

# **Forschungsbericht 2005**

**Institut für Biochemie**



**Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg**

**Medizinische Fakultät**

## Institut für Biochemie

Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg  
Tel. +49 (0)391 67 15892, Fax +49 (0)391 67 15898  
ralf.bohnensack@medizin.uni-magdeburg.de

### 1. Leitung

Prof. Dr. rer. nat. Ralf Bohnensack

### 2. Hochschullehrer

Prof. Dr. rer. nat. Ralf Bohnensack  
Prof. Dr. rer. nat. Peter Schönfeld

### 3. Forschungsprofil

- Charakterisierung der zellulären Funktionen von SNX17, eines von uns entdeckten Sortierproteins
- Charakterisierung der Peptidmotive, durch das SNX17 Zielproteine erkennt.
- Suche nach Proteinen, die mit der cytosolischen Domäne von P-Selectin interagieren und damit potentiell Funktionen bei der intrazellulären Proteinsortierung erfüllen
- Mechanismen der Fettsäure-induzierten K<sup>+</sup>-Permeabilität an isolierten Mitochondrien
- Untersuchungen zur Mitochondrien-vermittelten Apoptose

### 4. Forschungsprojekte

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ralf Bohnensack  
**Förderer:** Haushalt; 01.01.2002 - 01.01.2006

#### **Die zellphysiologische Rolle des Proteins SNX 17**

Ziel dieses Projektes ist es, die Funktion des kürzlich neu entdeckten Proteins SNX 17 zu erforschen. Dazu sollen (i) seine intrazelluläre Verteilung studiert werden, (ii) seine Interaktionspartner im zellulären Kontext möglichst umfassend ausfindig gemacht werden, (iii) die Auswirkung seiner Funktion nach Überexpression und mit Hilfe eines geeigneten Indikatorproteins (P-Selectin) erforscht werden. Von den Ergebnissen erwarten wir uns einen Einblick in bislang unbekannte Komponenten des am sogenannten intrazellulären "Vesikel-Trafficking" beteiligten Apparates.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ralf Bohnensack  
**Förderer:** Haushalt; 01.04.2004 - 31.03.2007

#### **Internalisierung des Entzündungsmediators P-Selectin**

P-Selectin ist ein Zelladhäsionsprotein, das von Endothelzellen auf Entzündungssignale hin aus Speichervesikeln zur Zelloberfläche transportiert wird. Daraufhin können die Leukocyten der Blutbahn einen ersten Kontakt zur Gefäßwand herstellen und später in das darunterliegende

entzündete Gewebe einwandern. Von der Plasmamembran wird das P-Selectin rasch wieder durch Endocytose internalisiert. Bislang ist unklar, welche Proteine dafür verantwortlich sind. Vorversuchen ergaben, daß das Numb-Protein ein potentieller Endocytoserezeptor für das P-Selectin ist. Mit Hilfe von Überexpressionsexperimenten und knock-out-Experimenten mittels siRNA soll nun in-vivo der Einfluß von Numb auf die Internalisierung von P-Selectin geprüft werden. Darüber hinaus sollen die für die Bindung zum P-Selectin notwendigen Domänen des Numbs eingegrenzt sowie das Bindungsmotiv im P-Selectin durch sequenzspezifische Mutagenese ermittelt werden.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ralf Bohnensack  
**Förderer:** Haushalt; 01.04.2004 - 31.03.2007

**Lipid- und Protein-Protein-Bindungseigenschaften des endocytotischen Sortierproteins Sorting Nexin 17**

Durch Endocytose gelangen die auf der Zelloberfläche vorhandenen Proteine wie Zelladhäsionsproteine oder Rezeptorproteine in intrazelluläre Organellen (Endosomen), in denen durch Sortierproteine über die Wiederverwertung oder den Abbau der aufgenommenen Proteine entschieden wird. Sorting Nexin (SNX 17) ist ein solches Sortierprotein, das zwei funktionelle Bereiche, eine PX- und eine modifizierte FERM-Domäne enthält. Mit molekularbiologischen Techniken sollen das SNX 17 und seine beiden Domänen als rekombinierte Proteine hergestellt werden, um ihre für die Sortierprozesse wichtigen Bindungseigenschaften gegenüber Membranlipiden sowie anderen Proteinen auf proteinchemischem Wege untersuchen zu können. Damit sollen Einblicke in die molekularen Mechanismen der postendocytotischen Proteinsortierung gewonnen und bisher noch unbekannte Bindungspartner des SNX 17 identifiziert werden.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ralf Bohnensack  
**Förderer:** Haushalt; 01.01.2002 - 01.01.2006

**Welche Domänen des Sorting Nexins 17 (SNX 17) sind für die Interaktionen mit anderen Proteinen verantwortlich?**

Das Ziel dieses Projektes ist, das Bindungsverhalten von SNX 17 zu anderen Proteinen im yeast-two-hybrid System zu untersuchen. Dies soll vor allem im Vergleich zu bekannten Wechselwirkungen anderer Sorting Nexine und deren Bindungspartnern erfolgen. Zuerst soll dafür untersucht werden, ob SNX 17 die gleichen Substrate (v. a. Tyrosinkinaserzeptoren) wie die anderen Sorting Nexine bindet. Als zweites soll gezeigt werden, ob SNX 17, wie auch viele andere Sorting Nexine, Homo- und Heterodimere ausbilden kann. Als drittes soll gezeigt werden, ob es Proteine des Retromerkomplexes bindet. Im nächsten Schritt soll untersucht werden, welche Bereiche des SNX 17 (PX-, FERM-Domäne oder C-Terminus) für die gefundenen Wechselwirkungen notwendig sind. Abschließend sollen durch gerichtete Mutagenese mögliche Proteinbindemotive verändert werden, um deren Einfluß auf die Zielproteinbindung zu überprüfen.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Peter Schönfeld  
**Projektbearbeiter:** Prof. Dr. Peter Schönfeld, Institut für Biochemie, FME  
**Kooperationen:** Prof. Dr. Georg Reiser, Institut für Neurobiochemie, FME  
**Förderer:** Haushalt; 01.11.2005 - 31.12.2006

### **Mechanismus der Phytansäure-induzierten Bildung reaktiver Sauerstoffradikale (ROS) in Mitochondrien (Ratte).**

Phytansäure (Phyt; ein Abbauprodukt des Chlorophyll) stimuliert den Elektrontransport (ET) in der Atmungskette von nichtphosphorylierenden Mitochondrien (State 4), wogegen es den ET der phosphorylierenden Mitochondrien hemmt. Im Unterschied dazu wird die basale ROS-Bildung in beiden Aktivitätszuständen durch Phyt stimuliert. Mit speziellen Techniken soll aufgeklärt werden, warum eine Interaktion der Phyt mit der Atmungskette zu ROS-Bildung führt. Langkettige, nichtverzweigte Fettsäuren (Palmitinsäure) haben keinen Einfluß auf die ROS-Bildung. Die Studie liefert einen Beitrag zur Pathogenese der Refsum-Erkrankung.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Peter Schönfeld

**Projektbearbeiter:** Prof. Schönfeld, Institut für Biochemie, FME

**Kooperationen:** Inst. f. Neurobiochemie -Prof. G. Reiser -FME

**Förderer:** Haushalt; 01.07.2004 - 31.12.2007

### **Pathogenese der Refsum-Erkrankung - Untersuchungen zur Zytotoxizität von Phytansäure mit Mitochondrien und neuronalen Zellen**

Peroxisomale Enzymdefekte verursachen die Anreicherung von Phytansäure (ein Nahrungsbestandteil) in Körpergeweben. Bei der neurodegenerativen Refsum-Erkrankung sind die biochemischen Zusammenhänge zwischen einer pathologisch-erhöhten Phytansäurekonzentration im neuronalen Gewebe und der Herausbildung von funktionellen Störung nicht bekannt. Phytansäure verursacht in Zellen und isolierten Mitochondrien multiple Schädigungen. Mit isolierten Hirn- und Herzmitochondrien wird der durch Phytansäure-induzierte oxidative Stress und dessen Folgen für die funktionellen Eigenschaften der Mitochondrien untersucht.

## **5. Veröffentlichungen**

### ***Originalartikel in internationalen Zeitschriften***

#### **Kahlert, Stefan ; Schönfeld, Peter ; Reiser, Georg**

The Refsum disease marker phytanic acid, a branched chain fatty acid, affects Ca<sup>2+</sup> homeostasis and mitochondria, and reduces cell viability in rat hippocampal astrocytes.

In: Neurobiol. Dis. 18(2005), Nr. 1, S. 110 - 118

[Imp.fact.: 4.389]

#### **Knauth, P. (ext.) ; Schlueter, Thomas ; Czubayko, Martin ; Kirsch, C. (ext.) ; Florian, V. (ext.) ; Schreckenberger, S. ; Hahn, H. (ext.) ; Bohnensack, Ralf**

Functions of sorting nexin 17 domains and recognition motif for P-selectin Trafficking.

In: J. Mol. Biol. 347(2005), Nr. 4, S. 813 - 825

[Imp.fact.: 5.542]

#### **Schönfeld, Peter ; Montero, L. (ext.) ; Fabian, J. (ext.)**

A combined experimental and quantum chemical study on the putative protonophoric activity of thiocyanate.

In: Biophys. J. 89(2005), Nr. 3, S. 1504 - 1515

[Imp.fact.: 4.585]

**Schneider-Stock, Regine ; Diab-Assef, M. (ext.) ; Rohrbeck, A. ; Foltzer-Jourdainne, C. (ext.) ; Boltze, Carsten ; Hartig, Roland ; Schönfeld, Peter ; Roessner, Albert ; Gali-Muhtasib, H. (ext.)**

5-aza-cytidine is a potent inhibitor of DNA methyltransferase 3a and induces apoptosis in HCT-116 colon cancer cells via Gadd45- and p53-dependent mechanisms.

In: J. Pharmacol. Exp. Ther. 312(2005), Nr. 2, S. 525 - 536

[Imp.fact.: 4.335]