

INSTITUT FÜR NEUROBIOCHEMIE

Leipziger Straße 44, 39120 Magdeburg
Tel. +49 (0)391 67 13088, Fax +49 (0)391 67 13097
georg.reiser@med.ovgu.de

1. Leitung

Prof. Dr. Georg Reiser (Institutsdirektor und Geschäftsführender Direktor des Zentrums)

2. Hochschullehrer

Prof. Dr. Georg Reiser

3. Forschungsprofil

- Neuronale Schädigungsmechanismen bei Schlaganfall - zelluläre Prozesse der Neurodegeneration/Neuroprotektion

Regulation und Kontrolle intrazellulärer Botenstoffe bei Zelltod sowie Bedeutung diverser Signalübertragungswege bei pathobiochemischen Prozessen des Zelltods in Neuronen und Gliazellen; der neuronale und gliale Energiestoffwechsel bei excitotoxischer Schädigung durch Glutamat; Funktion eines als Adapterprotein wirkenden Rezeptors für Inositoltetrakisphosphat/Phosphatidylinositoltrisphosphat bei neuronaler Schädigung/Protektion; durch neurale Mitochondrien ausgelöster Zelltod - Analyse der an der Permeability -Transition beteiligten Proteine und Signalmoleküle; Identifizieren neuroprotektiv wirkender Substanzen an neuartigen Targets, beispielsweise Docosahexaensäure-Freisetzung durch Calciumunabhängige Phospholipase A2.

- Neurale Rezeptoren für Nukleotide und Proteasen als Neurotransmitter und Protease-aktivierte Rezeptoren

Biochemische und molekularbiologische Charakterisierung von Nukleotidrezeptoren; Studien an purinergen Rezeptoren in Neuronen und Gliazellen; Verteilung und Funktion der Nukleotidrezeptoren P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6 und P2Y11 im Gehirn; Charakterisierung der Ligandenbindungsdomäne und Pharmakologie der Rezeptoraktivierung des P2Y11-Nukleotidrezeptors; Charakterisierung von Protease-aktivierten Rezeptoren (PAR) im Gehirn; Funktion, intrazelluläre Signalkaskaden und Kopplungsproteine der PARs im Gehirn.

- Molekularpathologie neurodegenerativer Erkrankungen mit Gendefekten die im Fettsäurestoffwechsel identifiziert sind

Der Einfluss der verzweigt-kettigen Fettsäuren (Phytansäure als Marker der Refsum-Krankheit) auf Energiestoffwechsel im Gehirn und auf mitochondriale Schädigung; zelluläre Einflüsse von überlangen unverzweigten Fettsäuren (Marker bei peroxisomal-bedingten Leukodystrophien) auf Neuronen, Oligodendrozyten und Astrozyten.

- Methodische Ansätze

Molekularbiologische und proteinchemische Charakterisierung von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (P2Y und PAR) und von gehirnspezifischen Signaltransduktionsproteinen; Zellphysiologische Untersuchungen mit fluoreszenzspektroskopischen Methoden zur Messung der Kinetik der Mitochondrienfunktionen und der intrazellulären Ionenverteilung; Mechanismen und Funktion der Ca²⁺-Oszillationen in glialen Zellen.

4. Forschungsprojekte

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Förderer: Sonstige; 01.12.2007 - 30.11.2010

Analyse der neurodegenerativen Mechanismen der überlangen Fettsäuren (VLCFA) in Neuronen und in Gliazellen zur Klärung des Mechanismus der Myelindegeneration bei X-ALD

Die Akkumulation der gesättigten überlangen Fettsäuren (VLCFA; > C22:0) und Myelinabbau werden bei der X-chromosomal vererbten Adrenoleukodystrophie (X-ALD) gefunden. In unseren Studien fanden wir stark unterschiedliche Antworten der Oligodendrozyten, Astrozyten und Neuronen auf die kurzzeitige Applikation der VLCFA. Die Fehlregulation der intrazellulären Kalziumhomeostase war in Oligodendrozyten deutlich stärker als in Astrozyten und Neuronen. Darüber hinaus verursachten VLCFA bereits innerhalb weniger Tage Zelltod von Oligodendrozyten und Astrozyten. Allerdings sind die Bedingungen, unter denen die VLCFA Myelinabbau und Schädigung des Nervensystems bei X-ALD verursachen, noch unklar. Das Ziel des Projekts ist es, die zellulären Mechanismen, welche dem Oligodendrozyten-Zelltod bei X-ALD zugrunde liegen, aufzuklären und die Empfindlichkeit von Oligodendrozyten mit der von Neuronen und Astrozyten zu vergleichen. Dabei werden wir die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und Lipidperoxidationsprodukte untersuchen. Diese Schädigungsprodukte wurden bei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen gefunden. Darüber hinaus wird die Empfindlichkeit gegenüber Zytokinen untersucht. Astrozyten setzen inflammatorische Zytokine bei X-ALD frei. Die mögliche Induktion der Myelinschädigung wird dabei untersucht, indem insbesondere auch Mäuse mit ALDP-Defizienz, einem Modell der X-ALD, studiert werden. Bei diesen Mäusen ist der peroxisomale Transporter ABCD1 ausgeschaltet, welcher mit dem Gendefekt des fortschreitenden Myelinabbaus bei X-ALD in Zusammenhang stehen soll. Dieses Projekt wird durch European Leukodystrophy Association (ELA) Foundation unterstützt.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Projektbearbeiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Förderer: DFG; 01.09.2007 - 31.08.2010

Charakterisierung der molekularen Faktoren bei der durch alpha-Crystallin induzierten zellulären Protektion gegen Apoptose

alpha-Crystallin is composed of two closely related subunits, alpha- and beta-Crystallin. There are three molecular species of crystallins, alpha-, beta- and gamma-Crystallin, predominant structural proteins in the mammalian eye lens. However, both crystallin subunits are also expressed in other tissues alpha-Crystallins can prevent apoptosis induced by factors like staurosporine, hydrogen peroxide or ultraviolet irradiation. For alpha-Crystallin the phosphorylation state seems to be important for the ability to protect cells against apoptosis. Under stress conditions, phosphorylation of alpha-Crystallin occurs on specific serine residues. alpha-Crystallins are also implicated in neurodegenerative diseases, like Alzheimers disease, Alexanders disease and amyotrophic lateral sclerosis. Alpha-Crystallin is up-regulated in Alzheimers disease and occurs in amyloid plaques. These diseases are characterised by conformational changes in proteins resulting in misfolding and aggregation. The alpha-Crystallin expression is upregulated in response to cellular stress. It is suggested that alpha-Crystallins, as molecular chaperons, provide a defence mechanism against protein aggregation. We showed that overexpression of alpha-Crystallins can protect astrocytes from C2-ceramide and staurosporine-induced cell death and that alpha-Crystallin can interact with the protease-activated receptor-2 in the protection pathway. The molecular mechanism of the alpha-Crystallin-mediated cytoprotection in astrocytes and the role of PAR-2 during this process are still unknown. Thus, the aim of the project is to identify and characterise the molecular determinants and interacting proteins responsible for the protection against apoptosis to get a better understanding of the function of alpha-Crystallins in astrocytes.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Kooperationen: Moscow State University, Belozersky Institute Moskau, Dr. M. Sergeeva, Russland

Förderer: Bund; 01.04.2008 - 31.03.2011

Der molekulare Wirkmechanismus synthetischer PPAR-Agonisten in Gliazellen

Das Projekt verfolgt neue Ansätze zur Entwicklung von therapeutischen Strategien bei neurodegenerativen Erkrankungen. Bei zerebraler Ischämie nach Schlaganfall und bei chronischer Neurodegeneration, wie Multipler Sklerose, wurden Agonisten von Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptoren (PPAR) als protektive Substanzen vorgeschlagen. Die PPAR-Agonisten, Glitazone und Fibrate, werden bereits klinisch eingesetzt. Die intrazellulären Zielstrukturen der Glitazone und Fibrate sind die verschiedenen Isotypen der PPAR (α , β und γ). Die endogenen natürlichen Liganden der PPAR sind mehrfach ungesättigte Fettsäuren und deren oxidative Produkte, die Prostglandine. Letztere sind Produkte von Phospholipasen A2 bzw. von Cyclooxygenasen. In der Studie werden die Mechanismen der

Wirkungsweise der Glitazone und Fibrate auf die Astrozyten im Gehirn untersucht. Dazu verwenden wir das Modell der durch Lipopolysaccharid induzierten Entzündungsreaktion.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Projektbearbeiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Förderer: DFG; 01.09.2010 - 30.09.2014

Die intrazellulären Interaktionspartner alpha-Crystallin und Arrestin des Protease-aktivierten Rezeptor-2 (PAR-2) und deren Signalwege zu Rezeptor-Trafficking und Zelltod

Der G-Protein gekoppelte Protease-aktivierte Rezeptor-2 (PAR-2) spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungsprozessen im Nervensystem. Wir studieren die Funktion des PAR-2 insbesondere in Astrozyten. Wir identifizieren einige bisher für PAR-2 unbekannte Interaktionsproteine. Dazu gehört das Hitzeschockprotein alpha-Crystallin (alpha-CRY). Seine Funktion in neuronalen Zellen ist kaum bekannt. Wir zeigen, dass alpha-CRY (Isoformen A und B) in Astrozyten an PAR-2, aber nicht an die anderen PARs bindet. Wir charakterisieren diese Wechselwirkung. Dann zeigen wir, dass eine erhöhte Expression von alpha-CRY die Zellen vor Zelltod schützt. Wir wollen im Folgenden strukturelle und molekulare Grundlagen der Interaktion von alpha-CRY mit PAR-2 und deren physiologische Bedeutung erforschen. Dabei ist auch die Wechselwirkung des an PAR-2 gebundenen alpha-CRY mit beta-Arrestinen zu klären. Um die Mechanismen der Protektion gegen Zelltod zu identifizieren, wird die Interaktion von alpha-CRY mit mitochondrialen BCL-2 Proteinen studiert. Die Proteininteraktionen von alpha-CRY sind ein für Neuronen und Immunzellen wichtiger Signalweg von PAR-2.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Kooperationen: Bar-Ilan University, Israel, Dr. B. Fischer

Förderer: Weitere Stiftungen; 01.01.2009 - 31.12.2011

Entwicklung von biocompatiblen und Blut-Gehirn-Schranke gängigen, neuroprotektiven Substanzen mit einer Doppelaktivität als Antioxydantien und P2Y-Rezeptor Liganden

Currently, there is an urgent need for neuroprotective drugs, especially for treating damage after ischemic brain insults. This need and our previous promising results in the field motivated us to develop neuroprotective agents based on a novel concept. We showed that certain nucleotides play a dual role, both as potent antioxidants, which reduce the oxidative stress damage, and as activators of neuronal P2Y-receptors (P2Y-Rs), which protect nerves after injury. We propose to utilize these beneficial properties of certain nucleotides to develop biocompatible, metabolically stable and blood-brain-barrier-(BBB)-permeable neuroprotective agents. Our project includes: a. Synthesis of novel nucleotide/dinucleotide candidates of improved potency at specific P2Y-Rs; b. Evaluation of the antioxidant properties of the analogues both in cell-free oxidative systems and in neuronal cells; c. Evaluation of the activity of the analogues at P2Y-R subtypes; d. Synthesis of ³H/³²P-labelled nucleotide candidates; e. Development of BBB-permeable nucleotide pro-drugs; f. Evaluation of the membrane and BBB-permeability of labelled nucleotide-pro-drugs; g. Evaluation of the neuroprotective potential of the analogues in brain cells and slices. The proposed nucleotide candidates may bring about amplified neuroprotection, due to their two independent and possibly synergistic mechanisms of action. This research is expected to contribute to the fundamental knowledge on neuroprotection mechanisms. This project funded German-Israeli-Foundation (GIF) .

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Projektbearbeiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Förderer: Bund; 01.09.2009 - 31.12.2011

Kontrolle der Neurodegeneration durch Modulatoren des mitochondrialen Zelltodes (Permeabilitätstransitionspore)

Die Pathologie der Neurodegeneration ist mit Fehlfunktion von Mitochondrien verbunden, insbesondere mit Auslösen der Permeabilitätstransitionspore (PTP). PTP-Hemmstoffe werden als neuroprotektive Substanzen vorgeschlagen. Wir wollen neue strukturelle Elemente/Regulatoren der PTP identifizieren. Die mitochondriale Bildung freier Sauerstoffradikale ist eine primäre Ursache für neuronales Absterben. Wir wollen zum Verständnis der molekularen Mechanismen dieses Weges des Zelltodes von Neuronen beitragen. Weiterhin soll die Zusammensetzung der PTP geklärt werden. In unseren bisherigen gemeinsamen Versuchen fanden wir bereits neuartige Proteine, die bei der PTP beteiligt sind. In den weiteren Studien werden diese Proteine und deren Interaktionen detailliert untersucht.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Förderer: Land (Sachsen-Anhalt); 01.05.2008 - 31.12.2010

Mechanismen der neuronalen Protektion nach Ischämie-bedingtem Energiemangel durch Protease-aktivierte Rezeptoren

Durch Präkonditionierung mit Thrombin lassen sich die Schäden, die durch ischämische Insulte im Gehirn verursacht werden, reduzieren. Im ersten Teil untersuchen wir die beteiligten zellphysiologischen Prozesse, die über spezifische Protease-aktivierte Rezeptoren (PAR) vermittelt werden und noch weitgehend unverstanden sind. Zur Simulation von Ischämie werden primäre Astrozyten und Neurone einem Sauerstoff-Glukose-Entzug (OGD) ausgesetzt. Darauf aufbauend werden in situ verschiedene zellphysiologische Parameter und deren Veränderung durch präkonditionierende Behandlung mit PAR-Agonisten detektiert. Damit erforschen wir, ob mitochondriales Potential, Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, cytosolische Ca²⁺-Regulation, und Cytochrom c-Freisetzung mit einer entsprechenden Apoptose-Detektion korreliert. Wir studieren im zweiten Teil, ob Faktoren, die von Astrozyten in das Medium freigesetzt werden Neuroprotektion induzieren.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Förderer: DFG; 01.09.2007 - 31.07.2011

Molekulare Analyse der Interaktion des humanen Nukleotid-Rezeptors P2Y₁₁ mit selektiven Liganden

Nukleotide kontrollieren als Signalmoleküle Zellkommunikation, Entwicklung und Überleben. Nukleotide wirken über P_{2Y}-Rezeptoren (P_{2Y}-R), eine spezielle Subfamilie der 7-Transmembrandomänenrezeptoren. Unter den 8 humanen P_{2Y}-R ist der bisher kaum erforschte P_{2Y₁₁}-Rezeptor (P_{2Y₁₁}-R) der einzige P_{2Y}-R, der an G_s gekoppelt ist und somit die Adenylatcyclase aktiviert. Der P_{2Y₁₁}-R zeigt die höchste Homologie zum P_{2Y₁}-R, und wird ebenfalls durch ATP aktiviert. Hier soll die Ligandenbindungsstelle des P_{2Y₁₁}-R durch Mutationsanalyse analysiert werden, und insbesondere soll deren Unterschied zum P_{2Y₁}-R geklärt werden. Die herzustellenden Rezeptormutanten des P_{2Y₁₁}-R werden so konzipiert, dass damit die molekulare Ursache der von uns entdeckten Stereoselektivität des P_{2Y₁₁}-R für die am P substituierten Nukleotide ergründet wird. Diese Stereoselektivität ist diametral entgegengesetzt zu der des P_{2Y₁}-R. Die Resultate gehen in das molekulare Modelling des Rezeptors ein. Daraufhin werden neue, vom Modell der Bindetasche abgeleitete Liganden synthetisiert, und ausgetestet. Ligandensynthese und Modelling laufen in Zusammenarbeit mit Dr. B. Fischer (Medizinische Chemie, Bar-Ilan Universität, Israel). Anschließend soll untersucht werden, wie durch unterschiedliche P_{2Y₁₁}-R Liganden jeweils G_s- oder G_q-gekoppelte Signalwege des P_{2Y₁₁}-R in Zielzellen differenziell stimuliert werden können, und welchen Einfluss die von uns entdeckte Heterodimerisierung des P_{2Y₁₁}-R mit dem P_{2Y₁}-R hat.

Projektleiter: Prof. Dr. Georg Reiser

Kooperationen: Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology der Lomonossov Universität Moskau, Dr. V. Bunik

Förderer: Humboldt-Stiftung; 01.08.2008 - 31.07.2011

Neuroprotektive Kapazität des Enzyms 2-Oxoglutarat dehydrogenase durch Kontrolle des mitochondrialen Metabolismus

The multienzyme complex 2-oxoglutarate dehydrogenase complex (OGDHC) of mitochondria catalyzes irreversible degradation of 2-oxoglutarate (OG) at the intercept of the glutamate synthesis and energy-producing carbohydrate catabolism. We hypothesize that this knot has a crucial significance for the mitochondria-dependent signaling and neuroprotection due to the signaling function of the OGDHC substrate and glutamate precursor, OG. The aim of this project is to control neuronal death and survival by regulating the flux through OGDHC. Experimental verification of our hypothesis will include: 1. Characterization of the tissue-specific structure, function and regulation of OGDHC isolated from brain; 2. In vitro study of the interaction of brain OGDHC with the catalysis-activated inhibitors, the phosphono analogues of OG; 3. Regulation of OGDHC of neural cells in situ using the phosphono analogues of OG; 4. Study of cellular responses to the impaired OG degradation by OGDHC. The following changes in cellular functions in response to the OGDHC regulation are studied: 1. ATP-production (energy status of cells), 2. glutamate-induced Ca²⁺ mobilization, 3. change in mitochondrial potential, 4. ROS production. 5. cellular viability. Regulation of isolated brain OGDHC by cellular metabolites, substrates, products, cofactors and protein-protein or protein/lipid interactions will be characterized in order to understand the enzyme function and metabolic regulation within the cellular network. This will be aided by genomic and protein databases analysis through application of bioinformatics approaches. As a result, the potential regulation of OGDHC in therapy of neurodegenerative diseases will be revealed. The project is a collaboration between the Institut für Neurobiochemie in Magdeburg and the Belozersky Institute of the Moscow University.

5. Veröffentlichungen

Originalartikel in begutachteten internationalen Zeitschriften

Azarashvili, Tamara; Stricker, Rolf; Reiser, Georg

The mitochondria permeability transition pore complex in the brain with interacting proteins - promising targets for protection in neurodegenerative diseases

In: Biological chemistry. - Berlin [u.a.]: de Gruyter, Bd. 391.2010, 6, S. 619-629; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 2,732]

Ginsburg-Shmuel, Tamar; Haas, Michael; Schumann, Marlen; Reiser, Georg; Kalid, Ori; Stern, Noa; Fischer, Bilha
5-OMe-UDP is a potent and selective P2Y6-receptor agonist

In: Journal of medicinal chemistry. - Easton, Pa. : American Chemical Society, Bd. 53.2010, 4, S. 1673-1685;

[Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 4,802]

Gorbacheva, Lyubov; Pinelis, Vsevolod; Ishiwata, Shin'ichi; Strukova, Svetlana; Reiser, Georg

Activated protein C prevents glutamate- and thrombin-induced activation of nuclear factor-[kappa]B in cultured hippocampal neurons

In: Neuroscience. - Oxford: Elsevier, Bd. 165.2010, 4, S. 1138-1146; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 3,292]

Grachev, Dmitry E. ; Krestinina, Olga V. ; Baburina, Yulia L. ; Reiser, Georg; Azarashvili, Tamara S.

Effect of Ro 5-4864 and PK11195 on protein phosphorylation in mitochondria isolated from primary cultures of rat astrocytes

In: Biochemistry (Moscow). - Road Town, Tortola, British Virgin Islands: Pleiades Publ., Bd. 4.2010, 1, S. 43-49;

[Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 1,327]

Henrich-Noack, Petra; Riek-Burchardt, Monika; Reymann, Klaus G. ; Reiser, Georg

Cellular expression pattern of the protease-activated receptor 4 in the hippocampus in nave rats and after global ischaemia

In: Journal of neuroscience research. - New York, NY [u.a.]: Wiley-Liss, Bd. 88.2010, 4, S. 850-857; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 2,986]

Sergeeva, Marina G. ; Aleshin, Stepan E. ; Grabeklis, Sevil; Reiser, Georg

PPAR activation has dichotomous control on the expression levels of cytosolic and secretory phospholipase A2 in astrocytes; inhibition in nave, untreated cells and enhancement in LPS-stimulated cells

In: Journal of neurochemistry. - Oxford: Wiley-Blackwell, Bd. 115.2010, 2, S. 399-410; [Link unter URL](#); 2010

[Imp.fact.: 3,999]

Dissertationen

Galvita, Anastasia

Mitochondrial localization of two brain proteins, p42IP4/centaurin-[alpha]1/ADAP1 and CNP, and their involvement in regulation of mitochondrial Ca²⁺. - Magdeburg, Univ., Fak. für Naturwiss., Diss., 2010; [Link unter URL](#); 124 Bl.: graph. Darst.; 30 cm; 2010

Li, Rongyu

Protease-activated receptor 2 and a-crystallin - interactions and functional implications. - Magdeburg, Univ., Fak. für Naturwiss., Diss., 2010; [Link unter URL](#); 100 S.: graph. Darst.; 2010