen Ein ehemaliger Braunkohletagebau bei Merseburg wurde zum Teil mit stark salzhaltigem Grundwasser gefüllt. Darauf legte sich dann bei der kontrollierten Flutung der Grube Süßwasser. Heute gibt es in diesem See eine scharfe Grenze zwischen aerobem Süßwasser und anaerobem Salzwasser. Die Salzwasserschicht hat über das ganze Jahr Temperaturen von sechs bis acht Grad Celsius. Solche Habitats sind bislang nur aus der Antarktis bekannt und wir waren an der mikrobiellen Diversität dieses Extremhabitats interessiert. Isolate erbrachten – wie erwartet – Bakterien, deren nächste Verwandte aus marinen, arktischen und hochalpinen Gegenden stammen. Dabei wurden auch Bakterienstämme gefunden, die Naturstoffe gegen multiresistente Keime bilden. Diese Isolate werden gegenwärtig weiter charakterisiert. Um mehr über die funktionale Vielfalt der Bakteriengemeinschaften in der Salzwasserschicht zu erfahren, wurden inerte Träger in das Salzwasser gehängt, die zur Ansiedlung von Biofilm-Gemeinschaften dienten. Dabei wurden unterschiedliche Sulfatreduzierer gefunden und die Bildung von Mineralien beobachtet, die offenbar mit den Biofilmen im Zusammenhang stehen. Die Untersuchungen zeigen, dass auch in Deutschland Habitats existieren, in denen arktische Bakterien vorkommen und dass auch unter ihnen noch neue Wirkstoffproduzenten sind.

Technologische 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.



Foyer des Gründungszentrums, in dem einige der Technologie-Plattform-Gruppen arbeiten. Foto: Radde



01 Tierexperimentelle Einheit

LEITER | Dr. David Monner | Arbeitsgruppe Tierexperimentelle Einheit | dmo@helmholtz-hzi.de

Die zentrale Aufgabe der Arbeitsgruppe ist die Haltung und Bereitstellung von Mäusen für die Wissenschaftler des HZI unter Beachtung geltender Tierschutzbestimmungen. Sämtliche Tiere werden unter modernsten Bedingungen in einzeln belüfteten Käfigen (IVC) gehalten. Die Tierhaltung besteht aus einem zweckbestimmten Hauptgebäude für die Zucht der Mäuse unter spezifisch pathogenfreien (SPF) Bedingungen, einer Quarantäne und einer Einheit für S2-Infektionsversuche unter SPF-Bedingungen. Über 70% der Erhaltungszuchten werden mittlerweile unter SPF-Bedingungen betreut und durch regelmäßige Gesundheitskontrollen überwacht. Die Arbeiten in der Einheit umfassen Rückkreuzungen und experimentelle Verpaarungen zur Generierung von neuen Mauslinien, Hygieneüberwachung, Stammsanierungen durch Embryotransfer, die Aufrechterhaltung von Kernzuchten und die Archivierung von Mauslinien durch Kryokonservierung von Embryonen und Spermien. Eine weitere Aufgabe ist die Zucht und Bereitstellung von Spendertieren und Ammen für die Generierung neuer genetisch-modifizierter Mauslinien durch Blastozysteninjektion von ES-Zellen.



Dr. Monner schiebt neue Mauskäfige auf ihre vorgesehenen Plätze. Foto: HZI, Bierstedt

Serviceangebote 2006 war die Zahl der belegten Käfige im Tierhaus konstant etwa 3600. Über 150 verschiedene Mauslinien werden zurzeit betreut. Neben der Versorgung der Mäuse führen die Tierpfleger sämtliche Zuchten und experimentelle Verpaarungen durch – inklusive Datenbankführung sowie Services wie Biopsien, Blutentnahmen, Immunisierungen und andere Applikationen. Die etablierten Techniken der Mikromanipulation von Mausembryonen erstrecken sich von Stammsanierungen über Embryo-Kryokonservierung bis hin zur *in vitro*-Fertilisation (IVF). Im Jahr 2006 wurden 16 Linien saniert und 5 Linien archiviert. Das Ausbildungsprogramm für Tierpfleger und Tierpflegerinnen verläuft weiterhin erfolgreich. Zur Zeit befinden sich neun Personen in der Ausbildung und im Jahr 2007 sollen zwei neue Auszubildende aufgenommen werden.

Betrieb der Infektionsplattform In einem getrennten Anbau des D-Gebäudes wird seit drei Jahren eine zweckbestimmte Infektionstierhaltung der Sicherheitsstufe 2 mit insgesamt 1728 Käfigen betreut. Die Arbeiten umfassen Hygieneüberwachung der Erhaltungszuchten sowie die Zucht und Bereitstellung von Mäusen und die Betreuung der Tiere im Versuch. Sämtliche Aktivitäten in der Einheit, inklusive Infektionsversuche, werden ausschließlich mit SPF-zertifizierten Mäusen – entweder gekauft oder aus eigenen Zuchten – unter Einhaltung entsprechender Hygienebedingungen durchgeführt.

Planung des neuen Tierhauses am HZI Campus Im Januar 2004 wurde die Planung eines zweiten Tierhauses mit einer Kapazität von ca. 10.000 Käfigen begonnen. In diesem Jahr wurden die Ausschreibungen und Submissionen für den Bau des Gebäudes weitgehend abgeschlossen. Es wird mit einer Übergabe des fertigen Gebäudes im Sommer 2008 gerechnet.

Die Tierhaltung im Twincore Gebäude in Hannover Nach Erwerb des Gebäudes des MPI für experimentelle Endokrinologie in Hannover durch das HZI und die MHH wurde im Herbst das Twincore Forschungszentrum gegründet. Aus den vorhandenen Tierhaltungsräumen im Gebäude soll eine Tierhaltung mit HZI-Haltungsbedingungen – SPF mit gnotobiotischem Hintergrund – eingerichtet werden. Nach einer umfangreichen Bestandsaufnahme wurde im November mit der Planung der notwendigen Renovierungen begonnen.



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

Aufgabe dieser Plattform ist es, die drei-dimensionale Struktur aller Arten von Naturstoffen aufzuklären und umfasst Massenspektrometrie (MS), Kernresonanzspektroskopie (NMR), Röntgenstrukturanalyse, Proteinsequenzierung, Elektronenmikroskopie und konfokale Laser-Mikroskopie. Die vollständige Struktur der Mehrzahl kleinerer Naturstoffe wird durch eine Kombination von MS und NMR aufgeklärt. Routinemäßig wird die direkte Analyse großer intakter Biomoleküle wie Proteine, Oligonukleotide und komplexer Kohlenhydrate mit MALDI- und/oder ESI-MS angeboten. Ein wichtiger Pluspunkt der Massenspektrometrie ist die Möglichkeit, auch kleinste Mengen komplexer Gemische bearbeiten zu können. Die Sekundär- und Tertiärstruktur von Peptiden und Proteinen in Lösung wird durch multidimensionale NMR-Spektroskopie untersucht. Voraussetzung ist allerdings ein mit stabilen Isotopen (^{15}N and ^{13}C) angereichertes Probenmaterial. Ein weiterer Schwerpunkt auf dem makromolekularen Arbeitsgebiet stellt die massenspektrometrische Strukturaufklärung von Glykoproteinen dar, insbesondere die Charakterisierung der ans Protein gebundenen Oligosaccharidketten mittels MALDI- und ESI-MS/MS-Techniken und hydrolytischer Mikroderivatisierungsmethoden. Große Anstrengungen wurden für eine Automatisierung von massenspektrometrischen Mikromethoden zur Identifizierung und Charakterisierung von Proteinen aus 2D-Gelen aufgewandt. Neben der klassischen Identifizierung anhand des tryptischen Peptid-Fingerprints wurden auch die automatische Aufnahme und Identifizierung von Proteingemischen mit HPLC ESI-MS/MS-Spektren etabliert.

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

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

FESEM-Techniken Die Elektronenmikroskopie wird zur Visualisierung der Anheftung und Invasion einer Vielzahl von Pathogenen in Wirtszellen eingesetzt. Es wurden spezielle Probenpräparationsprotokolle entwickelt, die den Einsatz der hochauflösenden Feldemissionsrasterelektronenmikroskopie (FESEM) für die Charakterisierung der verschiedenen Invasionswege von Pathogenen in Wirtszellen erlauben. Weiterhin wurden FESEM-Techniken entwickelt, um Pathogenitätsfaktoren durch an Antikörper gebundene kolloidale Goldpartikel auch innerhalb der Wirtszelle sichtbar zu machen und nicht nur auf der bakteriellen Zelloberfläche oder der Berührungsfläche zwischen bakterieller und Wirtszellmembran.



Probenvorbereitung für eine NMR-Analyse. Foto: HZI, Gramann



03 Genexpressionsanalyse

LEITER | Dr. Robert Geffers | Arbeitsgruppe Mukosale Immunität | rog@helmholtz-hzi.de

WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | Andreas Jeron

Die Array Facility bietet als zentrale Serviceeinrichtung am HZI Mikroarray-basierte Genexpressionsanalysen an. Im Einklang mit modernen Hochdurchsatzverfahren liegt ein besonderer Schwerpunkt in der Automatisierung der Probenverarbeitung, sowie in der Herstellung und Entwicklung selbst konfigurierbarer Mikroarrays. Damit besteht die Möglichkeit vielfache Messungen auf einem ausgewählten Gensatz durchzuführen. Komplementär zu diesem selbst-konfigurierbaren Mikroarraysystem für die Expressionsanalyse werden hoch standardisierte GeneChips der Firma Affymetrix eingesetzt. Neben den Expressionsanalysen bieten die Affymetrix „Tiling Arrays“ und „SNP Arrays“ Möglichkeiten, Promotorbindungsstudien und hochauflösende Genotypisierungen genomweit durchzuführen.

Service Die Array Facility bietet Expressionsanalyse, Genotypisierungsanalyse und Promotoranalysen als Service für Forschergruppen am HZI an sowie für deren Kooperationspartner. Insgesamt 550 Expressionsanalysen wurden 2006 durchgeführt; allein 450 auf dem Affymetrix GeneChip System. Von diesen 450 Analysen wurden etwa 250 durch HZI Forschergruppen angefordert und 200 von Kooperationspartnern des HZI. Etwa 100 Experimente wurden auf selbst-konfigurierbaren Mikroarrays, auch als „Themenchips“ bezeichnet, vorgenommen.

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.

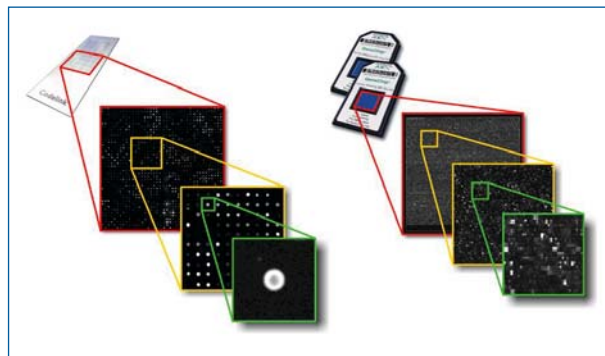
Zusätzlich zur Arrayherstellung und Probenverarbeitung werden bei Bedarf Datenanalyse, Datenaufbewahrung und Dateninterpretation angeboten, die den internationalen Standards angepasst sind und somit einen Austausch der Daten mit anderen Mikroarraydaten gewährleisten.

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

Zwei Beispiele: Wir haben zusammen mit Forschern vom HZI und der RWTH Aachen einen neuen und bisher einzigartigen genom-umfassenden Expressionschip entwickelt, den wir zur Zeit für die Entschlüsselung molekularer Signale der mikrobiellen Kommunikation (Quorum sensing) einsetzen. Das Ziel dieses Projektes ist es, neue Therapie-strategien gegen antibiotikaresistente Bakterien zu entwickeln.

Zusammen mit Forschern der MHH wurde durch die Kombination globaler Expressionsanalyse und Genotypisierung ein neues Molekül identifiziert, das entscheidende Funktionen in Neutrophilen, B-Zellen, zytotoxische T-Zellen und Melanozyten reguliert. Eine Mutation im Gen, das dieses Molekül kodiert, führt zur schweren Störung des humanen Immunsystems.

... 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 geplant.



Chips für die Array Facilities. Foto: HZI



04 Peptidsynthese

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

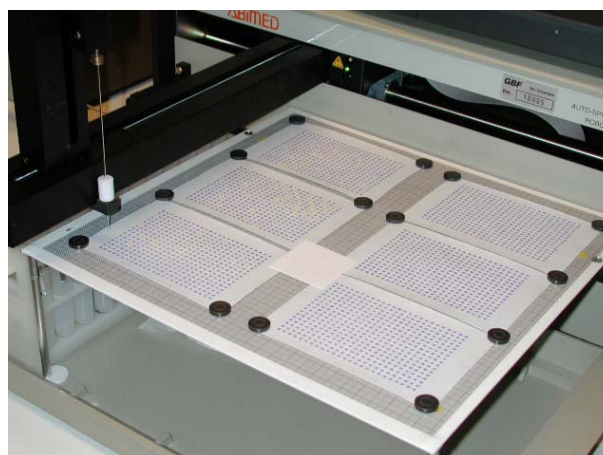
WISSENSCHAFTLICHER MITARBEITER | Dr. Ronald Frank

Seit ihrer Einrichtung 1990 werden in der Plattform synthetische Peptide in löslicher Form sowie immobilisiert in Form von Arrays für viele HZI-Projekte hergestellt. Für die Synthese, Charakterisierung und Reinigung werden moderne Geräte und Verfahren eingesetzt. Durch eigene Forschungsarbeiten wird das methodische Repertoire ständig aktualisiert und erweitert.

Lösliche Peptide Bisher wurden über 2.500 lösliche Peptide in der Plattform hergestellt und an die Nutzer übergeben. Lösliche Peptide werden durch HPLC und MALDI-Massenspektrometrie charakterisiert. Falls erforderlich, werden weitergehende Charakterisierungen durch Aminosäureanalyse, Proteinsequenzierung, spezielle Massenspektrometrie-Methoden und NMR in der HZI-Abteilung Strukturbiologie durchgeführt.

Abhängig von der geplanten Verwendung und der gewünschten Qualität der Produkte werden Reinigungen durchgeführt, in der Regel durch präparative HPLC. Für spezielle Anwendungen bietet die Plattform auch Peptidmodifikationen an, wie z.B. Phosphorylierung, Biotinylierung, Fettsäure-Konjugation, verzweigte Peptide und Zyklisierungen.

SPOT-Arrays Immobilisierte Peptide werden in Form von Arrays generiert und beispielsweise in der systematischen und empirischen Suche nach Peptidliganden eingesetzt. Für die erfolgreiche Konzeption solcher Arrays ist ein tiefgehendes Verständnis der biologischen Problemstellung entscheidend, das durch intensive Kooperation mit den Anwendern erreicht wird. Die SPOT-Arrays werden halb- und vollautomatisch auf Papiermembranen und anderen polymeren Trägern erzeugt. Pro Jahr werden ca. 15.000 Peptide und Peptidmischungen im Array-Format generiert. Anwendungen sind etwa die Untersuchung von Protein-Protein Interaktionen und Enzym-Substrat Wechselwirkungsprozessen.



Methodenentwicklung für parallele kombinatorische chemische Synthesen und Screens basieren auf der SPOT-Synthese, die auf Zellulosemembranen erzeugt werden. Foto: HZI, Bierstedt



05 Histologie/Pathologie-Plattform

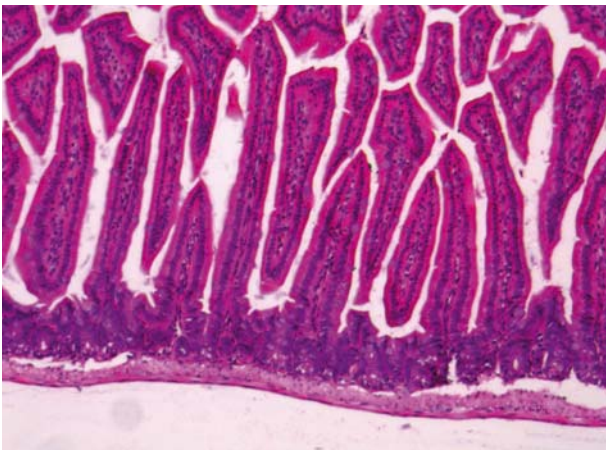
LEITER | Prof. Dr. Klaus Schughart | Abteilung für Experimentelle Mausgenetik | kls@helmholtz-hzi.de

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

Im Jahr 2006 wurde am HZI eine neue Histologie/Pathologie-Plattform als zentrale Serviceeinheit eingerichtet. Diese Anlaufstelle unterstützt Projekte und Forschungsgruppen, die histologischen Service und pathologisches Fachwissen benötigen.

Viele Forschungsprojekte am HZI beschäftigen sich zurzeit mit der Durchführung von Infektionsexperimenten an Mäusen. Dabei werden die Mechanismen der Abwehr des Wirtes an genetisch unterschiedlichen Mausstämmen und Mutantenlinien untersucht. Somit hat der Bedarf an histologischen und pathologischen Analysen der *in vivo* Experimente stark zugenommen. Die Histologie/Pathologie-Plattform bietet nun einen zentralen, maßgeschneiderten Service und vereint die gesamte notwendige Infrastruktur in einem Bereich. Die Wissenschaftler des HZI können nun entweder den gesamten Service – von der Einbettung, dem Schneiden, Anfärben und Archivieren der Gewebeproben bis zur Bewertung durch einen Pathologen – in Anspruch nehmen oder können die vorhandene Infrastruktur nutzen, um diese Arbeiten selber durchführen.

Zurzeit werden Paraffinschnitte routinemäßig angeboten. Sowohl Kryostaten als auch ein begrenztes Angebot an immuno-histo-chemischen Analysen sind verfügbar. Dieses Angebot wird ständig erweitert. Weitergehende spezielle Dienstleistungen können in Zusammenarbeit mit der pathologischen Abteilung der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) durchgeführt werden. Pathologische Expertisen, Unterstützung bei der Versuchsplanung und Ergebnisinterpretationen werden von einem professionellen Pathologen angeboten, der regelmäßig am HZI anwesend ist und darüber hinaus bei Bedarf kontaktiert werden kann.



Der Darm einer Maus (10X), nicht infiziert, HE-angefärbt.

Foto: HZI



06 Proteinexpression

LEITER | Dr. Joop van den Heuvel | Projektgruppe Rekombinante Proteinexpression | jvh@helmholtz-hzi.de

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER | Dr. Volker Jäger | Priv.-Doz. Dr. Ursula Rinas



Proteinproduktion im 100L-Maßstab. Foto: HZI, Bierstedt

Die rekombinante Proteinexpressionsgruppe (RPEX) des Bereichs Strukturbiologie befasst sich mit der Aufgabe, ausreichende Mengen an bakteriellen bzw. Säugerproteinen für die 3-dimensionale Strukturaufklärung herzustellen. Obwohl es heutzutage möglich ist, nahezu alle Gene zu klonieren, hängen die Erfolge bei der Expression häufig von der Wahl der zur Verfügung stehende Expressionssysteme ab. Aus diesem Grunde werden in der RPEX die vier wichtigsten Expressionssystemgruppen (*E. coli*, *P. pastoris*, Insektenzell- und Säugerzellkultur) vorgehalten. Dies sollte erlauben, neben „einfachen“ Proteinen auch kompliziertere Proteinkomplexe in ausreichenden Mengen zu produzieren.

RPEX ist im Juni 2006 zusammen mit dem Bereich Strukturbiologie in ein neues Gebäude auf dem HZI-Gelände umgezogen. Die neue Anlage umfasst hochmoderne Laborräume, die dem Stand der Wissenschaft und Technik entsprechen. Sie unterstützt als Plattform die Strukturbiologen am HZI und an anderen Helmholtz-Zentren sowie akademischen oder außeruniversitären Einrichtungen. Sie werden bei der Herstellung großer Mengen rekombinanter Proteine für die Strukturanalyse mit Hilfe der Röntgenkristallographie, NMR-Spektroskopie oder Elektronenmikroskopie unterstützt.

Servicekomponente Die RPEX-Gruppe stellt ihre fundierten Kenntnisse über Klonierung, Genexpression, Produktion, Reinigung und Faltung von Proteinen zur Verfügung. Zurzeit werden ca. 50 % der Kapazität zur Proteinproduktion für HZI-Projekte eingesetzt. Die restliche Kapazität wird für den Betrieb der Helmholtz Protein Sample Production Facility (PSPF) genutzt, die am HZI in Braunschweig und am Max-Delbrück-Zentrum (MDC) in Berlin-Buch angesiedelt ist. Schwerpunkt der HZI-Aktivitäten ist die Produktion von ausreichend reinem Proteinmaterial für die strukturelle Charakterisierung von Proteinkomplexen aus tierischen Zellkulturen. Die PSPF wird durch eine zusätzliche Finanzierung über die Helmholtz-Gemeinschaft unterstützt.

Forschung Ziel ist die Etablierung neuer Techniken für die Produktion von Multiprotein-Komplexen aus eukaryontischen Zellen. Die neue Projektgruppe „Expression von Säugerproteinen“ (MPEX) wird die Stabilität und Qualität von Expressionszelllinien an Hand neuer Klonierungsverfahren optimieren. Diese Methode wird auch den Durchsatz der bereits klonierten Gene erhöhen. Weitere Herausforderungen liegen in der Reduzierung des Produktionsmaßstabes und der Automatisierung der Proteinproduktion.



07 Bioverfahrenstechnik und GMP

LEITER | Dr. Holger Ziehr | Arbeitsgruppe Qualitäts- und Projektmanagement | hzi@helmholtz-hzi.de

WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER | Luma Baydoun | Dr. Jochen Berlin | Christin Dangel | Dr. Sevim Duvar | Thomas Gäbel | René Gowlienka | Dr. Volker Hecht | Dr. Helmut Hustedt | Dr. Volker Jäger | Wolfgang Kessler | Stefan Kluger | Karl-Heinz Kroner | Reinhard Krützfeld | Dr. Ulrich Menge | Maren Michel | Dr. Bernd G. Müller | Jürgen Nothnagel | Ramón Nuppenau | Dr. Neophytos Papamichael | Dr. Jens Ingwer Paulsen | Dr. Anton Roß | Matthias Patrick Weide

Im Berichtszeitraum etablierte sich der Bereich Bioverfahrenstechnik weiter als Technologiedienstleister für Klienten innerhalb und außerhalb der Helmholtz-Gesellschaft. Die Dienstleistungen umfassten die Entwicklung und Umsetzung von Kultivierungsverfahren für Mikroorganismen und tierischen Zellen in den technischen Maßstab. Zudem entwickelte der Arbeitsbereich im Anschluss Produktisolationsverfahren mit denen Proteine, Nukleinsäuren/Plasmide, Antikörper und andere Biomoleküle aus Zellmassen und Überständen aufgereinigt werden können.

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

Seit 2004 hat BVT als nach wie vor einzige deutsche Einrichtung eine allgemeine, nicht produktspezifische Herstellungserlaubnis gem. § 13 AMG.

Im Frühjahr 2006 wurde mit der F. Hoffmann La Roche Ltd. (Basel) ein über mehrere Jahre angelegter Entwicklungsvertrag geschlossen, der die Zellkulturtechnik der Arbeitsgruppe KVT quantitativ in den Dienst der Firma stellt und die Entwicklung von Verfahren zur Herstellung von Glykoproteinen zum Inhalt hat.

Mit der Polyphag GmbH in Viersen wurde Anfang 2006 ein Projekt begonnen, dass die Entwicklung von Bakteriophagen als Wirkstoffe gegen Infektionskrankheiten zum Inhalt hat.

Im Laufe des Jahres 2006 wurden mehr als 300 Kultivierungen von Mikroorganismen und Säugerzellen durchgeführt. Davon waren etwa 40 % für externe Klienten aus Hochschulinstituten und der Industrie bestimmt.



Dr. Neophytos Papamichael kontrolliert das Wasseraufbereitungssystem der GMP-II-Einheit am HZI. Foto: HZI, Bierstedt

Menschen am HZI



Foto: HZI



Foto: HZI

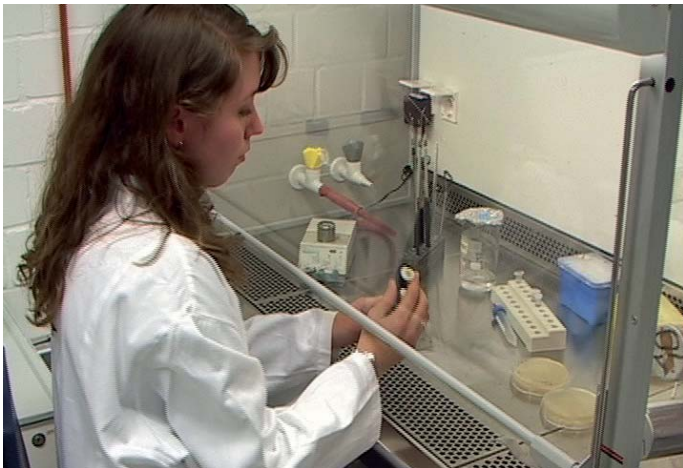


Foto: Koch



Foto: HZI



Foto: HZI

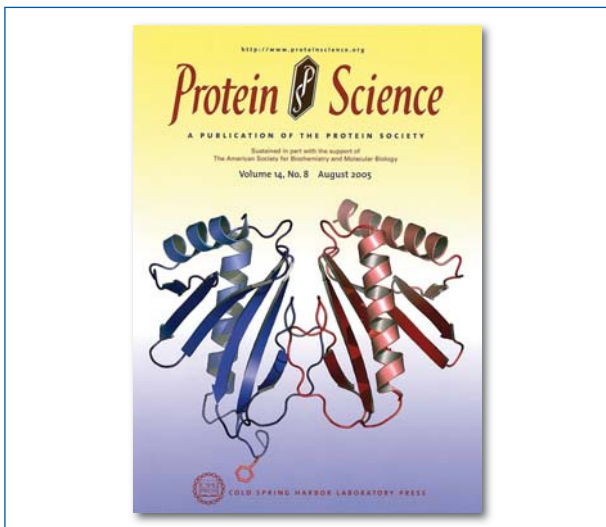


Foto: Koch

Veröffentlichungen 2005

Infektion und Immunität – 2005

- Agerer,F., Lux,S., Michel,A., Rohde,M., Ohlsen,K., & Hauck,C.R. (2005) Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* reveals a functional link between focal adhesion kinase and cortactin in integrin-mediated internalisation. *Journal of Cell Science* **118**, 2189-2200.
- Bando,H., Weich,H.A., Brokelmann,M., Horiguchi,S., Funata,N., Ogawa,T., & Toi,M. (2005) Association between intratumoral free and total VEGF, soluble VEGFR-1, VEGF receptor-2 and prognosis in primary breast cancer. *British Journal of Cancer* **92**, 553-561.
- Barthold,M., Majore,I., Fargali,S., Stahl,F., Schulz,R., Lose,S., Mayer,H., & Jäger,V. (2005) 3D-cultivation and characterisation of osteogenic cells for the production of highly viable bone tissue implants. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics* (Godia,F. & Fussenegger,M., eds), pp. 199-205. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Bassani Molinas,M.M., Nelving,A., Beer,C., Hesse,F., Wirth,M., Durocher,Y., Kamen,A., & Wagner,R. (2005) Intracellular nucleotide pools for optimizing product-oriented transient transfection of HEK293 cells in suspension. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. pp. 83-66. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Bauer,H., Darji,A., Chakraborty,T., & Weiss,S. (2005) Salmonella-mediated oral DNA vaccination using stabilised eukaryotic expression plasmids. *Gene Therapy* **12**, 364-372.
- Beer,C. & Wirth,M. (2005) A new method for the quantitative determination of enveloped viral particles. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. pp. 321-323. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Beer,C., Pedersen,L., & Wirth,M. (2005) Amphotropic mouse leukaemia virus envelope protein is associated with cholesterol-rich domains. *Virology Journal* **2**, 36.
- Benesch,S., Polo,S., Lai,F.P.L., Anderson,K.I., Stradal,T.E.B., Wehland,J., & Rottner,K. (2005) N-WASP deficiency impairs EGF internalization and actin assembly at clathrin coated pits. *Journal of Cell Science* **118**, 3103-3115.
- Bergmann,S., Rohde,M., Preissner,K.T., & Hammerschmidt,S. (2005) The nine residue plasminogen-binding motif of the pneumococcal enolase is the major cofactor of plasmin-mediated degradation of extracellular matrix, dissolution of fibrin and transmigration. *Thrombosis and Haemostasis* **94**, 304-311.
- Bertram,H., Mayer,H., & Schliephake,H. (2005) Effect of donor characteristics, technique of harvesting and in vitro processing on culturing of human marrow stroma cells for tissue engineered growth of bone. *Clinical Oral Implants* **16**, 524-531.
- Beutling,U., Dikmans,A., Thiele,S., & Frank,R. (2005) A novel process for manufacturing high density multipurpose chemical micro-arrays. In: *Peptides 2004; Proc. 28 Europ. Peptide* (Flegel, Fridkin, Gilon, & Slaninova, eds), pp. 152-153. Kenes International, Geneva.
- Blumenthal,A., Lauber,J., Hoffmann,R., Ernst,M., Keller,C., Buer,J., Ehlers,S., & Reiling,N. (2005) Common and unique gene expression signatures of human macrophages in response to four strains of *Mycobacterium avium* differing in their growth and persistence characteristics. *Infection and Immunity* **73**, 3330-3341.
- Bohn,G., Allroth,A., Thiel,J., Schaffer,A.A., Brandes,G., Glocker,E., Teis,D., Taub,N., Zeidler,C., Geffers,R., Buer,J., Huber,L.A., Welte,K., Grimbacher,B., & Klein,C. (2005) A variant of congenital neutropenia is caused by a 3'-UTR mutation in the gene encoding the endosomal adaptor protein p14 (MAPBPIP). *Blood* **106**, 31A.
- Bollati-Fogolin,M., Irani,N., Beccaria,A.J., Schulz,C., van den Heuvel,J., Elias,C.B., Carpentier,E., Durocher,Y., Bisson,L., Etcheverrigaray,M., Kratje,R.B., Wirth,M., Kamen,A., & Wagner,R. (2005) Impact of yeast pyruvate carboxylase on the productivity of animal host cell lines. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics* (Godia,F. & Fussenegger,M., eds), pp. 87-89. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Bollati-Fogolin,M., Forno,G., Nimtz,M., Conradt,H., Etcheverrigaray,M., & Kratje,R. (2005) Temperature reduction in cultures of hGM-CSF-expressing CHO cells: effect on productivity and product quality. *Biotechnology Progress* **21**, 17-21.
- Bollati-Fogolin,M. & Müller,W. (2005) Virus free, cell-based assay for the quantification of murine type I interferons. *Journal of Immunological Methods* **306**, 169-175.
- Borsutzky,S., Kretschmer,K., Becker,P.D., Mühlradt,P.F., Kirschning,C.J., Weiss,S., & Guzmán,C.A. (2005) The mucosal adjuvant macrophage-activating lipopeptide-2 directly stimulates B lymphocytes via the TLR2 without the need of accessory cells. *Journal of Immunology* **174**, 6308-6313.
- Böldicke,T., Weber,H., Müller,P.P., Barleon,B., & Bernal,M. (2005) Corrigendum to: Novel highly efficient intrabody mediates complete inhibition of cell surface expression of the human vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2/KDR). *Journal of Immunological Methods* **303**, 153-154.
- Böldicke,T., Weber,H., Müller,P.P., Barleon,B., & Bernal,M. (2005) Novel highly efficient intrabody mediates complete inhibition of cell surface expression of the human vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2/KDR). *Journal of Immunological Methods* **300**, 146-159.



Titelbild der Zeitschrift *Protein Science*, Vol. 14 (8), 2005, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Büttner, C. R.; Cornelis, G. R.; Heinz, D. W., und Niemann, H. H.. Crystal structure of *Yersinia enterocolitica* type III secretion chaperone SycT. *Protein Science*. 2005. **14** (8): 1993 – 2002. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Bredenbruch, F., Nimtz, M., Wray, V., Morr, M., Müller, R., & Häußler, S. (2005) Biosynthetic pathway of *Pseudomonas aeruginosa* 4-hydroxy-2-alkylquinolines. *Journal of Bacteriology* **187**, 3630-3635.
- Brown, S.D., Chambon, P., de Angelis, M.H., Balling, R., Frischmann, U., Hauser, H., Lengeling, A., Müller, W., Pasche, B., & Eumorphia Consortium (2005) EMPReSS: standardized phenotype screens for functional annotation of the mouse genome. *Nature Genetics* **37**, 1155.
- Bruder, D., Westendorf, A.M., Hansen, W., Prettin, S., Gruber, A.D., Qian, Y., Von Boehmer, H., Mahnke, K., & Buer, J. (2005) On the edge of autoimmunity: T cell stimulation by steady state dendritic cells prevents autoimmune diabetes. *Diabetes* **54**, 3395-3401.
- Buer, J., Westendorf, A.M., Zeng, A.-P., He, F., Hansen, W., & Probst-Kepper, M. (2005) Mechanisms of central and peripheral T cell tolerance: An update. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* **32**, 384-399.
- Chakravorty, D., Rohde, M., Jäger, L., Deiwick, J., & Hensel, M. (2005) Formation of a novel surface structure encoded by Salmonella pathogenicity Island 1. *EMBO Journal* **24**, 2043-2052.
- Chandrasekar, I., Stradal, T.E.B., Holt, M.R., Entschladen, F., Jockusch, B.M., & Ziegler, W.H. (2005) Vinculin acts as a sensor in lipid regulation of adhesion-site turnover. *Journal of Cell Science* **118**, 1461-1472.
- Chhatwal, G.S. & McMillan, D. (2005) Uncovering the mysteries of invasive streptococcal diseases. *Trends in Molecular Medicine* **11**, 152-155.
- Czuchra, A., Wu, X., Meyer, H., Van Hengel, J., Schroeder, T., Geffers, R., Rottner, K., & Brakebusch, C. (2005) Cdc42 is not essential for filopodium formation, directed migration, cell polarization and mitosis in fibroblastoid cells. *Molecular Biology of the Cell* **16**, 4473-4484.
- Deswal, R., Singh, R., Lynn, A.M., & Frank, R. (2005) Identification of immunodominant regions of *Brassica juncea* glyoxalase I as potential antitumor immunomodulation targets. *Peptides* **26**, 395-404.
- Dieterich, G., Kärst, U., Fischer, E., Wehland, J., & Jänsch, L. (2005) LEGER: knowledge database and visualization tool for comparative genomics of pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Nucleic Acids Research* **34**, 402-406.
- Dieterich, G., Kärst, U., Wehland, J., & Jänsch, L. (2005) MineBlast: A literature presentation service supporting protein annotation by data Mining of blast results. *Bioinformatics* **21**, 3450-3451.
- Dikopoulos, N., Bertoletti, A., Kröger, A., Hauser, H., Schirmbeck, R., & Reimann, J. (2005) Type I interferon negatively regulates CD8+ T cell responses through IL-10-producing CD4+ TR1 cells. *Journal of Immunology* **174**, 99-109.
- Disanza, A., Steffen, A., Hertzog, M., Frittoli, E., Rottner, K., & Scita, G. (2005) Actin polymerization machinery: the finish line of signalling networks, the starting point of cellular movement. *Cellular and Molecular Life Sciences* **62**, 955-970.
- Dubois, T., Paleotti, O., Mironov, A.A., Fraissier, V., Stradal, T.E.B., De Matteis, M.A., Franco, M., & Chavrier, P. (2005) Golgi-localized GAP for Cdc42 functions downstream of ARF1 to control Arp2/3 complex and F-actin dynamics. *Nature Cell Biology* **7**, 353-364.
- Ehrlich, G. & Kalesse, M. (2005) Synthesis of the C13-C23 segment of tedanolide. *Synlett* 655-657.
- 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.
- Eming, S., Lauer, G., Cole, M., Jurk, S., Christ, H., Hornig, C., Krieg, T., & Weich, H.A. (2005) Increased levels of the soluble variant of the vascular endothelial growth factor receptor VEGFR-1 are associated with a poor prognosis in wound healing. *Journal of Investigative Dermatology* **123**, 799-802.
- Erck, C., Peris, L., Andrieux, A., Meissirel, C., Gruber, A.D., Vernet, M., Schweitzer, A., Saoudi, Y., Pointu, H., Bosc, C., Salin, P., Job, D., & Wehland, J. (2005) A vital role of tubulin-tyrosine-ligase for neuronal organization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 7853-7858.
- Erfle, V., Goebel, F.D., Guzmán, C.A., & Le Grand, R. (2005) Vaccines based on Nef and on Nef/delta V2 Env. *Microbes and Infection* **7**, 1400-1404.
- Fargali, S., Barthold, M., Rohde, M., Majore, I., & Jäger, V. (2005) *In vitro* cultivation of rabbit mesenchymal stromal cells on 3D bioresorbable calcium phosphate scaffolds for the generation of bone tissue implants. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. pp. 241-243. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Feldmeier, H., Chhatwal, G.S., & Guerra, H. (2005) Pyoderma, group A streptococci and parasitic skin diseases - a dangerous relationship. *Tropical Medicine and International Health* **10**, 713-716.
- Friedl, P., den Boer, A.T., & Gunzer, M. (2005) Tuning immune responses: diversity and adaption of the immunological synapse. *Nature Reviews Immunology* **5**, 532-545.
- Gailus-Durner, V., Fuchs, H., Brielmeier, M., Calzada-Wack, J., Elvert, R., Ehrhardt, N., Dalke, C., Franz, T.J., Grundner-Culemann, E., Hammelbacher, S., Höfler, S.M., Horsch, M., Javaheri, A., Kalaydjiev, S., Klempt, M., Kunder, S., Lengger, C., Lisse, T., Mijalski, T., Naton, B., Pedersen, V., Prehn, C., Racz, L., Reinhard, C., Reitmeir, P., Schneider, I., Steinkamp, R., Zybill, C., Adamski, J., Beckers, J., Behrendt, H., Favor, J., Graw, J., Heldmaier, G., Höfler, H., Ivandic, B., Katus, H., Kirchhof, P., Klingenspor, M., Klopstock, T., Lengeling, A., Müller, W., Ohl, F., Ollert, M., Quintanilla-Fend, L., Schmidt, J., Schulz, H., Wolf, E., Wurst, W., Zimmer, A., Busch, D.H., & Hrabé de Angelis, M. (2005) Introducing the German Mouse Clinic: Open access platform for standardized phenotyping. *Nature Methods* **2**, 403-404.
- Gailus-Durner, V., Adamski, L., Beckers, J., Behrendt, H., Busch, D., Engelmann, B., Floss, T., Fuchs, H., Graw, J., Hansen, G., Heldmaier, G., Himmelbauer, H., Höfler, H., Höfler, S., Ivandic, B., Jakob, H., Katus, H., Klingenspor, M., Laufs, J., Lengeling, A., Lengger, C., Müller, W., Nehls, M., Ollert, M., Quintanilla-Fend, L., Ruiz, P., Schulz, H., von Melchner, H., Wolf, E., Wurst, W., Zeretke, S., Zimmer, A., & Hrabé de Angelis, M. (2005) Mäuse als Modelle für erbliche Erkrankungen des Menschen. *GenomXpress* **2**, 7-10.
- Gaitatzis, N., Kunze, B., & Müller, R. (2005) Novel insights into siderophore formation in myxobacteria. *ChemBioChem* **6**, 365-374.



Titelbild der Zeitschrift Environmental Microbiology, Vol. 7 (6), 2005, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Gerth, K. und Müller, R. Moderately thermophilic myxobacteria: novel potential for the production of natural products isolation and characterization. Environmental Microbiology. 2005; 7 (6): 874-880. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Blackwell Publishing.

- Galeyeva, Y., Morr, M., Laschat, S., Baro, A., Nimtz, M., & Sasse, F. (2005) Ex chiral pool synthesis of (-)-siphonarienone from a methyl-branched wax ester. *Synthesis* **17**, 2875-2880.
- Gekara, N.O., Jacobs, T., Chakraborty, T., & Weiss, S. (2005) The cholesterol-dependent cytolysin listeriolysin O aggregates rafts via oligomerization. *Cellular Microbiology* **7**, 1345-1356.
- Gerth, K. & Müller, R. (2005) Moderately thermophilic Myxobacteria: novel potential for the production of natural products isolation and characterization. *Environmental Microbiology* **7**, 874-880.
- Gingras, A.R., Ziegler, W.H., Frank, R., Barsukov, I.L., Roberts, G.C.K., Critchley, D.R., & Emsley, J. (2005) Mapping and consensus sequence identification for multiple vinculin binding sites within the talin rod. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 37217-37224.
- Goelden, U., Pfoertner, S., Hansen, W., Toepfer, T., von Knobloch, R., Hofmann, R., Buer, J., & Schrader, A.J. (2005) Expression and functional influence of cellular retinoic acid-binding protein II in renal cell carcinoma. *Urologia Internationalis* **75**, 269-276.
- Goelden, U., Ukena, S.N., Pfoertner, S., Hofmann, R., Buer, J., & Schrader, A.J. (2005) RAR-beta1 overexpression in chromophobe renal cell carcinoma: a novel target for therapeutic intervention? *Experimental Oncology* **27**, 220-224.
- Goetze, S., Baer, A., Winkelmann, S., Nehlsen, K., Seibler, J., Maass, K., & Bode, J. (2005) Performance of genomic bordering elements at pre defined genomic loci. *Molecular and Cellular Biology* **25**, 2260-2272.
- Goldmann, O., Chhatwal, G.S., & Medina, E. (2005) Contribution of NK cells to the pathogenesis of septic shock induced by *Streptococcus pyogenes* in mice. *Journal of Infectious Diseases* **191**, 1280-1286.
- Goldmann, O., Lengeling, A., Böse, J., Blöcker, H., Geffers, R., Chhatwal, G.S., & Medina, E. (2005) The role of the major histocompatibility complex on resistance to Group A Streptococci in mice. *Journal of Immunology* **175**, 3862-3872.
- Grümmer, R., Motejlek, K., Berghaus, D., Weich, H.A., & Neulen, J. (2005) Regulation of soluble vascular endothelial growth factor receptor (sFlt-1 / sVEGFR-1) expression and release in endothelial cells by human follicular fluid and granulosa cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* **25**, 57.
- Gunzer, M., Riemann, H., Basoglu, Y., Hillmer, A., Weishaupt, C., Balkow, S., Benninghoff, B., Ernst, B., Steinert, M., Scholzen, T., Sunderkotter, C., & Grabbe, S. (2005) Systemic administration of a TLR7 ligand leads to transient immune incompetence due to peripheral blood leukocyte depletion. *Blood* **106**, 2424-2432.
- Guzmán, C.A., Cebolla, A., Beltrametti, F., Staendner, L.H., & de Lorenzo, V. (2005) Physiological stress of intracellular *Shigella flexneri* visualized with a metabolic sensor fused to a surface-reporter system. *FEBS Letters* **579**, 813-818.
- Hammerschmidt, S., Wolff, S., Hocke, A., Rosseau, S., Müller, E., & Rohde, M. (2005) Illustration of pneumococcal polysaccharide capsule during adherence and invasion of epithelial cells. *Infection and Immunity* **73**, 4653-4667.
- Hansen, W., Grabenhorst, E., Nimtz, M., Müller, K., Conrad, H.S., & Wirth, M. (2005) Generation of serum-stabilized retroviruses: Reduction of alpha1,3gal-epitope synthesis in a murine NIH3T3-derived packaging cell line by expression of chimeric glycosyltransferases. *Metabolic Engineering* **7**, 221-228.
- Hassfeld, J., Kalesse, M., Stellfeld, T., & Christmann, M. (2005) Asymmetric total synthesis of complex marine natural products. *Marine Biotechnology* **97**, 133-203.
- Hassfeld, J., Eggert, U., & Kalesse, M. (2005) Synthesis of the C1-C17 macrolactone of tedanolide. *Synthesis* **1183-1199**.
- Heinz, D.W., Schubert, W.-D., & Höfle, G. (2005) Lange gesucht – Die bioaktive Konformation von Epothilon und seine Bindung im Tubulin. *Angewandte Chemie* **117**, 1324-1327.
- Helming, L., Böse, J., Ehrchen, J., Schiebe, S., Frahm, T., Geffers, R., Probst-Kepper, M., Balling, R., & Lengeling, A. (2005) 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 is a potent suppressor of interferon gamma-mediated macrophage activation. *Blood* **106**, 4351-4358.
- Henklein, P., Bruns, K., Nimtz, M., Wray, V., Tessmer, U., & Schubert, W.-D. (2005) Influenza A virus protein PB1-F2: Synthesis and characterization of the biologically active full length protein and related peptides. *Journal of Peptide Science* **11**, 481-490.
- Hoffmann, A., Preobrazhenska, O., Wodarczyk, C., Medler, Y., Winkel, A., Shahab, S., Huylebroeck, D., Gross, G., & Verschuere, K. (2005) Transforming growth factor-beta-activated kinase-1 (TAK1), a MAP3K, interacts with Smad proteins and interferes with osteogenesis in murine mesenchymal progenitors. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 27271-27283.
- Hoffmann, J., Feng, Y., vom Hagen, F., Hillenbrand, A., Lin, J., Erber, R., Vajkoczy, P., Gourzoulidou, E., Waldmann, H., Wolburg, H., Shani, M., Jaeger, V., Weich, H.A., Preissner, K., Hoffmann, S., Deutsch, U., & Hammes, H.-P. (2005) Endothelial survival factors, but not pericyte coverage of retinal capillaries determine responsiveness to vasoregression in the retina. *FASEB Journal* **19**, 2035-2046.
- Hunger, J.K., Pfoertner, S., Ivanyi, P., Krauter, J., Ganser, A., Buer, J., & Franzke, A. (2005) Regulation of T cell homeostasis and cell cycling in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* **106**, 776A.
- Huss, M., Sasse, F., Kunze, B., Jansen, R., Steinmetz, H., Ingenhorst, G., Zeeck, A., & Wieczorek, H. (2005) Archazolid and apicularen: Novel specific V-ATPase inhibitors. *BMC Biochemistry* **6**, 13.
- Innocenti, M., Gerboth, S., Rottner, K., Lai, F.P.L., Hertzog, M., Stradal, T.E.B., Frittoli, E., Didry, D., Polo, S., Disanza, A., Benesch, S., Di Fiore, P.P., Carlier, M.-F., & Scita, G. (2005) Abi1 regulates the activity of N-WASP and WAVE in distinct actin-based processes. *Nature Cell Biology* **7**, 969-976.
- Jenzora, A., Behrendt, B., Small, J.V., Wehland, J., & Stradal, T.E.B. (2005) PREL1 links Ras signalling to actin remodeling via Ena/VASP proteins. *FEBS Letters* **579**, 455-463.
- Juhas, M., Wiehlmann, L., Salunkhe, P., Lauber, J., Buer, J., & Tummler, B. (2005) Gene Chip expression analysis of the VqsR regulon of *Pseudomonas aeruginosa* TB. *FEMS Microbiology Letters* **242**, 287-295.
- Kadow, S., Betiku, E., Rinas, U., & Bilitewski, U. (2005) Development of a rapid, quantitative glucosyltransferase assay based on a screen-printed fructose enzyme electrode and application to optimization studies on gtfD expression in recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnology and Bioengineering* **91**, 154-161.
- Kalesse, M. (2005) Recent advances in vinyllogous Aldol reactions and their applications in the syntheses of natural products. *Natural Products Synthesis Targets, Methods, Concepts* **244**, 43-76.
- Kaysner, A., Weber, J., Hecht, V., & Rinas, U. (2005) Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: I. Growth rate dependent metabolic efficiency at steady state. *Microbiology* **151**, 693-706.
- Klar, M., Stellamanns, E., AK, P., Gluch, A., & Bode, J. (2005) Dominant genomic structures: detection and potential signal functions in the interferon-beta chromatin domain. *Gene* **364**, 79-98.
- Klar, M. & Bode, J. (2005) Enhanceosome formation over the interferon-beta promoter underlies a remote-control mechanism mediated by YY1 and YY2. *Molecular and Cellular Biology* **25**, 10159-10170.
- Kopp, M., Irschik, H., Pradella, S., & Müller, R. (2005) Production of the tubulin destabilizer disorazol in *Sorangium cellulosum*: Biosynthetic machinery and regulatory genes. *ChemBioChem* **6**, 1277-1286.
- Köster, M., Frahm, T., & Hauser, H. (2005) Nucleocytoplasmic shuttling analysis of STAT1 by FRAP and FLIP. *Current Opinion in Biotechnology* **16**, 28-34.

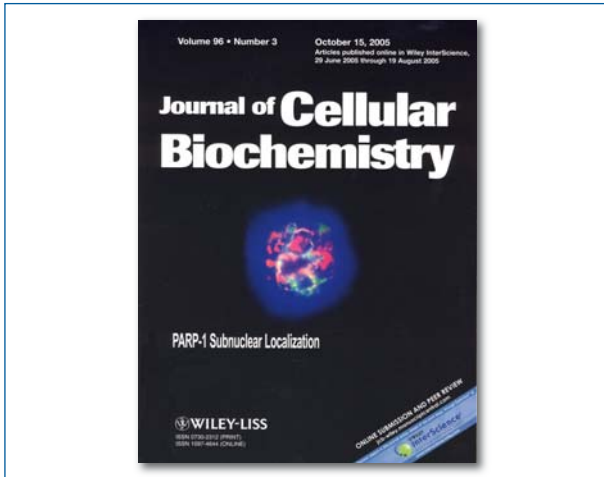
- Kunze,B., Reichenbach,H., Müller,R., & Höfle,G. (2005) Aurafuron A and B, new bioactive polyketides from *Stigmatella aurantiaca* and *Archangium gephyra* (Myxobacteria). Fermentation, isolation, physico-chemical properties, structure and biological activity. *Journal of Antibiotics* **58**, 244-251.
- Lechel,A., Satyanarayana,A., Ju,Z., Plentz,R., Schaetzlein,S., Rudolph,C., Wilkens,L., Wiemann,S.U., Saretzki,G., Malek,N. P., Manns,M.P., Buer,J., & Rudolph,K.L. (2005) The cellular level of telomere dysfunction determines induction of senescence or apoptosis *in vivo*. *EMBO Reports* **6**, 275-281.
- Lenz,T., Gauer,s., Weich,H.A., Haak,T., Bergner,R., & Gossman,J. (2005) VEGF and Flt-1 are not correlated to EPO in diabetics with normal or reduced renal function. *Nephrology* **10**, 84-89.
- Liesener,F.P. & Kalesse,M. (2005) Synthesis of the C19-C26 segment of amphidinolide H2. *Synlett* 2236-2238.
- Loser,K., Hansen,W., Apelt,J., Balkow,S., Buer,J., & Beissert,S. (2005) *In vitro* generated regulatory T cells induced by Foxp3-retrovirus infection control murine contact allergy and systemic autoimmunity. *Gene Therapy* **12**, 1294-1304.
- Machata,S., Hain,T., Rohde,M., & Chakraborty,T. (2005) Simultaneous deficiency of both MurA and p60 proteins generates a rough phenotype in *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology* **187**, 8385-8394.
- Maerker,C., Rohde,M., Brakhage,A.A., & Brock,M. (2005) Methylcitrate synthase from *Aspergillus fumigatus* – Propionyl-CoA affects polyketide synthesis, growth and morphology of conidia. *FEBS Journal* **272**, 3615-3630.
- Matussek,A., Strindhall,J., Stark,L., Buer,J., Geffers,R., Rohde,M., Kihlstrom,E., Lindgren,P.-E., & Lofgren,S. (2005) Infection of human endothelial cells with *Staphylococcus aureus* induces transcription of genes encoding an innate immunity response. *Scandinavian Journal of Immunology* **61**, 536-544.
- May,T., Müller,P., Weich,H., Froese,N., Deutsch,U., Wirth,D., Kröger,A., & Hauser,H. (2005) Establishment of murine cell lines by constitutive and conditional immortalization. *Journal of Biotechnology* **120**, 99-110.
- May,T., Hauser,H., Wirth,D., & Müller,P.P. (2005) Transcriptionally regulated immortalization overcomes side effects of temperature-sensitive SV40 large T antigen. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **327**, 734-741.
- Mayer,H., Bertram,H., Lindenmaier,W., Korff,T., Weber,H., & Weich,H. A. (2005) Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) expression in human mesenchymal stem cells: autocrine and paracrine role on osteoblastic and endothelial differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry* **95**, 827-839.
- McMillan,D. & Chhatwal,G.S. (2005) Prospects for a group A streptococcal vaccine. *Current Opinion in Molecular Therapeutics* **7**, 11-16.
- Medina,E. & Lengeling,A. (2005) Genetic regulation of host responses to Group A Streptococcus in mice. *Briefings in Functional Genomics & Proteomics* **4**, 248-257.
- Mersal,G.A.M. & Bilitewski,U. (2005) Development of monolithic enzymatic reactors in glass microchips for the quantitative determination of enzyme substrates using the example of glucose determination via immobilized glucose oxidase. *Electrophoresis* **26**, 2303-2312.
- Mersal,G.A.M. & Bilitewski,U. (2005) Manipulation of the electroosmotic flow in glass and PMMA microchips with respect to specific enzymatic glucose determinations. *Microchimica Acta* **151**, 29-38.
- Michalzik,M., Wendler,J., Rabe,J., Büttgenbach,S., & Bilitewski,U. (2005) Development and application of a miniaturised quartz crystal microbalance (QCM) resonator as immunosensor for bone morphogenic protein-2. *Sensors and Actuators B: Chemical* **105**, 508-515.



Titelbild der Zeitschrift *Biological Chemistry*, Vol. 386 (10), 2005, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Layer, G.; Kervio, E.; Morlock, G.; Heinz, D. W.; Jahn, D. Retey, J., und Schubert, W.-D.. *Structural and functional comparison of HemN to other radical SAM enzymes. Biological Chemistry. 2005. 386 (10): 971-980. Mit freundlicher Genehmigung des Walter de Gruyter Verlages.*

- Milkereit,G., Brandenburg,K., Gerber,S., Koch,M.H.J., Morr,M., Andra,J., Seydel,U., & Vill,V. (2005) Synthesis and mesomorphic properties of glycosyl dialkyl- and diacyl-glycerols bearing saturated, unsaturated and methyl branched fatty acid and fatty alcohol chains. Part II. Mesomorphic properties. *Chemistry and Physics of Lipids* **135**, 15-26.
- Milkereit,G., Gerber,S., Brandenburg,K., Morr,M., & Vill,V. (2005) Synthesis and mesomorphic properties of glycosyl dialkyl- and diacyl-glycerols bearing saturated, unsaturated and methyl branched fatty acid and fatty alcohol chains. Part I. Synthesis. *Chemistry and Physics of Lipids* **135**, 1-14.
- Muenzner,P., Rohde,M., Kneitz,S., & Hauck,C.R. (2005) CEACAM engagement by human pathogens enhances cell adhesion and counteracts bacteria-induced detachment of epithelial cells. *Journal of Cell Biology* **170**, 825-836.
- Munder,A., Zelmer,A., Schmied,A., Dittmar,K.E.J., Rohde,M., Dorsch,M., Otto,K., Hedrich,H.J., Tummler,B., Weiss,S., & Tschernig,T. (2005) Murine pulmonary infection with *Listeria monocytogenes*: differential susceptibility of BALB/c, C57BL/6 and DBA/2 mice. *Microbes and Infection* **7**, 600-611.
- Nedashkovskaya,O.I.K.S.B., Han,S.K., Snauwaert,C., Vancanneyt,M., Swings,J., Kim,K.O., Lysenko,A.M., Rohde,M., Frolova,G.M., Mikhailov,V.V., & Bae,K.S. (2005) *Winogradskyella thalassocola* gen. nov., sp. nov., *Winogradskyella epiphytica* sp nov and *Winogradskyella eximia* sp nov., marine bacteria of the family Flavobacteriaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 49-55.
- Pasche,B., Kalaydjiev,S., Franz,T.J., Kremmer,E., Gailus-Durner,V., Fuchs,H., Hrabé de Angelis,M., Lengeling,A., & Busch,D.H. (2005) Sex dependent susceptibility pattern to *Listeria monocytogenes* infection is mediated by differential IL-10 production. *Infection and Immunity* **73**, 5952-5960.
- Petri,A.F., Sasse,F., & Maier,M.E. (2005) Synthesis and biological evaluation of apicularen A analogues. *European Journal of Organic Chemistry* 1865-1875.
- Pfoertner,S., Goelden,U., Hansen,W., Toepfer,T., Geffers,R., Ukena,S. N., von Knobloch,R., Hofmann,R., Buer,J., & Schrader,A.J. (2005) Cellular retinoic acid binding protein I: expression and functional influence in renal cell carcinoma. *Tumor Biology* **6**, 313-323.
- Prabhakar,S., Töpfer,T., Buer,J., & Tümmler,B. (2005) Genome-wide transcriptional profiling of the steady state response of *Pseudomonas aeruginosa* to hydrogen peroxide. *Journal of Bacteriology* **187**, 2565-2572.

- Pracht,D., Elm,C., Gerber,J., Bergamnn,S., Rohde,M., Seiler,M., Kim,K.S., Jenkinson,H.F., Nau,R., & Hammerschmidt,S. (2005) PavA of *Streptococcus pneumoniae* modulates adherence, invasion, and meningial inflammation. *Infection and Immunity* **73**, 2680-2689.
- Priebe-Richter,C., Ivanyi,P., Buer,J., Langer,F., Lotz,J., Hertenstein,B., Ganser,A., & Franzke,A. (2005) Inflammatory pseudotumor of the lung following invasive aspergillosis in a patient with chronic graft-versus-host disease. *European Journal of Haematology* **75**, 68-72.
- Pust,S., Morrison,H., Wehland,J., Sechi,A., & Herrlich,P. (2005) *Listeria monocytogenes* exploits ERM protein functions to efficiently spread from cell to cell. *EMBO Journal* **24**, 1287-1300.
- Quentmeier,H., Tonelli,R., Geffers,R., Pession,A., Uphoff,C.C., & Drexler,H.G. (2005) Expression of BEX1 in acute myeloid leukemia with MLL rearrangements. *Leukemia* **19**, 1488-1489.
- Rahn,N. & Kalesse,M. (2005) One-pot non-aldol-aldol vinyllogous Mukaiyama aldol tandem sequence for the rapid construction of polyketide frameworks. *Synlett* 863-865.
- Rathinam,C., Geffers,R., Yücel,R., Buer,J., Welte,K., Möröy,T., & Klein,C. (2005) The transcriptional repressor Gfi1 controls STAT3-dependent dendritic cell development and function. *Immunity* **22**, 717-728.
- Reichelt,J., Dieterich,G., Kvesic,M., Schomburg,D., & Heinz,D.W. (2005) BRAGL. Linking and visualization of database information in a 3D-viewer and modelling tool. *Bioinformatics* **21**, 1291-1293.
- Retter,I., Althaus,H.H., Münch,R., & Müller,W. (2005) VBASE2, an integrative V gene database. *Nucleic Acids Research* **33**, D671-D674.
- Rharbaoui,F., Bruder,D., Vidakovic,M., Ebensen,T., Buer,J., & Guzmán,C.A. (2005) Characterization of a B220+ lymphoid cell subpopulation with immune modulatory functions. *Journal of Immunology* **174**, 1317-1324.
- Rharbaoui,F. & Guzmán,C.A. (2005) New generation of immune modulators based on toll-like receptor signaling. *Current Immunology Review* **1**, 107-118.
- Rinas,U. (2005) Mikrobielle Herstellung von Pharmaproteinen. In: *Angewandte Mikrobiologie* (Antranikian,G., ed), pp. 117-133. Springer, Berlin.
- Romanenko,L.A., Schumann,P., Rohde,M., Zhukova,N.V., Mkhailov,W., & Stackebrandt,E. (2005) *Marinobacter brozoorum* sp nov and *Marinobacter sediminum* sp nov., novel bacteria from the marine environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 143-148.
- Rottner,K., Stradal,T.E.B., & Wehland,J. (2005) Bacteria - host cell interactions at the plasma membrane: stories on actin cytoskeleton subversion. *Developmental Cell* **9**, 3-17.
- Rübenhagen,R. & Frank,R. (2005) Ein neuer Weg zu Antikörper-Mikroarrays mit höherer Spezifität und Selektivität. *Biospektrum - Sonderausgabe* **11**, 506-507.
- Salunkhe,P., Smart,C.H., Morgan,J.A., Panagea,S., Walshaw,M. J., Hart,C.A., Geffers,R., Tummler,B., & Winstanley,C. (2005) A cystic fibrosis epidemic strain of *Pseudomonas aeruginosa* displays enhanced virulence and antimicrobial resistance. *Journal of Bacteriology* **187**, 4908.
- Samuelsson,C., Lienenklaus,S., Müller,P., Zawatzky,R., Hauser,H., & Weiss,S. (2005) Transformation of mouse fibroblasts alters the induction pattern of type I IFNs after virus infection. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **335**, 584-589.
- Schmitt-John,T., Drepper,C., Mußmann,A., Hahn,P., Kuhlmann,M., Thiel,C., Hafner,M., Lengeling,A., Heimann,P., Jones,J., Meisler,M., & Jokusch,H. (2005) Mutation of Vps54 causes motoneuron disease and defective spermiogenesis in the wobbler mouse. *Nature Genetics* **37**, 1213-1215.
- Schulze,K., Ebensen,T., Link,C., & Guzmán,C.A. (2005) Mukosale versus systemische Vakzinierung: Neue Strategien zur Entwicklung effizienterer Impfstoffe. *Deutsche Industrievereinigung Biotechnologie (DIB)*.
- Schulze,K., Goldmann,O., Toppel,A., Medina,E., & Guzmán,C.A. (2005) The FAI protein of group C streptococci targets B cells and exhibits adjuvant activity. *Vaccine* **23**, 1408-1413.
- Schwardt,M., Mayer,D., Frank,R., Schneider,U., Planz,O., Wolff,T., & Schwemmle,M. (2005) The negative regulator of Borna Disease Virus polymerase is a non-structural protein. *Journal of General Virology* **86**, 3163-3169.
- Sipos,B., Kojima,M., Klapper,W., Kruse,L.-M., Kalthoff,H., Schnie-wind,B., Tepel,J., Weich,H.A., Kerjaschki,D., & Klöppel,G. (2005) Lymphangiogenesis is not required for lymphatic spread in ductal pancreatic adenocarcinoma. *Journal of Pathology* **207**, 301-312.
- Stamm,L., Pak,M.A., Morisaki,J.H., Snapper,S.B., Rottner,K., Lommel,S., & Brown,E.J. (2005) Role of the WASP family proteins for *Mycobacterium marinum* actin tail formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 14837-14842.
- Stradal,T.E.B. & Wehland,J. (2005) Aktindynamik und WASP/WAVE-Proteine. *Biospektrum* **11**, 283-286.
- Stradal,T.E.B., Lommel,S., Wehland,J., & Rottner,K. (2005) Host-pathogen interactions and cell motility: learning from bacteria. In: *Cell Migration in Development and Disease* (Wedlich,D., ed), pp. 205-248. Wiley-VCH, Weinheim.
- Strassburger,M., Bloch,W., Sulyok,S., Schüller,J., Keist,A.F., Schmidt,A., Wenk,J., Peters,T., Wlaschek,M., Lenart,J., Krieg,T., Hafner,M., Kümin,A., Werner,S., Müller,W., & Scharfetter-Kochanek,K. (2005) Heterozygous deficiency of manganese superoxide dismutase results in severe lipid peroxidation and spontaneous apoptosis in murine myocardium *in vivo*. *Free Radical Biology and Medicine* **38**, 1458-1470.
- Sun,J., Gunzer,F., Westendorf,A.M., Buer,J., Scharfe,M., Göbbling,F., Blöcker,H., & Zeng,A.P. (2005) Genomic peculiarity of coding sequences and metabolic potential of probiotic *Escherichia coli* strain NISSLE 1917 inferred from raw genome data. *Journal of Biotechnology* **117**, 147-161.
- Taylor,M.S., Brayden,J.E., Laskovski,K.E., Nickl,C.K., Tegge,W., & Frank,R. (2005) Specific and membrane permeable inhibitors of cGMP-dependent protein kinase. In: *Peptides 2004; Proc. 28 Europ. Peptide* (Flegel, Fridkin, Gilon, & Slaninova, eds), pp. 684-685. Kenes International, Geneva.
- Thiefes,A., Wolter,S., Mushinski,J.S., Hoffmann,E., Dittrich-Breiholz,O., Graue,N., Dörrie,A., Schneider,H., Wirth,D., Luckow,B., Resch,K., & Kracht,M. (2005) Simultaneous blockade of NFκB, JNK and p38 MAPK by a kinase-inactive mutant of the protein kinase TAK1 sensitizes cells to apoptosis and affects a distinct spectrum of TNF target genes. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 27728-27741.
- Thorey,F., Witte,F., Nellesen,J., Griep-Raming,N., Menzel,H., Gross,G., & Hoffmann,A. (2005) Improved osseointegration of titanium implants after surface coating with polymers in a rabbit model. *Orthopade* **34**, 1112-1117.
- Toi,M., Bando,H., & Weich,H.A. (2005) Vascular endothelial growth factor and its relationships with endogenous inhibitors in a breast cancer microenvironment manipulated by hormonal therapy: a hypothetical consideration. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **59**, 342-345.
- Trost,M., Wehmhöner,D., Kärst,U., Dieterich,G., Wehland,J., & Jänsch,L. (2005) Comparative proteome analysis of secretory proteins from pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Proteomics* **5**, 1544-1557.
- Ukena,S., Westendorf,A.M., Hansen,W., Rohde,M., Geffers,R., Coldeway,S., Suerbaum,S., Buer,J., & Gunzer,F. (2005) The host response to the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917: Specific up-regulation of the proinflammatory chemokine MCP-1. *BMC Medical Genetics* **6**, 43.



Titelbild der Zeitschrift *Journal of Cellular Biochemistry*, Vol. 96 (3), 2005, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Vidaković, M.; Koester, M.; Goetze, S.; Winkelmann, S.; Klar, M.; Poznanović, G., und Bode, J. Co-localization of PARP-1 and lamin B in the nuclear architecture: a halo-fluorescence- and confocal-microscopy study. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2005. 96 (3): 555-568. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Wiley-Interscience.

- Vidakovic, M., Koester, M., Goetze, S., Winkelmann, S., Klar, M., Poznanovic, G., & Bode, J. (2005) Colocalization of PARP-1 and lamin B in the nuclear architecture: A halo-fluorescence- and confocal microscopy study. *Journal of Cellular Biochemistry* **96**, 555-568.
- Vidakovic, M., Poznanovic, G., & Bode, J. (2005) DNA break repair: refined rules of an already complicated game. *Biochemistry and Cell Biology* **83**, 365-373.
- Weber, J., Kayser, A., & Rinas, U. (2005) Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: II. Dynamic response to famine and feast, activation of the methylglyoxal pathway and oscillatory behavior. *Microbiology* **151**, 707-716.
- Wehmhoner, D., Dieterich, G., Fischer, E., Baumgartner, M., Wehland, J., & Jansch, L. (2005) "LaneSpector", a tool for membrane proteome profiling based on SDS-PAGE / LC-MS/MS analysis: Application to *Listeria monocytogenes* membrane proteins. *Electrophoresis* **26**, 2450-2460.
- Wendler, J., Vallejo, L.F., Rinas, U., & Bilitewski, U. (2005) Application of an SPR-based receptor assay for the determination of biologically active recombinant bone morphogenetic protein-2. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **381**, 1056-1064.
- Wendler, J., Hoffmann, A., Gross, G., Weich, H.A., & Bilitewski, U. (2005) Development of an enzyme-linked receptor assay (ELRA) for quantification of biological activity of recombinant bone morphogenic protein-2. *Journal of Biotechnology* **119**, 425-435.
- Wenzel, S.C., Kunze, B., Höfle, G., Silakowski, B., Blöcker, H., & Müller, R. (2005) Structure and biosynthesis of myxochromides S in *Stigmatella aurantiaca*: Evidence for an iterative and stuttering bacterial type I polyketide synthase and for module skipping in nonribosomal peptide biosynthesis. *ChemBioChem* **6**, 375-385.
- Westendorf, A.M., Templin, M., Geffers, R., Deppenmeier, S., Gruber, A. D., Probst-Keppler, M., Hansen, W., Liblau, R.S., Gunzer, F., Bruder, D., & Buer, J. (2005) CD4+ T cell mediated instinal immunity: chronic inflammation versus immune regulation. *GUT* **54**, 60-69.
- Westendorf, A.M., Gunzer, F., Deppenmeier, S., Tapadar, D., Hunger, J. K., Schmidt, M., Buer, J., & Bruder, D. (2005) Intestinal immunity of *E. coli* NISSLE 1917: A safe carrier for therapeutic molecules. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **43**, 373-384.
- Wiemann, S.U., Satyanarayana, A., Buer, J., Kamino, K., Manns, M.P., & Rudolph, K.L. (2005) Contrasting effects of telomere shortening on organ homeostasis, tumor suppression, and survival during chronic liver damage. *Oncogene* **24**, 1501-1509.
- Yang, C.P.H., Verdier-Pinard, P., Wnag, F., Lippaine-Horvath, E., He, L. F., Li, D.S., Höfle, G., Ojima, I., Orr, G.A., & Horwitz, S.B. (2005) A highly epithilone B-resistant A549 cell line with mutations in tubulin that confer drug dependence. *Molecular Cancer Therapeutics* **4**, 987-995.
- Zander, N., Beutling, U., Dikmans, A., Thiele, S., & Frank, R. (2005) A special cellulose membrane support for the combinatorial and parallel synthesis of peptide libraries suitable for the SC²-type manufacturing of high density multi-purpose chemical microarrays. In: Peptides 2004; Proc. 28 Europ. Peptide (Flegel, Fridkin, Gilon, & Slaninova, eds), pp. 405-406. Kenes International, Geneva.
- Zander, N. & Frank, R. (2005) The use of polystyrylsulfonyl chloride resin as a solid supported condensation reagent for the formation of esters: Synthesis of N-(9-fluorenylmethoxy)carbonyl-L-aspartic acid; "tert-butyl ester, B-(2-ethyl[(1E)-4-nitrophenyl]azo]phenyl]amin o]ethyl ester. In: Organic Syntheses pp. 235-243. Wiley, Chichester.
- Zelmer, A., Krusch, S., Koschinski, A., Rohde, M., Repp, H., Chakraborty, T., & Weiss, S. (2005) Functional transfer of eukaryotic expression plasmids to mammalian cells by *Listeria monocytogenes*: a mechanistic approach. *Journal of Gene Medicine* **7**, 1097-1112.
- Zghoul, N., van Griensven, M., Zeichen, J., Dittmar, K.E.J., Rohde, M., & Jäger, V. (2005) Improved *in vitro* osteogenesis of multipotential human mesenchymal cells in three-dimensional perfusion culture. *International Journal of Artificial Organs* **28**, 356.

Genom- und Gesundheitsforschung – 2005

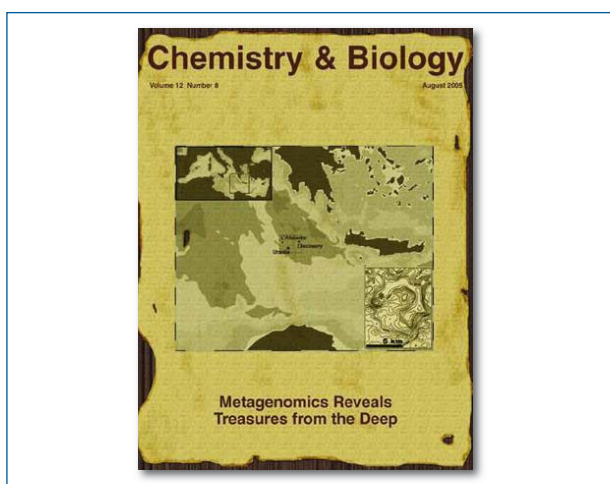
- Astner, I., Schulze, J.O., van den Heuvel, J., Jahn, D., Schubert, W.-D., & Heinz, D.W. (2005) Crystal structure of 5-aminolevulinat synthase, the first enzyme of heme biosynthesis, and its link to XLSA in humans. *EMBO Journal* **24**, 3166-3177.
- Bialek, K., Swistowski, A., & Frank, R. (2005) Peptide and protein repertoires for global analysis of modules. In: Modular Protein Domains (Cesareni, G., Gimona, M., Sudal, M., & Yaffe, M.e., eds), pp. 409-438. Wiley-VCH, Weinheim.
- Buettner, C., Cornelis, G.R., Heinz, D.W., & Niemann, H.H. (2005) Crystal structure of *Yersinia enterocolitica*. *Protein Science* **14**, 1993-2002.
- Deyneko, I.V., Kel, A.E., Blöcker, H., & Kauer, G. (2005) Signal-theoretical DNA similarity measure revealing unexpected similarities of *E. coli* promoters. *In Silico Biology* **5**, 547-555.
- Dieterich, G., Plail, M., Schubert, W.-D., & Reichelt, J. (2005) Raptor3D: a tool for automatic mapping of up-to-date functional annotations to three-dimensional protein structures. *Journal of Applied Crystallography* **38**, 856-857.
- Doll, C. & Eichler, J. (2005) Peptide ligation through copper-catalyzed formation of [1,2,3]-triazoles. In: Peptides 2004 (Flegel, M., Fridkin, M., Gilon, C., & Slaninova, J., eds), pp. 210-211. Kenes International, Geneva, Italy.
- Eichler, J. (2005) Synthetic peptide arrays and peptide combinatorial libraries for the exploration of protein-protein interactions and the design of protein inhibitors. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* **8**, 135-143.
- Elhariry, H.M., Meens, J., Stehr, M., & Auling, G. (2005) S434F in NrdE generates the thermosensitive phenotype of *Corynebacterium ammoniagenes* CH31 and enhances thermolability by increasing surface hydrophobicity of the NrdEts protein. *Applied Environmental Microbiology* **71**, 5582-5586.
- Fock, U., Jockusch, B.M., Schubert, W.-D., & Hinssen, H. (2005) Topological assignment of the N-terminal extension of plasma gelsolin to the gelsolin surface. *Biochemical Journal* **385**, 659-665.
- Foley, K.F., De Frutos, S., Laskovski, K., Tegge, W., & Dostmann, W. R. (2005) Culture conditions influence uptake and intracellular localization of the membrane permeable GMP-dependent protein kinase inhibitor DT-3. *Frontiers in Bioscience* **10**, 1302-1312.

- Frank,R. & Dübel,S. (2005) Analysis of protein interactions with immobilized peptide arrays synthesized on membrane supports. In: Protein-Protein Interactions, A Molecular Cloning Manual (Golemis,E. & Adams,P., eds), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Franke,R., Doll,C., & Eichler,J. (2005) Peptide ligation through click chemistry for the generation of assembled and scaffolded peptides. *Tetrahedron Letters* **46**, 4479-4482.
- Franke,R., Hirsch,T., & Eichler,J. (2005) Scaffolded peptides for the mimicry of the discontinuous CD4 binding site of HIV-1 gp120. In: Peptides 2004 (Flegel,M., Fridkin,M., Gilon,C., & Slaninova,J., eds), pp. 1113-1114. Kenes International, Geneva, Italy.
- Frere,F., Reents,H., Schubert,W.-D., & Heinz,D.W. (2005) Tracking the evolution of porphobilinogen synthase metal dependence *in vitro*. *Journal of Molecular Biology* **345**, 1059-1070.
- Gail,R., Frank,R., & Wittinghofer,A. (2005) A systematic peptide-array based delineation of differential beta-Catenin interaction with Tcf4, E-Cadherin and APC. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 7107-7117.
- Goldmann,O., Lengeling,A., Böse,J., Blöcker,H., Geffers,R., Chhatwal,G.S., & Medina,E. (2005) The role of the major histocompatibility complex on resistance to Group A Streptococci in mice. *Journal of Immunology* **175**, 3862-3872.
- Heinz,D.W., Schubert,W.-D., & Höfle,G. (2005) Lange gesucht – Die bioaktive Konformation von Epothilon und seine Bindung im Tubulin. *Angewandte Chemie* **117**, 1324-1327.
- Heinz,D.W., Schubert,W.-D., & Höfle,G. (2005) Much anticipated – The bioactive conformation of epothilone and its binding to tubulin. *Angewandte Chemie – International Edition* **44**, 1298-1301.
- Heinz,D.W. & Schubert,W.-D. (2005) Proteins in motion. *Angewandte Chemie – International Edition* **44**, 4428.
- Hogarth,P.J., Logan,K.E., Vordermeier,H.M., Singh,M., Hewinson,R.G., & Chambers,M.A. (2005) Protective immunity against *Mycobacterium bovis* induced by vaccination with Rv3109c – a member of the esat-6 gene family. *Vaccine* **23**, 2557-2564.
- Hunke,C. & Eichler,J. (2005) Assembled peptides mimicking the discontinuous binding sites of the Mena-EVH1 domain. In: Peptides 2004 (Flegel,M., Fridkin,M., Gilon,C., & Slaninova,J., eds), pp. 639-640. Kenes International, Geneva, Italy.
- Kaisermann,M.C., Sardella,I.G., Trajman,A., Coelho,L.V., Kämpfer,S., Jonas,F., Singh,M., & Saad,M.H.F. (2005) IgA antibody responses to *Mycobacterium tuberculosis* recombinant MPT-64 and MT-10.3 (Rv3019c) antigens in pleural fluid of patients with tuberculous pleurisy. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* **9**, 461-466.
- Kim,E.-J., Deckwer,W.-D., Wang,W., & Zeng,A.-P. (2005) Expression of the quorum sensing regulator protein LasR is strongly affected by iron deficiency and oxygen concentration in *Pseudomonas aeruginosa* irrespective of cell density. *Microbiology* **151**, 1127-1138.
- Kumar,B., Ma,H., & Zeng,A.-P. (2005) An integrated cellular network of *Escherichia coli* and its structural analysis. Proceedings of Foundation of Systems Biology in Engineering, University of California, Santa Barbara, USA, pp. 107-110.
- Layer,G., Kervio,E., Morlock,G., Heinz,D.W., Jahn,D., Retey,J., & Schubert,W.-D. (2005) Structural and functional comparison of HemN to other radical SAM enzymes. *Biological Chemistry* **386**, 971-980.
- Lüer,C., Schauer,S., Möbius,K., Schulze,J., Schubert,W.-D., Heinz,D.W., Jahn,D., & Moser,J. (2005) Complex formation between Glutamyl-tRNA Reductase and Glutamate-1-semialdehyde-2,1-aminomutase in *Escherichia coli* during the initial reactions of porphyrin biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 18568-18572.
- Qazi,K.R., Qazi,M.R., Julian,E., Singh,M., Abedi-Valugerdi,M., & Fernandez,C. (2005) Exposure to mycobacteria primes the immune system for evolutionarily diverse heat shock proteins. *Infection and Immunity* **73**, 7687-7696.
- Rampon,C., Prandini,M.-H., Bouillot,S., Pointu,H., Tillet,E., Frank,R., Vernet,M., & Huber,P. (2005) Protocadherin 12 (VE-cadherin) is expressed in endothelial trophoblast and mesangial cells and is dispensable for normal mouse development. *Experimental Cell Research* **302**, 48-60.
- Sun,J., Gunzer,F., Westendorf,A.M., Buer,J., Scharfe,M., Gößling,F., Blöcker,H., & Zeng,A.P. (2005) Genomic peculiarity of coding sequences and metabolic potential of probiotic *Escherichia coli* strain NISSLE 1917 inferred from raw genome data. *Journal of Biotechnology* **117**, 147-161.
- Varfolomeyev,S., Efremenko,E., Beletskaya,I., Bertini,I., Blackburn,G.M., Bogdanov,A., Cunin,R., Eichler,J., Galaev,I., Gladyshev,V., O'Hagan,D., Haertle,T., Jarv,J., Karyakin,A., Kurochkin,I., Mikolajczyk,M., Poroikov,V., Sakharov,I., Spener,F., Voyer,N., & Wild,J. (2005) Post-genomic chemistry. *Pure and Applied Chemistry* **76**, 1985-1999.
- Vordermeier,H.M., Pontarollo,R., Karvonen,B., Cockle,P., Hecker,R., Singh,M., Babiuk,L.A., Hewinson,R.G., & Littel-van Den Hurk,S.V. (2005) Synthetic peptide vaccination in cattle: induction of strong cellular immune responses against peptides derived from the *Mycobacterium bovis* antigen Rv3019c. *Vaccine* **23**, 4375-4384.
- Wang,Y., Whittall,T., McGowan,E., Younson,J., Kelly,C., Bergmeier,L.A., Singh,M., & Lehner,T. (2005) Identification of stimulating and inhibitory epitopes within the heat shock protein 70 molecule that modulate cytokine production and maturation of dendritic cells. *Journal of Immunology* **174**, 3306-3316.
- Wee,Y.J., Yun,J.S., Lee,Y.Y., Zeng,A.-P., & Ryu,H.W. (2005) Recovery of lactic acid by repeated batch electro dialysis and lactic acid production using electro dialysis wastewater. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **99**, 104-108.
- Wenzel,S.C., Kunze,B., Höfle,G., Silakowski,B., Blöcker,H., & Müller,R. (2005) Structure and biosynthesis of myxochromides S in *Stigmatella aurantiaca*: Evidence for an iterative and stuttering bacterial type I polyketide synthase and for module skipping in nonribosomal peptide biosynthesis. *ChemBioChem* **6**, 375-385.
- Zhang,F., Bi,J.X., Zeng,A.-P., & Yuan,J.Q. (2005) A simple kinetic model for myeloma cell growth with lysin as a limiting substrate. *Journal of Shanghai Jiaotong University* **139**, 182-186.

Gene, Umwelt und Gesundheit – 2005

- Abraham,W.-R., Wenderoth,D.F., & Gläßer,W. (2005) Diversity of biphenyl degraders in a chlorobenzene polluted aquifer. *Chemosphere* **58**, 529-533.
- Abraham,W.-R. & Wenderoth,D.F. (2005) Fate of facultative pathogenic microorganisms during and after the flood of the Elbe and Mulde rivers in August 2002. *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica* **33**, 449-454.
- Abraham,W.-R., Petzoldt,H., & Strauch,G. (2005) Risiken durch Mikroorganismen in unseren Gewässern/Flüssen. In: Schadstoffbelastung nach dem Elbe-Hochwasser 2002 (Böhme,M., Krüger,F., Ockenfeld,K., & Geller,W., eds), pp. 60-66.
- Barkay,T. & Wagner-Döbler,I. (2005) Microbial transformations of mercury: potentials, challenges, and achievements in controlling mercury toxicity in the environment. *Advances in Applied Microbiology* **57**, 1-52.
- Biebl,H., Allgaier,M., Tindall,B., Koblizek,M., Lünsdorf,H., Pukall,R., & Wagner-Döbler,I. (2005) *Dinoroseobacter shibae*, gen. nov., sp. nov., a new aerobic phototrophic bacterium isolated from dinoflagellates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 1089-1096.
- Biebl,H., Allgaier,M., Lünsdorf,H., Pukall,R., Tindall,B.J., & Wagner-Döbler,I. (2005) *Roseovarius mucosus*, sp. nov., a novel member of the Rosebacter clade with trace amounts of bacteriochlorophyll a. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 2377-2383.

- Campbell, E.A., Pavlova, O., Zenkin, N., Leon, F., Irschik, H., Jansen, R., Severinov, K., & Darst, S.A. (2005) Structural, functional, and genetic analysis of sorangicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *EMBO Journal* **24**, 674-682.
- Dickschat, J., Wagner-Döbler, I., & Schulz, S. (2005) The chafer pheromone buibuilactone and ant pyrazines are also produced by marine bacteria. *Journal of Chemical Ecology* **31**, 925-947.
- Dickschat, J.S., Reichenbach, H., Wagner-Döbler, I., & Schulz, S. (2005) Novel pyrazines from the Myxobacterium *Chondromyces crocatus* and Marine Bacteria. *European Journal of Organic Chemistry*, 4141-4153.
- Dinesh, D., Sriramulu, D.D., Lünsdorf, H., Lam, J.S., & Römling, U. (2005) Microcolony formations: a novel biofilm model of *Pseudomonas aeruginosa* for the cystic fibrosis lung. *Journal of Medical Microbiology* **54**, 667-676.
- Fahy, A., Lethbridge, G., Earle, R., Hart, A., Ball, A.S., Timmis, K.N., & McGenity, T.J. (2005) Effect of long-term benzene pollution on bacterial diversity and community structure in groundwater. *Environmental Microbiology* **7**(8) 1192-1199.
- Ferrer M., Golyshina, O.V., Plou, F.J., Timmis, K.N., & Golyshin, P.N. (2005) A novel α -glucosidase from the acidophilic archaeon, *Ferroplasma acidiphilum* Y with strong transglycosylation activity and unique catalytic nucleophile. *Biochemical Journal* **391**, 269-276.
- Ferrer M., Golyshina O.V., Chernikova T.N., Martins dos Santos V.A.P., Khachane A.N., Yakimov M.M., Timmis K.N., & Golyshin P.N. (2005) Novel microbial enzymes mined from the Urania deep-sea hypersaline anoxic basin. *Chemistry and Biology* **12**, 895-904.
- Ferrer, M., Martinez-Abarca, F., & Golyshin, P.N. (2005) Genome and "metagenome" mining for novel catalysts. *Current Opinion in Biotechnology* **16**, 588-593.
- Ferrer, M., Golyshina, O.V., Chernikova, T.N., Khachane, A.N., Martins dos Santos, V.A.P., Strömpl, C., Yakimov, M.M., Elborough, K., Jarvis, G., Neef, A., Timmis, K.N., & Golyshin, P.N. (2005) Novel hydrolase diversity retrieved from a metagenome library of bovine rumen microflora. *Environmental Microbiology* **7**, 1996-2010.
- Fritz, I., Strömpl, C., Nikitin, D.I., Lysenko, A.M., & Abraham, W.-R. (2005) *Brevundimonas mediterranea* sp. nov., a non-stalked species from the Mediterranean Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 479-486.
- Gerth, K. & Müller, R. (2005) Moderately thermophilic Myxobacteria: novel potential for the production of natural products isolation and characterization. *Environmental Microbiology* **7**, 874-880.
- Golyshin, P.N. (2005) Chemical biotechnology: what's new, what's next? *Current Opinion in Biotechnology* **16**, 585-587.
- Golyshina, O.V., Golyshin, P.N., Timmis, K.N., & Ferrer, M. (2005) Anomaly of low pH optima of intracellular enzymes of *Ferroplasma acidiphilum*. *Environmental Microbiology* **7**, 1277-1288.
- Golyshina, O.V. & Timmis, K.N. (2005) Ferroplasma and relatives, recently-discovered cell wall-lacking archaea making a living in extremely acid, heavy metal-rich environments. *Environmental Microbiology* **7**, 1277-1288.
- Gomes, N.C.M., Kosheleva, I.A., Abraham, W.R., & Smalla, K. (2005) Effects of the inoculant strain *Pseudomonas putida* KT2442 (pNF142) and of naphthalene contamination on the soil bacterial community. *FEMS Microbiology and Ecology* **54**, 21-33.
- Höfle, M.G., Flavier, S., Christen, R., Bötel, J., Labrenz, M., & Brettar, J. (2005) Retrieval of nearly complete 16S rRNA gene sequences from environmental DNA following 16S rRNA based community fingerprinting. *Environmental Microbiology* **7**, 670-675.
- Junca, H. & Pieper, D.H. (2005) Diagnosing the biodegradation potential of soils. Trends in soil and sediment. In: Soil and Sediment Remediation (Lens, P., Grotenhuis, T., Malina, G., & Tabak, H.e., eds), pp. 76-101. IWA Publishing, London, UK.
- Junca, H., Witzig, R., & Pieper, D. (2005) *In situ* detection of functional genes for aerobic aromatic degradation. In: Perspektiven molekularer und isotopischer Methoden zum Nachweis des natürlichen Schadstoffabbaus in Böden, "Umweltbiotechnologie - Boden".
- Katsivela, E., Moore, E., Maroukli, D., Strömpl, C., Pieper, D.H., & Kalogerakis, N. (2005) Bacterial community dynamics during *in-situ* bioremediation of petroleum waste sludge in landfarming sites. *Biodegradation* **16**, 169-180.
- Khachane, A.N., Timmis, K.N., & dos Santos, V.A.P.M. (2005) Uracil content of 16S rRNA of thermophilic and psychrophilic prokaryotes correlates inversely with their optimal growth temperatures. *Nucleic Acids Research* **33**, 4016-4022.
- Kopp, M., Irschik, H., Pradella, S., & Müller, R. (2005) Production of the tubulin destabilizer disorazol in *Sorangium cellulosum*: Biosynthetic machinery and regulatory genes. *ChemBioChem* **6**, 1277-1286.
- Kotsyurbenko, O.R. (2005) Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems. *FEMS Microbiology and Ecology* **53**, 3-13.
- Labrenz, M. & Hirsch, P. (2005) "Genus IV. *Antarctobacter* Labrenz, Collins, Lawson, Tindall, Braker and Hirsch 1998, 1369vp". In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Brenner D.J., Krieg, N. R., & Staley, J.T., eds), pp. 172-174. Springer, New York.
- Labrenz, M. & Hirsch, P. (2005) "Genus XIX. *Roseovarius* Labrenz, Collins, Lawson, Tindall, Schumann and Hirsch 1999, 145vp". In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Brenner D.J., Krieg, N. R., & Staley, J.T., eds), pp. 215-217. Springer, New York.
- Labrenz, M. & Hirsch, P. (2005) "Genus XXIII. *Staleyia* Labrenz, Tindall, Lawson, Schumann and Hirsch 2000, 310vp". In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Brenner D.J., Krieg, N. R., & Staley, J.T., eds), pp. 221-223. Springer, New York.
- Macedo, A.J., Kuhlicke, U., Neu, T., Timmis, K.N., & Abraham, W.-R. (2005) Three stages of a biofilm community developing at the liquid-liquid interface between polychlorinated biphenyls and water. *Applied and Environmental Microbiology* **71**, 7301-7309.
- Matz, C. & Jürgens, K. (2005) High motility reduces grazing mortality of planktonic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **71**, 921-929.



Nachdruck von der Titelseite der Zeitschrift *Chemistry & Biology*, Vol. 12 (6), 2005, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Ferrer, M.; Golyshina, O. V.; Chernikova, T. N.; Khachane, A. N.; Martins dos Santos, V. A. P.; Yakimov, M. M.; Timmis, K. N., und Golyshin, P. N. *Microbial enzymes mined from the urania deep-sea hypersaline anoxic basin. Chemistry & Biology. 2005; 12 (6): 895-904. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Elsevier Ltd.*

- Matz,C., McDougald,Mc., Moreno,A.M., Yung,P.Y., Yildiz,F., & Kjelleberg,S. (2005) Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 16819-16824.
- Moore,E.R.B., Tindall,B.J., Martins dos Santos,V.A.P.*., & Pieper,D. (2005) *Pseudomonas*: Non-medical. In: The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community (Dworkin,M., Falkow,S., Rosenberg,E., Schleifer,K.-H., & Stackebrandt,E., eds), Springer Verlag.
- Niggemann,J., Bedorf,N., Flörke,U., Steinmetz,H., Gerth,K., Reichenbach,H., & Höfle,G. (2005) Spirangien A and B highly cytotoxic and antifungal spiroketals from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*: isolation, structure elucidation and chemical modifications. *European Journal of Organic Chemistry* **23**, 5013-5018.
- Pelz,O., Abraham,W.-R., Saurer,M., Siegwolf,R., & Zeyer,J. (2005) Microbial assimilation of plant-derived carbon in soil traced by isotope analysis. *Biology and Fertility of Soils* **41**, 153-162.
- Pieper,D.H. (2005) Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. *Applied Microbiology and Biotechnology* **67**, 170-191.
- Pollmann,K., Wray,V., & Pieper,D.H. (2005) Chloromethylmuconolactones as critical metabolites in the degradation of chloromethylcatechols: On the recalcitrance of 2-chlorotoluene. *Journal of Bacteriology* **187**, 2332-2340.
- Reineke,W. & Pieper,D.H. (2005) Evolution of degradative pathways for chloroaromatic compounds. In: Innovative Approaches to the Bioremediation of Contaminated Sites (Fava,F. & Canepa,P., eds), pp. 111-127. INCA, Venice, Italy.
- Reyes-Duarte,D., Polaina,J., López-Cortés,N., Alcalde,M., Plou,F. J., Ballesteros,A., Timmis,K.N., Golyshin,P.N., & Ferrer,M. (2005) Conversion of a carboxylesterase into a triacylglycerol lipase by a random mutation. *Angewandte Chemie – International Edition* **44**, 7553-7557.
- Ryabchenko,L.E., Novikov,A.D., Golyshin Peter N., & Yanenko,A.S. (2005) Sequence and structure analysis of cryptic plasmid pN30 from oil-oxidizing strain *Rhodococcus erythropolis* 30. *Russian Journal of Genetics* **41**, 1434-1436.
- Tillmann,S., Strömpl,C., Timmis,K.N., & Abraham,W.-R. (2005) Stable isotope probing reveals the dominant role of *Burkholderia* sp. in aerobic degradation of PCBs. *FEMS Microbiology and Ecology* **52**, 207-217.
- Timmis,K.N. (2005) Golden age of drug discovery or dark age of missed chances. *Environmental Microbiology* **7**, 1861-1863.
- Timmis,K.N. (2005) The challenges for biotechnology posed by human-driven changes. In: Bioindustry and Environment: Analyses and Recommendations (The World Life Sciences Forum - BioVision,ed., ed), pp. 7-19. Wiley-VCH, Weinheim.
- Van der Wielen,P.W.J.J., Bolhuis,H., Bolin,S., Daffonchio,D., Corselli,C., Giuliano,L., de Lange,G.J., Huebner,A., Varnavas,S.P., Thompson,J., Tambourini,C., Marty,D., McGenity,T.J., & Timmis,K. N. (2005) The enigma of prokaryotic life in deep hypersaline anoxic basins. *Science* **307**, 121-123.
- Vancanneyt,M., Segers,P., Abraham,W.-R., & De Vos,P. (2005) "Genus III. *Brevundimonas* Segers, Vancanneyt, Pot, Torck, Hoste, Dewettinck, Falsen, Kersters, de Vos 1994, 507VP emend. Abraham, Strömpl, Meyer, Lindholst, Moore, Christ, Vancanneyt, Tindall, Bannasar, Smit, Tesar 1999, 1070VP". In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Garrity,G.M., ed), pp. 308-315. Springer, New York.
- 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**, 2195-2206.



Titelbild der Zeitschrift *Environmental Microbiology*, Vol. 7 (12), 2005, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Ferrer, M.; Golyshina, O. V.; Chernikova, T. N.; Khachane, A. N.; Reyes-Duarte, D.; Martins dos Santos, V. A. P.; Strompl, C.; Elborough, K.; Jarvis, G.; Neef, A.; Yakimov, M. M.; Timmis, K. N., und Golyshin, P. N.: Novel hydrolase diversity retrieved from a metagenome library of bovine rumen microflora. *Environmental Microbiology*. 2005; 7 (12): 1996-2010. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Blackwell Publishing.

- Weitere,M., Bergfeld,T., Rice,S.A., Matz,C., & Kjelleberg,S. (2005) Grazing resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms depends on type of protective mechanism, developmental stage, and protozoan feeding mode. *Environmental Microbiology* **7**, 1593-1601.
- Witzig,R., Junca,H., Hecht,H.-J., & Pieper,D.H.*. (2005) Toluene/biphenyl dioxygenase gene diversity assessed by culture dependent and culture independent approaches in benzene polluted soils: links between benzene biodegradation and isopropylbenzene dioxygenase-like genes. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 3504-3514.
- Yakimov,M.M., Denaro,R., Genovese,M., Cappello,S., D'Auria,G., Chernikova,T.N., Timmis,K.N., Golyshin,P.N., & Giuliano,L. (2005) Natural microbial diversity in superficial sediments of Milazzo harbor (Sicily) and community successions during microcosm enrichment with various hydrocarbons. *Environmental Microbiology* **7**, 1426-1441.

Plattformen – 2005

- Baumert,A., Milkowski,C., Schmidt,J., Nimtz,M., Wray,V., & Strack,D. (2005) Formation of a complex pattern of sinapate esters in *Brassica napus* seeds, catalyzed by enzymes of a serine carboxypeptidase-like acyltransferase family? *Phytochemistry* **66**, 1334-1345.
- Bredenbruch,F., Nimtz,M., Wray,V., Morr,M., Müller,R., & Häußler,S. (2005) Biosynthetic pathway of *Pseudomonas aeruginosa* 4-hydroxy-2-alkylquinolines. *Journal of Bacteriology* **187**, 3630-3635.
- Dai,H.F., Edrada,R.A., Ebel,R., Nimtz,M., Wray,V., & Proksch,P. (2005) Norlanostane triterpenoidal saponins from the marine sponge *Melophlus sarassinorum*. *Journal of Natural Products* **68**, 1231-1237.
- Endale,A., Wray,V., Murillo,R., Schmidt,P.C., & Merfort,I. (2005) Hopane-type saponins from the seeds of *Glinus lotoides*. *Journal of Natural Products* **68**, 443-446.
- Fargali,S., Barthold,M., Rohde,M., Majore,I., & Jäger,V. (2005) *In vitro* cultivation of rabbit mesenchymal stromal cells on 3D bioresorbable calcium phosphate scaffolds for the generation of bone tissue implants. In: Animal Cell Technology Meets Genomics. pp. 241-243. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

- Fester, T., Wray, V., Nimtz, M., & Strack, D. (2005) Is stimulation of carotenoid biosynthesis in arbuscular mycorrhizal roots a general phenomenon? *Phytochemistry* **66**, 1781-1786.
- Fischer, K., Barbier, G.G., Hecht, H.-J., Mendel, R.R., Campbell, W.H., & Schwarz, G. (2005) Structural basis of eukaryotic nitrate reduction: Crystal structures of the nitrate reductase active site. *Plant Cell* **17**, 1167-1179.
- Forlani, F., Cereda, A., Freuer, A., Nimtz, M., Leimkuhler, S., & Pagani, S. (2005) The cysteine-desulfurase IscS promotes the production of the rhodanese RhdA in the persulfurated form. *FEBS Letters* **579**, 6786-6790.
- Fossen, T., Wray, V., Bruns, K., Rachmat, J., Henklein, P., Tessmer, U., Macurek, A., Klinger, P., & Schubert, U. (2005) Solution structure of the human immunodeficiency virus type 1 p6 protein. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 42515-42527.
- Galeyeva, Y., Morr, M., Laschat, S., Baro, A., Nimtz, M., & Sasse, F. (2005) Ex chiral pool synthesis of (-)-siphonarienone from a methyl-branched wax ester. *Synthesis* 2875-2880.
- Hansen, W., Grabenhorst, E., Nimtz, M., Müller, K., Conrad, H.S., & Wirth, M. (2005) Generation of serum-stabilized retroviruses: Reduction of alpha1,3gal-epitope synthesis in a murine NIH3T3-derived packaging cell line by expression of chimeric glycosyltransferases. *Metabolic Engineering* **7**, 221-228.
- Jäger, V., Majore, I., Mayer, H., & Hosseini, M.M. (2005) Basal media formulations and calcium concentrations as switches for controlled proliferation and differentiation of human osteogenic cells *in vitro*. *International Journal of Artificial Organs* **28**, 385.
- Kleeberg, I., Welzel, K., van den Heuvel, J., Müller, R.-J., & Deckwer, W.-D. (2005) Characterization of a new extracellular hydrolase from *Thermobifida fusca* degrading aliphatic-aromatic copolyesters. *Biomacromolecules* **6**, 262-270.
- König, K., Menge, U., Kiess, M., Wray, V., & Flohe, L. (2005) Convenient isolation and kinetic mechanism of glutathionylspermidine synthetase from *Crithidia fasciculata* (vol 272, pg. 11908, 1997). *Journal of Biological Chemistry* **280**, 7407.
- Linke, D., Bouws, H., Peters, T., Nimtz, M., Berger, R.G., & Zorn, H. (2005) Laccases of *Pleurotus sapidus*: Characterization and Cloning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 9498-9505.
- Matthies, A., Nimtz, M., & Leimkuhler, S. (2005) Molybdenum cofactor biosynthesis in humans: Identification of a persulfide group in the rhodanese-like domain of MOCS3 by mass spectrometry. *Biochemistry* **44**, 7912-7920.
- Pollmann, K., Wray, V., & Pieper, D.H. (2005) Chloromethylmuconolactones as critical metabolites in the degradation of chloromethylcatechols: On the recalcitrance of 2-chlorotoluene. *Journal of Bacteriology* **187**, 2332-2340.
- Rau, U., Nguyen, L.A., Schulz, S., Wray, V., Nimtz, M., Roeper, H., Koch, H., & Lang, S. (2005) Formation and analysis of mannosylerythritol lipids secreted by *Pseudozyma aphidis*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **66**, 551-559.
- Sriramulu, D.D., Nimtz, M., & Romling, U. (2005) Proteome analysis reveals adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the cystic fibrosis lung environment. *Proteomics* **5**, 3712-3721.
- Steffan, B., Wätjen, W., Michels, G., Niering, P., Wray, V., Ebel, R., Edrada, R.-A., Kahl, R., & Proksch, P. (2005) Polyphenols from plants used in traditional Indonesian medicine (Jamu): uptake and antioxidative effects in rat H4IIE hepatoma cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **57**, 233-240.
- Wang, W., Hollmann, R., Furch, T., Nimtz, M., Malten, M., Jahn, D., & Deckwer, W.-D. (2005) Proteome analysis of a recombinant *Bacillus megaterium* strain during heterologous production of a glucosyltransferase. *Proteome Science* **3**, 4.
- Wray, V. & Schubert, U. (2005) Structure, phosphorylation, and biological function of the HIV-1 specific virus protein U (Vpu). In: *Viral Membrane Proteins: Structure, Function, and Drug Design* (Fischer, W., ed), pp. 165-175. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Zghoul, N., van Griensven, M., Zeichen, J., Dittmar, K.E.J., Rohde, M., & Jäger, V. (2005) Improved *in vitro* osteogenesis of multipotential human mesenchymal cells in three-dimensional perfusion culture. *International Journal of Artificial Organs* **28**, 356.
- Zorn, H., Peters, T., Nimtz, M., & Berger, R.G. (2005) The secretome of *Pleurotus sapidus*. *Proteomics* **5**, 4832-4838.
- Zorn, H.B.H., Takenberg, M., Nimtz, M., Getzlaff, R., Breithaupt, D.E., & Berger, R.G. (2005) An extracellular carboxylesterase from the basidiomycete *Pleurotus sapidus* hydrolyses xanthophyll esters. *Biological Chemistry* **386**, 435-440.

Bioverfahrenstechnik – 2005

- Barthold, M., Majore, I., Fargali, S., Stahl, F., Schulz, R., Lose, S., Mayer, H., & Jäger, V. (2005) 3D-cultivation and characterisation of osteogenic cells for the production of highly viable bone tissue implants. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics* (Godia, F. & Fussenegger, M., eds), pp. 199-205. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Bassani Molinas, M.M., Nelving, A., Beer, C., Hesse, F., Wirth, M., Durocher, Y., Kamen, A., & Wagner, R. (2005) Intracellular nucleotide pools for optimizing product-oriented transient transfection of HEK293 cells in suspension. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics*. pp. 83-66. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Bollati-Fogolin, M., Irani, N., Beccaria, A.J., Schulz, C., van den Heuvel, J., Elias, C.B., Carpentier, E., Durocher, Y., Bisson, L., Etcheverrigaray, M., Kratje, R.B., Wirth, M., Kamen, A., & Wagner, R. (2005) Impact of yeast pyruvate carboxylase on the productivity of animal host cell lines. In: *Animal Cell Technology Meets Genomics* (Godia, F. & Fussenegger, M., eds), pp. 87-89. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Kadow, S., Betiku, E., Rinas, U., & Bilitewski, U. (2005) Development of a rapid, quantitative glucosyltransferase assay based on a screen-printed fructose enzyme electrode and application to optimization studies on gtfD expression in recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnology and Bioengineering* **91**, 154-161.
- Kayser, A., Weber, J., Hecht, V., & Rinas, U. (2005) Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: I. Growth rate dependent metabolic efficiency at steady state. *Microbiology* **151**, 693-706.
- Rinas, U., el-Enshasy, H., Emmeler, M., Hille, A., Hempel, D.C., & Horn, H. (2005) Model-based prediction of substrate conversion and protein synthesis and excretion in recombinant *Aspergillus niger* biopellets. *Chemical Engineering Science* **60**, 2729-2739.
- Weber, J., Kayser, A., & Rinas, U. (2005) Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture: II. Dynamic response to famine and feast, activation of the methylglyoxal pathway and oscillatory behavior. *Microbiology* **151**, 707-716.
- Wendler, J., Vallejo, L.F., Rinas, U., & Bilitewski, U. (2005) Application of an SPR-based receptor assay for the determination of biologically active recombinant bone morphogenetic protein-2. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **381**, 1056-1064.

Veröffentlichungen 2006

Infektion und Immunität – 2006

- Adden, N., Gamble, L.J., Castner, D.G., Hoffmann, A., Gross, G., & Menzel, H. (2006) Phosphonic acid monolayers for binding of bioactive molecules to titanium surfaces. *Langmuir* **22**, 8197-8204.
- Adden, N., Gamble, L.J., Castner, D.G., Hoffmann, A., Gross, G., & Menzel, H. (2006) Synthesis and characterization of biocompatible polymer interlayers on titanium implant materials. *Biomacromolecules* **7**, 2552-2559.
- Akopov, S.B., Ruda, V.M., Batrak, V.V., Vetchinova, A.S., Chernov, I.P., Nikolaev, L.G., Bode, J., & Sverdlov, E.D. (2006) Identification, genome mapping and CTCF binding of potential insulators within the FXD5-COX7A1 locus of human chromosome 19q13.12. *Mammalian Genome* **17**, 1042-1049.
- Al-Fatimi, M.A.A., Jülich, W.-D., Jansen, R., & Lindequist, U. (2006) Bioactive components of the traditionally used mushroom *Podaxis pistillaris*. *Evidence-based Complementary Alternative Medicine* **3**, 87-92.
- Aslan, H., Ravid, O., Clancy, B.M., Rezvankhah, S., Pittman, D., Pelled, G., Turgeman, G., Zilberman, Y., Gazit, Z., Hoffmann, A., Gross, G., Domany, E., & Gazit, D. (2006) Advanced Molecular Profiling *in vivo* detects novel function of dickkopf-3 in the regulation of bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research* **21**, 1935-1945.
- Balke, B., Hogardt, M., Schmoltdt, S., Hoy, L., Weissbrodt, H., & Häubler, S. (2006) Evaluation of the E-test for the assessment of synergy of antibiotic combinations against multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **25**, 25-30.
- Becker, C., Lienenklaus, S., Jablonska, J., Bauer, H., & Weiss, S. (2006) CD8⁺ T cells armed with retrovirally transduced IFN-gamma. *Journal of Molecular Medicine* **85**, 63-73.
- Becker, P.D., Fiorentini, S., Link, C., Tosti, G., Ebensen, T., Caruso, A., & Guzmán, C.A. (2006) The HIV-1 matrix protein p17 can be efficiently delivered by intranasal route in mice using the TLR 1/6 agonist MALP-2 as mucosal adjuvant. *Vaccine* **24**, 5269-5276.
- Beller, M., Riedel, D., Jansch, L., Dieterich, D., Wehland, J., Jackle, H., & Kuhnlein, R.P. (2006) Characterization of the Drosophila lipid droplet subproteome. *Molecular & Cellular Proteomics* **5**, 1082-1094.
- Berg, T., Mayer, T.U., & Frank, R. (2006) Biochemistry and molecular biology 2005. *Nachrichten aus der Chemie* **54**, 265-270.
- Berg, T., Frank, R., & Mayer, T. (2006) Trendbericht Chemische Biologie im Bericht Biochemie und Molekularbiologie 2005. *Nachrichten aus der Chemie* **54**, 265-270.
- Biebl, H., Tindall, B., Pukall, R., Lünsdorf, H., Allgaier, M., & Wagner-Döbler, I. (2006) *Hoeflea phototrophica*, nov. sp., a new marine aerobic Alphaproteobacterium that forms bacteriochlorophyll a. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56**, 821-826.
- Biebl, H. & Wagner-Döbler, I. (2006) Growth and bacteriochlorophyll a formation in taxonomically diverse aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in chemostat culture: Influence of light regimen and starvation. *Process Biochemistry* **41**, 2153-2159.
- Bilitewski, U. (2006) Biochemische Methoden in der Wasseranalytik – Stand der Technik und Perspektiven – Teil. I: Molekulare Tests. *Vom Wasser – Das Journal* **104**, 3-34.
- Bilitewski, U. (2006) Biochemische Methoden in der Wasseranalytik – Stand der Technik und Perspektiven – Teil II: Organismische Tests. *Vom Wasser – Das Journal* **104**, 7-19.
- Bilitewski, U. (2006) Protein sensing assay formats and devices. *Annals in Chimica Acta* **568**, 232-247.
- Blumenthal, A., Ehlers, S., Lauber, J., Buer, J., Lange, C., Goldmann, T., Heine, H., Brandt, E., & Reiling, N. (2006) The Wingless homolog, WNT5A and its receptor Frizzled-5 regulate inflammatory responses of human mononuclear cells induced by microbial stimulation. *Blood* **108**, 965-973.
- Bode, J., Winkelmann, S., Götze, S., Spiker, S., Tsutsui, K., Bi, C., & Benham, C. (2006) Correlations between Scaffold/Matrix Attachment Region (S/MAR) binding activity and DNA duplex destabilization energy. *Journal of Molecular Biology* **358**, 597-613.
- Boeddrich, A., Gaumer, S., Haacke, A., Tzvetkov, N., Albrecht, M., Evert, B.O., Müller, E.C., Lurz, R., Breuer, P., Schugardt, N., Plaßmann, S., Xu, K., Warrick, J.M., Suopanki, J., Wüllner, U., Frank, R., Hartl, F., Bonini, N.M., & Wanker, E.E. (2006) An arginine/lysine-rich motif is crucial for VCP/p97-mediated modulation of ataxin-3 fibrillogenesis. *EMBO Journal* **25**, 1547-1558.
- Boes, N., Schreiber, K., Hartig, E., Jaensch, L., & Schobert, M. (2006) The *Pseudomonas aeruginosa* universal stress protein PA4352 is essential for surviving anaerobic energy stress. *Journal of Bacteriology* **188**, 6529-6538.
- Bohr, U.R.M., Kuester, D., Backert, S., Wex, T., Rohde, M., Paetzel, S., Koenig, W., Roessner, A., & Malfertheiner, P. (2006) A novel enterohepatic *Helicobacter* species leads to ulcerative colitis-like inflammatory bowel disease in interleukin 10 knockout mice. *Helicobacter* **11**, 408.
- Borsutzky, S., Ebensen, T., Link, C., Becker, P.D., Fiorelli, V., Cafaro, A., Ensoli, B., & Guzmán, C.A. (2006) Efficient systemic and mucosal responses against the HIV-1 Tat protein by Prime/Boost vaccination using the lipopeptide MALP-2 as adjuvant. *Vaccine* **24**, 2049-2056.
- Böröczky, K., Laatsch, H., Wagner-Döbler, I., Stritzke, K. & Schulz, S. (2006) Cluster analysis as selection and dereplication tool for the identification of new natural compounds from large sample sets. *Chemistry & Biodiversity* **3**, 622-634.
- Böse, J., Hahn, P., Butler, D., Wegener, I., Schiebe, S., Bhattacharya, S., Schofield, C., & Lengeling, A. (2006) Jmjd4b, a putative nuclear hydroxylase is essential for embryogenesis, tissue homeostasis, and immunity. *European Journal of Cell Biology* **85**, 26-27.
- Bredenbruch, F., Geffers, R., Nimtz, M., Buer, J., & Häubler, S. (2006) The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal (PQS) has an iron-chelating activity. *Environmental Microbiology* **8**, 1318-1329.
- Bruder, D., Srikiatkachorn, A., & Enelow, R.I. (2006) Cellular immunity and lung injury in respiratory virus infection. *Viral Immunology* **26**, 318-327.
- Bruder, D., Nussbaum, A.K., Gakamsky, D.M., Schirle, M., Stevanovic, S., Singh-Jasuja, H., Darji, A., Chakraborty, T., Schild, H., Pecht, I., & Weiss, S. (2006) Multiple synergizing factors contribute to the strength of the CD8⁺ T cell response against listeriolysin O. *International Immunology* **18**, 89-100.

- Budde,M., Morr,M., Schmid,R.D., & Urlacher,V.B. (2006) Selective hydroxylation of highly branched fatty acids and their derivatives by CYP102A1 from *Bacillus megaterium*. *ChemBioChem* 7, 789-794.
- Bungartz,G., Stiller,S., Bauer,M., Müller,W., Schippers,A., Wagner,N., Fässler,R., & Brakebusch,C. (2006) Adult murine hematopoiesis can proceed without B-1 and B-7 integrins. *Blood* 108, 1857-1864.
- Burnett,T.A., Dinkla,K., Rohde,M., Chhatwal,G.S., Uphoff,C., Srivastava,M., Cordwell,S.J., Geary,S., Liao,X., Minion,F.C., & Walker,M.J.D.S.P. (2006) P159 is a proteolytically processed, surface adhesin of *Mycoplasma hyopneumoniae*: defined domains of P159 bind heparin and promote adherence to eukaryote cells. *Molecular Microbiology* 60, 669-686.
- Busti,E., Cavaletti,L., Monciardini,P., Schumann,P., Rohde,M., Sosio,M., & Donadio,S. (2006) *Catenulispora acidiphila* gen. nov., sp. nov., a novel, mycelium-forming actinomycete, and proposal of *Caenulisporaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56, 1741-1746.
- Caspani,E.M., Echevarria,D., Rottner,K., & Small,J.V. (2006) Live imaging of glioblastoma cells in brain tissue shows requirement of actin bundles for migration. *Neuron Glia Biology* 2, 105-114.
- Cavaletti,L., Monciardini,P., Schumann,P., Rohde,M., Bamonte,R., Busti,E., Sosio,M., & Donadio,S. (2006) *Actinospica robiniae* gen. nov., sp. nov. and *Actinospica acidiphila* sp. nov.: proposal for *Actinospicaceae* fam. nov. and *Catenulisporinae* subord. nov. in the order Actinomycetales. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56, 1747-1753.
- Cavaletti,L., Monciardini,P., Bamonte,R., Schumann,P., Rohde,M., Sosio,M., & Donadio,S. (2006) New lineage of filamentous, spore-forming, gram-positive bacteria from soil. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 4360-4369.
- Chatterjee,S.S., Otten,S., Hain,T., Lingnau,A., Carl,U.D., Wehland,J., Domann,E., & Chakraborty,T. (2006) Invasiveness is a variable and heterogeneous phenotype in *Listeria monocytogenes* serotype strains. *International Journal of Medicinal Microbiology* 296, 277-286.
- Chhatwal,G.S. & Preissner,K.T. (2006) Extracellular matrix interactions with Gram-positive pathogens. In: Gram Positive Pathogens (Fischetti,V.A.e.al., ed), pp. 89-99. ASM Press, Washington DC.
- Chhatwal,G.S., McMillan,D.J., & Talay,S.R. (2006) Pathogenicity factors in group C and G streptococci. In: Gram Positive Pathogens (Fischetti,V.A.e.al., ed), pp. 213-221. ASM Press, Washington DC.
- Cole,J.N., Mcarthur,J.D., McKay,F.C., Sanderson-Smith,M.L., Cork,A. J., Ranson,M., Rohde,M., Itzek,A., Sun,H., Ginsburg,D., Koth,M., Nizet,V., Chhatwal,G.S., & Walker,M.J. (2006) Trigger for group A streptococcal M1T1 invasive disease. *FASEB Journal* 20, 1745-1747.
- Coroadinha,A.S., Schucht,R., Gama-Norton,L., Wirth,D., Hauser,H., & Carrondo,M.J.T. (2006) The use of recombinase cassette exchange in retroviral vector producer cell lines: predictability and efficiency in transgene replacement. *Journal of Biotechnology* 124, 457-468.
- De Buhr,M., Mähler,M., Geffers,R., Hansen,W., Westendorf,A.M., Lauber,J., Buer,J., Akira,S., Schlegelberger,B., Hedrich,H.J., & Bleich,A. (2006) Cd14, Gbp1, and Pla2g2a: 3 major candidate genes for experimental IBD identified by combining QTL and microarray analyses. *Physiological Genomics* 25, 426-434.
- Deckwer,W.-D., Jahn,D., Hempel,D., & Zeng,A.-P. (2006) System biology approach to bioprocess development. *Life Science Engineering* 6, 455-469.
- Deckwer,W.-D., Jahn,D., Zeng,A.-P., & Hempel,D.C. (2006) Systembiotechnologische Ansätze zur Prozessentwicklung. *Chemie-Ingenieur-Technik* 78, 193-208.
- Deppenmeier,S., Bock,O., Mengel,M., Niemann,H., Kues,W., Lemme,E., Wirth,D., Wonigeit,K., & Kreipe,H. (2006) Health status of transgenic pigs expressing the human complement regulatory protein CD59. *Xenotransplantation* 13, 345-356.
- Dieterich,G., Kärst,U., Fischer,E., Wehland,J., & Jansch,L. (2006) LEGER: knowledge database and visualization tool for comparative genomics of pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Nucleic Acids Research* 34, D402-D406.
- Dieterich,G., Kärst,U., Wehland,J., & Jansch,L. (2006) VIS-O-BAC: exploratory visualization of functional genome studies from bacteria. *Bioinformatics* 22, 630-631.
- Dikmans,A., Beutling,U., Schmeisser,E., Thiele,S., & Frank,R. (2006) A novel process for manufacturing multipurpose high-density chemical microarrays. *QSAR and Combinatorial Science* 25, 1069-1080.
- Disansa,A., Mantoani,S., Hertzog,M., Gerboth,S., Frittoli,E., Steffen,A., Berhoerster,K., Kreienkamp,H.J., Milanesi,F., Di Fiore,P.P., Ciliberto,A., Stradal,T.E.B., & Scita,G. (2006) Regulation of cell shape by Cdc42 is mediated by the synergic actin-bundling activity of the Eps8-IRSp53 complex. *Nature Cell Biology* 8, 1337-1347.
- Dittmar,K.E.J., Macke,L., Garritsen,H., Wörmann,B. & Lindenmaier,W. (2006) Zelltherapie: Modulares geschlossenes Kultivierungssystem für Zelltherapeutika. *BioSpektrum* 12(4), 366-368
- Dornbach,B. & Gunzer,M. (2006) Imaging of immune cells. *In vitro veritas? G. I. T. Imaging & Microscopy* (3), 30-32.
- Duvos,C., Scutt,A., & Mayer,H. (2006) hPTH-fragments, (53-84) and (28-48) antagonize the stimulation of calcium release and repression of alkaline phosphatase activity by hPTH-(1-34) *in vitro*. *FEBS Letters* 580, 1509-1514.
- Ehrlich,G., Hassfeld,J., Eggert,U., & Kalesse,M. (2006) The total synthesis of (+)-tedanolide. *Journal of the American Chemical Society* 128, 14038-14039.
- El-Enshasy,H., Kleine,J., & Rinas,U. (2006) Agitation effects on morphology and protein productive fractions of filamentous and pelleted growth forms of recombinant *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry* 41, 2103-2112.
- Faix,J. & Rottner,K. (2006) The making of filopodia. *Current Opinion in Cell Biology* 18, 18-25.
- Fiorentini,S., Becker,P.D., Marini,E., Marconi,P., Avolio,M., Tosti,G., Link,C., Manservigi,R., Guzmán,C.A., & Caruso,A. (2006) HIV-1 matrix protein p17 modulates *in vivo* preactivated murine T-cell response and enhances the induction of systemic and mucosal immunity against intranasally co-administered antigens. *Viral Immunology* 19, 177-188.
- Frahm,T., Hauser,H., & Köster,M. (2006) IFN-type-I-mediated signalling is regulated by modulation of STAT2 nuclear export. *Journal of Cell Science* 119, 1092-1104.
- Franzke,A., Koenecke,C., Geffers,R., Piao,W., Hunger,J.K., Ganser,A., & Buer,J. (2006) Classical Hodgkin's lymphoma: Molecular evidence for specific alterations in circulating T lymphocytes. *Tumor Biology* 27, 329-333.
- Franzke,A., Geffers,R., Hunger,J.K., Pflörtner,S., Piao,W., Ivanyi,P., Grosse,J., Probst-Kepper,M., Ganser,A., & Buer,J. (2006) Identification of novel regulators in T-cell differentiation of aplastic anemia patients. *BMC GENOMICS* 7, Art.No. 263.
- Frere,F., Nentwich,M., Gacond,S., Heinz,D.W., Neier,R., & Frankenberg-Dinkel,N. (2006) Probing the active site of *Pseudomonas aeruginosa* porphobilinogen synthase using newly developed inhibitors. *Biochemistry* 45, 8243-8253.
- Frese,S., Schubert,W.-D., Findeis,A.C., Marquardt,T., Roske,Y.S., Stradal,T.E.B., & Heinz,D.W. (2006) The phosphotyrosine peptide binding specificities of Nck1 and Nck2 SH2 domains. *Journal of Biological Chemistry* 281, 18236-18245.
- Frischmann,U. & Müller,W. (2006) Nine fluorescence parameter analysis on a four-color fluorescence activated flow cytometer. *Cytometry A*. 69, 124-126.

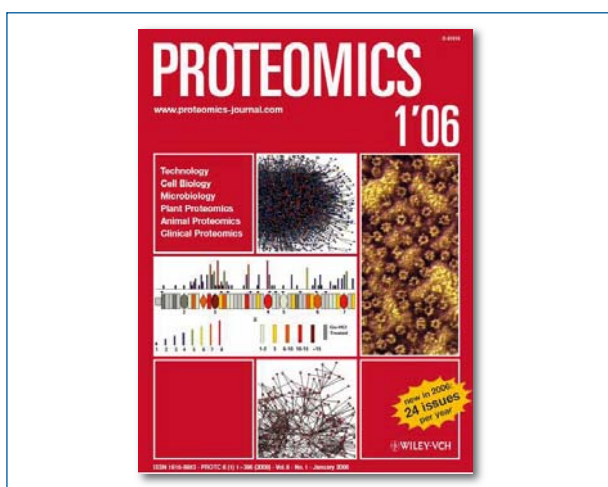
- Fritzsching,B., Oberle,N., Pauly,E., Geffers,R., Buer,J., Poschl,J., Krammer,P., Linderkamp,O., & Suri-Payer,E. (2006) Naive regulatory T cells: a novel subpopulation defined by resistance towards CD95L-mediated cell death. *Blood* **108**(10), 3371-3378.
- Froese,N., Schwarzer,M., Niedick,I., Frischmann,U., Köster,M., Kröger,A., Müller,P.P., Nourbakhsh,M., Pasche,B., Reimann,J., Staeheli,P., & Hauser,H. (2006) Innate immune responses in NF-kappaB-repressing factor (NRF)-deficient mice. *Molecular and Cellular Biology* **26**, 293-302.
- Galeyeva,Y., Helbig,S., Morr,M., Sasse,F., Nimtz,M., Laschat,S., & Baro,A. (2006) Total synthesis and biological evaluation of (-)-pectinatone employing a methyl branched wax ester as key building block. *Chemistry and Biodiversity* **3**, 935-941.
- Garbe,A.I., Vermeer,B., Gamrekelashvili,J., von Wasielewski,R., Greten,F.R., Westendorf,A.M., Buer,J., Schmid,R.M., Manns,M.P., Korangy,F., & Greten,T.F. (2006) Genetically induced pancreatic adenocarcinoma is highly immunogenic and causes spontaneous tumor-specific immune responses. *Cancer Research* **66**, 508-516.
- Gerlach,N., Schimmer,S., Weiss,S., Kalinke,U., & Dittmer,U. (2006) Effects of type I interferons on friend retrovirus infection. *Journal of Virology* **80**, 3438-3444.
- Gismondì,M.I., Becker,P.D., Valva,P., & Guzmán,C.A. (2006) Phylogenetic analysis of previously non-typeable hepatitis C virus isolates from Argentina. *Journal of Clinical Microbiology* **44**, 2229-2232.
- González-Escalona,N., Fey,A., Höfle,M.G., Espejo,R.T., & Guzmán,C.A. (2006) Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction analysis of *Vibrio cholerae* cells entering the viable but non-culturable state and starvation in response to cold shock. *Environmental Microbiology* **8**, 658-666.
- González-Escalona,N., Romero,J., Guzmán,C.A. & Espejo,R.T. (2006) Variation in the 16S-23S rRNA intergenic spacer regions in *Vibrio parahaemolyticus* strains are due to indels nearby their tRNA^{Glu}. *FEMS Microbiology Letters* **256**, 38-43.
- Gueorguieva,L., Vallejo,L.F., Rinas,U., & Seidel-Morgenstern,A. (2006) Discontinuous and continuous separation of the monomeric and dimeric forms of human bone morphogenetic protein-2 from renaturation batches. *Journal of Chromatography A* **1135**, 142-150.
- Guzmán,C.A., Borsutzky,S., Griot-Wenk,M., Metcalfe,I.C., Pearman,J., Collioud,A., Favre,D., & Dietrich,G. (2006) Vaccines against Typhoid fever. *Vaccine* **24**, 3804-3811.
- Hafner,M. & Korthof,G. (2006) Does a "500 million-year-old hormone" disprove Darwin? *FASEB Journal* **20**, 1290-1292.
- Hagelüken,G., Adams,T.M., Wiehlmann,L., Widow,U., Kolmar,H., Tümmler,B., Heinz,D.W., & Schubert,W.-D. (2006) The crystal structure of SdsA1, an alkylsulfatase from *Pseudomonas aeruginosa*, defines an independent, third mechanistic class of sulfatases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* **103**, 7631-7636.
- Hain,T., Steinweg,C., Kuenne,C.T., Billion,A., Ghai,R., Chatterjee,S.S., Domann,E., Kärst,U., Goesmann,A., Bekel,T., Bartels,D., Kaiser,O., Meyer,F., Puehler,A., Weisshaar,B., Wehland,J., Liang,C.G., Dandekar,T., Lampidis,R., Kreft,J., Goebel,W., & Chakraborty,T. (2006) Whole-genome sequence of *Listeria welshimeri* reveals common steps in genome reduction with *Listeria innocua* as compared to *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology* **188**, 7405-7415.
- Hansen,W., Loser,K., Westendorf,A.M., Bruder,D., Pförtner,S., Siewert,C., Huehn,J., Beissert,S., & Buer,J. (2006) GPR83-overexpression in naive CD4+CD25- T cells leads to the induction of Foxp3+ regulatory T cells *in vivo*. *Journal of Immunology* **177**, 209-215.
- Harr,B., Voolstra,C., Heinen,T.J., Baines,J.F., Rottscheldt,R., Ihle,S., Müller,W., Bonhomme,F., & Tautz,D. (2006) A change of expression in the conserved signaling gene MKK7 is associated with a selective sweep in the western house mouse *Mus musculus domesticus*. *Journal of Evolutionary Biology* **19**, 1486-1496.
- Hassfeld,J., Steinmetz,H., Fares,C., Carlomagno,T., & Menche,D. (2006) Stereochemical determination of Archazolid A and B, highly potent vacuolar-type ATPase inhibitors from the Myxobacterium *Archangium gephyra*. *Organic Letters* **8**, 4751-4754.
- He,F. & Zeng,A.-P. (2006) In search of functional association from time-series microarray data based on the change trend and level of gene expression. *BMC Bioinformatics* **7**, 69.
- Heinz,D.W., Weiss,M.S., & Wendt,K.U. (2006) Biomolecular interactions, assemblies and machines: a structural view. *ChemBioChem* **7**, 208.
- Hoffmann,A. & Gross,G. (2006) Tendon and ligament engineering: from cell biology to *in vivo* application. *Regenerative Medicine* **1**, 563-574.
- Hoffmann,A., Pelled,G., Turgeman,G., Eberle,P., Zilberman,Y., Shinar,H., Keinan-Adamsky,K., Winkel A., Shahab,S., Navon,G., Gross,G., & Gazit,D. (2006) Neotendon formation induced by manipulation of the Smad8 signalling pathway in mesenchymal stem cells. *Journal of Clinical Investigation* **116**, 940-952.
- Hussain,M., Haggan,A., Peters,G., Chhatwal,G.S., Herrmann,M., Flock,J.I., & Sinha,B. (2006) More than one tandem repeat of Extracellular Adherence Protein of *Staphylococcus aureus* is required for aggregation, adherence and internalization but not for leucocyte activation. *International Journal of Medical Microbiology* **296**, 123-123 Suppl. 42.
- Jahn,D., Moser,J., Schubert,W.-D., & Heinz,D.W. (2006) Transfer RNA-dependent aminolevulinic acid formation: structure and function of glutamyl-tRNA synthase, reductase and glutamate-1-semialdehyde-2,1-aminomutase. In: Chlorophylls and Bacteriochlorophylls (Grimm,B.et.al., eds), pp. 159-171. Springer Verlag.
- Janoschek,R., Plum,L., Koch,L., Munzberg,H., Diano,S., Shanabrough,M., Müller,W., Horvath,T.L., & Brüning,J.C. (2006) gpl30 signaling in proopiomelanocortin neurons mediates the acute anorectic response to centrally applied ciliary neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 10707-10712.
- Jundt,L., Steinmetz,H., Luger,P., Weber,M., Kunze,B., Reichenbach,H., & Höfle,G. (2006) Isolation and structure elucidation of cruentaren A and B – novel members of the benzolactone class of ATPase inhibitors from the myxobacterium *Byssosvorax cruenta*. *European Journal of Organic Chemistry* (22), 5036-5044.
- Just,L., Kursten,A., Borth-Bruhns,T., Lindenmaier,W., Rohde,M., Dittmar,K.E.J., & Bader,A. (2006) Formation of three-dimensional fetal myocardial tissue cultures from rat for long-term cultivation. *Developmental Dynamics* **235**, 2200-2209.
- Kader,A., Simm,R., Gerstel,U., Morr,M., & Römling,U. (2006) Hierarchical involvement of various GDEF domain proteins in rdar morphotype development of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Molecular Microbiology* **60**, 602-616.
- Kaplan,E.L., Chhatwal,G.S., & Rohde,M. (2006) Reduced ability of penicillin to eradicate ingested group A streptococci from epithelial cells: Clinical and pathogenetic implications. *Clinical Infectious Diseases* **43**, 1398-1406.
- Kaps,C., Fuchs,S., Endres,E., Ringe,J., Haisch,J., Lauber,J., Buer,J., Krenn,V., Haupl,T., Burmester,G.-R., & Sittinger,M. (2006) Gene expression profiling of human articular cartilage grafts generated by tissue engineering. *Biomaterials* **27**, 3617-3630.
- Khalil,M.W., Sasse,F., Lünsdorf,H., Elnakady,Y.A., & Reichenbach,H. (2006) Mechanism of action of tubulysin, an antimetabolic peptide from myxobacteria. *ChemBioChem* **7**, 678-683.
- Kolberg,J., Aase,A., Bergmann,S., Herstad,T.K., Rodal,G., Frank,R., Rohde,M., & Hammerschmidt,S. (2006) *Streptococcus pneumoniae* enolase is important for plasminogen binding despite low abundance of enolase protein on the bacterial cell surface. *Microbiology* **152**, 1307-1317.

- Krause-Gruszczynska,M., Rohde,M., Hartig,R., Schmidt,G., Miller,W. G., Blaser,M.J., Konig,W., & Backert,S. (2006) Role of the small Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in epithelial cell invasion of *Campylobacter jejuni* 81-176. *International Journal of Medical Microbiology* **296**, 167-167 Suppl. 42.
- Kues,W.A., Schwinzer,R., Wirth,D., Verhoeyen,E., Lemme,E., Herrmann,D., Barg-Kues,B., Hauser,H., Wonigkeit,K., & Niemann,H. (2006) Epigenetic silencing and tissue independent expression of a novel tetracycline inducible system in double transgenic pigs. *FASEB Journal* **20**, 1200-1202.
- Kues,W.A., Schwinzer,R., Wirth,D., Verhoeyen,E., Lemme,E., Herrmann,D., Barg-Kues,B., Hauser,H., Wonigkeit,K., & Niemann,H. (2006) Reactivation of silenced tetracycline-controlled hRCA constructs in transgenic pigs. *Xenotransplantation* **13**, 581.
- Kunze,B., Steinmetz,H., Höfle,G., Huss,M., Wieczorek,H., & Reichenbach,H. (2006) Cruentaren, a new antifungal salicylate-type macrolide from *Byssovox cruenta* (Myxobacteria) with inhibitory effect on mitochondrial ATPase activity. Fermentation and biological properties. *Journal of Antibiotics* **59**, 664-668.
- Layer,G., Pierik,A.J., Trost,M., Jänsch,L., Leech,H.K., Warren,M.J., Rigby,S.E., Astner,I., Grage,K., Breckau,D., Heinz,D.W., & Jahn,D. (2006) The substrate radical of *Escherichia coli* oxygen-independent coproporphyrinogen III oxidase HemN. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 15727-15734.
- Lengeling,A., Müller,W., & Balling,R. (2006) Phenotyping of host-pathogen interactions in mice. In: Standards of Mouse Model Phenotyping (Hrabé de Angelis,M., Chambon,P., & Brown,S., eds), pp. 201-219. Wiley-VCH, Weinheim.
- Leonhäuser,J., Röhricht,M., Wagner-Döbler,I., & Deckwer,W.-D. (2006) Reaction engineering aspects of microbial mercury removal. *Engineering in Life Sciences* **6**, 139-148.
- Liesener,F.P., Jannsen,U., & Kalesse,M. (2006) Synthesis of the northern hemisphere of amphidinolide H2. *Synthesis* 2590-2602.
- Link,C., Ebensen,T., Ständner,L., Déjosez,M., Reinhard,E., Rharbaoui,F., & Guzmán,C.A. (2006) A SopB-mediated immune escape mechanism of *Salmonella enterica* can be subverted to optimise the performance of live attenuated vaccine carrier strains. *Microbes and Infection* **8**, 2262-2269.
- Loessner,H., Endmann,A., Rohde,M., Curtiss,R.I., & Weiss,S. (2006) Differential effect of auxotrophies on the release of macromolecules by *Salmonella enterica* vaccine strains. *FEMS Microbiology Letters* **265**, 81-88.
- Luther,K., Rohde,M., Heesemann,J., & Ebel,F. (2006) Quantification of phagocytosis of *Aspergillus conidia* by macrophages using a novel antibody-independent assay. *Journal of Microbiological Methods* **66**, 170-173.
- Lutz,J., Müller,W., & Jäck,H.-M. (2006) V_H Replacement rescues progenitor B cells with two nonproductive VDJ alleles¹. *The Journal of Immunology* **177**, 7007-7014.
- Ma,B., Winketbach,S., Lindenmaier,W., & Dittmar,K.E.J. (2006) Six-colour fluorescent imaging of lymphoid tissue based on colour addition theory. *Acta Histochemica* **108**, 243-257.
- Mahieu,T., Park,J.M., Revets,H., Pasche,B., Lengeling,A., Staelens,J., Wullaert,A., Vanlaere,I., Hochepped,T., Roy,F.V., Karin,M., & Libert,C. (2006) The LPS resistant mouse strain SPRET/Ei is defective in IFN- β production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 2292-2297.
- May,T., Hauser,H., & Wirth,D. (2006) Current status of transcriptional regulation systems. *Cytotechnology* **50**, 109-119.
- McMillan,D.J., Beiko,R.G., Geffers,R., Buer,J., Schouls,L.M., Vlamincx,B.J., Wannet,W.J., Sriprakash,K.S., & Chhatwal,G.S. (2006) Genes for the majority of group a streptococcal virulence factors and extracellular surface proteins do not confer an increased propensity to cause invasive disease. *Clinical Infectious Diseases* **43**, 884-891.
- Medina,E., Ryan,L., LaCourse,R., & North,R.J. (2006) Superior virulence of *Mycobacterium bovis* over *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) for Mtb-resistant and Mtb-susceptible mice is manifest as an ability to cause extrapulmonary disease. *Tuberculosis* **86**, 20-27.
- Menche,D. & Arikan,F. (2006) Thiourea-catalyzed direct reductive amination of aldehydes. *Synlett* (6), 841-844.
- Molinari,G., Rohde,M., Wilde,C., Just,I., Aktories,K., & Chhatwal,G. S. (2006) Localization of the C3-Like ADP-ribosyltransferase from *Staphylococcus aureus* during bacterial invasion of mammalian cells. *Infection and Immunity* **74**, 3673-3677.
- Montaner,A.D., de Nichilo,A., Elias,F., Rogriguez,J.M., Fló,J.M., Lopez,R.A., Zorzopulos,J., & Frank,R. (2006) Ganglioside GM1-binding peptides as adjuvants of antigens inoculated by the intranasal route. *Vaccine* **24**, 1889-1896.
- Müller-Taubenberger,A., Vos,M.J., Böttger,A., Lasi,M., Lai,F.P.L., Fischer,M., & Rottner,K. (2006) Monomeric red fluorescent protein variants used for imaging studies in different species. *European Journal of Cell Biology* **85**, 1119-1129.
- Müller,I., Weinig,S., Steinmetz,H., Kunze,B., Veluthoor,S., Mahmud,T., & Müller,R. (2006) A unique mechanism for methyl ester formation via an amide intermediate found in myxobacteria. *ChemBioChem* **7**, 1197-1205.
- Müller,P.P., May,T., Perz,A., Hauser,H., & Peuster,M. (2006) Control of smooth muscle cell proliferation by ferrous iron. *Biomaterials* **27**, 2193-2000.
- Müller,R.-J. (2006) Biological degradation of synthetic polyesters – Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. *Process Biochemistry* **41**, 2124-2128.
- Nalca,Y., Jänsch,L., Bredenbruch,F., Geffers,R., Buer,J., & Häubler,S. (2006) Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: a global approach. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **50**, 1680-1688.
- Nedashkovskaya,O.I., Kim,S.B., Vancanneyt,M., Snauwaert,C., Lysenko,A.M., Rohde,M., Frolova,G.M., Zhukova,N.V., Mikhailov,V. V., Bae,K.S., Oh,H.W., & Swings,J. (2006) *Formosa agariphila* sp. nov., a budding bacterium of the family Flavobacteriaceae isolated from marine environments, and emended description of the genus *Formosa*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56**, 161-167.
- Nehlsen,K., Broll,S., & Bode,J. (2006) Replicating minicircles: Generation of nonviral episomes for the efficient modification of dividing cells. *Gene Therapy and Molecular Biology* **10**, 233-244.
- Neumann,J., Gunzer,M., Gutzeit,H.O., Ullrich,O., Reymann,K.G., & Dinkel,K. (2006) Microglia provide neuroprotection after ischemia. *EASEB Journal* **20**, 714-716.
- Niemann,H.H., Schmoldt,H.U., Wentzel,A., Kolmar,H., & Heinz,D.W. (2006) Barnase fusion as a tool to determine the crystal structure of the small disulfide-rich protein MceEeTl. *Journal of Molecular Biology* **356**, 1-8.
- Nitsche,D.P., Johansson,H.M., Frick,I.M., & Morgelin M. (2006) Streptococcal protein FOG, a novel matrix adhesin interacting with collagen I *in vivo*. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 1670-1679.
- Ocklenburg,F., Moharregg-Khiabani,D., Geffers,R., Janke,V., Pfoertner,S., Garritsen,H., Groebe,L., Klempnauer,J., Dittmar,K.E.J., Weiss,S., Buer,J., & Probst-Kepper,M. (2006) UBD, a down-stream element of Foxp3, leads to the identification of LGALS3, a new marker of human regulatory T cells. *Laboratory Investigation* **86**, 724-737.
- Oumard,A., Qiao,J., Jostock,T., Li,J., & Bode,J. (2006) Recommended method for chromosome exploitation: RMCE-based cassette-exchange systems in animal cell biotechnology. *Cytotechnology* **50**, 93-108.

- Pabst,O., Herbrand,H., Willenzon,S., Worbs,T., Schippers,A., Müller,W., Bernhardt,G., & Förster,R. (2006) Enhanced FTY720-mediated lymphocyte homing requires G alpha i signaling and depends on beta 2 and beta 7 integrin. *Journal of Immunology* **176**, 1474-1480.
- Pauling,B.V. & Wagner-Döbler,I. (2006) Stream microcosm for investigating GEM impact on the autochthonous bacterial community in river water and sediment. *Process Biochemistry* **41**, 2129-2137.
- Peris,L., Thery,M., Faure,J., Saoudi,Y., Lafanechere,L., Chilton,J.K., Gordon-Weeks,P., Galjart,N., Bornens,M., Wordeman,L., Wehland,J., Andrieux,A., & Job,D. (2006) Tubulin tyrosination is a major factor affecting the recruitment of CAP-Gly proteins at microtubule plus ends. *Journal of Cell Biology* **174**, 839-849.
- Peters,T., Bloch,W.W.C., Tawadros,S., Oreshkova,T., Kess,D., Krieg,T., Müller,W., & Scharffetter-Kochanek,K. (2006) Terminal B cell differentiation is skewed by deregulated interleukin-6 secretion in β_2 integrin-deficient mice. *Journal of Leukocyte Biology* **80**, 599-607.
- Peuster,M., Beerbaum,P., Hauser,H., & Bach,F.-W. (2006) Resorbable implants. Is it out there? *Cardiology in the Young* **16**, 107-116.
- Pfoertner,S., Jeron,A., Probst-Kepper,M., Guzmán,C.A., Hansen,W., Westendorf,A.M., Toepfer,T., Schrader,A.J., Franzke,A., Buer,J., & Geffers,R. (2006) Signatures of human regulatory T cells: an encounter with old friends and new players. *Genome Biology* **7**, R54.
- Proff,P., Weingärtner,J., Rottner,K., Bayerlein,T., Schoebel,S., Kaduk,W., & Gedrange,T. (2006) Functional 3-D analysis of patients with unilateral cleft of lip, alveolus and palate (UCLAP) following lip repair. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* **34**, 26-30.
- Rachid,S., Sasse,F., Beyer,S., & Müller,R. (2006) Identification of StiR, the first regulator of secondary metabolite formation in the mycobacterium *Cystobacter fuscus* Cb f17.1. *Journal of Biotechnology* **121**, 429-441.
- Rachid,S., Krug,D., Kunze,B., Kochems,I., Scharfe,M., Zabriskie,T. M., Blöcker,H., & Müller,R. (2006) Molecular and biochemical studies of chondramide formation-highly cytotoxic natural products from *Chondromyces crocatus* Cm c5. *Chemistry and Biology* **13**, 667-681.
- Raghunathan,D., Sanchez-Pedregal,V.M., Junker,J., Schwiegl,C., Kalesse,M., Kirschning,A., & Carlomagno,T. (2006) TAR-RNA recognition by a novel cyclic aminoglycoside analogue. *Nucleic Acids Research* **34**, 3599-3608.
- Ramana,C.V., Chintapalli,J., Xu,L., Alia,C., & Bruder,D. (2006) Lung epithelial Stat1 and NF- κ B signalling in response to CD8+ T cell antigen recognition. *Journal of Interferon and Cytokine Research* **26**, 318-327.
- Reichardt,P. & Gunzer,M. (2006) The biophysics of T lymphocyte activation *in vitro* and *in vivo*. *Results and Problems in Cell Differentiation* **43**, 199-218
- Reichenbach,H., Lang,E., Schumann,P. & Spröer,C. (2006) *Byssovorax cruenta* gen. nov., sp. nov., nom. rev., a cellulose-degrading myxobacterium: rediscovery of 'Myxococcus cruentus' Thaxter 1897. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56(10)**, 2357-2363
- Reinl,T., Wissing,J., Fischer,R., Hundertmark,C., Klawonn,F., Daub,H., Wehland,J., & Jänsch,L. (2006) Quantitative analysis of receptor tyrosine kinase signaling exploited by *Listeria monocytogenes*. *Molecular & Cellular Proteomics* **5**, S168-S168 654 Suppl.
- Rinas,U., Hoffmann,F., Betiku,E., Estapé,D., & Marten,S. (2006) Inclusion body anatomy and functioning of chaperone-mediated *in-vivo* inclusion body disassembly during high-level recombinant protein production in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology* **127**, 244-247.
- Romero-Tabarez,M., Jansen,R., Sylla,M., Lünsdorf,H., Häubler,S., Santosa,D.A., Timmis,K.N., & Molinari,G. (2006) 7-O-malonyl macro-lactin A, a new macrolactin antibiotic from *Bacillus subtilis* active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and a small-colony variant of *Burkholderia cepacia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **50**, 1701-1709.
- Rottner,K., Kaverina,I.N., & Stradal,T.E.B. (2006) Cytoskeleton proteins. In: *Cell Biology: A Laboratory Handbook* (Celis,J.E., ed), pp. 111-119. Academic Press.
- Rübenhagen,R. & Frank,R. (2006) Highly specific antibodies for use in sandwich-type antibody microarray analyses of complex biological samples. *Journal of Peptide Science* **12**, 100.
- Schiller,M., Metze,D., Luger,T.A., Grabbe,S., & Gunzer,M. (2006) Immune response modifiers – Mode of action. *Experimental Dermatology* **15**, 331-341.
- Schirenbeck,A., Arasada,R., Bretschneider,T., Stradal,T.E.B., Schleicher,M., & Faix,J. (2006) The bunding activity of vasodilator-stimulated phosphoprotein is required for filopodium formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 7694-7699.
- Schirmbeck,R., Riedel,P., Kupferschmitt,M., Wegenka,U., Hauser,H., Rice,J., & Kröger,A. (2006) Priming protective CD8 T cell immunity by DNA vaccines encoding chimeric, stress protein-capturing tumor-associated antigen. *Journal of Immunology* **177**, 1534-1542.
- Schrader,A.J., Varga,Z., Hegele,A., Pfoertner,S., Oibert,P., & Hofmann,R. (2006) Second-line strategies for metastatic renal cell carcinoma: classics and novel approaches. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **132**, 137-149.
- Schrader,A.J., Varga,Z., Pfoertner,S., Goelden,U., Buer,J., & Hofmann,R. (2006) Treatment targeted at vascular endothelial growth factor: a promising approach to managing metastatic kidney cancer. *BJU International* **97**, 461-465.
- Schreiber,K., Boes,N., Eschbach,M., Jänsch,L., Wehland,J., Bjarnsholt,T., Giskov,M., Hentzer,M., & Schobert,M. (2006) Anaerobic survival of *Pseudomonas aeruginosa* by pyruvate fermentation requires an Usp-type stress protein. *Journal of Bacteriology* **188**, 659-668.
- Schucht,R., Coroadinha,A.S., Zanta-Boussif,M.A., Verhoeyen,E., Carrondo,M.J.T., Hauser,H., & Wirth,D. (2006) A new generation of retroviral producer cells: Predictable and stable virus production by Flp mediated site-specific integration of retroviral vectors. *Molecular Therapy* **14**, 285-292.
- Schulze,J.O., Masoumi,A., Nickel,D., Jahn,M., Schubert,W.-D., & Heinz,D.W. (2006) Crystal structure of a non-discriminating glutamyl-tRNA synthetase. *Journal of Molecular Biology* **361**, 888-897.
- Schulze,J.O., Schubert,W.-D., Moser,J., Jahn,D., & Heinz,D.W. (2006) Evolutionary relationship between initial enzymes of tetrapyrrole biosynthesis. *Journal of Molecular Biology* **358**, 1212-1220.
- Schulze,K., Medina,E., & Guzmán,C.A. (2006) Intranasal immunization with serum opacity factor (SOF) of *Streptococcus pyogenes* fails to protect mice against lethal mucosal challenge with a heterologous strain. *Vaccine* **24**, 1446-1450.
- Schulze,K., Olive,C., Ebensen,T., & Guzmán,C.A. (2006) Intranasal vaccination with SfbI or M protein-derived peptides conjugated to diphtheria toxoid confers protective immunity against a lethal challenge with *S. pyogenes*. *Vaccine* **24**, 6088-6095.
- Seibel,J., Moraru,R., Gotze,S., Buchholz,K., Na'amnieh,S., Pawlowski,A., & Hecht,H.-J. (2006) Synthesis of sucrose analogues and the mechanism of action of *Bacillus subtilis* fructosyltransferase (levansucrase). *Carbohydrate Research* **341**, 2335-2349.
- Siebert,J., Sastalla,I., Chhatwal,G.S., & Medina,E. (2006) Vaccination equally enables both genetically susceptible and resistant mice to control infection with group A streptococci. *Microbes and Infection* **8**, 347-353.
- Siewe,L., Bollati-Fogolin,M., Wickenhauser,C., Krieg,T., Müller,W., & Roers,A. (2006) Interleukin-10 derived from macrophages and/or neutrophils regulates the inflammatory response to LPS but not the response to CpG DNA. *European Journal of Immunology* **36**, 3248-3255.

- Siewe,L., Bollati-Fogolin,M., Greveling,M., Krieg,T., Müller,W., & Roers,A. (2006) IL-10 as a regulator of immunity at body surfaces: Secretion by T cells but not by B cells, macrophages or neutrophils protects from inflammatory bowel disease. *Journal of Investigative Dermatology* **126**, 63-63 Suppl. 3.
- Spadaccini,R., Reidt,U., Dybkov,O., Will,C., Frank,R., Stier,G., Corsini,L., Wahl,M.C., Lührmann,R., & Sattler,M. (2006) Biochemical and NMR analysis of a SF3b155-p14-U2AFRNA interaction network involved in branch point definition during pre-mRNA splicing. *RNA* **12**, 410-425.
- Steffen,A., Faix,J., Resch,G.P., Linkner,J., Wehland,J., Small,J.V., Rottner,K., & Stradal,T.E.B. (2006) Filopodia formation in the absence of functional WAVE- and Arp2/3-complex. *Molecular Biology of the Cell* **17**, 2581-2591.
- Stehr,M., Hecht,H.-J., Jager,T., Flohé,L., & Singh,M. (2006) Structure of the inactive variant C60S of *Mycobacterium tuberculosis* thiol peroxidase. *Acta crystallographica. Section D: Biological Crystallography* **62**, 563-567.
- Stelmakh,A., Stellfeld,T., & Kalesse,M. (2006) Tandem intramolecular Michael-Aldol reaction as a tool for the construction of the C-ring of hexacyclinic acid. *Organic Letters* **8**, 3485-3488.
- Stradal,T.E.B., Pusch,R., & Kliche,S. (2006) Molecular regulation of cytoskeletal rearrangements during T cell signalling. In: Cell Communication in Nervous and Immune System (Gundelfinger,E.D., Seidenbecher,C.I., & Schraven,B., eds), pp. 219-244.
- Stradal,T.E.B. & Scita,G. (2006) Protein complexes regulating cellular actin assembly. *Current Opinion in Cell Biology* **8**, 4-10.
- Sugareva,V., Hartl,A., Brock,M., Hubner,K., Rohde,M., Heinekamp,T., & Brakhage,A.A. (2006) Characterisation of the laccase-encoding gene *abr2* of the dihydroxynaphthalene-like melanin gene cluster of *Aspergillus fumigatus*. *Archives of Microbiology* **186**, 345-355.
- Sun,J., Wang,W., Hundertmark,C., Zeng,A.-P., Jahn,D., & Deckwer,W.-D. (2006) A protein database constructed from low-coverage genomic sequence of *Bacillus megaterium* and its use for accelerated proteomic analysis. *Journal of Biotechnology* **124**, 486-495.
- Sunderhaus,S., Dudkina,N.V., Jansch,L., Klodmann,J., Heinemeyer,J., Perales,M., Zabaleta,E., Boekema,E.J., & Braun,H.P. (2006) Carbonic anhydrase subunits form a matrix-exposed domain attached to the membrane arm of mitochondrial complex I in plants. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 6482-6488.
- Thedieck,K., Hain,T., Mohamed,W., Tindall,B., Nimtz,M., Chakraborty,T., Wehland,J., & Jansch,L. (2006) The MprF protein is required for lysinylation of phospholipids in listerial membranes and confers resistance to cationic antimicrobial peptides (CAMPs) on *Lysteria monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **62**, 1325-1339.
- Timmerbeul,I., Garrett-Engele,C.M., Kossatz,U., Chen,X., Firpo,E., Grunwald,V., Kamino,K., Wilkens,L., Lehmann,U., Buer,J., Geffers,R., Kubicka,S., Manns,M.P., Porter,P.L., Roberts,J.M., & Malek,N.P. (2006) Testing the importance of p27 degradation by the SCFskp2 pathway in murine models of lung and colon cancer. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* **103**, 14009.
- Trebst,C., Heine,S., Lienenklaus,S., Lindner,M., Baumgartner,W., Weiss,S., & Stangel,M. (2006) Interferon-beta has a modulatory effect on de- and remyelination in the cuprizone model. *Multiple Sclerosis* **12**, S138-S139.
- Van den Bulcke,T., Van Leemput,K., Naudts,B., van Remortel,P., Ma,H.W., Verschoren,A., De Moor,B., & Marchal,K. (2006) SynTReN: a generator of synthetic gene expression data for design and analysis of structure learning algorithms. *BMC Bioinformatics* **7**:43.
- Veldman,C., Pahl,A., Beissert,S., Hansen,W., Buer,J., Dieckmann,D., Schuler,G., & Hertl,M. (2006) Inhibition of the transcription factor Foxp3 converts desmoglein 3-specific type 1 regulatory T cells into Th 2-like cells. *Journal of Immunology* **176**, 3215-3222.
- Vonberg,R.P., Häubler,S., Vandamme,P., & Steinmetz,I. (2006) Identification of *Burkholderia cepacia* complex pathogens by rapid-cycle PCR with fluorescent hybridization probes. *Journal of Medical Microbiology* **55**, 721-727.
- Votteler,J., Bruns,K., Henklein,P., Wray,V., & Schubert,U. (2006) Use of synthetic proteins of human immunodeficiency viruses for structural and functional analyses. In: The Handbook of Biologically Active Peptides pp. 1495-1504. Elsevier.
- Wagner-Döbler,I. & Biebl,H. (2006) Environmental Biology of the Marine *Roseobacter* Lineage. *Annual Review of Microbiology* **60**, 255-280.
- Wang,W., Sun,J., Hollmann,R., Zeng,A.-P., & Deckwer,W.-D. (2006) Proteomic characterization of transient expression and secretion of a stress-related metalloprotease in high cell density culture of *Bacillus megaterium*. *Journal of Biotechnology* **126**(3), 313-324.
- Wegener,C., Reinl,T., Jansch,L., & Predel,R. (2006) Direct mass spectrometric peptide profiling and fragmentation of larval peptide hormone release sites in *Drosophila melanogaster* reveals tagma-specific peptide expression and differential processing. *Journal of Neurochemistry* **96**, 1362-1374.
- Wendt,K., Wilk,E., Buyny,S., Buer,J., Schmidt,R.E., & Jacobs,R. (2006) Gene and protein characteristics reflect functional diversity of CD56(dim) and CD56(bright) NK cells. *Journal of Leukocyte Biology* **80**, 1529-1541.
- Westendorf,A. & Buer,J. (2006) CD8 T cell homeostasis in the intestinal mucosa – a role for antigen-specific treg cells. *International Journal of Medical Microbiology* **296**, 104-105 Suppl. 42.
- Westendorf,A.M., Fleissner,D., Deppenmeier,S., Gruber,A.D., Bruder,D., Hansen,H., Liblau,R., & Buer,J. (2006) Autoimmune-mediated intestinal inflammation – impact and regulation of antigen specific CD8+ T cells. *Gastroenterology* **131**, 510-524.
- Westendorf,A.M., Bruder,D., Hansen,W., & Buer,J. (2006) Intestinal epithelial antigen induces CD4+ T cells with regulatory phenotype in a transgenic autoimmune mouse model. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1072**, 401-406.
- Winkelmann,S., Klar,M., Benham,C., Goetze,S., AK Prashanth, Goetze,S., Gluch,A., & Bode,J. (2006) The positive aspects of stress: Strain Initiates Domain Decondensation (SIDD). *Briefings in Functional Genomics & Proteomics* **5**, 24-31.
- Witte,F., Reifenrath,J., Müller,P.P., Crostack,H.A., Nellesen,J., Bach,F.W., Bormann,D., & Rudert,M. (2006) Cartilage repair on magnesium scaffolds used as a subchondral bone replacement. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* **37**, 504-508.
- Witzig,R., Junca,H., Hecht,H.-J., & Pieper,D.H. (2006) Assessment of toluene/biphenyl dioxygenase gene diversity in benzene-polluted soils: links between benzene biodegradation and genes similar to those encoding isopropylbenzene dioxygenases. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 3504-3514.
- Wu,J., Reinhardt,D.P., Batmunkh,C., Lindenmaier,W., Far,R.K.K., Notbohm,H., Hunzelmann,N., & Brinckmann,J. (2006) Functional diversity of lysyl hydroxylase 2 in collagen synthesis of human dermal fibroblasts. *Experimental Cell Research* **312**, 3485-3494.
- Yu,Z., Beer,C., Köster,M., & Wirth,M. (2006) Caveolin-1 interacts with the Gag precursor of murine leukaemia virus and modulates virus production. *Virology Journal* **3**, 73.
- Zeng,A.-P. & Bi,J. (2006) Cell culture kinetics and modelling. In: Cell Culture Technology for Pharmaceutical and Cellular Therapies (Ozturk,S.S. & Hu,W.-S., eds), pp. 299-347. Taylor & Francis Group, Atlanta, GA.
- Zeng,A.-P., Sun,J., Wang,W., Ma,H.-W., & Deckwer,W.-D. (2006) Application of genomic and proteomic data for bioprocess analysis and optimization. In: Bioprocessing for Value-added Products from Renewable Resources (Yang,S.T., ed), Elsevier Inc. USA.

- Zeng, A.-P. (2006) From biochemical engineering to systems biology – In honour of Dr. Wolf-Dieter Deckwer. *Process Biochemistry* (Zeng, A.-P., ed) Vol. 41, pp. 2101-2235.
- Zhang, Q., Xiu, Z.-L., & Zeng, A.-P. (2006) Optimization of microbial production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae* under anaerobic and microaerobic conditions by metabolic flux analysis. *Journal of Chemical and Industrial Engineering (China)* 57, 1403-1409.
- Zheng, P., Sun, J., van den Heuvel, J., & Zeng, A.-P. (2006) Discovery and investigation of a new, second triose phosphate isomerase in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Biotechnology* 125, 462-473.
- Zheng, P., Wereath, K., Sun, J., van den Heuvel, J., & Zeng, A.-P. (2006) Overexpression of genes of the dha regulon and its effects on cell growth, glycerol fermentation to 1,3-propanediol and plasmid stability in *Klebsiella pneumoniae*. *Process Biochemistry* 41, 2160-2169.
- Zhou, F., Bi, J., Zeng, A.-P., & Yuan, J. (2006) A macrokinetic and regulator model for myeloma cell culture based on metabolic balance of pathways. *Process Biochemistry* 41, 2207-2217.
- Dubaniewicz, A., Kampfer, S., & Singh, M. (2006) Serum anti-mycobacterial heat shock proteins antibodies in sarcoidosis and tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 86, 60-67.
- Floto, R.A., MacAry, P.A., Boname, J.M., Mien, T.S., Kampmann, B., Hair, J.R., Huey, O.S., Houben, E.N., Pieters, J., Day, C., Oehlmann, W., Singh, M., Smith, K.G., & Lehner, P.J. (2006) Dendritic cell stimulation by mycobacterial Hsp70 is mediated through CCR5. *Science* 314, 454-458.
- Franke, R., Hirsch, T., & Eichler, J. (2006) A rationally designed synthetic mimic of the discontinuous CD4 binding site of HIV-1 gp120. *Journal of Receptors and Signal Transduction* 26, 453-460.
- Hunke, C., Hirsch, T., & Eichler, J. (2006) Structure-based synthetic mimicry of discontinuous protein binding sites: inhibitors of the interaction of Mena EVH1 domain with proline-rich ligands. *ChemBioChem* 7, 1258-1264.
- Keller, B., Ohnesorg, T., Mindnich, R., Gloeckner, C.J., Breitling, R., Scharfe, M., Moeller, G., Blöcker, H., & Adamski, J. (2006) Interspecies comparison of gene structure and computational analysis of gene regulation of 17beta-hydroxy steroid dehydrogenase type 1. *Molecular and Cellular Endocrinology* 248, 168-171.
- Kovaleva, M., Bußmeyer, I., Rabel, B., Sudarman, E., Eichler, J., Conrad, U., Rose-John, S., & Scheller, J. (2006) Abrogation of vIL-6 induced signalling by intracellular retention and neutralization of vIL-6 with an anti vIL-6 single-chain antibody selected by phage display. *Journal of Virology* 80, 8510-8520.
- Kresse, A.U., Blöcker, H., & Römling, U. (2006) ISPa20 advances the individual evolution of *Pseudomonas aeruginosa* clone C subclone C13 strains isolated from cystic fibrosis patients by insertional mutagenesis and genomic rearrangements. *Archives of Microbiology* 185, 245-254.
- Leeb, T., Vogl, C., Zhu, B., de Jong, P.J., Binns, M.M., Chowdhary, B.P., Scharfe, M., Jarek, M., Nordsiek, G., Schrader, F., & Blöcker, H. (2006) A human-horse comparative map based on equine BAC end sequences. *Genomics* 87, 772-776.
- Meyer, M.H., Stehr, M., Bhuju, S., Krause, H.J., Hartmann, M., Miethe, P., Singh, M., & Keusgen, M. (2006) Magnetic biosensor for the detection of *Yersinia pestis*. *Journal of Microbiological Methods* 68(2), 218-224.
- Rachid, S., Krug, D., Kunze, B., Kochems, I., Scharfe, M., Zabriskie, T. M., Blöcker, H., & Müller, R. (2006) Molecular and biochemical studies of chondramide formation-highly cytotoxic natural products from *Chondromyces crocatus* Cm c5. *Chemistry and Biology* 13, 667-681.
- Reljic, R., Clark, S.O., Williams, A., Falero-Diaz, G., Singh, M., Challacombe, S., Marsh, P.D., & Ivanyi, J. (2006) Intranasal IFNgamma extends passive IgA antibody protection of mice against *Mycobacterium tuberculosis* lung infection. *Clinical and Experimental Immunology* 143, 467-473.
- Stehr, M., Hecht, H.-J., Jager, T., Flohé, L., & Singh, M. (2006) Structure of the inactive variant C60S of *Mycobacterium tuberculosis* thiol peroxidase. *Acta crystallographica. Section D: Biological crystallography* 62, 563-567.
- Strijowski, U., Hirsch, T., & Eichler, J. (2006) Synthesis, biochemical and structural analysis of peptides mimicking the binding site of hYAP-WW domain for proline-rich ligands. *Journal of Peptide Science* 12, 158.
- Stuhlmann-Laisz, C., Lang, S., Chalaris, A., Sudarman, E., Eichler, J., Klingmüller, U., Samuel, M., Ernst, M., Rose-John, S., & Scheller, J. (2006) Forced dimerization of gp130 leads to constitutive STAT3 activation, cytokine independent growth and blockade of differentiation of embryonic stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 17, 2986-2995.
- Tjarnlund, A., Rodriguez, A., Cardona, P.J., Guirado, E., Ivanyi, J., Singh, M., Troye-Blomberg, M., & Fernandez, C. (2006) Polymeric IgR knockout mice are more susceptible to mycobacterial infections in the respiratory tract than wild-type mice. *International immunology* 18, 807-816.



Titelbild der Zeitschrift *Proteomics*, Vol. 6 (1), 2006, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Strocchi, M.; Ferrer, M.; Timmis, K. N., und Golyshin, P. N. *Low temperature-induced systems failure in Escherichia coli: Insights from rescue by cold-adapted chaperones*. *Proteomics*. 2006. 6 (1): 193-206. Mit freundlicher Genehmigung des Verlages Wiley-VCH.

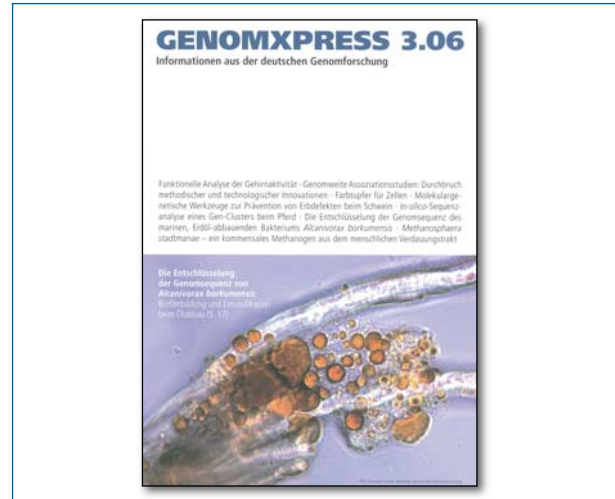
Genom- und Gesundheitsforschung – 2006

- Deyneko, I.V., Bredohl, B., Wesely, D., Kalybaeva, Y.M., Kel, A.E., Blöcker, H., & Kauer, G. (2006) Feature Scan: revealing property-dependent similarity of nucleotide sequences. *Nucleic Acids Research* 34, W591-W595.
- Deyneko, I.V., Kalybaeva, Y.M., Kel, A.E., Blöcker, H., & Kauer, G. (2006) Human-chimpanzee property-dependent comparisons on chromosomes 21. pp. 138-141. BGRS Novosibirsk.
- Dubaniewicz, A., Trzonkowski, P., Dubaniewicz-Wybieralska, M., Dubaniewicz, A., Singh, M., & Mysliwski, A. (2006) Comparative analysis of mycobacterial heat shock proteins-induced apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in sarcoidosis and tuberculosis. *Journal of Clinical Immunology* 26, 243-150.
- Dubaniewicz, A., Dubaniewicz-Wybieralska, M., Sternau, A., Zwolska, Z., Izycka-Swieszewska, E., Augustynowicz-Kopec, E., Skokowski, J., Singh, M., & Zimnoch, L. (2006) *Mycobacterium tuberculosis* complex and mycobacterial heat shock proteins in lymph node tissue from patients with pulmonary sarcoidosis. *Journal of Clinical Microbiology* 44, 3448-3451.
- Stehr, M., Hecht, H.-J., Jager, T., Flohé, L., & Singh, M. (2006) Structure of the inactive variant C60S of *Mycobacterium tuberculosis* thiol peroxidase. *Acta crystallographica. Section D: Biological crystallography* 62, 563-567.
- Strijowski, U., Hirsch, T., & Eichler, J. (2006) Synthesis, biochemical and structural analysis of peptides mimicking the binding site of hYAP-WW domain for proline-rich ligands. *Journal of Peptide Science* 12, 158.
- Stuhlmann-Laisz, C., Lang, S., Chalaris, A., Sudarman, E., Eichler, J., Klingmüller, U., Samuel, M., Ernst, M., Rose-John, S., & Scheller, J. (2006) Forced dimerization of gp130 leads to constitutive STAT3 activation, cytokine independent growth and blockade of differentiation of embryonic stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 17, 2986-2995.
- Tjarnlund, A., Rodriguez, A., Cardona, P.J., Guirado, E., Ivanyi, J., Singh, M., Troye-Blomberg, M., & Fernandez, C. (2006) Polymeric IgR knockout mice are more susceptible to mycobacterial infections in the respiratory tract than wild-type mice. *International immunology* 18, 807-816.

- Trujillo, M., Mauri, P., Benazzi, L., Comini, M., De Palma, A., Flohé, L., Radi, R., Stehr, M., Singh, M., Ursini, F., & Jaeger, T. (2006) The mycobacterial thioredoxin peroxidase acts as a one-cysteine peroxiredoxin in the reduction of peroxynitrite. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 20555-20566.
- Vordermeier, H.M., Huygen, K., Singh, M., Hewinson, R.G., & Xing, Z. (2006) Immune responses induced in cattle by vaccination with a recombinant adenovirus expressing Mycobacterial antigen 85A and *Mycobacterium bovis* BCG. *Infection and Immunity* **74**, 1418.
- Whittall, T., Wang, Y., Younson, J., Kelly, C., Bergmeier, L., Peters, B., Singh, M., & Lehner, T. (2006) Interaction between the CCR5 chemokine receptors and microbial HSP70. *European Journal of Immunology* **36**, 2304-2314.
- Whittall, T., Wang, Y., Kelly, C.G., Thompson, R., Sanderson, J., Lomer, M., Soon, S.Y., Bergmeier, L.A., Singh, M., & Lehner, T. (2006) Tumour necrosis factor-alpha production stimulated by heat shock protein 70 and its inhibition in circulating dendritic cells and cells eluted from mucosal tissues in Crohn's disease. *Clinical and Experimental Immunology* **143**, 550-559.

Gene, Umwelt und Gesundheit – 2006

- Abraham, W.-R., Brüggemann, N., Buschbaum, C., Gutt, J., Harms, H., Hartmann, A., Henle, K., Klenke, R., Kuhn, A., Liebig, J., Lüders, T., Munch, J.C., Papen, H., Ring, I., Schlöter, M., Schurr, U., & Wissel, C. (2006) Biodiversität - im Forschungsbereich Erde und Umwelt der Helmholtz-Gemeinschaft. *Gaia* **2**.
- Abraham, W.-R. (2006) Controlling the biofilm of Gram-positive pathogenic bacteria. *Current Medicinal Chemistry* **13**, 1509-1524.
- Beloqui, A., Pita, M., Polaina, J., Martinez, A., Golyshina, O.V., Zumarraga, M., Yakimov, M.M., Garcia-Arellano, H., Alcalde, M., Fernandez, V.M., Elborough, K., Andreu, J.M., Ballesteros, A., Plou, F. J., Timmis, K.N., Ferrer, M., & Golyshin, P.N. (2006) Novel polyphenol oxidase mined from a metagenome expression library of bovine rumen: Biochemical properties, structural analysis and phylogenetic relationships. *Journal of Biological Chemistry* **281**(32), 22933-22942.
- Brettar, I., Labrenz, M., Flavier, S., Bötzel, J., Kuosa, H., Christen, R., & Höfle, M.G. (2006) Identification of a *Thiomicrospira denitrificans*-like epsilonbacterium as a catalyst for denitrification in the central Baltic sea. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 1364-1372.
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M.G. (2006) *Rheinheimeria pertucida* sp. nov., a novel marine bacterium of the Gammaproteobacteria isolated from surface water of the central Baltic Sea. *International Journal of Systematically and Evolutionary Microbiology* **56**, 2177-2183.
- Daffonchio, D., Borin, S., Brusa, T., Van der Wielen, P.W.J.J., Bolhuis, H., D'Auria, G., Yakimov, M.M., Giuliano, L., Tamburini, C., Marty, D., McGenity, T.J., Timmis, K.N., de Lange, G.J., Huebner, A., Gasparoni, F., Gerber, H., Malinverno, E., & Corselli, C. (2006) Stratified prokaryote network in the oxic-anoxic transition of a deep-sea halocline. *Nature* **440**, 203-207.
- Eichler, S., Christen, R., Höltje, C., Westphal, P., Bötzel, J., Brettar, I., Mehling, A., & Höfle, M.G. (2006) Composition and dynamics of bacterial communities of a drinking water supply system as assessed by RNA-based 16S rRNA gene fingerprinting. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 1858-1872.
- El Fantroussi, S., Agathos, S.N., Pieper, D.H., Witzig, R., Cámara, B., Gabriel-Jürgens, L., Junca, H., Zanaroli, G., Fava, F., Pérez-Jiménez, J. R., Young, L.Y., Hamonts, K., Lookman, R., Maesen, M., Diels, L., Dejonghe, W., Dijk, J., & Springael, D. (2006) Biological Assessment and Remediation of Contaminated Sediments. In NATO Science Series IV, Earth and Environmental Sciences Springer Verlag.
- Fahy, A., McGenity, T.J., Timmis, K.N. & Ball, A.S. (2006) Heterogeneous aerobic benzene-degrading communities in oxygen-depleted groundwaters. *FEMS Microbiology Ecology* **58**(2), 260-270



Titelbild der Zeitschrift GenomXpress, Vol. 3.06, 2006, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Schneiker, S.; Pühler, A.; Golyshin, P. N.; Timmis, K. N. und Martins dos Santos, V. A. P.. Die Entschlüsselung der Genomsequenz des marinen, Erdöl-abbauenden Bakteriums Alcanivorax borkumensis. GenomXpress. 2006. 3.06: 17-19. Mit freundlicher Genehmigung der Herausgeber.

- 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.
- González-Escalona, N., Fey, A., Höfle, M.G., Espejo, R.T., & Guzmán, C. A. (2006) Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction analysis of *Vibrio cholerae* cells entering the viable but non-culturable state and starvation in response to cold shock. *Environmental Microbiology* **8**, 658-666.
- 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: polygenetic analysis and potential for the production of novel secondary metabolites by heterologous expression in pseudomonads. *Archives of Microbiology* **185**, 28-38.
- Hendrickx, B., Junca, H., Vosahlova, J., Lindner, A., Rugg, I., Bucheli-Witschel, M., Faber, F., Egli, T., Mau, M., Schlomann, M., Brennerova, M., Brenner, V., Pieper, D.H., Top, E.M., Dejonghe, W., Bastiaens, L., & Springael, D. (2006) Alternative primer sets for PCR detection of genotypes involved in bacterial aerobic BTEX degradation: Distribution of the genes in BTEX degrading isolates and in subsurface soils of a BTEX contaminated industrial site. *Journal of Microbiological Methods* **64**, 250-265.
- Kegler, C., Gerth, K., & Müller, R. (2006) Establishment of a real-time PCR protocol for expression studies of secondary metabolite biosynthetic gene cluster in the G/C-rich myxobacterium *Sorangium cellulosum* So ce56. *Journal of Biotechnology* **121**, 201-212.
- Ledger, T., Pieper, D.H., & González, B. (2006) Chlorophenol hydroxylases encoded by plasmid pJP4 differentially contribute to chlorophenoxyacetic acid degradation. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 2783-2792.
- Lünsdorf, H., Kristen, I., & Barth, E. (2006) Cationic hydrous thorium dioxide colloids - a useful tool for staining negatively charged surface matrices of bacteria for use in energy-filtered transmission electron microscopy. *BMC Microbiology* **6**.
- Macedo, A.J., Kuhlicke, U., Neu, T., Timmis, K.N., & Abraham, W.-R. (2006) Functional biodiversity of complex biofilms grown on polychlorinated biphenyl oil. *Biofilms* **2**, 245-273.

- Matz,C. & Kjelleberg,S. (2006) Off the hook - how bacteria survive protozoan grazing (invited opinion). *Trends in Microbiology* **13**, 302-307.
 - Müller,R. & Gerth,K. (2006) Development of simple media which allow investigations into the global regulation of chivosazol biosynthesis with *Sorangium cellulosum* So ce56. *Journal of Biotechnology* **121**, 192-200.
 - Perlova,O., Gerth,K., Kaiser,O., Hans,A., & Müller,R. (2006) Identification and analysis of the chivosazol biosynthetic gene cluster from the myxobacterial model strain *Sorangium cellulosum* So ce546. *Journal of Biotechnology* **121**, 174-191.
 - Reineke,W., Kaschabek,S.R., & Pieper,D.H. (2006) Chlorinated hydrocarbon metabolism. In: Encyclopedia of Life Sciences, Wiley.
 - Romero-Tabarez,M., Jansen,R., Sylla,M., Lünsdorf,H., Häußler,S., Santosa,D.A., Timmis,K.N., & Molinari,G. (2006) 7-O-malonyl macrolactin A, a new macrolactin antibiotic from *Bacillus subtilis* active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and a small-colony variant of *Burkholderia cepacia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **50**, 1701-1709.
 - Sabirova,J.S., Ferrer,M., Lünsdorf,H., Wray,V., Kalscheuer,R., Steinbüchel,A., Timmis,K.N., & Golyshin,P.N. (2006) Mutation in a 'tesB-like' hydroxyacyl-Coenzyme A-specific thioesterase gene causes hyperproduction of extracellular polyhydroxyalkanoates by *Alcanivorax borkumensis* SK2. *Journal of Bacteriology* **188**, 8452-8459.
 - Sabirova,J., Ferrer,M., Regenhardt,D., Timmis,K.N., & Golyshin,P.N. (2006) Proteomic insights into metabolite adaptations in *Alcanivorax borkumensis* induced by alkane utilization. *Journal of Bacteriology* **188**, 3763-3773.
 - Schneiker,S., dos Santos,V.A.P.M., Bartels,D., Bekel,T., Brecht,M., Buhrmester,J., Chernikova,T.N., Denaro,R., Ferrer,M., Gertler,C., Goesmann,A., Golyshina,O.V., Kaminski,F., Khachane,A.N., Lang,S., Linke,B., McHardy,A.C., Meyer,F., Nechitaylo,T., Puhler,A., Regenhardt,D., Rupp,O., Sabirova,J.S., Selbitschka,W., Yakimov,M. M., Timmis,K.N., Vorholter,F.J., Weidner,S., Kaiser,O., & Golyshin,P.N. (2006) Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Nature Biotechnology* **24**, 997-1004.
 - Seibel,J., Hellmuth,H., Hofer,B., Kicinska,A.M., & Schmalbruch,B. (2006) Identification of new acceptor specificities of glycosyltransferase R with the aid of substrate microarrays. *ChemBioChem* **7**, 310-320.
 - Skillman,L.C., Evans,P.N., Strömpl,C., & Joblin,K.N. (2006) 16S rDNA directed PCR primers and detection of methanogens in the bovine rumen. *Letters of Applied Microbiology* **42**, 222-228.
 - Strocchi,M., Ferrer,M., Timmis,K.N., & Golyshin,P.N.*. (2006) Low temperature-induced systems failure in *Escherichia coli*: Insights from rescue by cold-adapted chaperones. *Proteomics* **6**, 193-206.
 - Vasilyeva,L.V., Omelchenko,M.V., Berestovskaya,Y.Y., Lysenko,A.M., Abraham,W.-R., Dedysh,S.N., & Zavarzin,G.A. (2006) *Asticcacaulis benevestidus* sp. nov., a novel psychrotolerant dimorphic prosthecate bacterium from polluted river sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56**, 2083-2088.
 - Weinbauer,M.G., Christen,R., & Höfle,M.G. (2006) The response of *Vibrio* and *Rhodobacter*-related populations of the NW Mediterranean Sea to additions of dissolved organic matter, phages, or dilution. *Microbial Ecology* **51**, 336-344.
 - Wenzel,S.C., Williamson,R.M., Grünanger,C., Xu,J., Gerth,K., Martinez,R.A., Moss,S.J., Carroll,B.J., Grond,S., Unkefer,C.J., Müller,R., & Floss,H.G. (2006) On the biosynthetic origin of methoxymalonyl-acyl carrier protein, the substrate for incorporation of "Glycolate" units into Ansamitocin and Soraphen A. *Journal of the American Chemical Society* **128**, 14325-14336.
 - Witzig,R., Junca,H., Hecht,H.-J., & Pieper,D.H. (2006) Assessment of toluene/biphenyl dioxygenase gene diversity in benzene-polluted soils: links between benzene biodegradation and genes similar to those encoding isopropylbenzene dioxygenases. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 3504-3514.
 - Zielinski,M., Kahl,S., Standfuss-Gabisch,C., Camara,B., Seeger,M., & Hofer,B. (2006) Generation of novel-substrate-accepting biphenyl dioxygenases through segmental random mutagenesis and identification of residues involved in enzyme specificity. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 2191-2199.
- ### Plattformen – 2006
- Ashour,M., Edrada,R.-A., Ebel,R., Wray,V., Wätjen,W., Padmakumar,K., Müller,W.E.G., Lin,W.H., & Proksch,P. (2006) Kahalalide derivatives from the Indian Sacoglossan mollusc *Elysia grandifolia*. *Journal of Natural Products* **69**, 1547-1553.
 - Bosch,A., Nimtz,M., & Mischnick,P. (2006) Mechanistic studies on cationic ring-opening polymerisation of cyclodextrin derivatives using various Lewis acids. *Cellulose* **13**, 493-507.
 - Bredenbruch,F., Geffers,R., Nimtz,M., Buer,J., & Häußler,S. (2006) The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal (PQS) has an iron-chelating activity. *Environmental Microbiology* **8**, 1318-1329.
 - Bruns,K., Studttrucker,N., Sharma,A., Fossen,T., Mitzner,D., Eissmann,A., Tessmer,U., Henklein,P., Wray,V., & Schubert,U. (2006) Structural characterization and oligomerization of PB1-F2, a pro-apoptotic influenza A virus protein. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 353-363.
 - Ebel,R., Rusman,Y., Brauers,G., Proksch,P., Frank,W., & Wray,V. (2006) Novel oxygenated meroterpenoids and drimane sesquiterpenoids from the sponge-derived fungus *Penicillium citreonigum*. *Planta Medica* **72**, 972.
 - Edrada,R.A., Tsevegsuren,N., Lin,W., Ebel,R., Torre,C., Ortlepp,S., Wray,V., & Proksch,P. (2006) Four new natural products from mongolian medicinal plants *Scorzonera divaricata* and *Scorzonera pseudodivaricata*. *Planta Medica* **72**, 967.
 - Edrada,R.A., Ibrahim,S., Ebel,R., Wray,V., Müller,W.E.G., & Proksch,P. (2006) New norterpene cyclic peroxides from the sponge *Diacarnus megaspinorhabdosa*. *Planta Medica* **72**, 970.
 - Fouad,M., Edrada,R.-A., Ebel,R., Wray,V., Müller,W.E.G., Lin,W.H., & Proksch,P. (2006) Cytotoxic isomalabaricane triterpenes from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata*. *Journal of Natural Products* **69**, 211-218.
 - Galeyeva,Y., Helbig,S., Morr,M., Sasse,F., Nimtz,M., Laschat,S., & Baro,A. (2006) Total synthesis and biological evaluation of (-)-pectinatone employing a methyl branched wax ester as key building block. *Chemistry and Biodiversity* **3**, 935-941.
 - Herrmann,R., Heck,M., Henklein,P., Kleuss,C., Wray,V., Hofmann,K. P., & Ernst,O.P. (2006) Rhodopsin – Transducin Coupling: Impact of the G alpha C-terminus on Nucleotide exchange catalysis. *Vision Research* **46**, 4582-4593.
 - Huang,H.H., Liu,Y.X., Hwang,T.S., Lin,C.H., Lünsdorf,H., & Chen,Y.J. (2006) Structure characterization of a tetrameric enzyme-sialic acid synthase by mass spectrometry and electron microscopy. *Molecular & Cellular Proteomics* **5**, S119-S119 491 Suppl.
 - Isayenkova,J., Wray,V., Nimtz,M., Strack,D., & Vogt,T. (2006) Cloning and functional characterisation of two regioselective flavonoid glucosyltransferases from *Beta vulgaris*. *Phytochemistry* **67**, 1598-1612.
 - Judele,R., Laschat,S., Baro,A., & Nimtz,M. (2006) Gallic esters of 4,5-dinitrocatechol as potential building blocks for thermotropic liquid crystals. *Tetrahedron* **62**, 9681-9687.
 - Langer,O., Palme,O., Wray,V., Tokuda,H., & Lang,S. (2006) Production and modification of bioactive biosurfacts. *Process Biochemistry* **41**, 2138-2145.
 - Niescher,S., Wray,V., Lang,S., Kaschabek,S.R., & Schlömann,M. (2006) Identification and structural characterisation of novel trehalose dinocardiolipids from n-alkane-grown *Rhodococcus opacus* ICP. *Applied Microbiology and Biotechnology* **70**, 605-611.

- Sabirova, J.S., Ferrer, M., Lünsdorf, H., Wray, V., Kalscheuer, R., Steinbüchel, A., Timmis, K.N., & Golyshin, P.N. (2006) Mutation in a 'tesB-like' hydroxyacyl-Coenzyme A-specific thioesterase gene causes hyperproduction of extracellular polyhydroxyalkanoates by *Alcanivorax borkumensis* SK2. *Journal of Bacteriology* **188**, 8452-8459.
- Schliemann, W., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V., Fester, T., & Strack, D. (2006) Accumulation of apocarotenoids from mycorrhizal roots of *Ornithogalum umbellatum*. *Phytochemistry* **67**, 1196-1205.
- Schliemann, W., Schneider, B., Wray, V., Schmidt, J., Nimtz, M., Porzel, A., & Böhm, H. (2006) Flavonols and an indole alkaloid skeleton bearing identical acylated glycoside groups from yellow petals of *Papaver nudicaule*. *Phytochemistry* **67**, 191-201.
- Steinke, N., Frey, W., Baro, A., Laschat, S., Drees, C., Nimtz, M., Hagele, C., & Giesselmann, F. (2006) Columnar and smectic liquid crystals based on crown ethers. *Chemistry* **12**, 1026-1035.
- Teuscher, F., Lin, W., Wray, V., Edrada, R.-A., Padmakumar, K., Proksch, P., & Ebel, R. (2006) Two new cyclopentanoids from the endophytic fungus *Aspergillus sydowii* associated with the marine alga *Acanthophora spicifera*. *Natural Product Communications* **1**, 927-933.
- Thedieck, K., Hain, T., Mohamed, W., Tindall, B., Nimtz, M., Chakraborty, T., Wehland, J., & Jansch, L. (2006) The MprF protein is required for lysinylation of phospholipids in listerial membranes and confers resistance to cationic antimicrobial peptides (CAMPs) on *Lysteria monocytogenes*. *Molecular Microbiology* **62**, 1325-1339.
- Votteler, J., Bruns, K., Henklein, P., Wray, V., & Schubert, U. (2006) Use of synthetic proteins of human immunodeficiency viruses for structural and functional analyses. In: *The Handbook of Biologically Active Peptides* pp. 1495-1504. Elsevier.
- Wang, X., Rochon, M., Lamprokostopoulou, A., Lünsdorf, H., Nimtz, M., & Römling, U. (2006) Impact of biofilm matrix components on interaction of commensal *Escherichia coli* with the gastrointestinal cell line HT-29. *Cellular and Molecular Life Sciences* **63**, 2352-2363.
- Weber, N., Watjen, W., Edrada, R.A., Wray, V., Lou, Y., Wang, Z.Q., & Proksch, P. (2006) Flavonoids from *Vigna angularis* - Composition and antioxidative effects. *Planta Medica* **72**, 976.
- Zheng, P., Sun, J., van den Heuvel, J., & Zeng, A.-P. (2006) Discovery and investigation of a new, second triose phosphate isomerase in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Biotechnology* **125**, 462-473.
- Zheng, P., Wereath, K., Sun, J., van den Heuvel, J., & Zeng, A.-P. (2006) Overexpression of genes of the dha regulon and its effects on cell growth, glycerol fermentation to 1,3-propanediol and plasmid stability in *Klebsiella pneumoniae*. *Process Biochemistry* **41**, 2160-2169.
- Fürch, T., Hollmann, R., Wang, W., Wittmann, C., & Deckwer, W.-D. (2006) Dynamische Untersuchungen zum Aminosäure-Stoffwechsel von *Bacillus megaterium* mittels stabiler Isotope. *Chemie-Ingenieur-Technik* **78**, 295-300.
- Herzog, K., Müller, R.-J., & Deckwer, W.-D. (2006) Mechanism and kinetics of the enzymatic hydrolysis of polyester nanoparticles by lipases. *Polymer Degradation and Stability* **91**, 2486-2498.
- Hollmann, R., Malten, M., Biedendieck, R., Yang, Y., Wang, W., Jahn, D., & Deckwer, W.-D. (2006) *Bacillus megaterium* als Produktionssystem für rekombinante Proteine. *Chemie-Ingenieur-Technik* **78**, 289-294.
- Hollmann, R., Malten, M., Biedendieck, R., Yang, Y., Wang, W., Jahn, D., & Deckwer, W.-D. (2006) *Bacillus megaterium* as a host for recombinant protein production. *Engineering in Life Sciences* **6**, 470-474.
- Jonas, R. & Kern, M. (2006) Aspects of the future development of agrotechnologies. In: *Perceptions on Food and Nutrition: a Contribution from DAAD Alumniseminar Held in Fortaleza* (Carioca, J.O.B., Marx, F., & Jonas, R., eds), pp. 111-131. Expressão Gráfica e Editora Ltda., Fortaleza, Brazil.
- Leonhäuser, J., Röhrich, M., Wagner-Döbler, I., & Deckwer, W.-D. (2006) Reaction engineering aspects of microbial mercury removal. *Engineering in Life Sciences* **6**, 139-148.
- Rocker, D., Hesse, F., Bader, A. & Wagner, R. (2006) Intracellular nucleotide pools and ratios as tools for monitoring dedifferentiation of primary porcine hepatocytes in culture. *Cytotechnology* **51**(3), 119-132
- Sun, J., Wang, W., Hundertmark, C., Zeng, A.-P., Jahn, D., & Deckwer, W.-D. (2006) A protein database constructed from low-coverage genomic sequence of *Bacillus megaterium* and its use for accelerated proteomic analysis. *Journal of Biotechnology* **124**, 486-495.
- Wang, W., Hollmann, R., Deckwer, W.-D. (2006) Comparative proteomic analysis of high cell density cultivations with two recombinant *Bacillus megaterium* strains for the production of a heterologous dextranase. *Proteome Science* **4**, 19
- Wang, W., Sun, J., Hollmann, R., Zeng, A.-P., & Deckwer, W.-D. (2006) Proteomic characterization of transient expression and secretion of a stress-related metalloprotease in high cell density culture of *Bacillus megaterium*. *Journal of Biotechnology* **126**(3), 313-324.
- Yang, Y., Biedendieck, R., Wang, W., Gamer, M., Malten, M., Jahn, D. & Deckwer, W.-D. (2006) High yield recombinant penicillin G amidase production and export into the growth medium using *Bacillus megaterium*. *Microbial Cell Factories* **5**, 36
- Zeng, A.-P., Sun, J., Wang, W., Ma, H.-W., & Deckwer, W.-D. (2006) Application of genomic and proteomic data for bioprocess analysis and optimization. In: *Bioprocessing for Value-added Products from Renewable Resources* (Yang, S.T., ed), Elsevier Inc. USA.

Sonstige Veröffentlichungen – 2006

- Carioca, J.O.B., Marx, F., & Jonas, R. (eds). (2006) In: *Perceptions on Food and Nutrition: a Contribution from DAAD Alumniseminar Held in Fortaleza* pp. 1-288. Expressão Gráfica e Editora Ltda., Fortaleza, Brazil.
- Deckwer, W.-D., Jahn, D., Zeng, A.-P., & Hempel, D.C. (2006) Systembiotechnologische Ansätze zur Prozessentwicklung. *Chemie-Ingenieur-Technik* **78**, 193-208.
- Dresler, K., van den Heuvel, J., Müller, R.-J., & Deckwer, W.-D. (2006) Production of a recombinant polyester-cleaving hydrolase from *Thermobifida fusca* in *Escherichia coli*. *Bioprocess and Biosystems Engineering* **29**, 169-183.
- Elsayed, E.A., Mendronho, R.A., Wagner, R., & Deckwer, W.-D. (2006) Use of hydrocyclones for mammalian cell retention in perfusion cultures. I. Separation efficiency and cell viability. *Engineering in Life Sciences* **6**, 347-354.

Veröffentlichungen 2007

Infektion und Immunität – 2007

- Baumann,F., Tolnay,M., Brabeck,C., Pahnke,J., Kloz,U., Niemann,H. H., Heikenwalder,M., Rüllicke,T., Bürkle,A., Aguzzi,A., Menche,D., Arikan,F., Li,J., & Rudolph,S. (2007) Lethal recessive myelin toxicity of prion protein lacking its central domain. *EMBO Journal* **26**, 538-547.
- 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.
- Becker,C., Lienenklaus,S., Jablonska,J., Bauer,H. & Weiss,S. (2007) CD8+ T cells armed with retrovirally transduced IFN- γ . *Journal of Molecular Medicine* **85**(1), 63-73.
- Becker,P.D. & Guzmán,C.A. (2007) Community-acquired pneumonia: paving the way towards new vaccination concepts. In Birkhäuser Advances in Infectious Diseases: Community-acquired pneumonia (Suttorp,N., Welte,T., & Marre,R., eds), pp. 201-245. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Bohn,G., Allroth,A., Brandes,G., Thiel,J., Glocker,E., Schäffer,A.A., Rathinam,C., Taub,N., Teis,D., Zeidler,C., Dewey,R.A., Geffers,R., Buer,J., Huber,L.A., Welte,K., Grimbacher,B., & Klein,C. (2007) A novel human primary immunodeficiency syndrome caused by deficiency of the endosomal adaptor protein p14. *Nature Medicine* **13**(1), 38-45.
- Chase,G., Mayer,D., Hildebrand,A., Frank,R., Hayashi,Y., Tomonaga,K., & Schwemmler,M. (2007) Bornavirus matrix protein is an integral component of the viral ribonucleoprotein complex that does not interfere with polymerase activity. *Journal of Virology* **81**, 743-749.
- Choudhury,A.R., Ju,Z., Djojusbrotto,M.W., Schienke,A., Lechel,A., Schatzlein,S., Jiang,H., Stepczynska,A., Wang,C., Buer,J., Lee,H.-W., Von Zglinicki,T., Ganser,A., Schirmacher,P., Nakauchi,H., & Rudolph,K.L. (2007) Cdkn1a deletion improves stem cell function and lifespan of mice with dysfunctional telomeres without accelerating cancer formation. *Nature Genetics* **39**(1), 99-105.
- Dror,N., Alter-Koltunoff,M., Azriel,A., Amariglio,N., Jacob-Hirsch,J., Zeligson,S., Morgenstern,A., Tamura,T., Hauser,H., Rechavi,G., Ozato,K., & Levi,B.-Z. (2007) Identification of IRF-8 and IRF-1 target genes in activated macrophages. *Molecular Immunology* **44**(4), 338-346.
- Ebensen,T., Schulze,K., Riese,P., Link,C., Morr,M., & Guzmán,C.A. (2007) The bacterial second messenger cyclic diGMP exhibits potent adjuvant properties. *Vaccine* **25**(8), 1464-1469.
- Jablonska,J., Dittmar,K.E., Kleinke,T., Buer,J. & Weiss,S. (2007) Essential role of CCL2 in clustering of splenic ERTR-9⁺ macrophages during infection of BALB/c mice by *Listeria monocytogenes*. *Infection and Immunity* **75**(1), 462-470.
- Jordan,W.J., Eskdale,J., Boniotto,M., Rodia,M., Kellner,D., & Gallagher,G. (2007) Modulation of the human cytokine response by interferon lambda-1 (IFN- λ 1/IL-29). *Genes and Immunity* **8**, 13-20.
- Lewthwaite,J.C., Clarkin,C.E., Coates,A.R.M., Poole,S., Lawrence,R. A., Wheeler-Jones,C.P.D., Pitsillides,A.A., Singh,M. & Henderson,B. (2007) Highly homologous *Mycobacterium tuberculosis* chaperonin 60 proteins with differential CD14 dependencies stimulate cytokine production by human monocytes through cooperative activation of p38 and ERK1/2 mitogen-activated protein kinases. *International Immunopharmacology* **7**(2), 230-240.
- Ma,B., Jablonska,J., Lindenmaier,W., & Dittmar,K.E.J. (2007) Immunohistochemical study of the reticular and vascular network of mouse lymph node using vibratome sections. *Acta Histochemica* **109**(1), 15-28.
- Ma,B., Von Wasielewski,R., Lindenmaier,W., & Dittmar,K.E.J. (2007) Immunohistochemical study of the blood and lymphatic vasculature and the innervation of mouse gut and gut-associated lymphoid tissue. *Anatomia Histologia Embryologia-Journal of Veterinary Medicine Series C* **36**, 62-74.
- Olive,C., Schulze,K., Kuo Sun,H., Ebensen,T., Horváth,A., Toth,I., & Guzmán,C.A. (2007) Enhanced protection against *Streptococcus pyogenes* infection by intranasal vaccination with a dual antigen component M protein/SfbI lipid core peptide vaccine formulation. *Vaccine* **25**(10), 1789-1797.
- Osterloh,A., Kalinke,U., Weiss,S., Fleischer,B., & Breloer,M. (2007) Synergistic and differential modulation of immune responses by HSP60 and LPS. *The Journal of Biological Chemistry* **282**(7), 4669-4680.
- Rinas,U., Hoffmann,F., Betiku,E., Estape,D. & Marten,S. (2007) Inclusion body anatomy and functioning of chaperone-mediated *in vivo* inclusion body disassembly during high-level recombinant protein production in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology* **127**(2), 244-257.
- Taussig,M.J., Stoevesandt,O., Borrebaeck,C., Bradbury,A., Dübel,S., Frank,R., Gibson,T., Gold,L., Herberg,F., Hermjacob,H., Hoheisel,J., Joos,T., Konthur,Z., Landegren,U., Plückthum,A., Ueffing,M., & Uhlén,M. (2007) ProteomeBinders: Planning a european resource of affinity reagents for analysis of the human proteome. *Nature Methods* **4**, 13-17.
- Vilchez,R., Lemme,A., Thiel,V., Schulz,S., Sztajer,H., & Wagner-Döbler,I. (2007) Analysing traces of autoinducer-2 requires standardization of the *Vibrio harveyi* bioassay. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387**, 489-496.
- Yamaguchi,T., Bando,H., Mori,T., Takahashi,K., Matsumoto,H., Yasutome,M., Weich,H.A. *, & Toi,M. (2007) Overexpression of soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 in colorectal cancer: Association with progression and prognosis. *Cancer Science* **98**, 405-410.
- Zhou,F., Bi,J.X., Zeng,A.-P., & Yuan,J.Q. (2007) A macrokinetic model for myeloma cell culture based on stoichiometric balance. *Biotechnology and Applied Biochemistry* **46**, 85-95.

Infektion und Immunität – 2007 – im Druck

- Adden, N., Hoffmann, A., Gross, G., Windhagen, H., Thorey, F., & Menzel, H. (2007) Screening of photochemically grafted polymer films for compatibility with osteogenic precursor cells. *Journal of Biomaterial Science, Polymer Edition*.
- Becker, P.D., Bertot, G.M., Souss, D., Ebensen, T., Guzmán, C.A., & Grinstein, S. (2007) Intranasal vaccination with recombinant CD protein and adamantylamide dipeptide as mucosal adjuvant enhances pulmonary clearance of *Moraxella catarrhalis* in a murine experimental model. *Infection and Immunity*.
- Behnsen, J., Narang, P., Hasenberg, M., Gunzer, F., Bilitewski, U., Klippel, N., Rohde, M., Brock, M., Brakhage, A.A., & Gunzer, M. (2007) The environment dimensionality controls the interaction of phagocytes with the pathogenic fungi *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *PLoS Pathogens*.
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M.G. (2007) Genus II. *Aquiflexum* Brettar, Christen and Höfle 2004, 2339^{VP}. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Spirochaetae, Planctomycetes, Bacteroidetes*.
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M.G. (2007) Genus IV. *Belliella* Brettar, Christen and Höfle 2004, 69^{VP}. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Spirochaetae, Planctomycetes, Bacteroidetes*.
- Brettar, I., Guzmán, C.A., & Höfle, M.G. (2007) Human pathogenic micro-organisms in the marine environment – an ecological perspective. *CIESM Reports* 31.
- Da Silva, M.R., Sun, J., Ma, H., He, F., & Zeng, A.-P. (2007) Metabolic networks. In: *Biological Network Analysis* (Junker, B.H. & Schreiber, F., eds), Wiley.
- Fossen, T., Rayyan, S., Holmberg, M.H., Nimtz, M., & Andersen, O.M. (2007) Covalent anthocyanin-flavone dimer from leaves of *Oxalis triangularis*. *Phytochemistry*.
- Frank, R. (2007) Segmented solid supports: My personal addition to Merrifield's solid phase synthesis. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*.
- Gattinger, A., Höfle, M.G., Schloter, M., Embacher, A., Böhme, F., Munch, J.C., & Labrenz, M. (2007) Traditional cattle manure application determines abundance, diversity and activity of methanogenic Archaea in an arable European soil. *Environmental Microbiology*.
- Grube, A., Assmann, M., Lichte, E., Sasse, F., Pawlik, J.R., & Köck, A. (2007) New bioactive metabolites from the Caribbean sponge *Aka coralliphagum*. *Journal of Natural Products*.
- Li, Y., Bi, J., Zhou, W., Huang, Y., Sun, L., Zeng, A.-P., Ma, G., & Su, Z. (2007) Characterization of the large size aggregation of Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) formed in ultrafiltration process. *Process Biochemistry*.
- 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*.
- McMillan, D.J., Geffers, R., Buer, J., Vlamincx, B.J.M., Sriprakash, K. S., & Chhatwal, G.S. (2007) Variations in the distribution of genes encoding virulence and extracellular proteins in group A streptococcus are largely restricted to eleven genomic loci. *Microbes and Infection*.
- Menche, D., Hassfeld, J., Steinmetz, H., Huss, M., Wiczorek, H., & Sasse, F. (2007) Archazolid-7-O-beta-d-glucoopyranosid: Isolation, structural elucidation and solution conformation of a novel V-ATPase inhibitor from the myxobacterium *Cystobacter violaceus*. *European Journal of Organic Chemistry*.
- Menche, D., Hassfeld, J., Sasse, F., Huss, M., & Wiczorek, H. (2007) Design, synthesis and biological evaluation of novel analogues of archazolid: a highly potent simplified V-ATPase inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
- Nitsche-Schmitz, D.P., Rohde, M., & Chhatwal, G.S. (2007) Adhesion and invasion of streptococci in eukaryotic cells. In: *Molecular Biology of Streptococci* (Hakenbeck, R., ed), Horizon Scientific Press, Norwich, UK.
- Ramsauer, K., Farlik, M., Zupkovitz, 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 the IFN-gamma-inducible *gbp2* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Reichardt, P., Gunzer, F., & Gunzer, M. (2007) Analyzing the physico-dynamics of immune cells in a 3-D collagen matrix. *Methods in Molecular Biology*.
- Ritschel, J., Sasse, F., & Maier, M.E. (2007) Synthesis of a benzolactone collection using click chemistry. *European Journal of Organic Chemistry*.
- Schmitter, T., Pils, S., Sakk, V., Frank, R., Fischer, K.-D., & Hauck, C. R. (2007) The granulocyte receptor CEACAM3 directly associates with Vav to promote phagocytosis of human pathogens. *Journal of Immunology*.
- Wissing, J., Jansch, L., Nimtz, M., Dieterich, G., Hornberger, R., Keri, G., Wehland, J., & Daub, H. (2007) Proteomics analysis of protein kinases by target class-selective pre-fractionation and tandem mass spectrometry. *Molecular & Cellular Proteomics*.
- Zieseniss, A., Schroeder, U., Buchmeier, S., Schoenberger, C., van den Heuvel, J., Jockusch, B., & Illenberger, S. (2007) Raver1 is an integral component of muscle contractile elements. *Cell and Tissue Research*.



Titelbild der Zeitschrift *Journal of Bacteriology*, Vol. 188 (24), 2006, anlässlich der Veröffentlichung des Aufsatzes von Sabirova, J. S.; Ferrer, M.; Lünsdorf, H.; Wray, V.; Kalscheuer, R.; Steinbüchel, A.; Timmis, K. N., und Golyshin, P. N.. Mutation in a "tesB-like" hydroxyacyl-coenzyme A-specific thioesterase gene causes hyperproduction of extracellular polyhydroxyalcanoates by "*Alcanivorax borkumensis*" SK2. *Journal of Bacteriology*. 2006; 188 (24): 8452-8459. Mit freundlicher Genehmigung der American Society for Microbiology.

Genom- und Gesundheitsforschung – 2007

- Franke, R., Hirsch, T., Overwin, H. & Eichler, J. (2007) Synthetische Mimetika der CD4-Bindungsstelle von HIV-1 gp120 für das Immunogen-Design. *Angewandte Chemie* **119(8)**: 1275-1277.

Gene, Umwelt und Gesundheit – 2007

- Coulon, F., McKew, B.A., Osborn, A.M., McGenity, T.J., & Timmis, K.N. (2007) Effects of temperature and biostimulation on oil-degrading microbial communities in temperate estuarine waters. *Environmental Microbiology* **9**, 177-186.
- 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.
- Junca, H. (2007) Eight Americas: A new definition for "Americas"? *PLoS Medicine* **4**, 0194.
- Khachane, A.N., Timmis, K.N., & Martins dos Santos, V.A.P. (2007) Dynamics of reductive genome evolution in mitochondria and obligate intracellular microbes. *Molecular Biology and Evolution* **24(2)**, 449-456
- Kalscheuer, R., Stöveken, T., Malkus, U., Reichelt, U., Golyshin, P.N., Ferrer, M., Sabirova, J.S., Timmis, K.N., & Steinbüchel, A. (2007) Analysis of storage lipid accumulation in *Alcanivorax borkumensis*: Evidence for alternative triacylglycerol biosynthesis routes in bacteria. *Journal of Bacteriology* **189(3)**, 918-928.
- Lu, Y., Abraham, W.-R., & Conrad, R. (2007) Spatial variation of active microbiota in the rice rhizosphere revealed by *in situ* stable isotope probing of phospholipid fatty acids. *Environmental Microbiology* **9**, 474-481.
- McKew, B., Coulon, F., Osborn, A.M., Timmis, K.N., & McGenity, T.J. (2007) Determining the identity and roles of oil-metabolizing marine bacteria from the Thames estuary. *Environmental Microbiology UK* **9**, 165-176.

Gene, Umwelt und Gesundheit – 2007 – im Druck

- Ferrer, M., Beloqui, A., Golyshina, O.V., Plou, F.J., Chernikova, T.N., Fernández-Arrojo, L., Ghazi, I., Ballesteros, A., Elborough, K., Timmis, K.N., & Golyshin, P.N. (2007) Biochemical and structural features of a novel cyclodextrinase from cow rumen metagenome. *Biotechnology Journal*.
- Ferrer, M., Beloqui, A., & Golyshin, P.N. (2007) Metagenomics update/ Perspectives Microbial metagenomes: moving forward industrial biotechnology. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.
- Ferrer, M. & Golyshin, P.N. (2007) Rare metabolic conversions: harvesting diversity through nature. In: Handbook for Metabolic Pathway Engineering (Smolke, C., ed), CRC Press, San Diego.
- Hallsworth, J., Yakimov, M.M., Golyshin, P.N., Gillion, J., D'Auria, G., de Lima Alves F., La Cono, V., Genovese, M., McKaw, B., Hayes, S., Harris, G., Giuliano, L., & Timmis, K.N. (2007) Limits of life in MgCl₂-containing environments: Chaotrophicity defines the window. *Environmental Microbiology*.
- Martins dos Santos, V.A.P., Yakimov, M.M., Timmis, K.N., & Golyshin, P.N. (2007) Genomic insights into oil biodegradation in marine systems. In: Microbial Biodegradation: Genomics and Molecular Biology (Diaz, E., ed), Horizon Scientific Press.

- Wittich, R.-M., Busse, H.-J., Kämpfer, P., Tirola, M., Wieser, M., Macedo, A.J., & Abraham, W.-R. (2007) *Sphingobium aromaticiconvertans* sp. nov., a xenobiotic compounds degrading bacterium from polluted river sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Yakimov, M.M., Giuliano, L., Cappello, D., Denaro, R., & Golyshin, P.N. (2007) Microbial community of a hydrothermal mud vent underneath the deep-sea anoxic brine lake urania (eastern mediterranean). In: Origins of Life and Evolution of the Biospheres.

Plattformen – 2007

- Gutzeit, D., Wray, V., Winterhalter, P., & Jerz, G. (2007) Preparative isolation and purification of flavonoids and protocatechuic acid from sea buckthorn juice concentrate (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) by high-speed counter-current chromatography. *Chromatographia* **65(1-2)**, 1-7.
- Wei, M., Fujiki, K., Ando, E., Zhang, S., Ozaki, T., Ishiguro, H., Kondo, T., Nokihara, K., Wray, V., & Naruse, S. (2007) Identification of key residues that cause differential gallbladder response to PACAP and VIP in the guinea pig. *American Journal of Physiology -Gastrointestinal and Liver Physiology* **292(1)**, G76-G83.

Sonstige Veröffentlichungen – 2007

- Fürch, T., Hollmann, R., Wittmann, C., Wang, W., & Deckwer, W.-D. (2007) Comparative study on central metabolic fluxes of *Bacillus megaterium* strains in continuous culture using ¹³C labelled substrates. *Bioprocess and Biosystems Engineering* **30**, 47-59.

Vorträge 2005-2007

Gastvorträge am HZI

Vorträge 2005

- Ackermann, Karin, Dr.: *Bone metastasis: The crosstalk of prostate tumor cells with osteoblasts*; DKFZ. Heidelberg
- Anderluh, Gregor, Dr.: *Membrane binding processes of pore-forming toxins studied by surface plasmon resonance*; University of Ljubljana. Ljubljana, Slowenien
- Anderson, Kurt I., Dr.: *The leading edge is a lipid diffusion barrier*; Max Planck Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik, Dresden
- Baumann, Jörg, Dr.: *The interaction of virus and host: Cellular factors influencing retroviral infection and transmission*; HIV Drug Resistance Program, National Cancer Institute at Frederick. USA
- Bennett, Simon T.: *Ultra high throughput DNA sequencing for comprehensive whole genome analyses*; Firma Solexa. Essex, UK
- Berger, Imre, Dr.: *New Baculovirus expression tools for multiprotein applications*; ETH Zürich. Schweiz
- Brakhage, Axel, Prof. Dr.: *Molecular mechanisms of virulence of the fuman pathogenic fungus Aspergillus fumigatus*; Dept. Molecular and Applied Microbiology, Leibnitz Institut für Naturproduktforschung und Infektionsbiologie. Jena
- Brueck, Thomas, Dr.: *Biotechnological routes to identify and exploit bioactive secondary metabolite producers associated with marine soft coral*; Center of Excellence in Biomedical and Marine Biotechnology, Boca Raton, Florida, USA
- Craig, Benham, Prof. Dr.: *Structural transitions in stressed DNA and their roles in regulation*; University of California, Davis. Davis, USA
- Dröge, Marcus, Dr.: *The Genome Sequencer 20 System from Roche Applied Science - A Revolution in Genome Analysis*; Global Marketing Director, Roche Applied Science. Penzberg
- Edenhofer, Frank, Dr.: *Cell penetrating proteins in stem cell biology*; Universität Bonn. Bonn
- Essen, Lars-Oliver, Prof. Dr.: *DNA photolyases: A structural base for light-mediated DNA repair*; Universität Marburg. Marburg
- Gomelsky, Mark, Prof. Dr.: *Novel protein domains in bacterial sensory transduction: from sequence to biology*; University of Wyoming, Dept. of Molecular Biology. Wyoming, USA
- Grez, Manuel, Dr.: *Correction of Chronic Granulomatous Disease by Gene Therapy*; Georg-Speyer-Haus. Frankfurt
- Grosse-Hovest, Ludger, Dr.: *T lymphocytes to melanoma cells*; Institut für Zellbiologie, Abt. für Immunologie, Eberhard Karls Universität. Tübingen
- Hauck, Christof, Dr.: *Exploitation of cell adhesion molecules by bacterial pathogens*; Zentrum für Infektionsforschung an der Universität Würzburg. Würzburg
- Heidtke, Karsten R., Dr.: *Data analysis*; Bioinformatics - Deutsches Zentrum für Genomforschung. Berlin
- Häupl, Thomas, Dr.: *Lost and Found: Secrets of Inflammation in Floods of Expression Data*; Charité Universitätsklinikum. Berlin
- Hövelmeyer, Nadine: *Targeted mutation of the NFκB deubiquitinating enzyme CYLD leads to major immunological deficiencies*; Universität Köln. Köln
- Just, Lothar, Dr.: *The intestinal stem cell compartment: Analysis of neural and epithelial progenitor in the gut*; Universität Tübingen. Tübingen
- Kempermann, Gerd, Dr.: *Adult neurogenesis: neuronal development under the conditions of the adult brain*; Forschungsgruppe "Neurogene Permissivität" der Volkswagenstiftung, Abt. Experimentelle Neurologie, Charité Universitätsmedizin Berlin und Arbeitsgruppe "Neuronale Stammzellen" des MDC für Molekulare Medizin. Berlin
- Kiefer, Friedemann, Dr.: *Endothelioma cells: A model for embryonic and proliferating endothelium*; Max-Planck-Institut für Zellbiologie. Münster
- Kloer, Daniel: *Retinal biosynthesis in eubacteria: the crystal structure of apocarotenoid-15,15'-oxygenase from Synechocystis*; Universität Freiburg. Freiburg
- Klugewitz, Katja, Dr.: *LSEC (liver sinusoidal endothelial cells) promote transmigration of CD4+ T-cells by efficient surface presentation of chemokines*; Charité, Berlin
- Klump, Hannes, Dr.: *Converting Embryonic Stem Cells into Blood - HOXB4 mediate Stem Cell Tuning*; Abt. für Hämatologie und Onkologie, MHH. Hannover
- Kracht, Michael, Prof. Dr.: *Effector mechanisms that translate inflammatory signalling into gene regulatory responses*; MHH. Hannover
- Kretschmer, Karsten, Dr.: *Inducing and expanding CD25+Foxp3+ regulatory T cells by foreign antigen*; Boston, USA.
- Kriete, Andreas, Prof. Dr.: *Systems Biology and Animal Models*; Drexel University. Philadelphia, USA
- Lu, Mengji, PD, Dr.: *Kontrolle der Hepatitis B Virusinfektion durch Induktion spezifischer Immunantworten: Studien im Woodchuck-Modell*; Institut für Virologie, Universitätsklinikum, Essen.
- Maltsev, Valeri: *Scanning Flow Cytometry: the next generation in flow cytometry instruments*; Forschungszentrum Vector in Novosibirsk. Novosibirsk, Russland
- Martynyuk, Raisa A., Dr. and Karpenko, Larisa I., Dr.: *Advances in HIV-1 vaccine development at VECTOR*; Russian State Research Center of Virology and Biotechnology (Vector). Koltsovo/Novosibirsk
- Meyer-Hermann, Michael, Dr.: *Predictions from theory about selection mechanisms in the adaptive immune response*; Frankfurt Institute for Advanced Studies (FIAS), Johann Wolfgang Goethe Universität. Frankfurt
- Mielenz, Dirk, Dr.: *Analysis of B cell lipid rafts by 2D gel electrophoresis and mass spectrometry*; Nikolaus-Fiebiger-Zentrum. Erlangen
- Multhaupt, Gerd, Prof. Dr.: *Copper in Alzheimer's disease, what do we really know?*; Institut für Chemie - Biochemie, Freie Universität Berlin. Berlin

- Nagel, Stefan, Dr.: *The BCL11B regulatory oasis and leukemia: Ectopic activation of homeobox genes by a conserved non-coding region*; DSMZ. Braunschweig
 - Nitschke, Lars: *CD22: a negative regulator of B cell activation*; Institut für Genetik, Universität Erlangen. Nürnberg
 - Panet, Amos, Dr.: *Virus tropism in solid tissues and application to the delivery of therapeutic proteins*; The Hebrew University. Jerusalem, Israel
 - Pawelec, Graham, Prof. Dr.: *Is immunosenescence infectious?*; Universität Tübingen. Tübingen
 - Riedl, Petra, Dr.: *Oligonucleotide-cationic peptide complexes: a novel adjuvant system for CD8+ T cell priming*; Universität Ulm, Molekulare Infektionsimmunologie. Ulm
 - Rudolph, Lenhard, PD Dr.: *Senescence and DNA damage responses during aging, regeneration and carcinogenesis*; MHH, Abt. Gastroenterologie. Hannover
 - Schubert, Mario, Dr.: *Studies of RNases and glycosidases using NMR spectroscopy and X-ray crystallography as complementary techniques*; ETH Zürich. Zürich, Schweiz
 - Schubert, Ulrich, Prof. Dr.: *The role of the ubiquitin-proteasome-system in HIV replication: potential targets for anti-retroviral therapy*; Institut für klinische und molekulare Virologie, Universität Erlangen.
 - Schwanbeck, Ralf, Dr.: *Investigation of Chromatin Proteins by Hydroxyl Radical Footprinting*; NCI, National Institutes of Health. Bethesda, Maryland/USA
 - Steiniger, Birte, Prof. Dr.: *Microanatomy and function of the spleen*; Institut für Anatomie und Zellbiologie, Universität Marburg.
 - Sühnel, Jürgen: *Neue Einsichten in die Struktur von Proteinen durch Methoden der Strukturbiologie*; Institut für Molekulare Biotechnologie, Zentrum für Bioinformatik. Jena
 - Süssmuth, Roderich, Prof. Dr.: *Investigations on structure, biosynthesis and mode of action of antibiotic natural products*; Technische Universität Berlin, Institut für Chemie. Berlin
 - Tan, Tianwei, Prof. Dr.: *Production of chemicals from bioconversion*; Key Lab of Bioprocess of Beijing and College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology. Beijing, China
 - Verhoeven, Els, Dr.: *Lentiviral vectors displaying "early acting cytokines" for selective gene transfer of hematopoietic stem cells: evaluation in a rhesus macaque pre-clinical AIDS model*; Ecole Normal Supérieure de Lyon (ENS). Lyon, Frankreich
 - Vingron, Martin, Prof. Dr.: *Computational Methods in Gene Expression and Gene Regulation*; MPI für Molekulare Genetik. Berlin
 - Walker, Mark, Prof. Dr.: *The biological consequences of plasminogen - streptococcal interaction*; University of Wollongong, Australien
 - Wood, Keith, Dr.: *Engineering novel light-emitting probes for biochemical and cellular analysis*; Promega Corporation. Madison, USA
 - Zawatzky, Rainer, Dr.: *The growing family of interferon-induced genes: isolation and initial characterization of new members*; DKFZ. Heidelberg
 - Zhou, Weichang, Ph.D.: *Integrating Process Development Activities with Product Quality Assessment for Large-scale Manufacturing of Monoclonal Antibodies*; Process Sciences and Engineering, Protein Design Labs, Inc. Fremont, California/USA
- ### Vorträge 2006
- Becker, Regina, Dr.: *Neuigkeiten zum 7. Forschungsrahmenprogramm der EU*; Helmholtz-Büro. Brüssel, Belgien
 - Beigier-Beompadre, Macarena, Dr.: *Toll like receptors in the human immune response against Mycobacterium tuberculosis*; Institut für Klinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene Friedrich-Alexander Universität Erlangen, Nürnberg
 - Benuit, Martin, Dr.: *How strong is a single cell adhesion molecule and how sticky are cells? Forces measured by Atomic Force Microscopy*; Institut für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität. München,
 - Blaut, Michael, Prof. Dr.: *Influence of intestinal bacteria on bio-availability of dietary lignans*; Deutsches Institut für Ernährungsfor-schung, Abt. Gastrointestinale Mikrobiologie. Potsdam – Rehbrücke
 - Bogdan, Christian, Prof. Dr.: *The innate immune response to/ Leishmania/parasites: The role of type I interferons and toll-like receptors*; Universitätsklinikum Freiburg. Freiburg
 - Braus, Gerhard, Prof. Dr.: *Fungal Models for Infection and Disease*; Georg-August-Universität, Abt. für Molekulare Mikrobiologie. Göttingen
 - Bulyk, Martha L., Prof. Dr.: *Genomic analysis of transcription factors and cis regulatory elements*; Division of Genetics, Dept. of Medicine, Dept. of Pathology, Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology, Brigham & Women's Hospital and Harvard Medical School. Boston, USA
 - Cleary, Patrick, Prof. Dr.: *Disruption of the tonsil reservoir: Will vaccines eliminate serious complications associated with group A streptococcal infections?*; University of Minnesota. USA
 - Collins, Mary, Prof. Dr.: *Lentiviral vectors for gene therapy*; University College London. London, UK
 - Dehio, Christoph, Prof. Dr.: *Role of type IV secretion in bacterial pathogenesis: the Bartonella paradigm*; Biocenter Basel. Schweiz
 - Dersch, Petra, Prof. Dr.: *Enteropathogenic Yersinia: Internalization into humn cells and beyond*; Institut für Mikrobiologie, TU Braunschweig
 - Dittmar, Ulf, Dr.: *Regulatory T cells in chronic retroviral infection*; Universitätskrankenhaus. Essen
 - Fackler, Oliver, Dr.: *Modulation of actin dynamics by the HIV-1 pathogenicity factor Nef*; Hygiene Institut des Universitätsklinikum Heidelberg, Abteilung Virologie. Heidelberg
 - Haas, Hubertus: *The role of siderophores in iron metabolism and virulence of Aspergillus*; Abt. für Molekulare Mikrobiologie, Medizinische Universität. Innsbruck, Österreich
 - Hamacher, Kay, Dr.: *Reduced Molecular Models - Increased System Knowledge*; Center for Theoretical Biological Physics, University of California at San Diego. La Jolla, USA
 - Heil, Matthias, Dr.: *Cellular and Molecular Pathways of Arteriogenesis*; Max-Planck-Institut für physiologische und klinische Forschung. Bad Nauheim
 - Hufton, Andrew, Dr.: *A genomic view of Xenopus organizer function*; Stanford University, Dept. of Genetics. Stanford, UK
 - Jacobs, Thomas, Dr.: *New strategies to induce protective CD8+ T cells in a murine model of malaria*; Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin. Hamburg
 - Jores, Jörg, Dr.: *MLST_Analysis of enterohemorrhagic (EHEC) and enteropathogenic (EPEC) E. coli*; International Livestock Research Institute (ILRI). Nairobi, Kenia

- Keil, Günther, Dr.: *Furin processed viral glycoproteins as transporters or carriers for biologically active proteins: a new protein expression approach*; Friedrich Löffler Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Greifswald
- Klausdeinken, Franz-Josef, Dr.: *Influence of Phytoestrogens on Animal Models with focus on the Immune System*; Harlan Winkelmann.
- Koch, Ina, Prof. Dr.: *Bioinformatics approaches for qualitative modelling in systems biology*; Bioinformatik, TFH Berlin
- Koop, Ronald, Dr.: *Discovery in the living organism – bioluminescence and fluorescence in vivo imaging*; Xenogen Corporation. Hopkinton, USA
- Kuttler, Christina, Dr.: *Modelling of Cell-Cell Communication in Gram-negative Bacteria*; Institut für Biomathematik und Biometrie, GSF. Neuherberg
- Levi, Ben-Zion, Prof. Dr.: *IRF-8, a master regulator of macrophage activity: Pathogen elimination and tumor suppression*; Technion-Israel Institute of Technology. Haifa, Israel
- Lohoff, Michael, Prof. Dr.: *The role of IRF's for T helper cell differentiation*; Philipps-Universität Marburg. Marburg
- Luers, Thorsten, Dr.: *Towards a Molecular Understanding of Amyloidosis: 3D Structures of Prions Proteins and Alzheimer Fibrils*; The Salk Institute, Structural Biology Lab. La Jolla, USA
- Lynch, Nick, Dr.: *More harm than good? The lectin pathway of complement activation*; Dept. of Infection, Immunity and Inflammation of the University of Leicester. Leicester, UK
- Malek, Nisar, Dr.: *Control of cell cycle progression and tissue homeostasis by p27kip1 and cyclin E*; Abt. für Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, MHH. Hannover
- Manz, Rudi, Dr.: *Plasma cell differentiation and homeostasis*; Deutsches Rheumaforschungszentrum. Berlin
- Maruyama, Mitsuo, Dr.: *Zizimin2, a novel Cd42 guanine nucleotide exchange factor (GEF) in Lymphoid lineage*; National Center for Geriatrics and Gerontology. Tsukuba, Japan
- Meinzinger, Stefan, Dr.: *Amaxa Nucleofection technology*; Amaxa GmbH. Braunschweig
- Messerle, Martin, Prof. Dr.: *Genetic strategies for the characterization of cytomegalovirus immuno-modulatory functions*; Abt. Molekulare Virologie, MHH. Hannover
- Miyazaki, Tadaaki, Dr.: *Apoptosis signal in T and B cells*; National Center for Geriatrics and Gerontology. Tsukuba, Japan
- Montagutelli, Xavier, Dr.: *Interspecific recombinant congenic strains as a tool to analyze traits of complex genetic determinism*; Pasteur Institute. Paris, Frankreich
- Mulaa, Francis: *Plasmodium falciparum 4-methyl-5-beta-hydroxy-ethylthiazole kinase as a drug target*; Department of Biochemistry, University of Nairobi. Nairobi, Kenia
- Neuhaus, Klaus, Dr.: *EHEC and environmental organisms – monitoring of relevant genes by lux fusions*; TU München. München
- Nielsen, Lars K., Prof. Dr.: *True and pseudo-stochastic behaviour in haematopoiesis – when does noise reflect a significant biological feature as opposed to reflecting a poor model or poor measurements?*; Dept. of Chemical Engineering, University of Queensland. Queensland, Australien
- Niessing, Dierk, Dr.: *Yeast ASH1 mRNA transport as model system for eukaryotic mRNP translocation*; GSF, München.
- Pietschmann, Thomas, Dr.: *The level of CD81 cell surface expression is a key determinant for productive entry of Hepatitis C Virus into host cells*; Ruprecht-Karls-Universität, Abt. Molekulare Virologie. Heidelberg
- Prangishvili, David, Prof. Dr.: *A mysterious world of archaeal viruses*; Institute Pasteur. Paris, Frankreich
- Rademann, Jörg, Prof. Dr.: *A synthetic rhamnolipid library for the stimulation of the innate immune system*; Institut für Molekulare Pharmakologie, FU Berlin. Berlin
- Ritter, Christiane, Dr.: *Determination of the structural basis for infectivity and regulation of the [Het-s] prion*; Structural Biology Laboratory, The Salk Institute. La Jolla, USA
- Rottenberg, Martin, Prof. Dr.: *Interferon-gamma and regulation of immune defense against infections*; Karolinska Institute. Stockholm, Schweden
- Rudolph, Cornelia, Dr.: *Die Bedeutung der chromosomalen Instabilität in hämatologischen Neoplasien – Ergebnisse aus murinen in vitro- und in vivo-Modellen*; MHH. Hannover
- Schaper, Fred, Prof. Dr.: *Mechanisms for regulating IL-6-type cytokine signalling*; Abt. für Biochemie, RWTH Aachen. Aachen
- Scheu, Stefanie, Dr.: *Activation of the integrated stress response during T helper cell differentiation and the type I interferon response/ in vivo: an IFN β reporter mouse model*; Institut für Medizinische Mikrobiologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Düsseldorf
- Schröder, Martina, Dr.: *Vaccinia virus antagonists of toll-like receptor signalling*; School of Biochemistry and Immunology, Trinity College Dublin. Dublin, Irland
- Schüler, Herwig, Dr.: *Actin based motility of the Malaria parasite*; Max-Delbrück-Zentrum. Berlin
- Schweizer, Herbert, Prof. Dr.: *Afflux-mediated drug resistance in bacteria: implications for therapy and drug discovery*; Colorado State University, Dept. of Microbiology, Immunology and Pathology. Fort Collins, USA
- Schwienhorst, Andreas, PD Dr.: *Selective targeting of proteins - from biochemical tools to drug candidates*; Institut für Mikrobiologie und Genetik, Universität Göttingen. Göttingen
- Sleeman, Jonathan, PD Dr.: *The relationship between tumors and the lymphatic system: consequences for metastasis*; Forschungszentrum Karlsruhe, Institut für Toxikologie und Genetik. Karlsruhe
- Sorg, Isabel, Dr.: *Needle length control in the Yersinia type III secretion system*; Universität Basel. Basel, Schweiz
- Stülke, Jörg, Prof. Dr.: *Carbon metabolism in Mycoplasma pneumoniae – regulation and relation to pathogenicity*; Institut für Mikrobiologie und Genetik, Universität Göttingen. Göttingen
- Takeuchi, Yasuhiro, Dr.: *Porcine endogenous retroviruses as potential risk in xenotransplantation*; University College London. London, UK
- Tylzanowski, Przemko, Dr.: *When too little is too much – BMP signaling in developing limb*; Universität Leiden. Holland
- Uetz, Peter, Dr.: *Protein interaction maps in viruses and bacteria*; Institut für Genetik, FZ Karlsruhe. Karlsruhe
- Van Ham, Marco, Dr.: *Microtubule plus-end-tracking proteins and their role in cell migration*; Dept. of Cell Biology and Genetics at the Erasmus Medical Centre. Rotterdam, Holland
- Wang, Beinan, Dr.: *TGF β 1 upregulates group A streptococcal invasion of mammalian cells*; University of Minnesota. USA

- Weber, Friedemann, PD Dr.: *Inhibition of interferon induction by SARS - Coronavirus and bunyaviruses*; Abt. für Virologie, Universität Freiburg. Freiburg
- Wenzel, Wolfgang, Dr.: *Biomolecular structure prediction with stochastic optimization methods*; Forschungszentrum Karlsruhe, Inst. für Nanotechnologie. Karlsruhe
- Wolff, Thorsten, PD Dr.: *Influenza virus: Virulence and host range factors of a devious pathogen*; Robert-Koch-Institut. Berlin
- Graef, Ralph, Prof. Dr.: *Functional Analysis of Dynein-Associated Centrosomal Proteins in Dictyostelium*; Universität Potsdam.
- Hildebrandt, Jan-Peter, Prof. Dr.: *Signaltransduktion in Epithelzellen – Steuerung von Sekretion und Zellproliferation*; Zoologisches Institut der Universität Greifswald. Greifswald
- Penninger, Josef, Prof. Dr.: *Learning from SARS infections – ACE2 family proteins*; Institut für Molekulare Biotechnologie. Wien, Österreich

Vorträge 2007

- Brown, Eric, Prof. Dr.: *Screening in academe: it's a small molecule world*; McMaster University. Ontario, Kanada.
- Feldmeier, Hermann, Prof. Dr.: *Pyoderma, group A streptococci and parasitic skin diseases – a dangerous relationship*; Institute of Microbiology and Hygiene, Charité, Berlin.
- Frank, Johannes. *Mapping temporally varying quantitative trait loci in time – to failure experiments*; Pennsylvania State University, USA
- Pruzzo, Carla , Prof. Dr.: *Vibrio cholerae survival in the environment and link with human infection*; University of Genova. Genua, Italien.
- Ruland, Jürgen, Dr.: *Signal Specific Activation of NF-kappaB in Immunity and Lymphomagenesis*; TU München. München
- Thery, Manuel: *Microfabrication techniques and theoretical physics bring insight into the relationship between cell adhesion to the internal organisation of actin and microtubule networks*; Laboratoire Bipuces at CEA Grenoble. Grenoble, Frankreich

Impressionen vom HZI-Campus



Foto: Radde



Foto: HZI, Bierstedt



Foto: HZI, Bierstedt



Foto: HZI, Jonas



Foto: Radde



Foto: HZI, Jonas



Abbildungen auf diesen Seiten, von links nach rechts: Teilnehmer des InWEnt-GBF-Kurses 2005 und weitere Gäste während der offiziellen Freigabe des virtuellen ASEAN-South American-German Biotechnetwork auf der Biotechnica 2005 in Hannover | Die Fahnen des HZI am neuen Eingang des Zentrums | Eine Luftbildaufnahme des HZI-Geländes (2005) |

Fotos: HZI, Jonas (li) | HZI, Bierstedt (mi) | HZI, Hans (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 „Gesellschaft 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. Seitdem 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 2006 50,3 Mio €, wovon über 75%, 39,0 Mio €, in das Programm „Infektion und Immunität“ investiert wurden.

Drittmittel Einwerbung Mehr als 70% der Drittmittel kamen aus nationalen F&E-Programmen. Etwa 12% der Drittmittel konnten aus EU-Programmen eingeworben werden, während aus der Industrie 14% kamen.

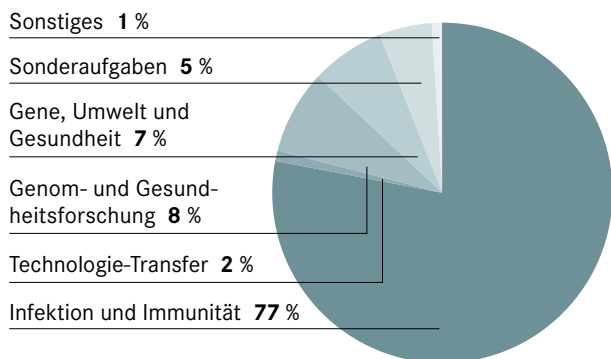
Kosten nach Programmen (in T€)

Forschungsbereich	Programm	Vollkosten
Gesundheit	Infektion und Immunität	39 024
	Genom- und Gesundheitsforschung	4 025
Umwelt und Gesundheit	Gene, Umwelt und Gesundheit	3 326
Technologie-Transfer		998
Sonderaufgaben		2 450
Sonstiges		481
Gesamtsumme		50 304

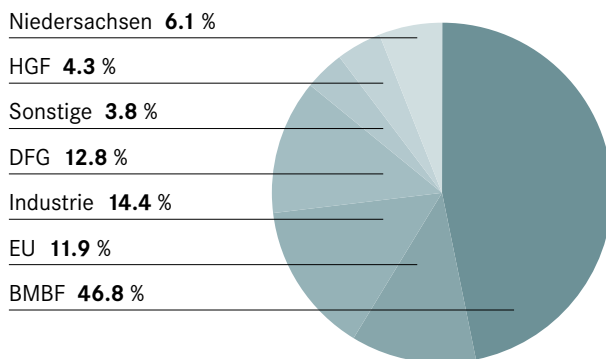
Drittmittelfinanzierung (in T€)

Herkunft	Summe
BMBF	6 579.56
DFG	1 797.97
EU	1 668.29
Industrie	2 017.83
HGF	607.44
Niedersachsen	856.46
Sonstige	530.18
Gesamtsumme	14 057.75

Vollkosten 2006



Drittmittelfinanzierung 2006 – nach Herkunft



Patente / Lizenzen Im Jahr 2006 wurden 6 Patente angemeldet. Fünf dieser Patentanmeldungen kamen aus dem Bereich „Gesundheitsforschung“, die andere aus der „Umweltforschung“.

Patente und Lizenzen, Berichtsjahr 2006

	Insgesamt	Inland	Ausland
Prioritätsbegündete Anmeldungen (2006)	6	0	6
Bestand der lebenden Patentfamilien	80	46	34
Erteilte Patente (2006)	8	2	6
Gesamtbestand erteilter Patente u. lebender Patentfamilien	173	16	157
Lizenzvereinbarungen, Gesamtbestand	161	7	154
Lizeneinnahmen* (in T€)	756	275	481

* 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 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 Forschungsgemeinschaft)	
SFB 431	Membranproteine
SFB 566	Zytokinrezeptoren
SFB 578	Vom Genom zum Produkt
SFB 587	Lungenimmunität
SFB 599	Dauerimplantate
SFB 621	Pathobiologie der Darmmucosa
SSP 1069	Mausmodell von Preeclampsia
SSP 1087	Selenproteine
SSP 1089	Neue Impfstrategien
SSP 1150	Signalwege zu Zytoskelett und bakterieller Pathogenität
SSP 1160	Kolonisierung und Infektion durch humanpathogene Pilze
FOR 119	Leberzellkarzinom
FOR 471	Zelldifferenzierung
FOR 629	Antikörper und Proteinanalyse

NGFN II (Nationales Genom-Forschungsnetzwerk)	
Netzwerk	Infektion und Entzündung
Netzwerk	Ökologische Genomforschung
SMP	Tiersäuger Modelle
SMP	Proteine
SMP	DNA
SMP	Zellen
EP	Antikörperfabrik

Genomic (Nationales Netzwerk für Mikroorganismen)	
<i>Sorangium cellulosum</i>	<i>Alcanivorax borkumensis</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Bordatella</i>	Metagenom von Biofilmen

EU Rahmenprogramme	
Ernährung (Food)	Gesundes Wasser (Healthy Water)
GCE	BIOTOOL
GCE	Marine Genome (Marine Genomics)
INCO	ASSIST
LSH	Genostem
LSH	AVIP
LSH	EPI-VECTOR
LSH	FPLFLEX
LSH	EUROPATHOGENOMICS
LSH	MUGEN
LSH	Neue Mittel gegen TB (New TB Drugs)
LSH	CASIMIR
LSH	Fastest TB
LSH	EUMODIC
LSH	Clinigene
NEST	PROBACTYS
NEST	EMERGENCE
NEST	MAMOCELL
NMP	BIOMERCURY
Marie Curie HR	BIOSAP
Marie Curie EST	MIDITRAIN
Marie Curie RTN	IMDEMI
QLK	STEMGENOS
QLK	EUMORPHIA
QLK	TSE-SOIL-FATE
RICA	ProteomeBinders
SP	PANFLUVAC

Graduiertenkollegs	
Int. Doktorandenprogramm	“Infektionsbiologie”
Marie Curie Graduiertenkolleg	“MIDITRAIN”
Int. Graduiertenkolleg	“Molekularkomplexe”
DFG-Graduiertenkolleg GRK 653	“Pseudomonas”
DFG-Graduiertenkolleg GRK 705	“Charakterisierung von Patho-Physiologischen Tiermodellen”
DFG-Graduiertenkolleg GRK 1273	“Chronische Infektionen”

Quantitative Parameter	Art	2004	2005	2006
Veröffentlichungen	Veröffentlichungen in ISI-registrierten Zeitschriften	184	225	247
	Aufsätze, Peer-reviewed, in nicht-ISI-Zeitschriften	3	1	7
	Bücher, sonstige Veröffentlichungen	21/14	30/5	18/3
	Gesamtzahl	222	262	275
	Habilitationen	1	0	0
	Dissertationen	33	21	15
Berufungen (W2/W3)	Berufungen an Universitäten	0	3	4
	Spezielle DFG-SFBs, Transregios	4	6	6
DFG-Programme	DFG-Schwerpunkte	4	5	5
	Graduiertenkollegs	3	3	3
	Gesamtzahl	11	14	14
Gastwissenschaftler		93	109	132

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 Ausgründung 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. und beteiligt sich aktiv in der BioRegion GmbH und dem BioProfil „Funktionelle Genomanalyse“.

Der HZI-Biotech Campus Im Jahr 2006 begann das HZI mit dem Bau eines zweiten größeren Maushauses. Es wird im Jahr 2008 fertig gestellt werden (s.a. unter Fokus).

Technologieverwertung Seit 2002 bietet die *Ascension GmbH* ihre Dienste in erster Linie den vier HGF-Zentren 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 4. Mal organisierte die Firma OMNILAB eine kleine Biotech-Messe mit Symposium am 14. 9.2006 im GBF-FORUM. Über 60 Aussteller zeigten ihre Produkte und mehr als 500 Besucher aus der Region Braunschweig – Hannover – Magdeburg waren anwesend. Parallel dazu wurden mehrere Vorträge zu hochaktuellen F&E-Themen angeboten.



Ein Blick auf das Geschehen während der von OMNILAB organisierten Biotech-Messe im HZI-FORUM im September 2006 Photo: OMNILAB

ASAG-BioTech-Netzwerk Das HZI in Zusammenarbeit mit InWent, Paul Charlton Coaching und dem Niedersächsischen Ministerium für Wirtschaft, Arbeit und Verkehr (MWAV) hat während der BIOTECHNICA 2005 das ASEAN-South American-German Biotechnetwork (ASAG-Biotechnetwork) eine virtuelle Plattform für ein Biotechnetwork lanciert. Im Oktober und November 2006 organisierte das HZI zusammen mit InWent drei Workshops zum Thema „Technologie-Transfer“ in Bangkok, Hanoi und São Paulo. Diese wurden mit Ausnahme des São Paulo-Workshops durch das MWAV finanziert.



Ehemalige Teilnehmer von InWent/HZI-Kursen und Frau Jeannie Scriven während des Workshops über Technologietransfer in Bangkok, Oktober 2006 Photo: HZI, Jonas

**Liste der auf dem HZI-Gelände ansässigen Firmen
und Speziallabore, Status: 31.03.2007**

Firma	Kontaktperson	Telefon/Fax	E-Mail	Internet
Ascenion	Dr. Sabina Heim Tina Damm	0531-6181-2090/-2091 Fax -2098	heim@ascenion.de damm@ascenion.de	www.ascenion.de
AIMS Scientific Products GmbH	Dr. Norbert Zander Fr. Dobberphul	0531-8760-4940 Fax -4949	cdo@aims-sci.de	www.aims-sci.com
Airport-Hopper	Martin Rolfes	0531-612121; Fax -610846		
AMODIA Bioservice GmbH	Drs. Sabine Peters U. Krause F. Schwieger	0531-260-1764; Fax -1766	info@amodia.de	www.amodia.com
Cosmix molecular biologicals GmbH	Dr. Thomas Wagner Ute Heidrich (Secr.)	0531-12086-0; Fax -99	info@cosmix.de	www.cosmix.de
Forschungsgruppe Wundheilung der TU Braunschweig	Prof. Dr. Peter Mühlradt	0531-121795-4; Fax -8		www.malp-research.de
Glyco Thera GbR	Dr. Harald Conradt Dr. Eckart Grabenhorst	0531-12058-0; Fax -21	conradt.harald@glycothera.de grabenhorst@glycothera.de	www.glycothera.de
Hartmann Analytic GmbH	Dr. Ursula Hartmann	0531-26028-0; Fax -28	hartmann@hartmann-analytic.de	www.hartmann-analytic.de
IBA Biologics HmbH	Dr. J. Bertram Dr. Bernd Müller	0551-50672-118 0163-5067218	bertram@iba-go.com	
Lionex GmbH	Dr. Ralf Spallek Dr. Eva Gebhardt-Singh	0531-260-1266; Fax -1159	msi@lionex.de	www.lionex.de
RELIATech GmbH	Dr. Bernhard Barleon	0531-260-1831; Fax -1833	info@reliatech.de	www.reliatech.de
Schwarz, Peggy Ingenieurbüro	Peggy Schwarz Bärbel Fritz	0531-866-7003; Fax -8627	uwepschwarz@aol.com	www.reliatech.de
BIOS – Biotechnologisches Schülerlabor	Dr. Iris Eisenbeiser Arntraut Meyer	0531-6181-1900	bios.lab@helmholtz-hzi.de	www.reliatech.de

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. Sonderzeiten können nach Vereinbarung zusätzlich gebucht werden. Im Kindergarten wurden seit 2005 im Schnitt jährlich drei Kinder betreut.

Beruflicher Wiedereinstieg für WissenschaftlerInnen und Technische Angestellte Das Förderprogramm „Wiedereinstiegsstellen“, bisher zu 50% teilfinanziert durch den HGF-Impuls- und Vernetzungsfonds, wird zukünftig institutionell finanziert, fortgeführt. Das Programm des beruflichen Wiedereinstiegs für Wissenschaftler/-innen nach der Familienauszeit wurde erstmals 2005 eingeführt. Bis 2007 wurden im HZI insgesamt fünf Wissenschaftlerinnen und zwei Technische Angestellte im Rahmen des beruflichen Wiedereinstiegs eingestellt.

HGF-Mentorenprogramm 2007/8 Am 22. Mai 2007 ist das 3. HGF-Mentorenprogramm 2007/8 gestartet. Es soll Wissenschaftlerinnen eine bessere Basis für ein Vorwärtkommen in ihrer wissenschaftlichen Karriere bieten, insbesondere die Möglichkeit Führungspositionen zu erhalten. Dreißig Frauen nehmen am Programm teil, darunter auch drei vom HZI.

Personal Der Personalstand betrug am 31.12.2006 insgesamt 617 Personen in Voll- und Teilzeitbeschäftigung. Hinzu kamen 114 Gastwissenschaftler in verschiedenen Projekten, deren Bezahlung aus Drittmitteln außerhalb des HZI erfolgte. Insgesamt wurden Ende 2006 241 Wissenschaftler am HZI beschäftigt, einschließlich 76 Postdocs, 72 Doktoranden und 27 Ingenieuren.

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

Die Geschäftsführer des HZI im Berichtszeitraum:

Wissenschaft: Prof. Dr. Rudi Balling

Administration: Dr. Georg Frischmann



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

Photo: HZI, Gramann

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.

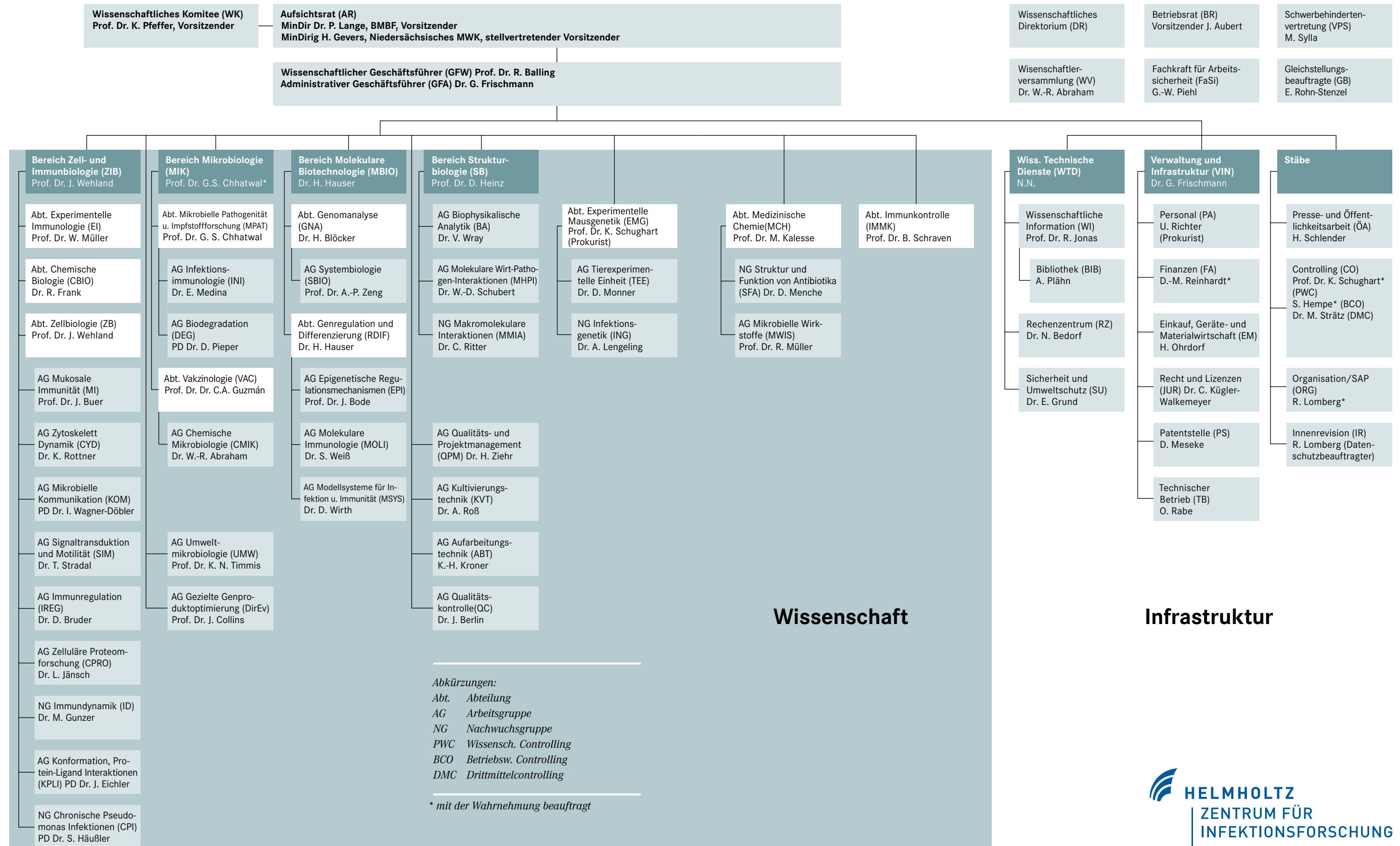
Betriebsrat Dem Betriebsrat gehören derzeit 11 Mitglieder an. Vorsitzender ist Herr John Aubert.

Gleichstellungsbeauftragte im Berichtszeitraum ist Frau Evelyn Rohn-Stenzel gewesen.

Mitglieder des Aufsichtsrats (AR) und des Wissenschaftlichen Komitees (WK), Stand: 22.05.2007

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	Bilitewski, Prof. Dr. Ursula	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	GSF – 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	Hakenberg, 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 2007



Forschungsbericht 2006/2007

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

Verantwortliche Herausgeber:
Prof. Dr. Rainer Jonas (V.i.S.d.P.) | rjo@helmholtz-hzi.de
Dipl.-Journ. Dipl.-Biol. Hannes Schlender | has@helmholtz-hzi.de

Redaktion: Prof. Dr. Klaus Schughart

Redaktionsassistentz: Monica Kirchner

Textbearbeitung: Dr. Jo Schilling

© 2007 HZI Braunschweig

Fotografien:

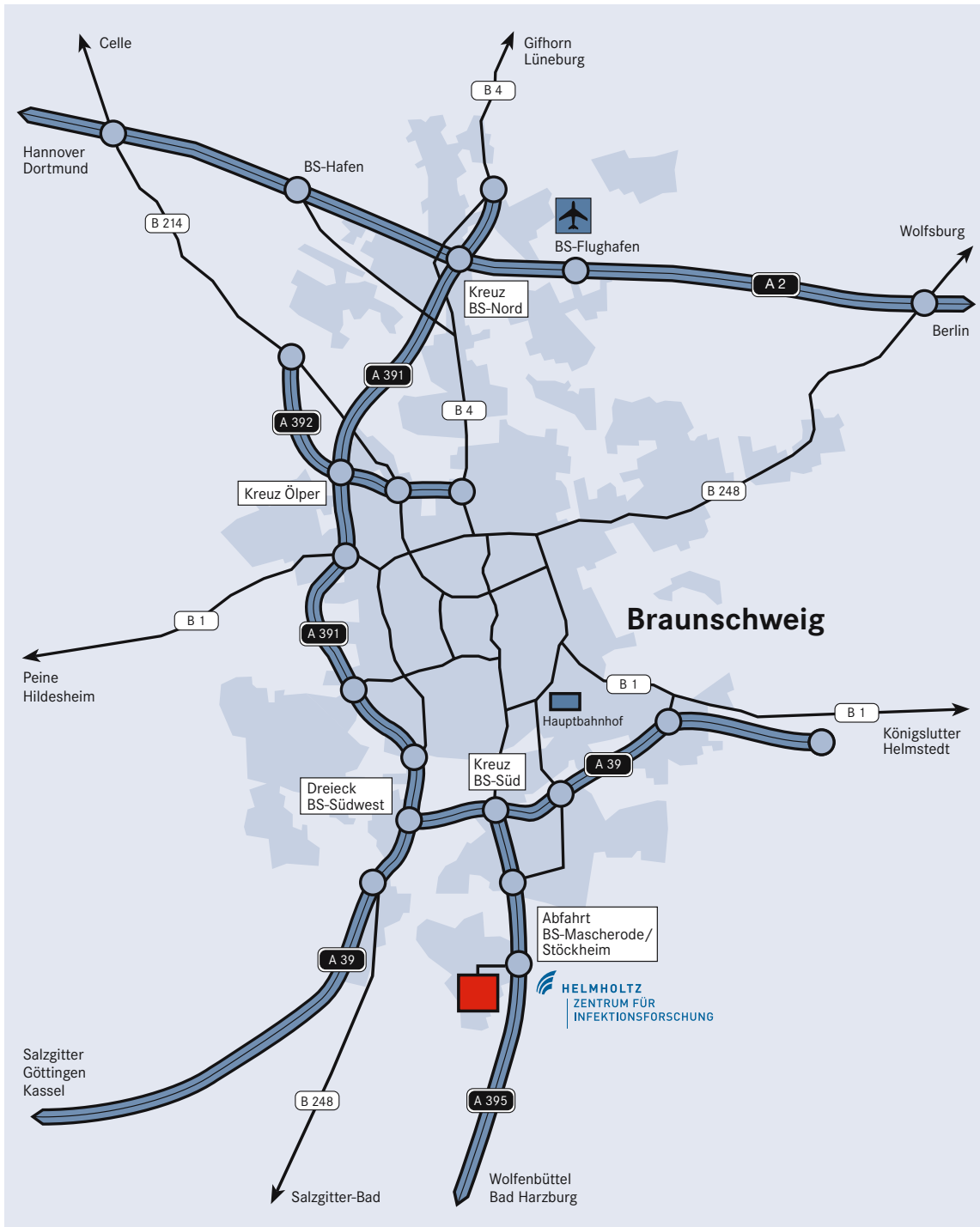
The Portraits wurden fotografiert von
Thomas Ammerpohl – Seiten: 70,78, 84
Frank Bierstedt – Seiten: 3 (alle), 21, 42 (Kalesse, Menche,
Bilitewski), 46, 62, 66, 67, 75, 79, 82, 83, 87, 89, 92, 93, 95, 96, 97,
98, 99, 100, 101, 103, 104, 106, 108, 109, 111, 144
Annick Eimer – Seite: 107
Heinz Gramann – Seiten: 5, 64, 86, 81
Dirk Hans – Seiten: 69, 74, 80
Susanne Hübner – Seiten: 86, 112
HZI Archiv – Seiten: 8, 16, 32, 42 (Frank, Gerth), 54, 59, 72, 73, 76,
77, 85, 88, 91, 94, 110
Bei allen übrigen Fotografien und Collagen wurden die Autoren
unter den Legenden genannt.

Layout und Gestaltung:

UNRUH Designbüro, Braunschweig
unruh@artmax.de | www.unruhdesign.de

Herstellung:

Döring Druck, Druckerei und Verlag GmbH, Braunschweig
Gedruckt auf chlorfrei gebleichtem Papier
ISSN 0935-0497



Lageplan des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung

ISSN 0935-0497

Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH
Inhoffenstraße 7 | D-38124 Braunschweig
www.helmholtz-hzi.de | info@helmholtz-hzi.de

