



MEDIZINISCHE  
FAKULTÄT

# Forschungsbericht 2014

Institut für Molekulare und Klinische Immunologie

# INSTITUT FÜR MOLEKULARE UND KLINISCHE IMMUNOLOGIE

Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg  
Tel. +49 (0)391 67 15800, Fax +49 (0)391 67 15852  
burkhart.schraven@med.ovgu.de

## 1. Leitung

Prof. Dr. med. Burkhard Schraven (geschäftsführender Leiter)

## 2. Hochschullehrer

Prof. Dr. med. Burkhard Schraven  
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Oliver Ullrich (bis 10/2007)  
Prof. Dr. med. Matthias Gunzer (ab 10/2007)  
HS-Dozent Dr. med. Dirk Reinhold

## 3. Forschungsprofil

- Grundlegende Schwerpunkte
  - Entschlüsselung der molekularen Mechanismen, die der Einleitung, Unterhaltung und Beendigung der Immunantwort zu Grunde liegen
  - Untersuchung immunologischer Fragestellungen mit klinischer Relevanz auf molekularer Ebene (Autoimmunerkrankungen, Tumorimmunologie, Transplantationsimmunologie, Infektionsimmunologie)
  - Entwicklung neuer Strategien für die Therapie von immunologisch bedingten Erkrankungen
- Signaltransduktion
  - Identifikation und Reinigung neuer signaltransduzierender Proteine in hämatopoetischen Zellen
  - Funktionelle Untersuchung signaltransduzierender Proteine mit Methoden der Zellbiologie, Biochemie und Molekularbiologie
  - Untersuchung der molekularen Wechselwirkungen zwischen signalübertragenden Proteinen (Scaffolding, Adapterproteine, modulare Protein-Protein-Interaktionsdomänen)
  - Entschlüsselung signalübertragender Netzwerke in hämatopoetischen Zellen
  - Funktionelle Untersuchung signalübertragender Rezeptoren im Immunsystem (hämatopoetische Antigenrezeptoren, Co-Rezeptoren, akzessorische Rezeptoren)
  - Kristallisation signalübertragender Proteine
- Proteolyse und Entzündung
  - Funktionelle Analyse des Enzyms Dipeptidylpeptidase IV (DP IV, CD26)
  - Mikroskopie

Spezielle Ausrüstung/Methodik

- 2D-Elektrophorese

- Proteinreinigung
- Proteomanalyse
- Analyse von Protein-Protein Interaktionen
- Funktionsanalyse von Proteinen
- Konfokale Laserscanningmikroskopie
- Videomikroskopie
- Generierung und Analyse von Knock-out-Mäusen

#### 4. Forschungsprojekte

**Projektleiter:** Prof. Dr. Andreas Müller

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.12.2014 - 30.11.2017

##### **Pathogene als Sensorsysteme zur Messung der Wirksamkeit einer Immunantwort während der Infektion**

Der mechanistische Zusammenhang zwischen einer Immunantwort und der Physiologie des abgewehrten Pathogens ist von grösster Bedeutung für das Verständnis einer Infektionskrankheit: Ob ein Erreger vom Immunsystem direkt getötet oder nur in seinem Wachstum gehemmt oder an seiner Ausbreitung gehindert wird, hat wichtige Auswirkungen auf den Verlauf der Infektion, mögliche Immunpathologien und auf die Empfindlichkeit des Pathogens gegen antimikrobielle Therapien. Bis jetzt war es jedoch nicht möglich, diesen Aktionsmodus der Immunantwort während einer laufenden Infektion zu bestimmen. Im vorliegenden Projekt sollen in vivo-Reportersysteme in den intrazellulären Parasiten *Leishmania major* eingebracht werden, um zu bestimmen, wie das Pathogen auf den Stress reagiert, dem es aufgrund der einsetzenden Immunantwort ausgesetzt ist. Dazu werden fluoreszente Proteinkonstrukte verwendet, welche die Messung zweier biologischer Parameter im lebenden Parasiten ermöglichen: (1) die Aktivität stressassoziierter Proteasen und (2) die Integrität der Zellmembran des Parasiten. Die Strategie, Pathogene als Sensoren für die Wirkung von Immunverteidigungsmechanismen zu benutzen, soll das Vermessen der Immunantwort im Hinblick auf ihren Einfluss auf die Pathogenphysiologie ermöglichen. So wird mittels intravitale Zweiphotonenmikroskopie der Aktionsmodus einer protektiven Immunantwort im Verlauf einer Infektion kartiert. Unter Einbezug von Knockout-Mäusen und Inhibitoren der Produktion von reaktivem Sauerstoff (ROI) und Stickstoff (RNI) soll dabei die Bedeutung dieser zellulären Verteidigungsmechanismen für den jeweiligen Aktionsmodus bestimmt werden. Ausserdem soll mit Inhibitoren der ROI/RNI-Produktion in transgenen Mäusen mit fluoreszenzmarkierten Phagozytenpopulationen die Zellspezifität der Wirkung von ROI und RNI aufgeklärt werden. Schliesslich soll in einem Experiment, das teilweise ROI-produktionsdefiziente Knochenmarkschimären mit der Inhibition der RNI-Produktion kombiniert, eine mögliche Synergie von ROI und RNI für deren antimikrobielle Wirkung analysiert werden. Die beantragten Experimente sollen aufklären, wie sich einzelne zelluläre Verteidigungsmechanismen, die vom Immunsystem induziert werden, auf die Biologie des Pathogens auswirken und wie diese Einflussnahme mit dem Erfolg der Abwehr gegen einen Infektionserreger zusammenhängt. Eine erweiterte Kenntnis dieser Wechselbeziehung ist entscheidend für ein besseres Verständnis, wie eine protektive Immunantwort eine Infektion kontrollieren kann.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Andreas Müller

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

##### **Zentrale Plattform für Bildgebungsverfahren**

Inter- und intrazelluläre Kommunikationsprozesse stellen die Grundlage für die Funktion des Immunsystems dar. Die Frage, wie die intra- und interzelluläre Kommunikation im Immunsystem auf molekularer Ebene gesteuert wird, ist von zentraler Bedeutung für das Verständnis physiologischer und pathophysiologischer Immunreaktionen. Dieser Fragestellung widmet sich der Sonderforschungsbereich (SFB) 854.

Das Z-Projekt bietet dem SFB eine Palette hochspezialisierter Imaging-Techniken und optimiert diese, entsprechend der Fragestellungen der einzelnen TP, gezielt. Spezialanwendungen sollen so permanent und in gleichbleibend hoher Qualität zur Verfügung stehen, wie es einzelnen TP allein nicht möglich wäre. Das Z-Projekt beinhaltet schwerpunktmäßig Imaging-Techniken zur Topomanalyse von Zell-Zell-Kontakten (Multi-Epitop-Ligand-Kartographie MELK), Multi-Photonen-Intravitalmikroskopie, Lebendzell-Weitfeld-Fluoreszenzmikroskopie (FRET/FLIM) einschließlich low-light-Verfahren zur Langzeitbeobachtung von Protein-Protein-Wechselwirkungen.

Das Projekt wird von Dr. Monika Riek-Burchardt, Prof. Dr. Andreas Müller (Institut für Molekulare und Klinische Immunologie, OvGU Magdeburg) und Dr. Werner Zuschratter (LIN Magdeburg) geleitet.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ingo Schmitz

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2012 - 31.05.2015

**Analysis of molecular interactions between c-FLIP and initiator caspases in the DISC of death receptors**

Apoptose ist essentiell bei der Entwicklung mehrzelliger Organismen sowie im Immunsystem von Vertebraten. Eine Deregulation der Apoptose ist eng mit dem Auftreten verschiedener Erkrankungen assoziiert, wie z.B. bei AIDS (zu viel Apoptose) oder bei verschiedenen Tumorerkrankungen (zu wenig Apoptose). Apoptose kann durch Todesrezeptoren, wie z.B. CD95, ausgelöst werden. Obwohl in den letzten Jahren viele Details der molekularen Mechanismen der CD95 Signaltransduktion aufgeklärt wurden, ist immer noch nicht bekannt, welche Moleküle genau im *death inducing signaling complex* (DISC) miteinander dimerisieren. Auch ist die Stöchiometrie der einzelnen Komponenten im DISC unbekannt. Diese noch offenen Fragen wollen wir mit Hilfe zweier neuer Methoden beantworten. Die *bimolecular fluorescence complementation* (BiFC) erlaubt uns die direkte Beobachtung von Dimerisierungsprozessen in lebenden Zellen. Mit Hilfe der Durchflusszytometrie-gekoppelten Immunpräzipitation (IP-FCM) wollen wir die Zusammensetzung des DISC quantitativ bestimmen. Weiterhin haben wir in der ersten Förderperiode essentielle Strukturmerkmale im Caspase-Inhibitor c-FLIP für die Rekrutierung in den DISC identifizieren können. Da c-FLIP in vielen Tumoren überexprimiert ist, stellt es ein hochinteressantes, therapeutisches Target dar. Bislang gibt es jedoch noch keine Substanz, die c-FLIP direkt beeinflusst. Um geeignete Zielstrukturen in c-FLIP aufzuzeigen, wollen wir deshalb unsere Struktur-Funktionsanalysen zu c-FLIP ausdehnen.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ingo Schmitz

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

**Die Rolle des atypischen NF- $\kappa$ B Inhibitor Proteins I $\kappa$ BNS in Effektor-T-Zellen**

NF- $\kappa$ B ist für Entwicklung und Funktion von Immunzellen ein entscheidender Transkriptionsfaktor und wird durch I $\kappa$ B Proteine reguliert. I $\kappa$ BNS ist ein funktionell nur unzureichend charakterisierter, ungewöhnliches I $\kappa$ B Protein. Wir werden die Funktion von I $\kappa$ BNS in Effektor-T-Zellen bei Differenzierung, Effektor-Funktion und Plastizität identifizieren. Wir wollen direkte Zielgene von I $\kappa$ BNS sowie neue Interaktionspartner von I $\kappa$ BNS identifizieren, um die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen aufzuklären. Desweiteren werden wir Infektionsmodelle nutzen, um die Rolle von I $\kappa$ BNS in Effektor-T-Zellen *in vivo* zu adressieren. Diese Ansätze werden dazu führen, die Wichtigkeit von I $\kappa$ BNS für die Entwicklung und Funktion von Effektor-T-Zellen aufzuklären.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ingo Schmitz

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.04.2012 - 31.03.2015

**Regulation von Autophagie durch Gadd45 $\beta$ -abhängige Signalkomplexe**

Als kataboler Prozess, der in Mangelsituationen Nährstoffe zur Verfügung stellt, wirkt Autophagie grundsätzlich als Überlebensmechanismus. Autophagie kann allerdings bei übermäßiger Aktivierung auch zum Zelltod führen, der entweder klassisch apoptotisch, oder auch Caspase-unabhängig als sogenannter Typ II Zelltod ablaufen kann. Autophagie ist insofern eng mit der Apoptose verknüpft, da es auf der molekularen Ebene eine Reihe von direkten Interaktionen zwischen Autophagie- und Apoptose-Proteinen gibt. So inhibiert z.B. die Bindung des anti-apoptotischen Proteins Bcl-2 an Beclin-1 (ATG6) die Induktion von Autophagie. Bei der Autophagie werden Doppelmembran-umschlossene Vesikel gebildet, die einen Teil des Zytosols und ggf. Organellen einschließen, und diese dann dem lysosomalen Abbau zuführen. Der Prozess der Autophagie wird durch evolutionär konservierte Proteine der Autophagy related gene (ATG) Familie gesteuert. Für die Autophagie essentiell sind zwei Ubiquitin-ähnliche Konjugationssysteme, an denen die Proteine ATG5 und LC3 (ATG8) beteiligt sind. Die subzelluläre Lokalisation und die posttranslationale Modifikation von LC3 durch die Konjugation an Phosphatidylethanolamin (PE) dienen häufig als Marker für autophagische Aktivität. Bei der Suche nach Genen, die in apoptotischen Thymozyten induziert werden, haben wir Gadd45b identifiziert. Wir konnten zeigen, dass Gadd45b über die MAP Kinase Kinase Kinase MEKK4 spezifisch p38 MAPK aktiviert. In topologischen Untersuchungen zeigte sich, dass die durch Gadd45 $\beta$  aktivierte p38 MAPK nicht wie erwartet in den Zellkern transloziert, sondern an Autophagosomen bindet. Dort phosphoryliert sie ATG5, was zu einer Inhibierung des autophagischen Flusses führt. Gadd45 $\beta$  kann also abhängig von der räumlichen Aktivierung der p38 MAPK Autophagie beeinflussen. Die genauen molekularen Mechanismen sind aber zur Zeit noch unklar und sollen im Rahmen dieses Vorhabens untersucht werden. Mit Hilfe einer Gadd45 $\beta$ -defizienten, sowie einer

konditional Gadd45 $\beta$ -transgenen Maus, wollen wir die physiologische Rolle dieses Proteins bei der Regulation von Autophagie im Immunsystem untersuchen. Darüber hinaus wollen wir die molekularen Mechanismen, die diese Regulation vermitteln, aufklären. Insgesamt erwarten wir von unseren Untersuchungen ein besseres Verständnis der Funktion von Autophagie für das Überleben von Zellen bzw. den Zelltod.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Thomas Schüler

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

**Die Regulation intestinaler Homöostase durch Interleukin-**

Interleukin-7 (IL-7) ist von zentraler Bedeutung für die Entwicklung und das Überleben zahlreicher Immunzellen. Ist die Wirkung von IL-7 eingeschränkt, kommt es zu schweren Immundefekten. Wird zuviel IL-7 produziert, führt dies zur Überaktivierung des Immunsystems und Autoimmunität. Die Entwicklung entzündlicher Darmerkrankungen ist mit der Fehlregulation der IL-7 Produktion und der IL-7-abhängigen Aktivierung pathogener T-Zellen assoziiert. Wir konnten kürzlich zeigen, dass IL-7 die Homöostase des intestinalen Epithels, die Barrierefunktion des Darms und die Zusammensetzung der intestinalen Flora reguliert. Ob diese Veränderungen auf die direkte Wirkung von IL-7 auf das Darmepithel zurück zu führen sind und ob dies die Entwicklung entzündlicher Darmerkrankungen beeinflusst, wird im vorliegenden Projekt studiert.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Thomas Schüler

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.07.2011 - 30.09.2015

**Die Rolle von Interferon- bei der Differenzierung von CD8+ Gedächtnis T-Zellen**

Die Bildung von immunologischem Gedächtnis ist von zentraler Bedeutung für das Überleben des Wirtes. Nach dem primären Kontakt mit einem Pathogen werden zunächst große Zahlen an Effektor T-Zellen gebildet, von denen 90-95% nach Eliminierung des Krankheitserregers wieder absterben. Die verbleibenden T-Zellen differenzieren zu langlebigen Gedächtnis T-Zellen (TM), die bei einem zweiten Kontakt mit demselben Pathogen eine schnelle und effektive sekundäre Immunantwort gewährleisten. Die Erzeugung langlebiger TM ist das Ziel von Impfungen und bei der adoptiven Immuntherapie. Die molekularen Mechanismen, die zur Bildung von TM führen, sind jedoch weitgehend unklar. Ein besseres Verständnis dieser Mechanismen ist unerlässlich, um Vakzinierungsstrategien und Immuntherapien optimieren zu können. Kürzlich konnten wir zeigen, dass Interferon- (IFN-) die Bildung und Differenzierung von CD8+ TM beeinflusst. Wie dies auf molekularer Ebene reguliert wird, soll im vorliegenden Versuchsvorhaben studiert werden. Ziel der vorgeschlagenen Experimente ist es zu verstehen, ob und wie die T-Zellrezeptor Signalstärke die Differenzierung von TM beeinflusst und ob dies durch IFN- beeinflusst wird.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Thomas Schüler

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.07.2010 - 30.06.2014

**Regulation homöostatischer T-Zell Proliferation**

Lymphopenie verbessert die adoptive T-Zell Therapie (ATT) bei Krebs. Nichtsdestotrotz wird eine vollständige Tumorabstoßung nur selten erreicht. Dies legt nahe, dass Interaktionen zwischen Wirt und T-Zelle die Effizienz der ATT limitieren. Über die Faktoren, die das langfristige Überleben und die Funktion therapeutischer T-Zellen unter lymphopenischen Bedingungen regulieren, ist wenig bekannt. Interferon- (IFN-) und Interleukin-7 (IL-7) sind zentrale Regulatoren der T-Zell Homöostase. Wir haben neue transgene Mausmodelle etabliert, um IFN-/IL-7-abhängige Signalwege zu identifizieren, deren Manipulation die Effizienz von ATT verbessern sollen.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Thomas Schüler

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

**Spatiotemporal and cellular requirements for the regulation of T cell responses by type I interferon**

In der vergangenen Förderperiode des SFB854 konnten wir Signalgebungsprozesse identifizieren, die die widersprüchlichen Daten erklären, die mit dem superagonistischen anti-CD28 mAb TGN1412 erzielt wurden. In der aktuellen Förderperiode werden wir uns auf Typ I Interferon (IFN) konzentrieren, dessen immunulatorische Wirkung zur Behandlung zahlreicher Erkrankungen genutzt wird. Die räumlichen und zeitlichen Voraussetzungen für die Wirkung von IFN sind jedoch weitgehend unklar. Zur Beantwortung dieser Frage werden wir konditionale knock-out Mäuse verwenden, die eine Inaktivierung der IFN Signalgebung in CD8+ T-Zellen und nicht-hämatopoetischen Stromazellen im Zuge anti-viraler Immunantworten ermöglichen.

**Projektleiter:** Prof. Dr. Ulrike Seifert

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.07.2010 - 30.06.2014

**Adoptive T Zell-Therapie gegen Tumore mit Defekten in der Antigen Prozessierungsmaschinerie**

Tumorwachstum ist oft mit abnormer Expression von Komponenten der Antigenprozessierungs- maschinerie (APM) assoziiert. Dies interferiert mit der Antwort auf eine T-Zell-Immuntherapie. Daher werden wir uns darauf konzentrieren, T-Zellen zu identifizieren, die Tumorzellen mit Defekten in der APM erkennen, wie z.B. beim Fehlen von ER-Aminopeptidase 1 (ERAP1). Die Effektivität dieser T-Zellen, das Tumorwachstum zu kontrollieren, werden wir in ERAP1-KO-Mäusen untersuchen und dies mit der Kapazität humaner Aminopeptidase-defizienter Melanomzellen vergleichen, Tumorantigen-spezifische T-Zellen zu stimulieren.

---

**Projektleiter:** apl. Prof. Dr. Dirk Reinhold

**Förderer:** BMWi/AIF; 01.06.2014 - 31.05.2016

**Entwicklung eines neuartigen dsDNA-Fluorescence-Linked Immuno-sorbent Assay (FLISA)-Testsystems für die verbesserte Diagnostik systemischer Autoimmunerkrankungen, insbesondere des Systemischen Lupus erythematoses (SLE)**

Ziel des Kooperationsprojektes ist die Entwicklung eines anti-dsDNA-AK-Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay (FLISA)-Testsystems für eine verbesserte Stufendiagnostik systemischer Autoimmunerkrankungen, insbesondere der SLE. Die Analyse und Quantifizierung des dsDNA-FLISA-Assays soll fluoreszenzbasiert auf der von der Firma GA Generic Assays entwickelten AKLIDES-Plattform erfolgen. Die Firma GA wird das FLISA-Testsystem für den Nachweis von AAK gegen dsDNA aufbauen und die dazugehörige Software für das AKLIDES entwickeln. Durch die Verwendung von Kinetoplast DNA soll die Sensitivität des Assays entscheidend erhöht werden. Die AG Anderer beschäftigt sich mit der Kultivierung von *Crithidia luciliae* und *fasciculata*, um aus diesen Flagellaten die dsDNA-haltigen Kinetoplasten zu isolieren. Daneben wird die Arbeitsgruppe dsDNA aus verschiedenen humanen Zelllinien (z. B. Hep-2, Jurkat) isolieren, die auch als Grundlage für den Aufbau eines dsDNA-FLISA verwendet werden soll. Die AG Reinhold wird die Einzelkomponenten und Prototypen der entwickelten neuartigen anti-dsDNA/Kinetoplast-FLISA-Testsysteme validieren und auf ihre Eignung zur serologischen Routinediagnostik evaluieren.

---

**Projektleiter:** apl. Prof. Dr. Dirk Reinhold

**Förderer:** BMWi/AIF; 01.03.2013 - 31.12.2014

**Entwicklung von spezifischen ELISA-Systemen zur Quantifizierung des Proteins GP2 in Seren von Patienten mit Pankreatitis**

Gegenstand des Projektes ist die Entwicklung von ELISAs zur Quantifizierung der vier Isoformen des Glycoproteins 2, einem neuen Marker für gastrointestinale Erkrankungen, in Seren von Patienten mit Pankreatitis. Es soll untersucht werden, ob es Korrelationen zwischen dem Gehalt an Isoformen des GP2 im Blut und den verschiedenen klinischen Erscheinungsformen der Pankreatitis gibt. Ziel ist die Verbesserung der Differentialdiagnose der Pankreatitis.

---

**Projektleiter:** Dr. Stefanie Kliche

**Projektbearbeiter:** Kliche/Schraven

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.04.2010 - 30.09.2014

**GRK1167 TP11: Die Rolle des ADAP/SKAP55/RIAM-Moduls bei der CXCR4-vermittelten Adhäsion und Migration von T-Zellen**

Zweite Förderperiode des Teilprojektes 11 des Graduiertenkollegs 1167 Zell-Zell-Kommunikation in Nerven- und Immunsystem: topologische Organisation von Signalwegen (Sprecher: Prof. Dr. M. Naumann und Prof. Dr. E. Gundelfinger) zum Thema: Die Rolle des ADAP/SKAP55/RIAM-Moduls bei der CXCR4-vermittelten Adhäsion und Migration von T-Zellen (Kliche/Schraven).

---

**Projektleiter:** Dr. Stefanie Kliche

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

**SFB 854/2, B10: Integrin-vermittelte Inside-out/Outside-in Signale im Immun- und Nervensystem**

Integrin-vermittelte (inside-out/outside-in) Signale sind für viele zelluläre Prozesse des Immun- und Nervensystems unverzichtbar. In der ersten Förderperiode konnten wir die Interaktion des hämatopoetischen Adaptorproteinkomplexes ADAP/SKAP55(HOM) mit der Serin/Threonin Kinase Ndr2 bei der Integrinaktivierung in T Zellen und Neuronen

nachweisen. Mit konventionellen und konditionalen Mausmutanten, Knock-down und Reexpression werden wir nun die Bedeutung von ADAP, SKAP55(HOM) sowie Ndr2 und ihrer Interaktion für die integrinabhängige Entwicklung und Funktion dieser Zellen untersuchen, assoziierte Signalwege identifizieren und ihre Funktionen im Immun- und Nervensystems *in vivo* aufklären.

---

**Projektleiter:** Dr. Stefanie Kliche

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

**SFB 854/2, B12: Membran-proximale Signalu bertragung des ADAP-SKAP55-Moduls**

Die Regulation von Integrinen durch intrazelluläre Adaptor-Proteine ist ein zentraler Mechanismus zur Kontrolle der Adhäsion und Migration von T-Zellen. Hier wollen wir den Mechanismus der Modulation von Affinität und Avidität der Integrine durch die zwei interagierenden Moleküle Adhesion and Degranulation promoting Adaptor Protein (ADAP) und Src kinase associated phosphoprotein of 55 kD (SKAP55) aufklären. Wir planen insbesondere die Frage zu beantworten wie der Komplex die Membran-Assoziation mit der zytoskeletalen Verankerung der Integrine verbindet.

---

**Projektleiter:** Dr. Annegret Reinhold

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.05.2014 - 28.04.2017

**Molekulare Mechanismen der verminderten Suszeptibilität ADAP-defizienter Mäusen in der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE)**

Das Adapterprotein ADAP (adhesion and degranulation-promoting adapter protein) wird in T-Zellen, myeloischen Zellen und Plättchen exprimiert und spielt eine Rolle bei der Integrinaktivierung und Adhäsion. In den Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass ADAP-defiziente Mäuse sowohl im Modell aktiven Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE) als auch im Modell der passiven EAE einen deutlich milderen Krankheitsverlauf zeigen. Der verminderte klinische Schweregrad der EAE war assoziiert mit einer deutlich verringerten Einwanderung von Entzündungszellen in das ZNS und einer gleichzeitigen Akkumulation der enzephalitogenen T-Zellen an den lymphatischen Gefäßen im Lymphknoten. Experimente mit Knochenmark-Chimären ergaben, dass die attenuierte EAE wahrscheinlich durch radio-resistente, nicht hämatopoetische Zellen verursacht wird. Unklar ist, welche Zellen oder Strukturen daran beteiligt sind. Im Rahmen des Projektes wollen wir die zellulären und molekularen Mechanismus der Akkumulation von enzephalitogenen T-Zellen in den Lymphknoten ADAP-defizienter Mäuse bei der EAE aufklären. Der Schwerpunkt des Projektes sind Untersuchungen zur EAE in linienspezifischen ADAP-Knock-out-Mäusen. Unsere Ergebnisse werden zum besseren Verständnis der Immunpathogenese der EAE beitragen und sind eine wichtige Voraussetzung für die Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Behandlung neuroinflammatorischer Erkrankungen.

---

**Projektleiter:** Dr. Luca Simeoni

**Projektbearbeiter:** Varma Raddicherla

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.04.2010 - 30.09.2014

**Analysis of signaling events regulating immune cell activation.**

We have successfully demonstrated that the transmembrane adaptor SIT inhibits TCR-mediated signals required for (i) thymocyte selection, (ii) peripheral T-cell homeostasis, and (iii) peripheral T-cell functions. Additionally, we have shown that loss of SIT enhances the susceptibility to develop spontaneous or experimentally induced autoimmune diseases. We have also shown that SIT and the structurally related molecules TRIM and LAX functionally overlap. Whereas SIT and TRIM represent two negative regulators that together set the signaling threshold for positive selection, SIT and LAX cooperatively inhibit the expansion of peripheral CD4+ T cells and limit autoimmunity. In summary, our studies have demonstrated that transmembrane adaptor molecules represent critical regulators in lymphocyte biology that possess redundant functions. We have further investigated how transmembrane adaptors regulate TCR-mediated signaling. We found that SIT inhibits proximal TCR signaling and the Akt-Foxo pathway, thus suppressing T-cell proliferation. On the basis of these findings, we propose (i) the further characterization of how SIT regulates proximal TCR signaling and (ii) the investigation of the functional redundancy between SIT/TRIM and SIT/LAX at a molecular level.

---

**Projektleiter:** Dr. Luca Simeoni

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.05.2014 - 30.04.2017

**Funktionale Charakterisierung der Cysteinen von Lck und Zap-70 und Identifizierung neuer Oxidationstargets in Lymphozyten unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.**



Lck und ZAP-70 sind zwei wichtige Tyrosinkinasen, die das proximale TCR Signal orchestrieren. Neue Daten haben gezeigt, dass sie auch in der Signaltransduktion abwärts der BCR in Leukämiezellen beteiligt. Aktivierung von Lck und ZAP-70 als auch von vielen anderen Kinasen, über reversible Phosphorylierung von entscheidender Bedeutung Tyrosinreste geregelt. Die experimentelle Daten deuten darauf hin, dass, zusätzlich zu Tyrosinphosphorylierung auch reversible Oxidation (zB Sulfenylierung) von Cysteinresten, spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation der enzymatischen Aktivität von Tyrosinkinasen. Allerdings sind, ob Lck und ZAP-70 in einem Cystein reguliert Oxidations-abhängigen Weise noch nicht vollständig verstanden. Das Ziel dieses Projektes ist es, die funktionelle Rolle der Cysteinreste innerhalb Lck und ZAP-70 untersuchen sowohl unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Zu diesem Zweck haben wir Konstrukte erzeugt, die C bis A Substitutionen tragen und damit eine funktionale Charakterisierung mittels Lck- oder Zap-70-defizienten Jurkat T-Zelllinien durchgeführt. Vorläufige Daten zeigen, dass Cysteine innerhalb Lck (C217, C224, C378, und C476) und Zap-70 (C575) von entscheidender Bedeutung für die Funktion dieser Kinasen sind, da C bis A Mutanten nicht in vollem Umfang wiederherzustellen TCR-vermittelten Signaltransduktion in der Jurkat T-Zelllinien. Die Ziele dieses Projektes sind: (i) weitere biochemische und funktionelle Charakterisierung der Cystein-Mutanten, (ii) Generierung von Mausmodellen, um die Relevanz der Cysteinreste in vivo zu beurteilen, und (iii) Untersuchung Lck und ZAP-70 Cysteine in Leukämiezellen (zB chronische lymphatische Leukämie, CLL). Neben Lck und ZAP-70, können andere Signalmoleküle in einer Oxidations-abhängigen Weise geregelt werden. Targets der Sulfenylierung in Lymphozyten sind noch weitgehend unbekannt. Daher mit Hilfe Dimedon-basierter Systemen, haben wir die Sulfenylierungsmuster in Lymphozyten von gesunden Spendern als auch von CLL-Patienten untersucht. Wir haben festgestellt, dass beide gesund Lymphozyten und Leukämiezellen mehrere sulfenylierten Proteine zeigen. Interessanterweise zeigen CLL-Zellen ein spezifisches Muster von Protein Cystein Sulfenylierung, die sich von Zellen von gesunden Spendern unterscheidet. Eines der Ziele dieses Projekts ist auch sulfenylierten Protein (redoxome) in Lymphozyten sowohl von gesunden Spendern als auch von Leukämie-Patienten zu identifizieren. Wir hoffen, dass unsere Untersuchungen zur Entwicklung neuer molekularen und pharmakologischen Werkzeugen beitragen zur Modulation der Lymphozyten-Aktivierung um Autoimmunität, Immundefizienz und Leukämie zu behandeln.

---

**Projektleiter:** Dr. Luca Simeoni

**Förderer:** Weitere Stiftungen; 01.04.2014 - 31.03.2017

**LPS induzierte post-translationale Modifikationen der FLT3-Kinase als therapeutischer Angriffspunkt bei der akuten myeloischen Leukämie (AML)**

Zahlreiche Krebserkrankungen werden durch unterliegende inflammatorische Prozesse initiiert oder getrieben. Eine entzündliche Umgebung kann sowohl genetische als auch epigenetische Veränderungen bedingen, die zur malignen Transformation der Zelle beitragen. Auch post-translationale Modifikationen von Proteinen werden entzündlich modifiziert und können zur Krebsentstehung beitragen. Unser Ziel ist es diese Frage für eine in der Leukämogenese häufig betroffene Tyrosin-Kinase (FLT3) zu adressieren. Cystein-Oxidierung (Sulfonylierung) der FLT3-Kinase stellt einen neuen potentiellen Mechanismus der onkogenen Transformation dar. Speziell werden wir die Oxidierung von konservierten Cysteinen der FLT3-Kinase in Abhängigkeit eines entzündlichen Reizes (TLR-Rezeptor-Stimulation) untersuchen. Diese Untersuchungen werden im Zellkulturmodell wie auch an primärem Patientenmaterial erfolgen. Das Verständnis der Regulation dieser post-translationalen Modifikationen kann nicht nur zum besseren Verständnis der Leukämogenese sondern auch zur Entwicklung innovativer Therapiekonzepte beitragen.

---

**Projektleiter:** Dr. Luca Simeoni

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG); 01.01.2014 - 31.12.2017

**“In vitro and in vivo analyses of posttranslational modifications of the Src family kinases Lck and Fyn”**

In enger Kooperation mit der AG Schraven, fokussiert die Arbeitsgruppe Simeoni auf der mikroskopischen und biochemischen Analyse der Konformationsänderungen, die die Tyrosinkinase Src-Familie Lck im Rahmen der T-Zellaktivierung unterläuft. Die Frage, ob und ggf. wie das Lck-Molekül im Rahmen der T-Zellaktivierung aktiviert/modifiziert wird, beschäftigt die Immunologie seit mehreren Jahrzehnten. Mit Hilfe neuer mikroskopischer und hochaufgelöster Verfahren konnte von der Arbeitsgruppe Schraven vor Kurzem erstmals der Hinweis erbracht werden, dass das Lck-Molekül unmittelbar nach T-Zellaktivierung einer massiven konformationellen Änderung unterworfen wird, die zur Aktivierung der Kinase und somit zur Phosphorylierung von membrannahen Signalmolekülen führt. Die Arbeit wurde in 2013 in der Zeitschrift Science Signaling veröffentlicht und hat in der immunologischen Community reges Interesse hervorgerufen.



## 5. Veröffentlichungen

### **Begutachtete Zeitschriftenaufsätze**

**Belikov, Aleksey V.; Schraven, Burkhard; Simeoni, Luca**

TCR-triggered extracellular superoxide production is not required for T-cell activation

In: Cell communication and signaling. - London: Biomed Central; Bd. 12.2014, Art.-Nr. 50, insges. 10 S.;

[Imp.fact.: 4,672]

**Bronietzki, Alisha W.; Schuster, Marc; Schmitz, Ingo**

Autophagy in T-cell development, activation and differentiation

In: Immunology and cell biology. - Basingstoke: Nature Publishing Group, Bd. 92.2014;

[Imp.fact.: 4,205]

**Busse, Stefan; Steiner, Johann; Micheel, Justus; Dobrowolny, Henrik; Mawrin, Christian; Krause, Tim J.; Adamaszek, Michael; Bogerts, Bernhard; Bommhardt, Ursula; Hartig, Roland; Busse, Mandy**

Age-related increase of VGF-expression in T lymphocytes

In: Aging. - [S.l.]: Impact Journals, LLC, Bd. 6.2014, 6, S. 440-453;

**Drynda, Andreas; Singh, Gurpal; Buchhorn, Gottfried H.; Awiszus, Friedemann; Ruetschi, Marcel; Feuerstein, Bernd; Kliche, Stefanie; Lohmann, Christoph H.**

Metallic wear debris may regulate CXCR4 expression in vitro and in vivo

In: Journal of biomedical materials research. - New York, NY [u.a.]: WileyJournal of biomedical materials research / A, Bd. 103.2015, 2014;

[Imp.fact.: 2,841]

**Ewald, Frida; Annemann, Michaela; Pils, Marina C.; Plaza-Sirvent, Carlos; Neff, Frauke; Erck, Christian; Reinhold, Dirk; Schmitz, Ingo**

Constitutive expression of murine c-FLIPR causes autoimmunity in aged mice

In: Cell death & disease. - London [u.a.]: Nature Publishing Group; Bd. 5.2014, Art.-Nr. e1168, insges. 12 S.;

[Imp.fact.: 5,177]

**Fiedler, Anna; Grecksch, Gisela; Reinhold, Annegret; Schraven, Burkhard; Becker, Axel**

Hippocampus-dependent learning in SKAP-HOM deficient mice

In: Behavioural brain research. - Amsterdam: Elsevier, Bd. 270.2014, S. 125-130;

[Imp.fact.: 3,391]

**Franco, Rodrigo; Bortner, Carl D.; Schmitz, Ingo; Cidlowski, John A.**

Glutathione depletion regulates both extrinsic and intrinsic apoptotic signaling cascades independent from multidrug resistance protein

In: Apoptosis. - Dordrecht [u.a.]: Springer Science + Business Media B.V, Bd. 18.2013, insges. 18 S.;

[Imp.fact.: 3,949]

**Herold, Joerg; Francke, Alexander; Weinert, Soenke; Schmeisser, Alexander; Hebel, Katrin; Schraven, Burkhard; Roehl, Friedrich-Wilhelm; Strasser, Ruth H.; Braun-Dullaeus, Ruediger C.**

Tetanus toxoid-pulsed monocyte vaccination for augmentation of collateral vessel growth

In: Journal of the American Heart Association. - New York, NY: Association; Bd. 3.2014, 2, Art.-Nr. e000611, insges. 12 S.;

[Imp.fact.: 2,882]

**Jeltsch, Katharina M.; Hu, Desheng; Brenner, Sven; Zöller, Jessica; Heinz, Gitta A.; Nagel, Daniel; Vogel, Katharina U.; Rehage, Nina; Warth, Sebastian C.; Edelmann, Stephanie L.; Gloury, Renee; Martin, Nina; Lohs, Claudia; Lech, Maciej; Stehlein, Jenny E.; Geerlof, Arie; Kremmer, Elisabeth; Weber, Achim; Anders, Hans-Joachim; Schmitz, Ingo; Schmidt-Supprian, Marc; Fu, Mingui; Holtmann, Helmut; Krappmann, Daniel; Ruland, Jürgen; Kallies, Axel; Heikenwälder, Mathias; Heissmeyer, Vigo**

Cleavage of roquin and regnase-1 by the paracaspase MALT1 releases their cooperatively repressed targets to promote TH17 differentiation

In: Nature immunology. - New York, NY: Nature America Inc, Bd. 15.2014, 11, S. 1079-1089;

[Imp.fact.: 24,973]

**Kahlfuß, Sascha; Simma, Narasimhulu; Mankiewicz, Judith; Bose, Tanima; Lowinus, Theresa; Klein-Hessling, Stefan; Sprengel, Rolf; Schraven, Burkhardt; Heine, Martin; Bommhardt, Ursula**

Immunosuppression by N-Methyl-D-aspartate receptor antagonists is mediated through inhibition of Kv1.3 and KCa3.1 channels in T cells

In: Molecular and cellular biology. - Washington, DC: Soc, Bd. 34.2014, 5, S. 820-831;

[Imp.fact.: 5,372]

**Knievel, Judith; Schulz, Wolfgang A.; Greife, Annemarie; Hader, Christiane; Lübke, Tobias; Schmitz, Ingo; Albers, Peter; Niegisch, Günter**

Multiple mechanisms mediate resistance to sorafenib in urothelial cancer

In: International journal of molecular sciences. - Basel: Molecular Diversity Preservation International, Bd. 15.2014, 11, S. 20500-20517;

[Imp.fact.: 2,339]

**Kolesnik, Malgorzata; Becker, Elke; Reinhold, Dirk; Ambach, Andreas; Heim, Marcell U.; Gollnick, Harald; Bonnekoh, Bernd**

Treatment of severe autoimmune blistering skin diseases with combination of protein A immunoabsorption and rituximab - a protocol without initial high dose or pulse steroid medication

In: Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. - Oxford [u.a.]: Wiley-Blackwell, Bd. 28.2014, 6, S. 771-780;

[Imp.fact.: 3,105]

**Korthals, Mark; Schilling, Kerstin; Reichardt, Peter; Mamula, Dejan; Schlüter, Thomas; Steiner, Michael; Langnäse, Kristina; Thomas, Ulrich; Gundelfinger, Eckart; Premont, Richard T.; Tedford, Kerry; Fischer, Klaus-Dieter**

[Alpha]PIX RhoGEF supports positive selection by restraining migration and promoting arrest of thymocytes

In: The journal of immunology. - Bethesda, Md: Soc, Bd. 192.2014, 7, S. 3228-3238;

[Imp.fact.: 5,362]

**Lettau, Marcus; Kliche, Stefanie; Kabelitz, Dieter; Janssen, Ottmar**

The adapter proteins ADAP and Nck cooperate in T cell adhesion

In: Molecular immunology. - Amsterdam [u.a.]: Elsevier, Bd. 60.2014, 1, S. 72-79;

[Imp.fact.: 2,645]

**Mobashir, Mohammad; Madhusudhan, Thati; Isermann, Berend; Beyer, Tilo; Schraven, Burkhardt**

Negative interactions and feedback regulations are required for transient cellular response

In: Scientific reports. - London: Nature Publishing Group; Bd. 4.2014, Art.-Nr. 3718, insges. 8 S.;

[Imp.fact.: 5,078]

**Neumann, Jens; Riek-Burchardt, Monika; Herz, Josephine; Doepfner, Thorsten R.; König, Rebecca; Hütten, Heiko; Etemire, Eloho; Männ, Linda; Klingberg, Anika; Fischer, Thomas; Görtler, Michael W.; Heinze, Hans-Jochen; Reichardt, Peter; Schraven, Burkhardt; Hermann, Dirk M.; Reymann, Klaus G.; Gunzer, Matthias**

Very-late-antigen-4 (VLA-4)-mediated brain invasion by neutrophils leads to interactions with microglia, increased ischemic injury and impaired behavior in experimental stroke

In: Acta neuropathologica. - Berlin: Springer, Bd. 128.2014, insges. 19 S.;

[Imp.fact.: 9,777]

**Poltorak, Mateusz; Meinert, Ines; Stone, James C.; Schraven, Burkhardt; Simeoni, Luca**

Sos1 regulates sustained TCR-mediated Erk activation

In: European journal of immunology. - Weinheim: Wiley-VCH, Bd. 44.2014, 5, S. 1535-1540;

[Imp.fact.: 4,518]

**Rehberg, Kati; Kliche, Stefanie; Madencioglu, Deniz A.; Thiere, Marlen; Müller, Bettina; Meineke, Bernhard Manuel;**

**Freund, Christian; Budinger, Eike; Stork, Oliver**

The serine/threonine kinase Ndr2 controls integrin trafficking and integrin-dependent neurite growth  
In: The journal of neuroscience. - Washington, DC: Soc, Bd. 34.2014, 15, S. 5342-5354;  
[Imp.fact.: 6,747]

**Reinhold, Dirk; Brocke, Stefan**

DPP4-directed therapeutic strategies for MERS-CoV. Correspondence  
In: The lancet. - New York, NY: ElsevierThe lancet <London> / Infectious diseases, Bd. 14.2014, 2, S. 100-101;  
[Imp.fact.: 19,966]

**Roggenbuck, Dirk; Hiemann, Rico; Schierack, Peter; Reinhold, Dirk; Conrad, Karsten**

Digital immunofluorescence enables automated detection of antinuclear antibody endpoint titers avoiding serial dilution  
In: Clinical chemistry and laboratory medicine. - Berlin [u.a.]: De Gruyter, Bd. 52.2014, 2, S. e9-e11;  
[Imp.fact.: 3,009]

**Roggenbuck, Dirk; Reinhold, Dirk; Schierack, Peter; Bogdanos, Dimitrios P.; Conrad, Karsten; Laass, Martin W.**

Crohn's disease specific pancreatic antibodies - clinical and pathophysiological challenges  
In: Clinical chemistry and laboratory medicine. - Berlin [u.a.]: De Gruyter, Bd. 52.2014, 4, S. 483-494;  
[Imp.fact.: 3,009]

**Schmerse, Franziska; Woidacki, Katja; Riek-Burchardt, Monika; Reichardt, Peter; Roers, Axel; Tadokoro, Carlos Eduardo; Zenclussen, Ana Claudia**

In vivo visualization of uterine mast cells by 2-photon microscopy  
In: Reproduction. - Bristol: BioScientifica, Bd. 147.2014, 6, S. 781-788;  
[Imp.fact.: 3,555]

**Schreiber, Lisa; Pietzsch, Beate; Flöss, Stefan; Farah, Carla; Jänsch, Lothar; Schmitz, Ingo; Hühn, Jochen**

The Treg-specific demethylated region stabilizes Foxp3 expression independently of NF- $\kappa$ B signaling  
In: PLoS one. - Lawrence, Kan: PLoS; Bd. 9.2014, 2, Art.-Nr. e88318, insges. 10 S.;  
[Imp.fact.: 3,534]

**Schubert, Claudia; Guttek, Karina; Grüngreiff, Kurt; Thielitz, Anja; Bühling, Frank; Reinhold, Annegret; Brocke, Stefan; Reinhold, Dirk**

Oral zinc aspartate treats experimental autoimmune encephalomyelitis  
In: BioMetals. - Dordrecht [u.a.]: Springer Science + Business Media B.V, Bd. 27.2014, insges. 14 S.;  
[Imp.fact.: 2,689]

**Stoycheva, Diana; Deiser, Katrin; Stärck, Lilian; Nishanth, Gopala; Schlüter, Dirk; Uckert, Wolfgang; Schüler, Thomas**

IFN- $\gamma$  regulates CD8+ memory T cell differentiation and survival in response to weak, but not strong, TCR signals  
In: The journal of immunology. - Bethesda, Md: Soc, Bd. 193.2014, insges. 7 S.;  
[Imp.fact.: 5,362]

**Tammer, Ina; Reuner, Julia; Hartig, Roland; Geginat, Gernot**

Induction of Candida albicans biofilm formation on silver-coated vascular grafts  
In: The journal of antimicrobial chemotherapy. - Oxford: Oxford Univ. Press, Bd. 69.2014, 5, S. 1282-1285;  
[Imp.fact.: 5,439]

**Wex, Thomas; Grüngreiff, Kurt; Schütte, Kerstin; Stengritt, Maren; Reinhold, Dirk**

Expression analysis of zinc transporters in resting and stimulated human peripheral blood mononuclear cells  
In: Biomedical reports. - Athens: Spandidos Publ, Bd. 2.2014, 2, S. 217-222; analysis of zinc&journalId=

**Wolleschak, Denise; Mack, Thomas S.; Perner, Florian; Frey, Stephanie; Schnoeder, Tina M.; Wagner, Marie-Christine; Höding, Christine; Pils, Marina C.; Parkner, Andreas; Kliche, Stefanie; Schraven, Burkhardt; Hebel, Katrin; Brunner-Weinzierl, Monika; Ranjan, Satish; Isermann, Berend; Lipka, Daniel B.; Fischer, Thomas; Heidel, Florian H.**

Clinically relevant doses of FLT3-kinase inhibitors Quizartinib and Midostaurin do not impair T-cell reactivity and

function

In: Haematologica, the hematology journal. - Pavia: Ferrata Storti Foundation; Bd. 99.2014, 6, S. e90-e93;  
[Imp.fact.: 5,868]

### ***Dissertationen***

#### **Annemann, Michaela; Schmitz, Ingo [Gutachter]**

Functional studies on the role of I[Kappa]B NS in T helper cell differentiation. - Magdeburg, Univ., Fak. für Naturwiss., Diss., 2014; III, 108 Bl.: graph. Darst.; 30 cm;

#### **Bose, Tanima; Bommhardt, Ursula [Gutachter]**

Crosstalk between NMDAR antagonists and potassium channels in murine and human lymphocytes. - Magdeburg, Univ., Fak. für Naturwiss., Diss., 2014; 92 Bl.: graph. Darst.;

#### **Poltorak, Mateusz Pawel; Simeoni, Luca [Gutachter]**

Analysis of the TCR-mediated signaling dynamics. - Magdeburg, Univ., Fak. für Naturwiss., Diss., 2014, 2013; 79 Bl.: graph. Darst.; 30 cm;