

Forschungsbericht 2007

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
klaus.fischer@med.ovgu.de

1. Leitung

Prof. Dr. rer. nat. Klaus-Dieter Fischer (ab 01.10.2007)

2. Hochschullehrer

Prof. Dr. rer. nat. Klaus-Dieter Fischer
Prof. Dr. rer. nat. Peter Schönfeld
Prof. emeritus Ralf Bohnensack

3. Forschungsprofil

- Charakterisierung molekularer Grundlagen der Differenzierung und Aktivierung von Zellen des Immunsystems und deren pathophysiologischen Prozessen
- In vivo und in vitro Untersuchungen zur Migration, Adhäsion und Interaktion von Immunzellen
- Etablierung von Tiermodellen zur Analyse von Rho-GTPasen und ihren Aktivatoren (Rho-GEFs) im Immun- und Nervensystem
- Analyse mitochondrialer Dysfunktionen im Zellstoffwechsel

4. Forschungsprojekte

Projektleiter: Prof. Dr. Ralf Bohnensack

Förderer: Haushalt; 01.04.2004 - 30.09.2007

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 - 30.09.2007

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. habil. Klaus-Dieter Fischer

Förderer: DFG; 01.01.2006 - 31.12.2008

Die Rolle von aPIX und bPIX in der Differenzierung und Aktivierung von T- und B-Zellen.

Ziel des Forschungsvorhabens ist es, die molekularen Grundlagen der Signal-Netzwerke zu verstehen, die Entwicklung und Differenzierung lymphoider Zellen kontrollieren. In einem genetischen Ansatz werden wir dazu die biologische Funktion der aPIX- und bPIX-Multidomän-Aktivatoren von Rac und CDC42 untersuchen. Dazu wurden bereits aPIX und bPIX-defiziente Tiere hergestellt. Da bPIX-defiziente Tiere sehr früh in der Embryonalentwicklung sterben, werden wir (1) die Funktion von aPIX nach konditionaler Inaktivierung des Gens in T- und B-Zellen untersuchen. Durch unsere Vorarbeiten wissen wir, dass _PIX die Differenzierung naiver CD4-T-Zellen in Th1-Effektorzellen reguliert und dabei vermutlich für die durch aPIX-vermittelte PAK-Aktivierung wichtig ist. Um den molekularen Mechanismus der Th1-Differenzierung und die Funktion von aPIX zu verstehen, werden wir (2) in vergleichenden Analysen zwischen wildtypischen und aPIX-defizienten Zellen wichtige Signalereignisse der T-Zell-Aktivierung und Differenzierung analysieren. ... [mehr](#)

Projektleiter: Prof. Dr. habil. Klaus-Dieter Fischer

Förderer: DFG; 01.01.2005 - 30.08.2008

RGS-RhoGEFs in der Signaltransduktion G12/13-koppelter Rezeptoren und ihre Rolle bei Entzündung und Erhalt des kardiovaskulären Systems

In einem genetischen Ansatz wollen wir durch die Kombination konventioneller und konditionaler knockout Technology die Rolle von Lsc und LARG in Monozyten/Makrophagen und bei der Entwicklung und Erhalt des embryonalen kardiovaskulären Systems detailliert untersuchen. Das geplante Forschungsvorhabens soll (i) Aufschluss über die funktionelle Bedeutung der RGS-RhoGEF Lsc und LARG in intrazellulären Signalwegen unterhalb G12/13-koppelter Rezeptoren in Monozyten/ Makrophagen geben, unter Berücksichtigung ihrer möglichen Bedeutung bei der klinischen Manifestation atherosklerotischer Läsionen. Der Schwerpunkt der Untersuchungen wird dabei auf der Funktion von Lysophospholipid-Rezeptoren liegen. Parallel dazu werden wir (ii) die von uns beobachteten Alterationen im kardiovaskulären System LARG-defizienter Embryonen genauer charakterisieren und versuchen, den ursächlichen Zelltyp zu identifizieren (SFB 451 TP A8 Universität Ulm).

Projektleiter: Prof. Dr. Peter Schönfeld

Projektbearbeiter: Prof. Dr. Peter Schönfeld

Kooperationen: Prof. Dr. Lech Wojtczak, Nencki-Institut für Experimentelle Biologie, Warschau, Polen

Förderer: Haushalt; 02.05.2007 - 31.12.2008

Fettsäure-induzierter Oxidativer Stress in Zellen (PC12-Zellen)

Mitochondrien sind ein Hauptort der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in Zellen. Unsere bisherige Untersuchungen an isolierten Mitochondrien ergaben, dass unveresterte Fettsäuren (FS) die Bildung von reaktiven ROS sowohl stimulieren als auch verringern können (Biochim. Biophys. Acta 2007, im Druck). Im Unterschied dazu ist weitgehend unbekannt, welchen Einfluß unveresterte FS auf die ROS Bildung intakter Zellen besitzen. Pathologisch-erhöhte Gewebekonzentration unveresterten Fettsäuren sind ein biochemisches Merkmal verschiedener pathologischer Stoffwechselsituationen. Mit Inkubationsexperimenten an isolierten, PC12-Zellen und daraus isolierten Mitochondrien soll die Wirkung langkettiger, gesättigter und polyungesättigter Fettsäuren auf die zelluläre ROS-Bildung quantifiziert werden. ... [mehr](#)

Projektleiter: Prof. Dr. Peter Schönfeld

Projektbearbeiter: Prof. Dr. Peter Schönfeld (Magdeburg), Prof. Dr. Lech Wojtczak (Warschau)

Förderer: Haushalt; 01.12.2007 - 31.12.2008

Modulation der zellulären Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies durch Fettsäuren

Reaktive Sauerstoffspezies (Superoxid-Radikal, Wasserstoffperoxid, Hydroxyl-Radikal = ROS) spielen eine wichtige Rolle bei der intrazellulären Signaltransduktion (Botenmoleküle) sowie der unspezifischen Immunabwehr im Säugerorganismus. ROS sind aber auch an der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen beteiligt. Unter den physiologischen Bedingungen wird die ROS-Bildung durch unveresterte Fettsäuren und ihren Derivaten (besonders Ceramide) stimuliert. Polyungesättigte Fettsäuren (z.B. Arachidonsäure) sind besonders potente Aktivatoren der zellulären ROS-Bildung. Dabei sind die Mitochondrien und die plasmamembran-ständige NADPH-Oxidasen prominente Quellen der zellulären ROS Produktion. Im Rahmen des Forschungsprojektes wird ein Review zur Modulation der zellulären ROS Produktion durch Fettsäuren erstellt.

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 Störungen 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.

Projektleiter: Prof. Dr. Peter Schönfeld

Projektbearbeiter: Prof. Dr. Peter Schönfeld

Förderer: Haushalt; 02.01.2007 - 31.12.2007

Postnatale Entwicklung der Funktionseigenschaften von Rattenhirnmitochondrien.

Mitochondrien sind von großer Bedeutung f. d. zelluläre Ca^{2+} Homöostase, da sie reversibel Ca^{2+} auf- und abgeben können. In orientierenden Untersuchungen haben wir gefunden, dass die Hirnmitochondrien neugeborener Ratten große Mengen von Ca^{2+} akkumulieren können (Ca^{2+} Speicherkapazität). Diese Speicherfähigkeit nimmt während der postnatalen Entwicklung ab. Im Gegensatz dazu nimmt während der postnatalen Entwicklung die Kapazität der mitochondrialen Atmungskettenkomplexe zu und damit auch die Kapazität für die Bildung reaktiver Sauerstoffradikale (ROS). Es ist bekannt, dass ROS über die sogenannte Permeability transition, die Ca -Speicherkapazität erniedrigen. Mit dem Projekt soll geklärt werden, ob ein Zusammenhang zwischen der ROS-Bildungskapazität und der Ca^{2+} -Speicherkapazität während der funktionellen Hirnreifung besteht.

5. Veröffentlichungen

Originalartikel in begutachteten internationalen Zeitschriften

Röpke, Martin; Diestel, Antje; Bajbouj, Khoulood; Walluscheck, Diana; Schönfeld, Peter; Roessner, Albert; Schneider-Stock, Regine; Gali-Muhtasib, Hala

Lack of p53 augments Thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells

In: Cancer biology & therapy. - Georgetown, Tex. : Landes Bioscience, Bd. 6.2007, 2, S. 160-169; [Link unter URL](#)

[Imp.fact.: 2.818]

Schönfeld, Peter; Reiser, Georg

Ca^{2+} storage capacity of rat brain mitochondria declines during the postnatal development without change in ROS

production capacity

In: Antioxidants & redox signaling. - Larchmont, NY: Liebert, Bd. 9.2007, 2, S. 191-199; [Link unter URL](#)

[Imp.fact.: 4.491]

Schönfeld, Peter; Wojtczak, Lech

Fatty acids decrease mitochondrial generation of reactive oxygen species at the reverse electron transport but increase it at the forward transport

In: Biochimica et biophysica acta. - Amsterdam [u.a.]: Elsevier, Bd. 1767.2007, 8, S. 1032-1040; [Link unter URL](#)

[Imp.fact.: 4.237]

Dissertationen

Becker, Christiane

Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Funktion des Sorting Nexin 17 und seiner Domänen.

- Magdeburg, Univ., Medizin. Fak., Diss., 2007; 60 Bl: Ill., graph. Darst

Wald, Susan

Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Numb bzw. NumbR und Mutanten von P-Selectin im Two-Hybrid-System. - Magdeburg, Univ., Medizin. Fak., Diss., 2007; 71 Bl: Ill., graph. Darst