



# Berlin Immunology Day

# 2013

organized by RCIS –  
Research Center ImmunoSciences

Wednesday March 20<sup>th</sup>, 2013 | 09:00 – 16:00h  
Berlin-Brandenburg Center for Regenerative Therapies  
Campus Virchow Klinikum

## RCIS Berlin Immunology Day

### Program

Wednesday, March 20<sup>th</sup>, 2013 | 09.00 – 16.00 h  
 Berlin-Brandenburg Center For Regenerative Therapies, CVK  
 Campus address: Südstr. 2 / Föhrerstr. 15

Time	Speaker	Title of Presentation
09.00 – 09.20	<b>Birgit Sawitzki</b> Director RCIS	<b>Welcome and report on the development of RCIS at the Charité</b>
<b>Session I - New methodological concepts to study immune processes –chaired by H.-D. Volk</b>		
09.20 – 09.50	<b>Andreas Beilhack</b> Universitätsklinikum Würzburg	<b>Mapping immune responses in intact tissues at cellular resolution</b>
09.50 – 10.10	<b>Anja Kühn</b> AG Erben/Kühl, Charité	Histopathology - Method of microscopic disease diagnosis from stained tissue sections
10.10 – 10.30	<b>David Boes</b> AG Sawitzki, Charité	Mapping of intrahepatic immune cells and gene expression to define liver transplant tolerance
10.30 – 11.00	<b>Nina Babel</b> AG Reinke/Babel, Charité	<b>In situ TCR sequencing to model anti-viral immune responses</b>
11.00 – 11.30	<b>Coffee Break</b>	
<b>Session II - Molecular regulation of cellular responses-chaired by B. Sawitzki</b>		
11.30 – 12.00	<b>Markus Landthaler</b> BIMSB	<b>Insights into mammalian protein-mRNA interactomes</b>
12.00 – 12.20	<b>Lars Fransecky</b> AG Baldus, Charité	Expression and regulation of GATA3 in acute leukemias
12.20 – 12.40	<b>Anja Fröhlich</b> AG Löhning, Charité	IL-33 signals control antiviral T cell responses
12.40 – 13.10	<b>Katarzyna Tyc</b> AG Klipp, Humboldt Universität	<b>Game theoretical approach to study host-pathogen interactions. The effect of Efg1p variability on Candida albicans fitness</b>
13.10 – 14.00	<b>Lunch and Poster Session</b>	
<b>Session III – New therapeutic concepts / translation– chaired by B. Siegmund</b>		
14.00 – 14.30	<b>Benno Rattel</b> AMGEN Research (Munich) GmbH	<b>Immunotherapy With BiTE® Antibodies: Lessons Learned From Blinatumomab</b>
14.30 – 14.50	<b>Arvind Batra</b> AG Siegmund, Charité	Polarized macrophages - a therapeutic option to modulate intestinal inflammation
14.50 – 15.10	<b>Jennifer Pfeil</b> AG Hamann, Charité	Induction of antigen-specific tolerance by carrier conjugated peptides'
15.10 – 15.30	<b>Leif Erik Sander</b> AG Sander, Charité	How the immune system measures infectious threats
15.30 – 16.00	<b>Ahmed Sheriff</b> AG Sheriff, Charité	<b>Hurdles in the development of new medical products</b>

Presentations in English | Keynotes 20 min + 10 min Discussion | other presentations 15 min +5 min Discussion

## Inhaltsverzeichnis Arbeitsgruppen (alphabetisch nach AG-Leitung)

1.....Baldus, Claudia .....	4
2.....Dörner, Andrea.....	6
3.....Grabowski, Patricia.....	8
4.....Hamann, Alf.....	12
5.....Kramer, Achim.....	15
6.....Kühl, Anja / Erben, Ulrike .....	17
7.....Or-Guil, Michal .....	20
8.....Salama, Abdulgabar.....	22
9.....Sander, Leif-Erik.....	25
10....Sawitzki, Birgit.....	28
11....Sheriff, Ahmed.....	32
12....Siegmund, Britta.....	35
13....Sieper, Joachim.....	37
14....Volkmer, Rudolf.....	39
Kontakt .....	41

**Arbeitsgruppenleiterin:**

Prof. Dr. med. Claudia D. Baldus  
Charité, Campus Benjamin Franklin  
Hämatologie, Onkologie  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin, Germany  
Phone: +49-30-8445-4922/2337  
Fax: +49-30-8445-4468  
Email: [claudia.baldus@charite.de](mailto:claudia.baldus@charite.de)

Webseite: [http://haema-cbf.charite.de/forschung/wissenschaftliche\\_arbeitsgruppen/ag\\_baldus/](http://haema-cbf.charite.de/forschung/wissenschaftliche_arbeitsgruppen/ag_baldus/)

**Genutzte Räume:** TDH Räume: 205, 206

**Namen der im TDH arbeitenden Mitarbeiter:**

Isabelle Bartram	(PhD Studentin)
Frauke Liebertz	(PhD Studentin)
Liliana Mochmann	(Diplom Biologin)
Jutta Ortiz Tanchez	(Biotechnologin)
Marlene Luther	(Medizinstudentin)

**Namen der im Haupthaus arbeitenden Mitarbeiter:**

Cornelia Schlee	(Biotechnologin)
Eva von der Heide	(PhD Studentin)
Anna-Juliane Schmachtenberg	(PhD Studentin)
Martin Neumann	(Dr. med.)
Lars Fransecky	(Dr. med.)
Hannes Kroenlein	(Dr. med.)

**Achievements:**

2011: W3 Stiftungsprofessur der Deutschen Krebshilfe für „molekulare Leukämieforschung  
2012: Stipendium der Hans-Böckler Stiftung (Frauke Liebertz)

**Forschungsthemen:**

Die Charakterisierung von genetischen Veränderungen bei akuten Leukämien hat wesentlich zum Verständnis der Leukämogenese beigetragen. Neben der prognostischen Bedeutung von molekularen Markern liegt zudem die Hoffnung in der Entwicklung von neuen, spezifischen Therapieansätzen, die gegen diese alterierten Regulationswege gerichtet sind. Die Arbeiten der Arbeitsgruppe konzentrieren sich auf die Identifizierung mittels Next-Generation-Sequencing und Charakterisierung von Kandidatengenomen, die bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) und der lymphoblastischen Leukämie (ALL) von Bedeutung sind.

Im Rahmen der Mildred Scheel Stiftungsprofessur (Deutsche Krebshilfe) für molekulare Leukämieforschung wird zudem ein Schwerpunkt auf die Untersuchung des Knochenmarkstromas von Leukämiepatienten gelegt. Durch genomweite Analysen sollen genetische Veränderungen in Stromazellen von AML Patienten identifiziert werden. Im Weiteren soll die funktionelle Bedeutung dieser Veränderungen im Hinblick auf den Einfluss auf die Leukämie-Stroma-Interaktion untersucht werden. Die Untersuchungen sollen offenlegen, inwieweit die Leukämie-Stroma-Interaktion die Wirksamkeit von neuen Substanzen gegen die Leukämiezellen herabsetzt. Neben verschiedenen Einzelsubstanzen sollen in einem small-molecule-screen neue Substanzen identifiziert werden, die spezifisch die Stroma vermittelte Resistenz überwinden.

**Ausgewählte Publikationen:**

**Baldus CD**, Liyanarachchi S, Mrozek K, Auer H, Tanner SM, Guimond M, Ruppert AS, Mohamed N, Davuluri RV, Caligiuri MA, Bloomfield CD, de la Chapelle A. Acute myeloid leukemia with complex karyotypes and abnormal chromosome 21: Amplification discloses overexpression of APP, ETS2, and ERG genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:3915-3920. **IF 10.5**

**Baldus CD**, Martus P, Burmeister T, Schwartz S, Gökbuget N, Bloomfield CD, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK. Low *ERG* and *BAALC* expression identifies a new subgroup of adult acute T-lymphoblastic leukemia with a highly favorable outcome. *J Clin Oncol*. 2007;25:3739-3745 **IF 11.8**

Mochmann LH, Bock J, Ortiz-Tánchez J, Schlee C, Bohne A, Neumann K, Hofmann WK, Thiel E, **Baldus CD**. Genome-wide screen reveals WNT11, a non-canonical WNT gene, as a direct target of ETS transcription factor ERG. *Oncogene*. 2011;30:2044-56. **IF 6.4**

Blau O, **Baldus CD**, Hofmann WK, Thiel G, Nolte F, Burmeister T, Türkmen S, Benlasfer O, Schümann E, Sindram A, Molkentin M, Mundlos S, Keilholz U, Thiel E, Blau IW. Mesenchymal stromal cells of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients have distinct genetic abnormalities compared with leukemic blasts. *Blood*. 2011;118:5583-92. **IF 9.8**

Kühnl A, Gökbuget N, Kaiser M, Schlee C, Stroux A, Burmeister T, Mochmann LH, Hoelzer D, Hofmann WK, Thiel E, **Baldus CD**. Overexpression of LEF1 predicts unfavorable outcome in adult patients with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2011;118:6362-7. **IF 9.8**

Bock J, Mochmann LH, Schlee C, Farhadi-Sartangi N, Göllner S, Müller-Tidow C, **Baldus CD**. ERG Transcriptional Networks in Primary Acute Leukemia Cells Implicate a Role for ERG in Deregulated Kinase Signaling. *PLoS One*. 2013;8(1):e52872. **IF 4.1**

**Drittmittelprojekte:**

ab 10/2011      Einzelförderung durch Deutsche Jose Carreras Leukämie Stiftung  
**Rolle von IGFBP7 bei akuten Leukämien und Mechanismen der IGFBP7  
assozierten Chemotherapieresistenz**  
Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie  
Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 205**

ab 10/2011      Stiftungsprofessur der Deutschen Krebshilfe  
**Mildred Scheel Professur für molekulare Leukämieforschung**  
Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie  
Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 205**

**Pathophysiologische Veränderungen des mitochondrialen Energiestoffwechsels bei inflammatorischer Kardiomyopathie****Arbeitsgruppenleiterin:**

Dr.rer.nat Andrea Dörner  
Centrum 11, Campus Benjamin Franklin  
Kardiologie und Pneumologie  
Tel.: 8445 4581/4346; Fax: 8445 4648  
Andrea.doerner@charite.de

**Genutzter Raum:** Tibor-Diamantstein-Haus, Raum 209

**Mitarbeiter:**

Julia Winter (Biologische Doktorandin)  
Sabine Knüppel (Technische Assistentin)



A.Dörner

J.Winter

S.Knüppel

**Forschungsthemen:**

Myokarditis wird in unseren Breiten vor allem durch klassische kardiotope Viren wie Coxsackie- und Adenoviren ausgelöst. Das Coxsackievirus B3 ist diesbezüglich das best untersuchteste virale Pathogen. Virale Replikation und (auto)-immunologische Mechanismen verursachen dabei in Abhängigkeit der genetischen/immunologischen Prädisposition des Organismus intrazelluläre Veränderungen, die langfristig zu Störungen der myokardialen Pumpfunktion und zur Herzinsuffizienz führen. Mitochondriale Fehlfunktionen und ein damit verbundener eingeschränkter zellulärer Energiestoffwechsel tragen hierbei zur Schwere der Erkrankungen bei. Wir analysieren welchen Einfluss immunologische Komponenten auf die mitochondriale Funktion nehmen und inwieweit sie an dem antiviralem Prozess des infizierten Gewebes beteiligt ist.

Des Weiteren arbeiten wir nach unserer Identifizierung von löslichen Formen des Coxsackie-Adenovirus-Rezeptors an deren therapeutischen Verwendung als antivirales Agens.

**Multi-User-Geräte**

Inkubator für Bakterienkulturen, Fluoreszenz-Inversmikroskop, Realtime-PCR

**Spezielle Techniken**

Myokarditis-Tiermodelle, CVB3-Infektionen, Expression von Proteinen im bakteriellen System, Mitochondrienanalysen u.a.

**Drittmittelprojekte:**

SFB-Projekt C7, Transregio 19: 7/2008 -6/2012

DFG-Projekt FE 785/2-1: 2009-2012

Beteiligt am DFG-Projekt FE785/2-2: 2013-2015

**Ausgewählte Publikationen:**

Heger J, Abdallah Y, Shahzad T, Klumpe I, Piper HM, Schultheiss HP, Schlüter KD, Schulz R, Euler G, **Dörner A**. (2012) Transgenic overexpression of the adenine nucleotide translocase 1 protects cardiomyocytes against TGF $\beta$ 1-induced apoptosis by stabilization of the mitochondrial permeability transition pore. *J Mol Cell Cardiol*;53(1):73-81. **IP 5,116**

Loers G, Makhina T, Bork U, **Dörner A**, Schachner M, Kleene R. (2012) The interaction between cell adhesion molecule L1, matrix metalloproteinase 14, and adenine nucleotide translocator at the plasma membrane regulates L1-mediated neurite outgrowth of murine cerebellar neurons. *J Neurosci*;32(11):3917-30. **IP 7,115**

Pinkert S, Klingel K, Lindig V, **Dörner A**, Zeichhardt H, Spiller OB, Fechner H (2011). Virus host co-evolution in a persistent CVB3 infected cardiomyocyte cell line. *J Virol*;85(24):13409-19. **IP 5,189**

Ebermann L, Wika S, Klumpe I, Hammer E, Klingel K, Lassner D, Völker U, Erben U, Zeichhardt H, Schultheiss HP, **Dörner A** (2012). The mitochondrial respiratory chain has a critical role in the antiviral process in Coxsackievirus B3-induced myocarditis. *Lab Invest*;92(1):125-34 **IP 4,405**

Vogelpohl I, Vetter R, Heger J, Ebermann L, Euler G, Schultheiss HP, **Dörner A** (2011). Transgenic overexpression of heart-specific adenine nucleotide translocase 1 positively affects contractile function in cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem*;27(2):121-8. **IP 3,585**

Riad A, Westermann D, Zietsch C, Savvatis K, Becher PM, Bereswill S, Heimesaat MM, Lettau O, Lassner D, **Dörner A**, Poller W, Busch M, Felix SB, Schultheiss HP, Tschöpe C (2011). TRIF is a critical survival factor in viral cardiomyopathy. *J Immunol*;186(4):2561-70. **IP 5,745**

Pinkert S, Westermann D, Wang X, Klingel K, **Dörner A**, Savvatis K, Gröbl T, Krohn S, Tschöpe C, Zeichhardt H, Kotsch K, Weitmann K, Hoffmann W, Schultheiss HP, Spiller OB, Poller W, Fechner H (2009) Prevention of Cardiac Dysfunction in Acute Coxsackievirus B3 Cardiomyopathy by Inducible Expression of a Soluble Coxsackievirus-Adenovirus-Receptor. *Circulation* 120(23):2358-66. **IP 14,595**

Ebermann L, Piper C, Kühl U, Klingel K, Schlattner U, Siafarikas N, Zeichhardt H, Schultheiss HP, **Dörner A**. (2009) Impact of myocardial inflammation on cytosolic and mitochondrial creatine kinase activity and expression. *Basic Res Cardiol* 104(3):247-57 **IP 5,407**

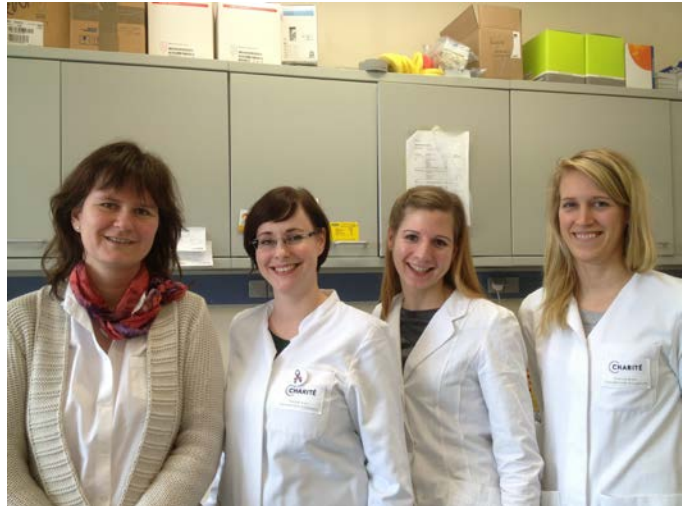
Wang Y, Ebermann L, Sterner-Kock A, Wika S, Schultheiss H.P, **Dörner A**, Walther T. (2009) Myocardial overexpression of adenine nucleotide translocase 1 ameliorates diabetic cardiomyopathy in mice. *Exp Physiol*: 94(2) 220-7. **IP 2,91**

Antoniak S, Boltzen U, Riad A, Kallwellis-Opara A, Rohde M, **Dörner A**, Tschöpe C, Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss HP, Rauch U. (2008) Viral myocarditis and coagulopathy: increased tissue factor expression and plasma thrombogenicity. *J Mol Cell Cardiol* 45(1):118-26. **IP 5,2**

Lim BK\*, Xiong D\*, **Dörner A\***, Youn TJ, Yung A, Liu TI, Gu Y, Dalton ND, Wright AT, Evans SM, Chen J, Peterson KL, McCulloch AD, Yajima T, Knowlton KU.(2008) Coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) mediates atrioventricular-node function and connexin 45 localization in the murine heart. *J Clin Invest* 118(8):2758-70. **author contributed equally to the study IP 16,9**

**Arbeitsgruppenleiterin:**

PD Dr. med. Patricia Grabowski  
Gastwissenschaftlerin am  
CC13, Med. Klinik I  
Gastroenterologie, Infekt., Rheumatologie  
Charité-Campus Benjamin Franklin  
Tibor-Diamantstein-Haus  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
E-mail: patricia.grabowski@charite.de  
Tel.: +49 30 8445 4579  
Fax: +49 30 450514990

**Genutzte Räume:**

Raum 213

**Mitarbeiterinnen:**

Dipl. biochem. Franziska Briest, Dipl. med. vet. Florentine Lewens, Dipl. pharm. Helma Freitag,  
Dr. med. Inna Georgieva, Yawen Wang, Ärztin, Jessica Slotta, Medizinstudentin

**Forschungsthemen:**

Der Hauptfokus der Arbeitsgruppe liegt in der Erforschung von neuen, spezifischen, diagnostisch oder therapeutisch nutzbaren potentiellen „Targets“ gastrointestinaler Tumorerkrankungen. Als besonders spannendes Modell interessieren uns hier die gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumore (GEP-NETs), weil sie extrem heterogen in ihrer Tumorbilologie sind und somit Ansatz für verschiedenste Forschungs-schwerpunkte bieten.

**Hintergrund/Rationale:**

Trotz einiger Fortschritte im Verständnis der Tumorbilologie von GEP-NETs sind noch viele Fragen bzgl. der Pathogenese offen. Wir sehen klinisch oft genug sehr heterogene Krankheitsbilder, die sich nicht nur in Lokalisation und Funktionalität des Primärtumors, sondern auch innerhalb der Tumorentitäten (wie z.B. bei neuroendokrinen Tumoren des Dünndarms) deutlich unterscheiden. Hier sind Tumorgröße, ki-67 Index, Angioinvasion zwar Parameter, die uns die Malignität des einzelnen Tumors verdeutlichen, aber die zugrunde liegenden Mechanismen, die zu einem solchen Tumorverhalten führen, sind weitestgehend unerforscht. Wir glauben, dass ein solches Verständnis der zugrunde liegenden Signalwege notwendig ist, um „wirklich“ maßgeschneiderte Therapien für diese Patienten anbieten zu können. Sunitinib als Multikinase-Inhibitor und Everolimus als mTOR-Inhibitor sind natürlich bahnbrechende Entwicklungen für – wahrscheinlich ausschließlich – pankreatische NETs (beweisende Untersuchungen bei den anderen Tumorlokalisationen stehen noch aus), möglicherweise sind sie aber in ihrer Effektivität limitiert (bisher gibt es noch keine längeren Verläufe, die Schlüsse über „Resistenzmechanismen“ zulassen). Wir postulieren, dass hier „feedback loops“ eine Rolle spielen, die z.B. nach mTOR Inhibierung zu einer P13Kinase/AKT Aktivierung führen. Von daher macht es Sinn, zum einen präklinisch an spezifischen GEP-NET-Zelllinien die veränderten Signalwege und die Effekte spezifischer Inhibitionen an diesen Signalwegen näher zu beleuchten, zum anderen aber auch mit diesem Erkenntnisgewinn neue Substanzen generieren zu können, die tatsächlich „spezifisch“ wirken, und zwar nach Stratifizierung der Tumore nach molekularbiologischen Gesichtspunkten.



Daraus ergibt sich folgende *Zielsetzung*:

Ziel des übergeordneten Projektes bei GEP-NETs ist es, die spezifischen Signalwege, die für die maligne Transformation von GEP-NETs verantwortlich sind, genauer zu charakterisieren. Vor allem die Mediatoren, die den PI3K-Weg mit der Expression von Survivin verbinden bzw. die Survivin in GEP-NETs regulieren, sollen aufgefunden gemacht werden. Die meisten Therapieansätze dieser Entität erweisen sich aufgrund vielfältiger *Feedback Loops* und Quervernetzung der Signalwege als schwierig oder zeigen nur Wirksamkeit für ein ganz geringes Patientenkollektiv. Ein Therapeutikum, das weit genug am unteren Ende der Signaltransduktions-Kaskaden ansetzt, um die meisten Loops zu umgehen, ist das Ziel vielfältiger Bemühungen. Dazu bedarf es eines detaillierten Wissens über die Malignitäts-assoziierte Signaltransduktion in GEP-NETs. Das Projekt konzentriert sich zunächst auf die funktionelle Rolle verschiedener Kandidatenproteine, die sowohl für die Expression von Survivin, als auch für die Malignität von GEP-NETs eine entscheidende Rolle spielen könnten und sich *downstream* der gängigen onkogenen Kaskaden befinden. Ziel ist es, deren Einbettung in das Netzwerk und wichtige regulatorische Merkmale, wie posttranslationale Modifikation im zellulären Kontext zu charakterisieren.

In einem angegliederten Projekt sollen neuroendokrine Lungentumore als eigenständige Entität genauer untersucht werden.

Neuroendokrine Lungenkarzinome sind eine heterogene funktionell meist aktive Sub-Gruppe der Lungenkarzinome. Das Spektrum reicht von gut differenzierten typischen Karzinoiden mit guter Prognose, über mäßig differenzierte atypische Karzinoide, bis hin zu sehr schlecht differenzierten hochmalignen kleinzelligen Lungenkarzinomen, die eine außerordentlich schlechte Prognose mit mittleren Überlebenszeiten weit unter einem Jahr aufweisen. Aufgrund der niedrigen Inzidenz sind die besser differenzierten Tumore weitestgehend wenig erforscht und man benötigt suffiziente Differenzierungsmarker, um hier gezielte Therapieansätze zu schaffen. Eine Biomarker-basierte Unterscheidung der Subtypen ist bisher kaum etabliert und auch zielgerichtete Therapien dieser Tumorentitäten ebenfalls unzureichend entwickelt. Grund dafür sind die geringen Daten zu Sekretionsmustern und die wenig erforschte Signaltransduktion. Im Projekt Lungen-NETs soll vor allem der in neuroendokrinen Lungenkarzinoiden am besten erforschte Signalweg der Phosphoinositid-3-Kinase-Weg, im Vergleich zu den kleinzelligen Karzinomen der Lunge weiter charakterisiert werden, um mögliche neue „Targets“ und Malignitätsmarker, die eine Progression von schwach zu hoch-malignen Subtypen begünstigen, zu identifizieren. Diese Informationen könnten zu einer genaueren Klassifikation, einer verbesserten Diagnostik und zur Entwicklung neuer Therapieansätze beitragen.

*Bereits laufende Forschungsprojekte:*

Mitose-regulierende Gene wie der sog. „Chromosomal passenger complex“, der aus Aurorakinasen, INCENP und Survivin besteht und dem eine proliferationsfördernde Funktion zugeschrieben wird, werden von uns untersucht. Survivin als Mitglied der „Inhibitor-of-Apoptosis-Familie“ ist „bifunktional“, anti-apoptotisch und mitosefördernd. Wir haben Survivin immunhistochemisch in verschiedenen gastrointestinalen Tumoren überexprimiert nachgewiesen und konnten zeigen, dass die nukleäre Expression von prognostischer Bedeutung ist. Insbesondere für die neuroendokrinen Tumoren der WHO Klasse 2 (well-differentiated neuroendocrine carcinomas), die bisher am wenigsten gut definiert ist, könnte Survivin sich als neuer relevanter Prognosemarker etablieren. Ob Survivin auch therapeutisch beeinflussbar ist, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe. Zum Einsatz kommen hier spezifische siRNA-Moleküle für Survivin, die uns von der Arbeitsgruppe um Frau Professor Zaffaroni dank einer engen wissenschaftlichen Kooperation zur Verfügung stehen, sowie experimentelle antisense-Substanzen, die wir über verschiedene Pharma-Firmen erhalten. Wir benutzen die gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Zelllinien BON, QGP-1 und MIP101 und prüfen die funktionelle Bedeutung von Survivin für Apoptose, Zellzyklus- und Wachstumsregulation sowie für die Chemo- und Strahlenresistenz von Tumoren. Dazu werden auch

Kombinationsversuche mit siRNA/antisense-survivin und „etablierten“ Bio- und Chemotherapeutika durchgeführt.

In Kooperation mit der Zentralklinik Bad Berka, Zentrum für Neuroendokrine Tumore, untersuchen wir zusätzlich Patientenproben auf den Nachweis von Survivin im Serum als potentiellen Verlaufparameter bei diesen Patienten. Wir haben hierzu Proben sowohl präoperativ als auch postoperativ zu verschiedenen Zeitpunkten und vor verschiedenen Therapiefolgen gewonnen und werten diese mit den vorhandenen Patientenverlaufsdaten aus.

Als weiteres Mitglied des Chromosomal passenger complex interessieren uns die Aurora-kinasen. Hier haben wir zunächst immunhistochemisch an unserem Patientenkollektiv den Nachweis der Expression von Aurorakinase B geführt und ein ähnliches Verteilungsmuster wie für Survivin festgestellt. Die kommerziell erhältliche Substanz ZM 447439, ein Aurorakinase-Inhibitor, wurde daraufhin bei unseren verschiedenen gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Zelllinien getestet und antiproliferative und proapoptotische Effekte unterschiedlichen Ausmaßes gefunden. Diese Arbeit ist bereits publiziert worden.

ZM 447439 ist eine ausschließlich für die Forschung entwickelte Substanz, die aufgrund bestimmter Löslichkeitseigenschaften für die Klinik nicht in Frage kommt. Wir haben von der Firma Astra Zeneca das entsprechende, klinisch in ersten Phase I-Studien getestete Produkt „AZD1152“ erhalten. Mit dieser Substanz werden z. Z. Bestätigungsexperimente an den genannten Modell-Zelllinien durchgeführt. Ziel hierbei ist es, eine Phase II-Studie bei gastrointestinalen neuroendokrinen Tumoren guter Differenzierung durchzuführen.

In Kooperation mit der Klinik für Chirurgie der Charité-Campus Benjamin Franklin, mit Herrn PD Dr. M. Kruschewski, untersuchen wir die immunhistochemische Expression und das Verteilungsmuster von Survivin und Aurora Kinase B auch an einem großen Kollektiv kolorektaler Karzinome unterschiedlichen Stadiums, diese Untersuchungen befinden sich bereits in der statistischen Auswertung. Sollten sich hier interessante Ergebnisse zeigen, werden sich weitere Zellkulturexperimente anschließen. Hier sind Kombinationsversuche mit etablierten Chemotherapeutika wie 5-FU, Oxaliplatin, Irinotecan, aber auch den molekular zielgerichteten Therapien wie Cetuximab oder Bevacizumab von Interesse.

### Spezialtechniken:

Immunhistochemie, intrazelluläre Färbung für Durchflusszytometrie, Doppelfärbungen, SSCP-PCR-Analysen, siRNA-Technik, ELISA

### Ausgewählte Publikationen:

- |  | IF         |
|--|------------|
| 1. A.P. Sutter, K. Maaser, <b>P. Grabowski</b> , G. Bradacs, K. Vormbrock, M. Höpfner, A. Krahn, B. Heine, H. Stein, R. Somasundaram, D. Schuppan, M. Zeitz, H. Scherübl. Peripheral benzodiazepine receptor ligands induce apoptosis and cell cycle arrest in human hepatocellular carcinoma cells and enhance chemosensitivity to paclitaxel, docetaxel, doxorubicin and the Bcl-2 inhibitor HA 14-1. <i>Journal of Hepatology</i> 2004, 41: 799-807 | <b>7,0</b> |
| 2. K. Maaser*, <b>P. Grabowski*</b> , Y. Özdem, A. Krahn, B. Heine, H.-J. Buhr, M. Zeitz, H. Stein, H. Scherübl. Up-regulation of the peripheral benzodiazepine receptor during human colorectal carcinogenesis and tumor spread. <i>Clinical Cancer Research</i> 2005, 11:1751-1756 (*Dual first-authorship)  | <b>6,7</b> |
| 3. <b>P. Grabowski</b> , S. Griß, C.N. Arnold, D. Hörsch, R. Göke, R. Arnold, B. Heine, H. Stein, M. Zeitz, H. Scherübl. Nuclear survivin is a powerful novel prognostic marker in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor disease. <i>Neuroendocrinology</i> 2005, 81:1-9   | <b>2,9</b> |

4. **P. Grabowski**, J. Schrader, J. Wagner, D. Hörsch, R. Arnold, C.N. Arnold, I. Georgieva, H. Stein, M. Zeitz, P.T. Daniel, I. Sturm. Loss of nuclear p27 expression and its prognostic role in relation to cyclin E and p53 mutation in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Clinical Cancer Research* 2008, 14(22):7378-84 **6,7**
5. C.N. Arnold, T. Nagasaka, A. Goel, I. Scharf, **P. Grabowski**, A. Sosnowski, A. Schmitt-Gräf, C.R. Boland, R. Arnold, H.E. Blum. Molecular characteristics and predictors of survival in patients with malignant neuroendocrine tumors. *International Journal of Cancer* 2008, 123(7):1556-64 **4,7**
6. I. Georgieva, D. Koychev, Y. Wang, J. Holstein, W. Hopfenmüller, M. Zeitz, **P. Grabowski**. ZM 447439, a novel promising aurora kinase inhibitor, provokes antiproliferative and pro-apoptotic effects alone and in combination with bio- and chemotherapeutic agents in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor cell lines. *Neuroendocrinology* 2010,91(2):121-30. **2,9**

### Drittmittelprojekte:

Ernst-von-Leyden Promotionsstipendium der Berliner Krebsgesellschaft für Inna Georgieva 05/06-05/07

Stipendium des DAAD für Inna Georgieva 05/07-11/07

Sonnenfeld-Stiftung Promotionsstipendium für Inna Georgieva 12/07-03/08

Studentische Forschungsförderung für Yawen Wang 04/08-03/09

Sonnenfeld-Stiftung: Verschiedene Geräte zur Unterstützung des Projektes: „Survivin: Bedeutung für Wachstum, Apoptose, Zellzyklusregulation von neuroendokrinen gastroenteropankreatischen Tumoren“. 13.000 Euro.

Lydia-Rabinowitsch-Stipendium der Charité zur Unterstützung der Projekte von Frau Dr. Patricia Grabowski 04/09-10/09. 10.075 Euro.

Forschungsförderung Zentralklinik Bad Berka für das Projekt: „Signaltransduktion gastroenteropankreatischer neuroendokriner Tumor-assoziiierter Malignitätsmarker“:

03/12-10/12. 18.000 Euro (Personalkosten Franziska Briest)

11/12-10/14 20.000 Euro/Jahr (Sachkosten)

11/12-10/14 Promotionsstipendium für Florentine Lewens (12.000 Euro/Jahr)

11/12-10/14 Personalkosten Franziska Briest (WiMi-Stelle)

Lydia-Rabinowitsch-Stipendium der Charité zur Unterstützung der Projekte von Frau PD Dr. Patricia Grabowski 05/12-10/12. 8.000 Euro.

Ipsen-Pharma: 15.000 Euro/Jahr „Signaltransduktion bei GEP-NETs“ 08/12-07/14

**AG Experimentelle Rheumatologie****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Alf Hamann  
AG Experimentelle Rheumatologie  
Deutsches Rheuma-Forschungszentrum  
und Charité Universitätsmedizin Berlin  
Charitéplatz 1  
10117 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 28460655  
Fax: ++49 (0)30 28460656  
E-mail: hamann@drfz.de

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 04/015; Mitbenutzung: 04/004,5,7,16,17, 02/023

**Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Postdoc: Dr. Ute Hoffmann; Doktoranden: Jennifer Pfeil, Elisabeth Kenngott, Matthias Kröger, Francesca Diane Liu; Technische Assistenz: Uta Lauer;  
Tel. 450-513407, -513417 (Labor)

**Homepage:**

<http://www.drfz.de/index~25.htm>

**Forschungsthemen:**

Chronisch-entzündliche Erkrankungen wie rheumatoide Arthritis und Allergien werden durch eine mangelhaft kontrollierte Reaktivität des Immunsystems verursacht. Sie haben eine hohe sozio-ökonomische Bedeutung, denn herkömmliche Therapieansätze sind teilweise ineffizient, unspezifisch, mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden und die Heilung ist nicht dauerhaft. Regulatorische T-Zellen (Tregs) und andere immunsuppressive Faktoren spielen eine wichtige Rolle bei der Kontrolle von Immunreaktionen. Diese regulatorischen Mechanismen wollen wir uns für die Entwicklung neuartiger Therapieansätze zu Nutze zu machen, um die körpereigenen Toleranzmechanismen zu aktivieren, so dass die immunologische Balance wiederhergestellt wird und pathogene inflammatorische Aktivitäten supprimiert werden.

So erforschen wir am Modell der Influenza-Infektion wie ein Überschießen der Immunreaktion und die damit verbundene Gewebszerstörung verhindert werden, jedoch eine gleichzeitige effektive Entfernung der Viren gewährleistet wird.

Weiterhin erproben wir neue Ansätze zur *in vivo* Induktion von Tregs zur Antigen-spezifischen tolerogenen Vakzinierung, indem wir T-Zell-Epitope an Trägermoleküle koppeln und so deren tolerogene Wirksamkeit verstärken. Diese Ansätze stellen eine attraktive Strategie zur Behandlung von Autoimmunität und entzündlichen Erkrankungen dar.

**Projekte am Standort Hess. Str.:***a) Immunregulation viraler Erkrankungen:*

Am Modell der Influenza-Infektion untersuchen wir die regulatorischen Mechanismen, die eine Schädigung des Gewebes bei der Pathogenabwehr begrenzen und andererseits die Entstehung einer chronischen Infektion verhindern. Wir wollen herausfinden, wie sich pro- und anti-inflammatorische Zytokine gegenseitig beeinflussen und ob man diese Erkenntnisse für die Entwicklung immunmodulatorischer Therapien einsetzen kann. So haben wir IL-27 als Schlüsselzytokin zur Regulation der inflammatorischen Immunantwort identifiziert, da es sowohl angeborene als auch adaptive Zellen beeinflusst. Auch dessen therapeutische Wirkung haben wir bereits erfolgreich getestet: Eine Behandlung am Peak der Infektion mit IL-27 führte zu verringerter Lungenschädigung und trug zur Beschleunigung der Heilung bei. Dieser protektive Effekt lässt sich auf eine niedrigere Expression der pro-inflammatorischen Zytokine IL-17 und  $IFN\gamma$  sowie auf eine reduzierte Chemokinproduktion in den Atemwegen zurückführen. Außerdem war die Konzentration des regulatorischen Zytokins IL-10 in der Lunge signifikant erhöht. Wir konnten CD11b+ und CD11c+ Zellen als Target der IL-27 abhängigen Chemokinregulation identifizieren. Welche Faktoren die Chemokinexpression regulieren und von IL-27 beeinflusst werden, versuchen wir im Moment herauszufinden.

*b) Modifikation von T-Zell-Epitopen zur antigen-spezifischen tolerogenen Vakzinierung*

Frühere Versuche, durch Vakzinierung mit Peptiden Autoimmunität zu therapieren, sind weitgehend erfolglos geblieben, da zum einen die Wirksamkeit kleiner Peptide begrenzt ist, zum anderen gefährliche Immunaktivierungen durch die Peptide im Tiermodell beobachtet wurden. Durch die Kopplung von Autoantigenen an synthetische, immunologisch inerte makromolekulare Trägermoleküle sollen beide Nachteile einfacher Peptidpräparate vermieden werden. Wir vergleichen dazu unterschiedliche Trägermoleküle wie Polyethylenglykol (PEG) oder Polyglycerol (PG) verschiedener Größe und Struktur. Wir haben nachgewiesen, dass die Bioverfügbarkeit von Peptiden durch Kopplung an unsere Carrier erheblich beeinflusst wird, wobei PEG-Moleküle über 20kd und PGs mit großer Verzweigung am stärksten die Bioverfügbarkeit verlängerten. Im Modell der Multiplen Sklerose (EAE) konnten wir bereits zeigen dass sich mit PEGylierten-Autoantigen-Peptiden eine effiziente Protektion erreichen lässt, die auf der Induktion regulatorischer T-Zellen (Treg) und der Suppression antigen-spezifischer Effektor-T-Zellen beruht. Ob die Polyglycerol-Konjugate ebenso wirksam sind, wollen wir demnächst testen.

*c) Immunmodulation durch Induktion tolerogener Signalwege:*

Wir wollen (Auto-)antigenenkonstrukte erzeugen, die immunmodulatorisch wirken, in dem wir relevante T-Zell-Epitope an Liganden koppeln, die in tolerogene Signalwege involviert sind. Es ist bekannt, dass eine Phagozytose apoptotischer Zellen Ignoranz gegenüber dem aufgenommenen Antigen erzeugt. Dabei spielen Liganden, die eine Brücke zwischen apoptotischen Zellen und tolerogenen Antigenpräsentierenden Zellen (APCs) bilden, in dem sie an apoptotische Zellen und an Rezeptoren der APC binden, eine wichtige Rolle. Kopplung von Autoantigenen an solche Liganden könnte so zur Induktion von Toleranz führen. Ein *in vitro* Proliferationsassay bestätigte bereits unsere Annahme: Die Induktion/Expansion von Foxp3+ Tregs im Vergleich zu freiem Peptid wurde deutlich verstärkt. Die *in vivo* Wirksamkeit wird nun getestet.

*d) Peptidmodifikation von Proteinen oder Peptiden zur Förderung der mukosalen Transzytose*

Unser Kooperationspartner T. Pernthaler (AgResearch, Neuseeland) hat für Vakzinierungszwecke mittels „Phage display Screening“ Peptidsequenzen (Muc-Peptide) identifiziert, die daran gekoppelte Makromoleküle rasch durch die Mukosa des Darmes transportieren. Durch das Anfügen dieser Muc-Peptide an Autoantigen-Peptide oder klinisch eingesetzte Polypeptide wie Hormone (Insulin), Zytokine oder Antikörper möchten wir deren mukosale Aufnahme verbessern. Durch Laser-Scanning-Mikroskopie haben wir gezeigt, dass Modellproteine, die an Muc-Peptide gekoppelt wurden, von

einer bestimmten Unterart von Darmepithelzellen aufgenommen werden. Außerdem detektierten wir unsere Muc-Konstrukte in CD11c+ dendritischen Zellen in den Peyer'schen Plaques des Dünndarmes, was darauf hindeutet, dass diese Zellen eine wichtige Rolle für deren Transport spielen. Durch Kopplung von Muc-Peptiden an OVA-Peptid (pOVA) wurde dessen mukosale Aufnahme stark erhöht, was sich durch die verstärkte Proliferation pOVA-spezifischer CD4+ T-Zellen widerspiegelte. Dieses Konzept soll nun auf größere Moleküle wie Antikörper oder Hormone übertragen werden.

### Spezialtechniken:

#### Verschiedene Mausmodelle:

Modelle zur Toleranzinduktion und *in vivo* Induktion von Foxp3+ Tregs (DEREGxDO11.10), DTH, Colitismodelle, Arthritis, Influenza, EAE (MOG-Modell, SJLxB10.PL-Modell)

#### Analysen:

Homing, Sortierung und Nachweis regulatorischer T-Zellen, Laser Scanning Mikroskopie, Infrarot-Imaging

### Ausgewählte Publikationen:

Doebis, C., A. Menning, K. Neumann, S. Ghani, K. Schlawe, U. Lauer, **A. Hamann**, J. Huehn, and U. Syrbe. 2011. Accumulation and local proliferation of antigen-specific CD4(+) T cells in antigen-bearing tissue. *Immunol Cell Biol* 89: 566-572.

Steinfelder, S., S. Floess, D. Engelbert, B. Haeringer, U. Baron, L. Rivino, B. Steckel, A. Gruetzkau, S. Olek, J. Geginat, J. Huehn, and **A. Hamann**. 2011. Epigenetic modification of the human CCR6 gene is associated with stable CCR6 expression in T cells. *Blood* 117: 2839-2846.

**Hamann A.** Regulatory T cells stay on course. *Immunity*. 2012 Feb 24;36(2):161-3.

Neumann K, Kruse N, Szilagy B, Erben U, Rudolph C, Flach A, Zeitz M, **Hamann A**, Klugewitz K. 2012. Connecting liver and gut: murine liver sinusoidal endothelium induces gut tropism of CD4+ T cells via retinoic acid. *Hepatology*. Jun;55(6):1976-84

Schroeter MF, Ratsch BA, Lehmann J, Baumgrass R, **Hamann A**, Syrbe U. 2012. Differential regulation and impact of fucosyltransferase VII and core 2 (beta) 1,6-N-acetyl-glycosaminyltransferase for generation of E- and P-selectin ligands in murine CD4(+) T cells. *Immunology*. Dec;137(4):294-304.

Cording, S., D. Fleissner, M. M. Heimesaat, S. Bereswill, C. Loddenkemper, S. Uematsu, S. Akira, **A. Hamann**, and J. Huehn. 2013. Commensal microbiota drive proliferation of conventional and Foxp3+ regulatory CD4+ T cells in mesenteric lymph nodes and Peyer's patches. *Eur J Microbiol Immunol*, in press.

### Drittmittelprojekte:

#### Im RCIS durchgeführt:

BMW i	ZIMProjekt	Entwicklung von konjugierten Peptiden für die Immuntherapie	Hamann
DFG	SFB 650 TP1	Induction of stable Foxp3+ regulatory T cells	Hamann

#### Weitere Drittmittelprojekte der AG Hamann:

DFG	SFB 633	B1: Mukosa and homing/differentiation of T cells	Hamann
DFG	TR52	Epigenetic control of the transcription of homing receptors	Syrbe/Hamann
DFG	Einzel	Epigenetische Signaturen von Gedächtnis-T-Zellen DFG	Hamann/Löhning
BMBF	DEEP	Epigenetics of inflammatory T cells	Hamann

**AG Chronobiologie –  
Institut für Medizinische Immunologie****Arbeitsgruppenleiter:**

Univ. Prof. Dr. Achim Kramer  
Laboratory of Chronobiology  
Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Hessische Str. 3-4  
D-10115 Berlin, Germany

Tel +49-(0)30-450 524263

Fax +49-(0)30-450 524942

[achim.kramer@charite.de](mailto:achim.kramer@charite.de)

<http://www.achim-kramer-lab.de/>

**Genutzte Räume:**

Hessische Str. 3-4, 10115 Berlin:

04010, 04011, 04016, 05002, 05003, 05004, 05005, 05006, 05007\*, 05011\*, 05012, 05013, 05018, 05019

(\* = gemeinsame Nutzung mit AG Volkmer)

**Mitarbeiter:**

Dr. Bert Maier, Dr. Silke Reischl, Dr. Ute Abraham, Dr. Roman Klemz, Astrid Grudziecki, Annette Hayungs, Jeannine Mazuch, Katja Schellenberg, Manjana Saleh, Sandra Korge, Sebastian Jäschke, Neta Tuvia

**Homepage:**

<http://www.achim-kramer-lab.de/>

**Forschungsthemen:**

Unsere Arbeitsgruppe befasst sich mit den molekularen Grundlagen des circadianen Systems von Säugern und dessen Auswirkung auf physiologische und Verhaltensprozesse. Dabei studieren wir unter anderem die Regulation intrazellulärer Prozesse (mit live cell imaging Techniken), die molekulare circadiane Oszillationen generieren. Ein Schwerpunkt liegt hierbei auf posttranslationalen Mechanismen (z.B. Phosphorylierung), die die Dynamik circadianer Oszillationen und damit auch Physiologie und Verhalten entscheidend beeinflussen. Über Kooperation mit theoretischen Biologen/Mathematikern entwickeln wir theoretische Konzepte zur Generierung molekularer Oszillationen und Synchronisierung von oszillierenden Systemen. Ein weiterer Schwerpunkt unserer Forschungen ist die Untersuchung der Funktion circadianer Uhren für Physiologie im Gehirn sowie in peripheren Organen. Neben Untersuchungen zu Synchronisation und Funktion der circadianen Uhr im olfaktorischen Bulbus studieren wir die Rolle der circadianen Uhr im Immunsystem sowie für metabolische Prozesse.

**Multi-User:**

Quantitative PCR (ABI), Kryostat (Micron), LC-MS/MS (Waters)

**Ausgewählte Publikationen:**

1. Maier B, **Kramer A** (2013) A NONO-gate times the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013 Jan 16 Epub ahead of print]
2. Spörl F, Korge S, Jürchott K, Wunderskirchner M, Schellenberg K, Heins S, Specht A, Stoll C, Klemz R, Maier B, Wenck H, Schrader A, Kunz D, Blatt T, **Kramer A**. (2012) Kruppel-like factor 9 is a circadian transcription factor in human epidermis that controls proliferation of keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:10903-10908.
3. Kucera N, Schmalen I, Hennig S, Öllinger R, Strauss H, Grudziecki A, Wieczorek C, **Kramer A**, Wolf E (2012) Unwinding the differences of the mammalian PERIOD clock proteins from crystal structure to cellular function. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:3311-3316.
4. Abraham U, Granada AE, Westermark PO, Heine M, **Kramer A\***, Herzel H (2010) Coupling governs entrainment range of circadian clocks. *Mol Sys Biol* 6:438. (\*=corresponding author)
5. Keller M, Mazuch J, Abraham U, Eom GD, Herzog ED, Volk HD, **Kramer A\***, Maier B (2009) A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(50):21407-12. (\*=corresponding author; this paper was highlighted in Nature)
6. Maier B, Wendt S, Vanselow JT, Wallach T, Reischl S, Oehmke S, Schlosser A, **Kramer A** (2009) A large-scale functional RNAi screen reveals a role for CK2 in the mammalian circadian clock. *Genes & Dev* 23:708-718
7. Hennig S, Strauss HM, Vanselow K, Yildiz Ö, Schulze S, Arens J, **Kramer A**, Wolf E (2009) Structural and functional analyses of PAS domain interactions of the clock proteins *Drosophila* PERIOD and mouse PERIOD2. *PLoS Biol* 7:e1000094.
8. Brown SA, Kunz D, Dumas A, Westermark PO, Vanselow K, Tilmann-Wahnschaffe A, Herzel H, **Kramer A** (2008) Molecular insights into human daily behaviour. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105:1602-7. (IF 9.6, 2006)
9. Zhao W-N, Malinin N, Yang F-C, Staknis D, Gekakis N, Maier B, Reischl S, **Kramer A**, Weitz CJ (2007) CIPC is a mammalian circadian clock protein without invertebrate homologs. *Nature Cell Biol* 9:268-75 (IF 18.5, 2006)
10. Vanselow K, Vanselow JT, Westermark PO, Reischl S, Maier B, Korte T, Herrmann A, Herzel H, Schlosser A, **Kramer A** (2006) Differential effects of PER2 phosphorylation: molecular basis for the human familial advanced sleep phase syndrome (FASPS). *Genes & Dev* 20:2660-2672 (IF 15.1, 2006)
11. **Kramer A**, Yang F-C, Snodgrass P, Li X-D, Scammell TE, Davis F, Weitz CJ (2001) Regulation of daily locomotor activity, sleep by hypothalamic EGF receptor signalling. *Science* 294:2511-2515 (IF 29.0, 2002)

**Drittmittelprojekte:**

DFG: SFB 618/A4 SFB 740/D2 KliFO 218 SPP 1395 MA 5108

BMBF: PolarTime (HVI) Bernstein Center CN

(alle Projekte werden im RCIS durchgeführt)



**Arbeitsgruppenleiterinnen:**

Dr. rer. medic. Anja A. Kühl (Medizinische Klinik I)  
Dr. rer. nat. Ulrike Erben (Medizinische Klinik I)  
Charité – Campus Benjamin Franklin  
Immunbiologischer und  
Gastroenterologischer Forschungsbereich (IGF)  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin

**Mitarbeiter:**

Katja Blunert (MTA)  
Katja Grollich (MTA)  
Simone Spieckermann (MTA)

**Genutzte Räume:**

1861 (Histopathologisches Labor),  
1862/3 (Molekularbiologisches Labor),  
E812 (Büro/Mikroskop)

**Forschungsthemen:**

Die Expertise der Arbeitsgruppe liegt bei der Entwicklung systematischer Methoden zur Beurteilung histopathologischer Veränderungen in Mensch und Tier in entzündlichen Erkrankungen und zur *in situ*-Detektion definierter Zellpopulationen. Schwerpunkt ist hierbei die zentrale systematische Bewertung pathologischer Veränderungen (Scoring) in Tiermodellen (CED, Hepatitis, Arthritis u.a.). Spezifische Scores z.B. für Transfercolitis oder ConA-Hepatitis spiegeln spezifische Unterschiede und Gemeinsamkeiten der Entzündungsmuster in den vielfältigen Modellen wider. In der Analyse entzündlicher Erkrankungen beim Menschen werden wir durch Christoph Loddenkemper unterstützt. Gleichzeitig verfügen wir über ein breites methodisches Spektrum zur immunhistologischen Charakterisierung muriner und humaner Zellen (z.B. Lymphozyten, Makrophagen, dendritische Zellen), anatomischer Strukturen (z.B. Gefäße) oder von Zellvorgängen (z.B. Proliferation, Apoptose). Die Funktionalität, die Aktivität und Antigenspezifität von Zellsubpopulationen können z.B. über die Produktion von Zytokinen und Chemokinen immunfluoreszenzoptisch und immunhistochemisch *in situ* dargestellt werden. Mit einer Vielfalt rekombinanter Methoden, die z.B. die Expression von MHC/HLA-Molekülen und die Markierung von Bakterien einschließen, werden entzündungsrelevante Antigene für funktionelle CD8<sup>+</sup> oder CD4<sup>+</sup> T-Zellen in chronischen Entzündungen identifiziert und verifiziert. Daraus werden Rückschlüsse auf die präsentierenden Strukturen und auf restringierte Peptide für *in situ*-Nachweismethoden möglich.

**Multi-User-Geräte/-Techniken:**

- Luminescent Image Analyser/ FujiFilm LAS-4000

Ferner könnte für andere Arbeitsgruppen interessant sein:

- Standardisierte Beurteilung pathologischer Veränderungen verschiedener Organe im Entzündungsgeschehen und die damit verbundene Nachweis-Methodik (Immunhistochemie, Immunfluoreszenz).
- Unterstützung bei der Konstruktion, pro- oder eukaryontischen Expression sowie Reinigung rekombinanter Proteine.
- Experimentelle Unterstützung bei verschiedenen CED-Modellen (Maus, Ratte) sowie bei der Lymphozytenisolierung (z.B. aus der Lamina propria) und bei der durchflusszytometrischen Analyse (z.B. intrazellulärer Zytokine)

**Ausgewählte Publikationen (2012):**

1. Wang C, Xiao M, Liu X, Ni C, Liu J, **Erben U**, Qin Z. Interferon gamma-mediated down-regulation of LXA4 is necessary for the maintenance of non-resolving inflammation and papilloma persistence. *Cancer Res.* 2013 Jan 16. [Epub ahead of print] [IF: 7.856]
2. Schuster M, Glauben R, Plaza-Sirvent C, Schreiber L, Annemann M, Floess S, **Kühl AA**, Clayton LK, Sparwasser T, Schulze-Osthoff K, Pfeffer K, Huehn J, Siegmund B, Schmitz I. I $\kappa$ B(NS) Protein Mediates Regulatory T Cell Development via Induction of the Foxp3 Transcription Factor. *Immunity.* 2012; 37(6):998-1008. [IF: 21.637]
3. Daridon C, Loddenkemper C, Spieckermann S, **Kühl AA**, Salama A, Burmester GR, Lipsky PE, Dörner T. Splenic proliferative lymphoid nodules distinct from germinal centers are sites of autoantigen stimulation in immune thrombocytopenia. *Blood.* 2012;120(25):5021-31. [IF: 9.898]
4. Freise C, Trowitzsch-Kienast W, Ruehl M, **Erben U**, Seehofer D, Kim KY, Zeitz M, Somasundaram R. (+)-Episesamin exerts anti-neoplastic effects in human hepatocellular carcinoma cell lines via suppression of nuclear factor-kappa B and inhibition of MMP-9. *Invest New Drugs.* 2012;30(6):2087-95. [IF: 3.357]
5. Coordes A, Andreou A, **Erben U**, Strohm T, Blunert K, Slavova N, Siegmund B, Buhr HJ, Kroesen AJ. Recombinant human beta 2-defensin fusion proteins as a tool to investigate defensin structure and function in small human intestinal tissue samples. *Inflamm Res.* 2012;61(12):1411-20. [IF: 2.109]
6. Daniłowicz-Luebert E, Steinfeld S, **Kühl AA**, Drozdenko G, Lucius R, Worm M, Hamelmann E, Hartmann S. A nematode immunomodulator suppresses grass pollen-specific allergic responses by controlling excessive Th2 inflammation. *Int J Parasitol* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.10.014>. [IF: 3.393]
7. Herda S, Raczkowski F, Mittrücker HW, Willimsky G, Gerlach K, **Kühl AA**, Breiderhoff T, Willnow TE, Dörken B, Höpken UE, Rehm A. The sorting receptor Sortilin exhibits a dual function in exocytic trafficking of interferon- $\gamma$  and granzyme A in T cells. *Immunity.* 2012;37(5):854-66. [IF: 21.637]
8. Zhao X, Rong L, Zhao X, Li X, Liu X, Deng J, Wu H, Xu X, **Erben U**, Wu P, Syrbe U, Sieper J, Qin Z. TNF signaling drives myeloid-derived suppressor cell accumulation. *J Clin Invest.* 2012;122(11):4094-104. [IF: 13.069]
9. Batra A, Heimesaat MM, Bereswill S, Fischer A, Glauben R, Kunkel D, Scheffold A, **Erben U**, **Kühl A**, Loddenkemper C, Lehr HA, Schumann M, Schulzke JD, Zeitz M, Siegmund B. Mesenteric fat - control site for bacterial translocation in colitis? *Mucosal Immunol.* 2012;5(5):580-91. [IF: 6.963]
10. Haag LM, Fischer A, Otto B, Plickert R, **Kühl AA**, Göbel UB, Bereswill S, Heimesaat MM. Campylobacter jejuni induces acute enterocolitis in gnotobiotic IL-10<sup>-/-</sup> mice via Toll-like-receptor-2 and -4 signaling. *PLoS One.* 2012;7(7):e40761. [IF: 4.092]
11. Schumann M, Winter S, Wichner K, May C, **Kühl AA**, Batra A, Siegmund B, Zeitz M, Schulzke JD, Lipp M, Höpken UE. CCR7 deficiency causes diarrhea associated with altered ion transport in colonocytes in the absence of overt colitis. *Mucosal Immunol.* 2012;5(4):377-87. [IF: 6.963]
12. Heimesaat MM, Boelke S, Fischer A, Haag LM, Loddenkemper C, **Kühl AA**, Göbel UB, Bereswill S. Comprehensive postmortem analyses of intestinal microbiota changes and bacterial translocation in human flora associated mice. *PLoS One.* 2012;7(7):e40758. [IF: 4.092]

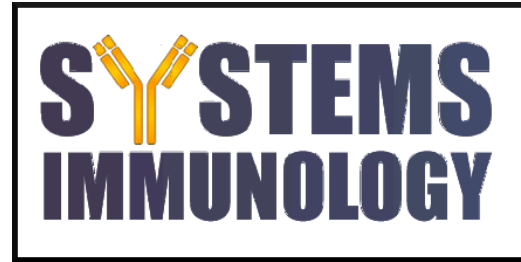
13. Freise C, Trowitzsch-Kienast W, **Erben U**, Seehofer D, Kim KY, Zeitz M, Ruehl M, Somasundaram R. (+)-Episesamin inhibits adipogenesis and exerts anti-inflammatory effects in 3T3-L1 (pre)adipocytes by sustained Wnt signaling, down-regulation of PPAR $\gamma$  and induction of iNOS. *J Nutr Biochem*. 2012; doi:10.1016/j.jnutbio.2012.02.004. [IF: 3.891]
14. Neumann K, Kruse N, Szilagyi B, **Erben U**, Rudolph C, Flach A, Zeitz M, Hamann A, Klugewitz K. Connecting liver and gut: murine liver sinusoidal endothelium induces gut tropism of CD4<sup>+</sup> T cells via retinoic acid. *Hepatology*. 2012;55(6):1976-84. [IF: 11.665]
15. Haag LM, Fischer A, Otto B, Plickert R, **Kühl AA**, Göbel UB, Bereswill S, Heimesaat MM. Intestinal microbiota shifts towards elevated commensal *Escherichia coli* loads abrogate colonization resistance against *Campylobacter jejuni* in mice. *PLoS One*. 2012;7(5):e35988. [IF: 4.092]
16. Kredel LI, Batra A, Stroh T, **Kühl AA**, Zeitz M, **Erben U**, Siegmund B. Adipokines from local fat cells shape the macrophage compartment of the creeping fat in Crohn's disease. *Gut*. 2012; doi: 10.1136/gutjnl-2011-301424. [IF: 10.111]
17. Stange J, Hepworth MR, Rausch S, Zajic L, **Kühl AA**, Uyttenhove C, Renauld JC, Hartmann S, Lucius R. IL-22 mediates host defense against an intestinal intracellular parasite in the absence of IFN- $\gamma$  at the cost of Th17-driven immunopathology. *J Immunol*. 2012;188(5):2410-8. [IF: 5.788]
18. Shalapour S, Deiser K, **Kühl AA**, Glaben R, Krug SM, Fischer A, Sercan O, Chappaz S, Bereswill S, Heimesaat MM, Loddenkemper C, Fromm M, Finke D, Hämmerling GJ, Arnold B, Siegmund B, Schüller T. Interleukin-7 links T lymphocyte and intestinal epithelial cell homeostasis. *PLoS One*. 2012;7(2):e31939. [IF: 4.092]
19. Mayer CT, **Kühl AA**, Loddenkemper C, Sparwasser T. Lack of Foxp3<sup>+</sup> macrophages in both untreated and B16 melanoma-bearing mice. *Blood*. 2012;119(5):1314-5. [IF: 9.898]
20. Ebermann L, Wika S, Klumpe I, Hammer E, Klingel K, Lassner D, Völker U, **Erben U**, Zeichhardt H, Schultheiss HP, Dörner A. The mitochondrial respiratory chain has a critical role in the antiviral process in Coxsackievirus B3-induced myocarditis. *Lab Invest*. 2012;92(1):125-34. [IF: 3.641]
21. Schinnerling K, Moos V, Geelhaar A, Allers K, Loddenkemper C, Friebel J, Conrad K, **Kühl AA**, **Erben U**, Schneider T. Regulatory T cells in patients with Whipple's disease. *J Immunol*. 2011;187(8):4061-7. [IF: 5.788]

#### Drittmittelprojekte:

- Histomorphologische Beurteilung und *in-situ* Analyse regulatorischer- und Effektorzellen; Kühl, Heppner, TP-Z3 SFB 650 ‚Zelluläre Ansätze zur Suppression unerwünschter Immunreaktionen‘ (01/2013-12/2016)
- Entwicklung systematischer morphologischer Methoden zur Beurteilung mukosaler Entzündungsreaktionen und zur *in-situ*-Detektion definierter Zellpopulationen; Kühl, Siegmund, Schulzke, TP-Z1 SFB 633 ‚Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt‘ (07/2011-06/2015)

**AG Systemimmunologie****Arbeitsgruppenleiterin:**

Dr. Michal Or-Guil  
Humboldt Universität zu Berlin  
Institut für Biologie  
Systems Immunology Laboratory  
E-Mail: m.orguil@biologie.hu-berlin.de,  
michal.orguil@gmail.com  
Telefon +49 30 450-513424

**Standort:**

RCIS, Hessische Straße 3 – 4 ,  
Raum 02-023  
Telefon +49 30 450-524044

**Mitarbeiter:**

Dr. Nicole Wittenbrink, Dr. Juliane Lück, Dipl.-Phys. Tom Weber, Sylvia Uhlmann.

**Homepage:** <http://sysimm.eu/>

**Forschungsthemen:**

Hauptmerkmal der humoralen Immunantwort ist die Erhöhung der mittleren Affinität von Antikörpern zum Zielantigen als Folge der sogenannten Affinitätsreifung. Trotz intensiver Forschungsarbeit sind die Mechanismen, die zur Affinitätserhöhung führen, bislang nur wenig verstanden. Auch reichen die Kenntnisse noch nicht aus, um die mit der Affinitätserhöhung einhergehende Diversität und Spezifität von Immunantworten zu bestimmen, oder um Antigene, die die Immunantwort ausgelöst haben, zu identifizieren.

Die Hauptinteressen unserer Arbeitsgruppe liegen in der Erforschung der Mikroevolution von Antikörpern, der Charakterisierung des Antikörper-Repertoires sowie in der Nutzung von Antikörper-Reaktivitäten im Blut für diagnostische Zwecke. Dazu machen wir Gebrauch von verschiedenen experimentellen Techniken (konfokale Mikroskopie, Multiparameter-Durchflusszytometrie, Hochdurchsatz-Affinitätsmessungen mit Peptid-Mikroarrays) in Kombination mit computergestützter Datenanalyse (mathematische Modellierung und maschinelles Lernen). Es werden zurzeit folgende Themen bearbeitet:

- Technologische Bewertung und Optimierung verschiedener Plattformen zur Hochdurchsatz-Messung von Antikörper-Reaktivitäten im Blut
- Klassifizierung von Antikörper-Repertoires mittels Peptid-Mikroarray-Bindungsstudien zur Diagnose und Prognose von Erkrankungen
- Datenanalyse und mathematische Modellierung zur Untersuchung der Affinität und Spezifität von Antikörper-Repertoires und zur Epitopvorhersage
- Entwicklung einer Plattform-übergreifenden Software zur Auswertung von Hochdurchsatz-Datensätzen zu Antikörper-Reaktivitäten
- Entwicklung von Konzepten zur Datenintegration und –Auswertung in der personalisierten Medizin

**Multi-User Geräte:**

Microarray Scanner GenePix 4200AL  
Tecan HS 4800 Pro Hybridisierungsstation

**Ausgewählte Publikationen:**

J. Faro, **M. Or-Guil**: How oligoclonal are germinal centers? A new method for estimating clonal diversity from immunohistological sections, *BMC Bioinformatics* (in press)

V. Greiff, H. Redestig, J. Lück, N. Bruni, A. Valai, S. Hartmann, S. Rausch, J. Schuchhardt, **M. Or-Guil**: A minimal model of peptide binding predicts ensemble properties of serum antibodies, *BMC Genomics* (2012)

N. Wittenbrink, A. Klein, A.A. Weiser, J. Schuchhardt, **M. Or-Guil**: Is there a typical germinal center? A large-scale immunohistological study on the cellular composition of germinal centers during the hapten-carrier-driven primary immune response in mice, *J. Immunol.* (2011)

A. Weiser, N. Wittenbrink, L. Zhang, A.I. Schmelzer, A. Valai, **M. Or-Guil**: Affinity maturation of B cells involves not only a few but a whole spectrum of relevant mutations, *Int. Immunol.* (2011)

N. Wittenbrink, T. S. Weber, A. Klein, A. A. Weiser, W. Zuschratter, M. Sibia, J. Schuchhardt, **M. Or-Guil**: Broad volume distributions indicate non-synchronized growth and suggest sudden collapses of germinal center B cell populations, *J. Immunol.* (2010)

J. Bongartz, N. Bruni, **M. Or-Guil**: Epitope mapping using randomly generated peptide libraries, *Methods Mol Biol.* (2009)

**M. Or-Guil**, N. Wittenbrink, A. A. Weiser, J. Schuchhardt: Recirculation of germinal center B cells: a multilevel selection strategy for antibody maturation, *Imm. Rev.* (2007)

J. Bongartz, V. Tapia, M. Schutkowski, N. Bruni, A. Weiser, B. Ay, R. Volkmer, **M. Or-Guil**: Affinity Profiling Using the Peptide Microarray Technology: A Case Study, *Anal. Biochem.* (2007)

**M. Or-Guil**, A. A. Weiser, V. Tapia, A. Leichsenring, J. Schuchhardt, C. Frömmel, R. Volkmer-Engert: SPOT synthesis: Reliability of Array-Based Measurement of Peptide Binding Affinity, *Anal. Biochem.* (2005)

M. Bär, L. Brusch, **M. Or-Guil**: Mechanism for Spiral Wave Breakup in Excitable and Oscillatory Media, *Phys. Rev. Lett.* (2004)

M. Bär, **M. Or-Guil**: Alternative Scenarios of Spiral Breakup in a Reaction-Diffusion Model with Excitable and Oscillatory Dynamics, *Phys. Rev. Lett.* (1999)

**Drittmittelprojekte:**

- SeroPep-Konsortium (BMWi). Weitere Partner: Charité, Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT), PolyAn GmbH, Biosyntan GmbH, Medipan GmbH
- SeroProfiler-Konsortium (BMWi). Weiterer Partner: MicroDiscovery GmbH

**AG Salama****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Abdulgabar Salama  
Institut für Transfusionsmedizin  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
Augustenburger Platz 1  
13353 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 553012  
Fax: ++49 (0)30 553932  
E-Mail: [abdulgabar.salama@charite.de](mailto:abdulgabar.salama@charite.de)

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 3113-03-01/02

**Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Julian Kamhieh-Milz, Viktor Sterzer, Sahime Celik und weitere  
Tel. 450-565804  
Fax. 450-565904

**Homepage:**

<http://www.trans.charite.de>

**Forschungsthemen:****1. Autoimmunthrombozytopenie**

Die idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP), auch Autoimmunthrombozytopenie genannt ist eine Erkrankung, die durch einen beschleunigten Thrombozytenabbau charakterisiert ist. Bei knapp 60% der Patienten sind Autoantikörper gegen thrombozytäre Antigene nachweisbar. Der Grund für die Entstehung der Thrombozytopenie ist bislang unbekannt. Hauptforschungsziel ist die Aufklärung der Pathomechanismen, die in der Autoimmunthrombozytopenie involviert sind.

Die interzelluläre Kommunikation von möglicherweise dysregulierten Immunzellen erfolgt über sekretierte Proteine (Interleukine, Zytokine, Wachstumsfaktoren, etc). Aus diesem Grund wurde mit Hilfe eines Antikörper Mikroarrays 750 sekretorische Proteine von 40 ITP Patienten und gesunden Spendern quantitativ untersucht. Die Ergebnisse werden baldig veröffentlicht. Im Fokus des letzten Jahres standen auch die Identifizierung neuer/weiterer Autoantigene mit Hilfe zweier komplementärer Verfahren (AMIDA (MS-basiertes Verfahren) Protein Arrays). Die Befunde können aus patentrechtlichen Gründen hier noch nicht offengelegt werden. Derzeit befinden wir uns bei der Downstream-Validierung. Die Veröffentlichung der Ergebnisse ist bis Mitte des Jahres anvisiert. Als Nebenbefund sind wir jedoch darauf aufmerksam geworden, das *de novo* Mutation im Myosin-9 Gen (MYH9) mit Thrombozytopenien assoziiert werden. Wir haben daher ein Sceningverfahren auf der Basis der Immunfluoreszenzmikroskopie entwickelt um Mutationen durch Proteinaggregate in Neutrophilen nachzuweisen. In der Tat wurden bei knapp 15% der ITP Patienten mögliche Mutationen nachgewiesen. Diese Befunde müssen jedoch erst noch genetisch mit Hilfe von RNA-Sequencing (Illumina HiSeq 2000) bestätigt werden. Es sind für dieses Jahr auch noch mRNA und miRNA Expressionsstudien geplant.

**2. Stammzellforschung**

Hämatopoetische Stamm-und Progenitorzellen (HSPC) sind durch ihre Fähigkeit definiert, sich selbst zu regenerieren und sich in alle Zelltypen des blutbildenden Systems zu entwickeln. Sie bilden die Grundlage der Zelltherapie zur Behandlung zahlreicher maligner und nicht-maligner hämatopoetischer Erkrankungen. Darüber hinaus stellen sie ein vielversprechendes Ziel der

Gentherapie dar, wodurch möglicherweise eine Vielzahl von Krankheiten behandelt werden könnte. Zu den wichtigsten Einschränkungen derartiger Behandlungen zählen u.a. die häufig geringe Anzahl verfügbarer Zellen sowie das unzureichende Engraftment transplanteder Stammzellen. Die experimentellen *ex vivo* Kultivierungen von HSPC dienen als Basis zur Erfindung weiterer Maßnahmen zur Steigerung der Zellzahl und des Engraftmentpotenzials der zu transplantierten Stammzellen. In diesem Zusammenhang ist die Ko-kultur mit Feederzellen ein vielversprechendes Werkzeug. Humane Endothelzellen aus der Nabelschnurvene (HUVEC) sind dafür bekannt, zahlreiche Zytokine zu produzieren, die bekanntermaßen eine wichtige Rolle bei der Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Progenitorzellen spielen. Um die Faktoren zu identifizieren, die für die hämatopoetischen Effekt verantwortlich sind, wurden bereits qualitative sowie eine quantitative Transkriptom- und Proteomicsstudien durchgeführt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass extrazelluläre Vesikel (EVs) für den horizontalen Informationstransfer verantwortlich sein könnten. Um dieser Vermutung nachzukommen, arbeiten wir derzeit ein DFG Antrag aus.

### 3. Einfluss von Lagerschäden bei Blutprodukten auf das klinische Outcome.

Als Forscher am Institut für Transfusionsmedizin gehört es auch dazu, transfusionsassoziierte Projekte durchzuführen. Dennoch bleiben wir mit unseren Untersuchungen im Bereich Immunologie. Eine in der Literatur stark kontrovers diskutierte Meinung ist, dass länger gelagerte Blutprodukte mit einem schlechteren klinischen Outcome assoziiert sein sollen als frische Erythrozytenkonzentrate (EKs). Man nennt diesen Mechanismus auch transfusionsassoziierte Immunmodulation (TRIM). Um die TRIM *in vivo* in Abhängigkeit der Lagerungszeit von Erythrozytenkonzentraten (EKs) zu überprüfen, haben wir die erste randomisierte, prospektive Studien in Kooperation mit der Anästhesiologie m.S. operative Intensivmedizin sowie mit dem Institut für Hämatologie und Onkologie vor kurzem gestartet. Untersucht werden primär Änderungen auf zellulärer Ebene (Immunstatus, Tregs, etc.) und Änderungen auf Sekretomebene (Zytokinprofiling) jeweils vor- und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der OP. Parallel dazu haben wir bereits mögliche Lagerungsschäden hinsichtlich stärkerer Komplementaktivierung und beschleunigter Phagozytoserate länger gelagerter EKs untersucht. Die Befunde deuten auf eine hohe Qualität unserer Blutprodukte an der Charité hin. Dennoch scheinen längergelagerte Erythrozyten empfindlicher für eine Komplementaktivierung zu werden, wenn man eine Transfusion *in vitro* simuliert. Eine stärkere Phagozytoserate konnte jedoch nicht beobachtet werden.

Thrombozyten werden oft als langweilige Zellfragmente, ja nicht einmal als vollwertige Zellen gewertet. Dennoch haben Sie eine fundamentale Bedeutung für das Immunsystem. Sie erkennen Pathogene über Toll-like Rezeptoren (TLRs), können nach Aktivierung spezifisch eine Vielzahl von Zytokinen sekretieren, sind (obwohl kernlos) zur *de novo* Proteinbiosynthese befähigt und können sogar als Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) Antigene über MHC Klasse I Moleküle präsentieren. Es ist bekannt, dass die Thrombozytenaktivierung über die Lagerungszeit (bis zu 5 Tagen) stetig zunimmt. Allerdings ist auch bekannt, dass die Zytokinsekretion (eventuell auch pro-inflammatorische Zytokine) stark positiv mit der Voraktivierung korreliert. Dennoch beschäftigen sich alle Forschungsgruppen mit den Zellveränderungen der Thrombozyten selbst, schenken dem Sekretom jedoch keine Aufmerksamkeit, wobei das Sekretom doch mit transfundiert wird. Aus diesem Grund profilieren wir derzeit mit MS-basierten Verfahren und Zytokin Arrays das Sekretom von TKs über die Lagerungszeit. Darüber hinaus könnten auch Mikropartikel für ein schlechteres klinisches Outcome für bestimmte Patientengruppen assoziiert sein. Aus diesem Grund wird nun multizentrisch an der Ausarbeitung und Validierung eines Konsensusprotokolls gearbeitet. Alle notwendigen Einstellungen für die Mikropartikelanalytik mit Hilfe der MegaMix Kalibratorbeads wurden am FACS Canto II in der Hessischen Straße vorgenommen und stehen somit auch anderen Arbeitsgruppen zur Verfügung.

**Projekte am Standort Hessische Str.:**

a) Autoimmunthrombozytopenie

b) Stammzellexpansion

c) Immunologische Untersuchungen (in vivo und in vitro) zu Lagerschäden von Blutprodukten

**Multiuser Geräte:**

Biorad iQ5 Real Time Thermocycler

Geldokumentationsgerät

**Ausgewählte Publikationen:**

1. Emmerich F, Bal G, Barakat A, Milz J, Mühle C, Martinez-Gamboa L, Dörner T, **Salama A**. High-level Serum B-cell activating factor and promoter polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2007; 136(2):309-14.

2. Moldenhauer A, Genter G, Lun A, Bal G, Kiesewetter H, and **Salama A** Hematopoietic progenitor cells and interleukin-stimulated endothelium: expansion and differentiation of myeloid precursors *BMC Immunol*. 2008; 9: 56.

3. Moldenhauer A, Futschik M, Lu H, Helmig M, Götze P, Bal G, Zenke M, Han W, **Salama A**. Interleukin 32 promotes hematopoietic progenitor expansion and attenuates bone marrow cytotoxicity. *Eur J Immunol*. 2011 Jun;41(6):1774-86. Epub 2011 May 13. PubMed PMID: 21469100.

4: Bal G, Kamhieh-Milz J, Futschik M, Haupl T, **Salama A**, Moldenhauer A. Transcriptional profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). *Cell Transplant*. 2011 Jun 7. PubMed PMID: 21669038.

5. Bal G, Kamhieh-Milz J, Sterzer V, Al-Samman M, Debski J, Klein O, Kamhieh-Milz S, Bhakdi S, **Salama** (2011). Proteomic profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *Cell Transplant*. 2012 Oct 1. PubMed PMID: 23031318

6. Kamhieh-Milz J, Bal G., Sterzer V., Kamhieh-Milz S, Arbach O and **Salama A**. Reduced antioxidant capacities in platelets from patients with autoimmune thrombocytopenia purpura (ITP). *Platelets*. 2011 Sep 13. PubMed PMID: 21913810.

**Drittmittelprojekte:**

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SA 405 4-1)

Human Genome Sciences Inc., Rockville.

Immucor, 89778006, Diamed, Nr.89771049



**AG Sander****Emmy Noether Nachwuchsgruppe****Arbeitsgruppenleiter**

Dr. med. Leif Erik Sander  
Medizinische Klinik m. S.  
Infektiologie und Pneumologie  
Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Augustenburger Platz 1 / Südring 2  
13353 Berlin  
030-450-653034  
[leif-erik.sander@charite.de](mailto:leif-erik.sander@charite.de)  
<http://www.charite-inflab.de/index.php?id=170>

**Genutzte Räume**

Hessische Str. 3-4, 10115 Berlin  
Raum 01 011ff  
Südring 2-3, CVK, 13353 Berlin

**Mitarbeiter**

Elisa Helbig  
Matteo Ugolini  
Jenny Gerhard  
Roland Bell

**Forschungsthemen:***Wirt-Pathogen Interaktion*

Wir untersuchen die Verarbeitung mikrobieller Informationen vom angeborenen Immunsystem und deren Einfluss auf die Ausbildung von protektiver Immunität. Wir haben kürzlich die These formuliert, dass das Immunsystem seine Antworten an das Ausmaß der infektiösen Gefahr (*infectious threat*) anpasst, die von einem mikrobiellen Stimulus ausgeht (1). Dies ist notwendig um den Organismus effektiv vor invasiven Infektionen zu schützen, bei gleichzeitiger Vermeidung von unnötigen entzündlichen Gewebsschäden und Autoimmunität. So lösen z.B. pathogene Mikroorganismen häufig stärkere Immunreaktionen aus als harmlose kommensale Mikroben oder attenuierte Stämme. Es gibt zudem zahlreiche Beobachtungen, dass Lebendimpfungen oder durchgemachte Infektionen Totimpfstoffen häufig deutlich überlegen sind, v.a. im Hinblick auf die Ausbildung einer langlebigen robusten Immunität. Wir konnten kürzlich zeigen, dass das Immunsystem in der Lage ist lebende von toten Bakterien zu unterscheiden, unabhängig von deren Virulenz (2). Wir konnten eine neue Klasse von *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) identifizieren, welche ausschließlich in lebenden Bakterien vorkommen. Als erstes Mitglied dieser neuen PAMP-Klasse, welche wir *viability associated PAMPs* (vita-PAMPs) nennen, beschrieben wir prokaryotische mRNA. Die Detektion von bakterieller mRNA signalisiert dem Immunsystem die Lebendigkeit, und somit die potentielle Infektiosität von Bakterien. Zwar löst sowohl die Erkennung von lebenden als auch toten Bakterien eine deutliche Produktion klassischer proinflammatorischer Zytokine wie IL-6 und TNF $\alpha$  aus, jedoch führen nur lebende Bakterien zur Aktivierung des NLRP3-inflammasoms mit konsekutiver Spaltung und Freisetzung von IL-1 $\beta$ , sowie zu einer gesteigerten Produktion von IFN $\beta$  (2). Zugabe von aufgereinigter bakterieller mRNA zu toten Bakterien führt hingegen zur vollständigen Wiederherstellung dieser Antworten. In Impfstudien führte der adjuvante Einsatz von bakterieller RNA, zu einer deutlich verbesserten humoralen Immunantwort (2). Dies ist

nur ein Beispiel für die Fähigkeit des Immunsystems infektiöse Gefahren genau zu messen, um die resultierenden Immunantworten bedarfsgenau anzupassen. Wir haben deshalb kürzlich ein Konzept von fünf *immune checkpoints* vorgeschlagen, welche dem Immunsystem zur Risikoevaluation dienen (1).

In unserer Arbeitsgruppe wollen wir die molekularen Mechanismen einiger dieser *checkpoints* aufklären, u.v.a. ihre Relevanz für die Ausbildung schützender Immunität untersuchen. Konkret werden derzeit die folgenden Aspekte untersucht:

- Was sind die molekularen und zellulären Mechanismen der verbesserten humoralen Immunität nach Detektion von lebenden Bakterien bzw. vita-PAMPs? (Wir untersuchen insbesondere die Rolle von TRIF und NLRP3 in B Zellen und DC)
- Welcher Rezeptor erkennt bakterielle mRNA in murinen Phagozyten?
- Wie wird bakterielle Viabilität vom humanen Immunsystem erkannt? (Hier gibt es Hinweise, dass zusätzliche Signalwege und Liganden eine prominente Rolle spielen)
- Welchen Einfluss hat die Erkennung bakterieller Viabilität auf Erreger-spezifische CD4 T Zell Antworten?
- Gibt es neben bakterieller mRNA weitere vita-PAMPs, oder andere Mechanismen über die lebende von toten Bakterien unterschieden werden?
- Welchen Einfluss hat die Erkennung von bakterieller Viabilität auf protektive Immunantworten in der Lunge?
- Welchen Einfluss hat Phagozytose auf PRR signaling?

#### *Pulmonale Immunität*

Ferner sind wir an translationalen Fragestellungen zur pulmonalen Immunität gegen bakterielle Infektionen interessiert. Es gibt einen dringenden Bedarf an alternativen Behandlungs- und Impfstrategien gegen bakterielle Pneumonien. Seit 70 Jahren zeigt diese Erkrankung eine beinahe unverändert hohe Mortalität, hinzu kommt das zunehmende Auftreten multiresistenter Erreger. In mehreren Ansätzen, sowohl an humanem Lungenwebe als auch in Mausmodellen wollen wir die Mechanismen, die zur Ausbildung von protektiver pulmonaler Immunität führen charakterisieren, und diese gezielt therapeutisch aktivieren, bzw. hemmende Kaskaden inhibieren. Aktuell untersuchen wir:

- Den Einfluss von myeloiden Suppressorzellen (MDSC) auf die Erhöhte Suszeptibilität gegenüber bakteriellen Pneumonien nach Influenza-Virus Infektion
- Den Einfluss von mechanischer Beatmung auf die Antigen-unabhängige Aktivierung von CD8 T Zellen und deren Wirkung auf die alveolare Barriere

#### Referenzen:

1. J. M. Blander, **L. E. Sander**, *Nat Rev Immunol* **12**, 215 (Mar, 2012).
2. **L. E. Sander et al.**, *Nature* **474**, 385 (Jun 16, 2011).

#### Drittmittelprojekte:

1. Emmy Noether Nachwuchsgruppe (SA1940-2/1) 2012-2018
2. Else Kröner-Fresenius-Stiftung Projektförderung (2012\_A56) 2012-2015
3. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Research grant 2012-2014

**Ausgewählte Publikationen**

1. **Sander LE:** Improved vaccines through targeted manipulation of the body's immunological risk-assessment? *Bioessays* 2012; 34(10):876-84
2. Blander JM & **Sander LE:** Beyond pattern recognition: Five immune checkpoints for scaling the microbial threat. *Nat Rev Immunol* 2012;12(3):215-25
3. Kupz A, Guarda G, Gebhardt T, **Sander LE**, Short KR, Diavatopoulos DA, Wijburg O, Whitney PG, Heath WR, Curtis R III, Tschopp J, Bedoui S, Strugnell RA: NLRC4 inflammasome activation in splenic dendritic cells regulates non-cognate anti-bacterial effector function by memory CD8 T cells. *Nat Immunol* 2012;13(2):162-9
4. **Sander LE**, Davis MJ, Boekschoten Mv, Dascher CC, Amsen D, Swanson JA, Müller M, Blander JM: Sensing prokaryotic mRNA signifies microbial viability and promotes immunity. *Nature* 2011; 474:385-389
5. **Sander LE**, Sackett SD, Dierssen U, Beraza N, Linke RP, Müller M, Blander JM, Tacke F, Trautwein C: Hepatic Acute Phase Proteins Control Innate Immune Responses During Infection by Promoting Myeloid Derived Suppressor Cell Function. *J Exp Med* 2010; 207(7):1453-64
6. Mosoian A, Teixeira A, Burns CS, **Sander LE**, Gusella GL, He C, Blander JM, Klotman P, Klotman ME: Prothymosin- $\alpha$  inhibits HIV-1 via Toll-like receptor 4-mediated type I interferon induction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(22):10178-83
7. Beraza N, Malato Y, **Sander LE**, Al-Masaoudi M, Freimuth J, Riethmacher D, Gores GJ, Roskams T, Liedtke C, Trautwein C: Hepatocyte-specific NEMO deletion promotes NK/NKT cell- and TRAIL-dependent liver damage. *J Exp Med* 2009; 206(8):1727-1737
8. **Sander LE**, Obermaier F, Kroy D, Dierssen U, Streetz KL, Lutz HH, Müller W, Tacke F, Trautwein C: Gp130 signalling promotes development of acute experimental colitis by facilitating early neutrophil/macrophage recruitment and activation. *J Immunol* 2008;181(5):3586-94
9. Malato Y, **Sander LE**, Liedtke C, Al-Masaoudi M, Tacke F, Trautwein C and Beraza N: Hepatocyte-specific Inhibitor-of-kappaB-kinase Deletion Triggers the Innate Immune Response and Promotes Earlier Cell Proliferation During Liver Regeneration. *Hepatology* 2008;47(6):2036-50
10. **Sander LE**, Frank S, Bolat S, Blank U, Galli T, Bigalke H, Bischoff SC, Lorentz A: Vesicle Associated Membrane Protein (VAMP)-7 and VAMP-8, but not VAMP-2 or VAMP-3, are Required for Activation Induced Degranulation of Mature Human Mast Cells. *Eur J Immunol* 2008;28(3):855-63

**AG Transplantationstoleranz****Arbeitsgruppenleiterin:**

Prof. Dr. Birgit Sawitzki  
AG Transplantationstoleranz  
Institut für Med. Immunologie  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
Südstraße 2  
13353 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 450524136  
Fax: ++49 (0)30 450524907  
E-mail: birgit.sawitzki@charite.de

**Wissenschaftliche Mitarbeiter:**

Postdoktoranden: Stephan Schlickeiser,  
Doktoranden: Ulrike Schließer, Simone Vogel, Julia Schumann, Ivo Panov, Katarina Stanko, Anders Kverneland, David Boës  
Technische Assistenz: Katrin Vogt; Christine Appelt, Stefanie Haase  
Gastwissenschaftler: Dr. Undine Gerlach (Chirurgie CC8)

**Homepage:**

<http://immunologie.charite.de/>

**Forschungsthemen:**

Die Gruppe erforscht die einer Transplantattoleranzinduktion zugrunde liegenden immunologischen Mechanismen. Es werden sowohl neue therapeutische Strategien entwickelt (z.B. Transfer von alloantigen-spezifischen regulatorischen T-Zellen, spezifische Eliminierung von pathogenen Gedächtnis-T-Zellen, Beeinflussung der Aktivierung von allo-reaktiven T-Zellen durch dendritische Zellen), die Funktion toleranzassoziierter Gene (z.B. Toag-1) charakterisiert als auch Nachweise zur immunologischen Diagnostik einer Immunreaktivität oder Toleranz etabliert. Die einzelnen bearbeiteten Projekte werden nachfolgend kurz vorgestellt.

**Projekte:****Influence of the early immune monitoring profile on outcome after liver transplantation**

SFB650 "Zelluläre Ansätze zur Suppression unerwünschter Immunreaktionen", TP14,  
[www.sfb650.charite.de](http://www.sfb650.charite.de), gemeinsame Projektleitung mit PD Dr. Andreas Pascher (Chirurgie)

(Katrin Vogt, Undine Gerlach, Ulrike Schließer, Stefanie Ahrlich, David Boës)

In der letzten Förderperiode konnten wir transkriptionelle Signaturen toleranter transplantierten Patienten definieren und spezifische Oberflächenmarker potentiell pathologischer terminal differenzierter Gedächtniszellen (TEMRA) identifizieren. Basierend auf diesen Ergebnissen werden wir nun 1) untersuchen inwieweit das frühe Immunprofil nach Lebertransplantation (z.B. TEMRA) mit der Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer „operationalen“ Toleranz nach 3 Jahren korreliert; 2) therapeutische Konzepte zur selektiven Inaktivierung/Depletion von TEMRA Zellen entwickeln; und 3) eine Immunsuppressions-Minimierungsstudie in „operational“ toleranten Leber-Tx-Patienten initiieren.

### **Bedeutung des toleranzassoziierten Gens Toag-1 für die T-Zellaktivierung und Reifung dendritischer Zellen**

Transregio 52 „Transkriptionelle Programmierung individueller T-Zell-Populationen“, TP C4  
(Simone Vogel, Julia Schumann, Ivo Panov, Christine Appelt)

In Vorarbeiten konnten Gene z.B. Toag-1 identifiziert werden, die erhöht in CD4<sup>+</sup> T-Zellen und CD11c<sup>+</sup> dendritischen Zellen (DCs) toleranter Transplantatempfängertiere exprimiert werden. In der letzten Förderperiode konnten wir zeigen, dass die Überexpression von Toag-1 in T-Zellen und DCs deren Aktivierung und Zytokinproduktion beeinträchtigt. Es wurden konditionale Toag-1 knock-in Mäuse generiert, die mit CD4-Cre- und CD11c-Cre-Mäusen gekreuzt werden, um nun die Auswirkung einer Überexpression auf die Differenzierung und Funktion von T-Zellen und DCs *in vitro* und *in vivo* besser untersuchen zu können.

### **- „ONE Study“ A Unified Approach to Evaluating Cellular Immunotherapy in Solid Organ Transplantation**

[www.onestudy.org](http://www.onestudy.org), EU FP7 grant, Projektleitung zusammen mit Prof. Dr. Hans-Dieter Volk und Prof. Petra Reinke (Nephrologie)

(Katrin Vogt, Stephan Schlickeiser, Anders Kverneland)

Im Rahmen dieses europaweiten Projektes werden zelltherapeutische Konzepte zur Verbesserung der Langzeitakzeptanz allogener Organe in der Nierentransplantation getestet. Dabei werden in einer multizentrischen Studie mehrere regulatorische Zellarten wie z.B. Tregs oder tolerogene Makrophagen hinsichtlich ihrer Sicherheit, Praktikabilität und Effizienz verglichen. In unserer Arbeitsgruppe wird das monitoring aller eingeschlossener Patienten etabliert und koordiniert. Dabei sollen unter anderem durchflusszytometrische Untersuchungen mehrerer Blutleukozytenpopulationen und deren Genexpression einen Vergleich der Effizienz der Behandlungskonzepte hinsichtlich der Induktion „operationaler“ Toleranz ermöglichen. Dies setzt eine standardisierte, reproduzierbare Analyse an allen Zentren voraus.

### **„BIODrIM“**

EU FP7 grant, Projektleitung von WP4 „Immune monitoring“

(Katrin Vogt, Stephan Schlickeiser, Anders Kverneland)

Wir wissen aber mittlerweile, dass nicht jeder Patient die gleiche Menge an Medikamenten benötigt, um eine Abstoßung des Organs zu unterdrücken. Ein Ziel unserer Forschung ist es deswegen, Analysemethoden zu entwickeln, mit denen der individuelle Bedarf an Medikamenten ermittelt werden kann. So gibt es Patienten, deren Immunsystem das fremde Organ schon fast als eigen akzeptiert und toleriert. Solche Patienten benötigen wahrscheinlich nur noch sehr wenig Immunsuppression und würden enorm von einer Reduktion der Medikamente und der damit verbundenen Nebenwirkungen profitieren.

Die Hypothesen für die in dem EU-Projekt durchgeführten europaweiten Studien lauten wie folgt:

- Enthält das Blut eines Patienten viele gefährliche Gedächtnis-T-Zellen, dann kann er keine verringerte Medikamentenbehandlung erhalten. Im umgekehrten Fall wird versucht, schon früh nach Transplantation eine reduzierte Medikamentenbehandlung durchzuführen, um damit das Auftreten von Nebenwirkungen zu verringern und damit die Lebensqualität deutlich zu steigern.
- Enthält das Blut von Patienten viele naive und transitionelle B-Zellen, die keine Antikörper gegen das fremde Organ produzieren, und sind diese B-Zellen durch ein spezifisches Genexpressionsmuster gekennzeichnet, deutet das auf einen Zustand „operationaler“ Toleranz hin. In solchen Fällen soll die Medikamentengabe stark minimiert werden oder komplett abgesetzt werden.

Auch für dieses EU-Projekt etablieren und koordinieren wir die Untersuchungsmethoden.

**Spezialtechniken:***Verschiedene Modelle:*

Nierentransplantation (Ratte), Haut- und Hornhauttransplantation (Maus), *in vivo* MLC

*Methoden:*

Kultivierung primärer T-Helferzellen, regulatorischer T-Zellen und dendritischer Zellen, qPCR (mRNA Expression, epigenetische Modifikation, Virusnachweis), Flow Zytometrie profiling peripherer Blutleukozyten und intrahepatischer Leukozyten, adenovirale und retrovirale Transduktion von dendritischen Zellen und T-Zellen

**Ausgewählte Publikationen:**

- Gerlach U, Vogt K, Schlickeiser S, Meisel C, Streitz M, Kunkel D, Appelt C, Ahrlich S, Lachmann N, Neuhaus P, Pascher A\*, **Sawitzki B\***, A persistent high proportion of CD4+ terminal differentiated effector memory T cells is associated with occurrence of acute cellular and antibody-mediated rejection after liver transplantation, \* equal contribution, *Transplantation*, in press
- Vaeth M, Schliesser U, Müller G, Reissig S, Satoh K, Tuettenberg A, Jonuleit H, Waisman A, Müller MR, Serfling E, **Sawitzki BS**, Berberich-Siebelt F. Dependence on nuclear factor of activated T-cells (NFAT) levels discriminates conventional T cells from Foxp3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Oct 2;109(40):16258-63. IF 9,68
- You S, Zuber J, Kuhn C, Baas M, Valette F, Sauvaget V, Sarnacki S, **Sawitzki B**, Bach JF, Volk HD, Chatenoud L. Induction of Allograft Tolerance by Monoclonal CD3 Antibodies: A Matter of Timing. *Am J Transplant*. 2012 Nov;12(11):2909-2919. IF 6,39
- Vercoulen Y, Guichelaar T, Meerding J, Emmelot M, Pingen M, Storm G, Coffe P, **Sawitzki B**, Martens A, Mutis T, Prakken B. Application of cultured human regulatory T cells requires preclinical in vivo evaluation. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Dec 9. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22168999. IF 9,27
- Siepert A, Ahrlich S, Vogt K, Appelt C, Stanko K, Kühl A, van den Brandt J, Reichardt HM, Nizze H, Lehmann M, Tiedge M, Volk HD, **Sawitzki B\***, Reinke P\*. Permanent CN1 treatment for prevention of renal allograft rejection in sensitized hosts can be replaced by regulatory T cells. *Am J Transplant*. 2012 Sep;12(9):2384-94. \* equal contribution IF 6,39
- Wehrens EJ, Mijneer G, Duurland CL, Klein M, Meerding J, van Loosdregt J, de Jager W, **Sawitzki B**, Coffe PJ, Vastert B, Prakken BJ, van Wijk F. Functional human regulatory T cells fail to control autoimmune inflammation due to PKB/c-akt hyperactivation in effector cells. *Blood*. 2011 Sep 29;118(13):3538-48. IF 10,56
- Schlickeiser S, Stanojlovic S, Appelt C, Vogt K, Vogel S, Haase S, Ritter T, Volk HD, Pleyer U, **Sawitzki B**. Control of TNF-induced dendritic cell maturation by hybrid-type N-glycans. *J Immunol*. 2011 May 1;186(9):5201-11. IF 5,74
- Sagoo P, Perucha E, **Sawitzki B**, Tomiuk S, Stephens DA, Miqueu P, Chapman S, Craciun L, Sergeant R, Brouard S, Rovis F, Jimenez E, Ballow A, Giral M, Rebollo-Mesa I, Le Moine A, Braudeau C, Hilton R, Gerstmayr B, Bourcier K, Sharif A, Krajewska M, Lord GM, Roberts I, Goldman M, Wood KJ, Newell K, Seyfert-Margolis V, Warrens AN, Janssen U, Volk HD, Souillou JP, Hernandez-Fuentes MP, Lechler RI. Development of a cross-platform biomarker signature to detect renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest*. 2010 Jun 1;120(6):1848-61. IF 14,15
- Keeren K, Friedrich M, Gebuhr I, Philipp S, Sabat R, Sterry W, Brandt C, Meisel C, GrV<sup>etz</sup> G, Volk HD, **Sawitzki B**. Expression of tolerance associated gene-1, a mitochondrial protein inhibiting T cell activation, can be used to predict response to immune modulating therapies. *J Immunol*. 2009 Sep 15;183(6):4077-87. IF 5,74
- Gong W, Klöpfel M, Reutzel-Selke A, Jurisch A, Vogt K, Haase S, Höflich C, Polenz D, Gerstmayr B, Tomiuk S, Volk HD, Pascher A\*, **Sawitzki B\***. High weight differences between donor and recipient affect early kidney graft function—a role for enhanced IL-6 signaling. *Am J Transplant*. 2009 Aug;9(8):1742-51. \* equal contribution IF 6,05
- Sawitzki B**, Reinke P, Volk H.-D., Wood, K.J. and L.A. Turka. Autoimmunity and transplantation: a meeting at the crossroads in Berlin. 2008. *Nat Immunol*. 9(5):447-9. IF 25,67
- Sawitzki B**, Bushell A, Steger U., Profanter N., Fisser M., Risch K., Lehmann M., Wood, K.J. and H.-D. Volk. Identification of gene markers for the prediction of allograft rejection or permanent acceptance. 2007 *Am J Transplant*. 7(5):1091-102. IF 6,05

13. **Sawitzki, B.**, Kingsley, Ch., Karim, M., Herber, M. and K.J. Wood. Interferon gamma production by regulatory T cells is prerequisite for their regulatory function in vivo. 2005 *Journal of Experimental Medicine*. 201(12):1925-35. IF 14,78
14. **Sawitzki, B.**, Kieselbach, B., Fisser, M., Meisel, Ch., Vogt, K., Gästel, M., Lehmann, M., Risch, K., Grütz, G. and H.-D. Volk. Interferon gamma regulation in anti-CD4 antibody induced T cell Unresponsiveness. 2004. *J Am Soc Nephrol*. 15(3):695-703. IF 8,29

**Drittmittelprojekte:**

DFG SFB 650/3 TP14: „Influence of the early immune monitoring profile on outcome after liver transplantation“ (Sawitzki / Pascher)

DFG Transregio 52 TPC4: Die Rolle von Toag-1 und Smarca3 bei der transkriptionellen Regulation von T-Zellen (Sawitzki / Volk)

DFG Individual Grant: „Neohybrides Lebertransplantat – der Einsatz autologer Hepatozyten und hepatischer Progenitorzellen zur Toleranzinduktion nach Lebertransplantation“ (Sauer / Sawitzki)

EU FP7 “ONE Study - A Unified Approach to Evaluating Cellular Immunotherapy in Solid Organ Transplantation”

EU FP7 “BIODrIM - Personalized minimization of immunosuppression after solid organ transplantation by biomarker-driven stratification of patients to improve long-term outcome and health-economic data of transplantation”

**Arbeitsgruppenleiter:**

Dr. Ahmed Sheriff  
Charite Universitätsmedizin  
Nephrologie und Internistische Intensivmedizin  
Direktor: Prof. Dr. med. U. Frei  
AG Dr. Sheriff  
RCIS  
Charite - Campus Mitte  
Hessische Str. 3-4  
10115 Berlin  
Tel: 030-450 513326  
030-450 513316  
030-450 513334  
Fax: 030-450 513936

**Genutzte Räume:**

Hessische Str. 3-4 (03003, 03010c)

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter:**

Paul Alouani  
Dr. med. vet. Christopher Bock  
Dr. Klaus Decken  
Britta Hähnel  
Dr. rer. nat. Gunnar Janelt  
Miriam Klischat  
Dr. med. vet. Jens Ötvös  
Dipl.-Ing. Wolfgang Otto  
Dipl. Biochem. Stefan Schulze  
Bärbel Siebert  
Dr. med. vet. Burghard Thiesen  
Dipl.-Ing. Biotech. Birgit Vogt  
Dipl.-Ing. Biotech. Gülcan Yapici

**Forschungsthemen:****1. Die spezifische Depletion von C-reaktivem Protein nach experimentel-lem Herzinfarkt: eine neue Therapieoption**

Ziel ist die Entwicklung eines neuen Therapieansatzes für die Behandlung nach z.B. Herzinfarkt und Schlaganfall. Die extrakorporale Therapie soll zur Verbesserung der klinischen Prognose durch Verminderung der Läsion im Infarktareal dienen.

Das therapeutische Ziel des Projektes ist die nebenwirkungsarme Absenkung von pathologisch erhöhten Blutspiegeln von CRP mit Hilfe eines extrakorporal eingesetzten CRP-Adsorbers. Der CRP-Adsorber soll die CRP-Blutspiegel zunächst bei Herzinfarktpatienten senken und dadurch das Infarktareal verringern, die vitalen Herzfunktionen erhalten und einen weiteren Herzinfarkt (ereignet sich oft im folgenden halben Jahr) verhindern. In einer präklinischen (Großtiermodell Schwein) Studie wurde die These belegt. Ab 2014 soll sich die Therapie in einer klinischen Pilotstudie klinisch beweisen.

Die Projektziele sind im Einzelnen:

- die Entwicklung eines marktfähigen Prototyps eines CRP-Adsorbers,



- Proof of principle in klinischen Studien: Erprobung des Adsorbers in Zusammenarbeit mit der internistischen Intensivtherapie (Prof. Dr. Frei, Prof. Dr. Schindler, Prof. Jörres, PD Dr. Storm) und dem DHZB Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie (Prof. Berger, PD. Dr. Messroghli, Dr. Schmitt)
- Ausgründung einer Firma nach erfolgreichem Test des Adsorbers im Tiermodell

## 2. C-reaktives Protein (CRP) als pathologischer Modulator der Funktion von Adrenozeptoren

Die Akutbehandlung des Herzinfarkts ist nach wie vor eine Herausforderung für die Intensivmedizin. In den letzten Jahren hat sich die Therapie verbessert, was sich vor allem in der gestiegenen Überlebensrate darstellt. Ein fester Bestandteil der Therapie ist dabei die Gabe von Betablockern nach dem Infarkt. Vor bereits über 20 Jahren wurde gezeigt (Kurzübersicht bei Stühlinger, 2003), dass diese zusätzliche Behandlung die Überlebensrate von Infarktpatienten verbessert. Betablocker haben bei Infarktpatienten eine günstige breite physiologische Wirkung auf Herz und Kreislauf, im Einzelnen z.B.

- Reduktion des myokardialen Sauerstoffverbrauchs
- Verlangsamung der Herzfrequenz
- Herabsetzung der Herzmuskelkontraktilität
- Senkung des Blutdrucks
- Steigerung der Myokardperfusion
- Reduktion der katecholaminvermittelten Effekte
- weniger Herzkammerarrhythmien.

Offensichtlich gibt es einen bisher wenig beachteten Zusammenhang zwischen dem C-Reaktiven Protein (CRP) und den Adrenozeptoren. Die orale Gabe von Betablockern bewirkt im nicht nur eine niedrigere Mortalität, sondern auch signifikant erniedrigte CRP-Spiegel im Blut.

Erste eigene explorative Experimente zeigen, dass CRP Blutdruck und Herzfrequenz entkoppelt in vivo im Kleintier (Kaninchen). CRP hat auch einen direkten Effekt auf den intrazellulären Kalziumhaushalt von Zellen.

### Spezialtechniken, die für Andere von Interesse sein könnten:

- Apoptose, Nekrose, Gentherapie, Co-Stimulation
- Großtiererfahrung insbesondere kardiovaskulär und nephrologisch
- Qualitätsmanagement
- Regulatorische Betreuung (EU, non EU) der Produktgruppe Immunadsorber (Produktklasse III und IIb), deren Zubehör und des aktiven Medizinprodukts zur Steuerung der Immunadsorption
- FACS-Spezialistin, Coulter Counter

### Ausgewählte Publikationen:

- [1] Slagman AC, Bock C, Abdel-Aty H, Vogt B, Gebauer F, Janelt G, Wohlgemuth F, Morgenstern R, Yapici G, Puppe A, Modersohn D, Mans D, Jerichow T, Ott S, Kunze R, Schrödl W, Janko C, Hermann M, Kalden JR, Kern P, Parsch H, Kirschfink M, Schulz-Menger J, Röttgen R, Unger JK, Frei U, Schindler R, Möckel M, **Sheriff A**: Specific removal of C-reactive protein by apheresis in a porcine cardiac infarction model. *Blood Purification* 2010 [in press] **1,8**
- [2] Franz S, Herrmann K, Fuhrnrohr B, **Sheriff A**, Frey B, Gaipf US, Voll RE, Kalden JR, Jack HM, Herrmann M. After shrinkage apoptotic cells expose internal membrane-derived epitopes on their plasma membranes. *Cell Death Differ* (2007) 14(4):733-42 **8,2**

- [3] U. Appelt, **A. Sheriff**, U. S. Gaipf, J. R. Kalden, R. E. Voll, and M. Herrmann, Viable, apoptotic and necrotic monocytes expose phosphatidylserine: cooperative binding of the ligand Annexin V to dying but not viable cells and implications for PS-dependent clearance, *Cell Death Differ* 12 (2005) 194-196. **8,2**
- [4] M. Warncke, B. Vogt, J. Ulrich, M. D. von Laer, W. Beyer, H. Klump, B. Micheel, and **A. Sheriff**, Efficient in vitro transduction of naive murine B cells with lentiviral vectors, *Biochem Biophys Res Commun* 318 (2004) 673-679. **2,9**
- [5] **A. Sheriff**, U. S. Gaipf, S. Franz, P. Heyder, R. E. Voll, J. R. Kalden, and M. Herrmann, Loss of GM1 surface expression precedes annexin V-phycoerythrin binding of neutrophils undergoing spontaneous apoptosis during in vitro aging, *Cytometry A* 62 (2004) 75-80. **2,7**
- [6] **A. Sheriff**, B. Vogt, M. Baumgart, C. Montag, B. Hollenbach, J. A. Schenk, J. Ulrich, F. Elias, and B. Micheel, Intracellular capture of B7 in antigen-presenting cells reduces costimulatory activity, *Biochem Biophys Res Commun* 301 (2003) 873-878. **2,9**

### Drittmittelprojekte

Entwicklung von Therapien und Produkten zur Absenkung des Blutspiegels von pathogenem C-reaktivem Protein (CRP) bei Herzinfarktpatienten:  
Sponsoring durch die Pentracor GmbH

**AG Siegmund****Arbeitsgruppenleiterin:**

PD Dr. Britta Siegmund

**Genutzte Räume:**Charité Campus Benjamin Franklin  
Haus 5011

Raum E813 (Büro), 1839 (Labor)

**Mitarbeiter:**

Dr. Arvind Batra, Dr. Rainer Glauen, Dr. Thorsten Stroh, Inka Freise,  
Minh-Anh Dang, Lukas Poralla, Valmir Dibra, Elena Sonnenberg, Dr. Donata Lissner,  
Dr. Marco Gerling

**Forschungsthemen:**

*Mesenteriales Fettgewebe, Makrophagen Polarisation und intestinale Entzündung*

Zellen des Fettgewebes fungieren nicht nur als Energiespeicher, sondern sind auch immunologisch aktiv und können auf bakterielle Stimuli mit veränderter Freisetzung von Zytokinen und Adipokinen reagieren. Bei intestinalen Entzündungen scheint auch das mesenteriale Fettgewebe mit in den Entzündungsprozess einbezogen. Kolitis führt zu veränderter Expression verschiedener Mediatoren im mesenterialen Fettgewebe, aber auch zu Veränderung in den lokal präsenten Makrophagen-Subpopulationen. Basierend auf diesen Beobachtungen untersuchen wir einerseits die Effekte verschiedener Fettgewebs-Mediatoren auf Makrophagen-Polarisierung und -Aktivität. Andererseits sind wir daran interessiert die biologische Konsequenz der bei Kolitis zu beobachtenden Veränderungen im mesenterialen Fettgewebe zu entschlüsseln.

*Expression und Funktionalität von NOD1 und NOD2 in murinen Präadipozyten*

Bestimmte Polymorphismen im Gen für NOD2 erhöhen dabei das Risiko an Morbus Crohn zu erkranken. Es wird in diesem Projekt untersucht, ob Präadipozyten funktionelles NOD1 und NOD2 exprimieren und so das mesenteriale Fettgewebe eine aktive Rolle im Verlauf einer intestinalen Entzündung übernehmen könnte. Desweiteren wird das Spektrums an NOD2-Liganden charakterisiert, was die rekombinante Expression von NOD2 und die Etablierung eines Testsystem für Ligand-Bindungsstudien auf Grundlage der Oberflächen-Plasmon-Resonanz-Spektroskopie umfasst.

*Einfluss von Histon-Deazetylasen (HDAC) bzw. deren Inhibierung auf die Immunreaktion*

Dieses Projekt beschäftigt sich mit der Wirkung von HDAC-Inhibitoren in (chronischen) Kollitismodellen und Modellen Inflammations-assoziiierter Tumorgenese in der Maus. Hierauf aufbauend werden die molekularen Mechanismen dieser Wirkung *in vitro* untersucht. Die Schwerpunkte liegen hierbei auf der Modulation der T-Helferzell-Polarisierung und der Differenzierung von Makrophagen, sowie auf der Regulation des TNF/NF- $\kappa$ Bund des IL-6/STAT3-Pathways. Weiterhin wird die Funktion spezifischer HDAC in der Entzündungsreaktion analysiert. Hierfür stehen uns entsprechende Knock-out-Tiere zur Verfügung.

**Multi-User-Geräte/Techniken:**

- Etabliert sind Durchführung und Analyse verschiedener Modelle experimenteller Kolitis und Inflammations-assoziiertes Tumorigenese in Mäusen.
- In diesem Zusammenhang wird die experimentelle Endoskopie (Koloskopie) an Mäusen zur Analyse von Entzündungs- und Tumorigeneseverläufen routinemäßig angewendet.
- Das FACSCanto II des RCIS am Standort Benjamin Franklin wird von uns betreut. Ansprechpartner ist Rainer Glauben.

**Drittmittelprojekte:**

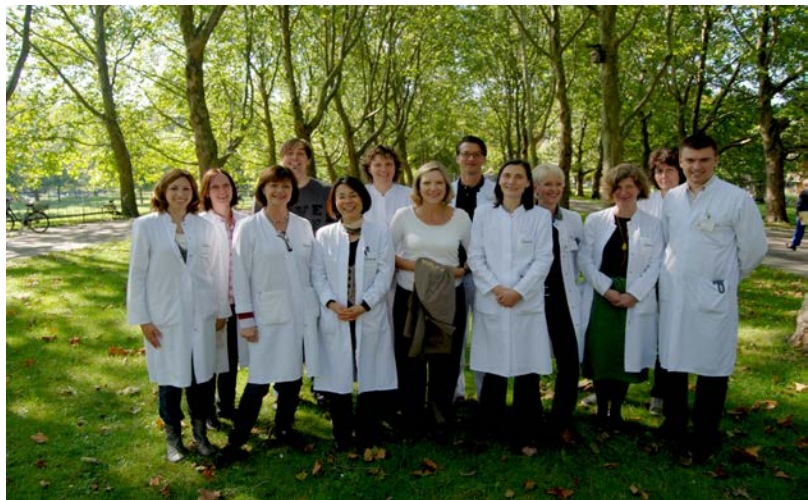
- Nachwuchsgruppe im Rahmen des Emmy-Noether-Programms der DFG
- Einzelförderung: Histonacetylierung – Epigenetische Modifikationen als Regulator der intestinalen Effektor T Helferzellantwort
- SFB 633 TP A12: Induktion und Modulation T-Zell-vermittelter Immunreaktion im Gastrointestinaltrakt
- Helmholtz Virtual Institute (HVI) „Multifunctional Biomaterials for Medicine“
- Helmholtz Alliance „Preclinical Comprehensive Cancer Center“

**Ausgewählte Publikationen:**

1. Schuster, M., R. Glauben, C. Plaza-Sirvent, L. Schreiber, M. Annemann, S. Floess, A. A. Kuhl, L. K. Clayton, T. Sparwasser, K. Schulze-Osthoff, K. Pfeffer, J. Huehn, **B. Siegmund**, and I. Schmitz. 2012. I $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) protein mediates regulatory T cell development via induction of the Foxp3 transcription factor. *Immunity* 37: 998-1008.
2. Kredel, L. I., A. Batra, T. Stroh, A. A. Kuhl, M. Zeitz, U. Erben, and **B. Siegmund**. 2012. Adipokines from local fat cells shape the macrophage compartment of the creeping fat in Crohn's disease. *Gut*.
3. Batra, A., M. M. Heimesaat, S. Bereswill, A. Fischer, R. Glauben, D. Kunkel, A. Scheffold, U. Erben, A. Kuhl, C. Loddenkemper, H. A. Lehr, M. Schumann, J. D. Schulzke, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2012. Mesenteric fat - control site for bacterial translocation in colitis? *Mucosal immunology* 5: 580-591.
4. Gerling, M., R. Glauben, J. K. Habermann, A. A. Kuhl, C. Loddenkemper, H. A. Lehr, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2011. Characterization of chromosomal instability in murine colitis-associated colorectal cancer. *PLoS ONE* 6: e22114.
5. Stroh, T., U. Erben, A. A. Kuhl, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2010. Combined pulse electroporation--a novel strategy for highly efficient transfection of human and mouse cells. *PLoS ONE* 5: e9488.
6. **Siegmund, B.** 2010. Interleukin-18 in intestinal inflammation: friend and foe? *Immunity* 32: 300-302.
7. Batra, A., B. Okur, R. Glauben, U. Erben, J. Ihbe, T. Stroh, I. Fedke, H. D. Chang, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2010. Leptin: a critical regulator of CD4+ T-cell polarization in vitro and in vivo. *Endocrinology* 151: 56-62.
9. Stroh, T., A. Batra, R. Glauben, I. Fedke, U. Erben, A. Kroesen, M. M. Heimesaat, S. Bereswill, S. Girardin, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2008. Nucleotide oligomerization domains 1 and 2: regulation of expression and function in preadipocytes. *J Immunol* 181: 3620-3627.
10. Glauben, R., A. Batra, T. Stroh, U. Erben, I. Fedke, H. A. Lehr, F. Leoni, P. Mascagni, C. A. Dinarello, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2008. Histone deacetylases: novel targets for prevention of colitis-associated cancer in mice. *Gut* 57: 613-622.

**Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Joachim Sieper  
Campus Benjamin Franklin (CBF)  
Medizinische Klinik I  
Rheumatologie  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
Tel.: 030/8445-4535  
E-Mail: joachim.sieper@charite.de

**Genutzte Räume:**

E 03 bis E 07 und E 21

**Mitarbeiter:**

Dr. Uta Syrbe, Dr. Denis Poddubnyy, Rebecca Scheer, Peihua Wu, Rene Maier, Janine Bleil, Adelheid Ditten, Christoph Sichau, Kristina Conrad

**AG homepage:** [www.rheumatologie-berlin.de](http://www.rheumatologie-berlin.de)

**Forschungsthemen:**

Wir haben in den letzten Jahren unser Forschungsinteresse auf die Untersuchung der Pathogenese, der Epidemiologie, der Diagnose und der Behandlung einer Gruppe von entzündlich-rheumatischen Erkrankungen, die als Spondyloarthritis (SpA) bezeichnet werden, konzentriert. Zu dieser Gruppe zählen die ankylosierende Spondylitis (Morbus Bechterew) als der Prototyp dieser Erkrankungen, die reaktive Arthritis, die Arthritis/Spondylitis bei Psoriasis und bei den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen. Die Gesamtprävalenz der SpA ist mit 0,6 bis 1,5 sicherlich ebenso hoch wie die der rheumatoiden Arthritis.

Bezüglich der Pathogenese haben wir die Hypothese aufgestellt und verfolgt, dass mukosale Antigene eine pathogenetische Rolle in der ankylosierenden Spondylitis (AS) spielen. Diese Vermutung stützt sich auf den Nachweis einer mikroskopischen mukosalen Entzündung bei einem Großteil der Patienten mit ankylosierender Spondylitis und die starke Assoziation von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen mit dem Auftreten einer ankylosierenden Spondylitis. Wir haben die Frequenz von Th1-Zellen bestimmt, die auf Antigene von *Escherichia coli* (*E. coli*), einem typischen Vertreter der normalen humanen Darmflora, Th1-Zytokine produzieren. Wir beobachteten, dass bei Pat. mit Mb. Crohn, d.h. bei Patienten mit einer klassischen chronischen Darmentzündung, aber auch bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis, im Blut eine verminderte Frequenz von *E. coli*-spezifischen Th1-Zellen messbar war (1). Im Gegensatz dazu fanden wir eine Anreicherung *E. coli*-spezifischer Th1-Zellen in der Synovialflüssigkeit entzündeter Gelenke (2). Dies könnte darauf hindeuten, dass tatsächlich mukosale Antigene ein Trigger der Gelenkentzündung bei ankylosierender Spondylitis sein könnte.

Daneben haben wir immunhistologische Untersuchungen an Facettengelenken von Patienten mit ankylosierender Spondylitis durchgeführt mit dem Ziel, die lokale Immunantwort und die in den Wirbelgelenken stattfindenden Umbauprozesse zu charakterisieren. Die Facettengelenke stammen dabei von Patienten, die sich einer Aufrichtungsoperation auf Grund einer ausgeprägten Kyphose unterzogen haben.

Wir fanden, dass sowohl IL-17-exprimierende Zellen (3) als auch IL-23-exprimierende Zellen (4) im subchondralen Knochenmark von Patienten mit ankylosierender Spondylitis erhöht waren im Vergleich zu Autopsie-Kontrollen. Dies ist besonders interessant unter dem Aspekt, dass Genom-

weite Assoziationsstudien Gene des IL-23-IL-17-Signalweges als Risikogene der ankylosierenden Spondylitis identifiziert haben. Unsere Daten belegen somit, dass IL-17 und IL-23 tatsächlich im Bereich von Entzündung bzw. Gelenkumbau erhöht bei der ankylosierenden Spondylitis exprimiert sind und direkt an der Pathogenese beteiligt sein könnten. Interessanterweise waren nicht nur die IL-23-exprimierenden Zellen sondern auch die IL-17-exprimierenden Zellen vorwiegend myeloischen Ursprungs, was auf eine besondere Bedeutung von Zellen der natürlichen Immunität für die Pathogenese hindeuten könnte.

Der Gelenkumbau bei der ankylosierenden Spondylitis ist durch eine überschießende Knochenneubildung im Bereich stattgehabter Entzündung gekennzeichnet. Um Patienten mit einem hohen Risiko für die Entwicklung solcher struktureller, irreversibler Schäden zu identifizieren, haben wir im Serum nach Biomarkern gesucht, die mit Knochenneubildung bei AS-Patienten assoziiert sind. Ein erhöhtes C-reaktives Protein, Raucherstatus und erniedrigte Sklerostin-Spiegel konnten als unabhängige Prädiktoren von Knochenneubildung im Bereich der Wirbelsäule bei AS-Patienten identifiziert werden (5, 6).

Neben diesen Untersuchungen führt unsere AG klinische Studien mit dem Ziel durch, die Therapiemöglichkeiten der Patienten mit ankylosierender Spondylitis zu verbessern.

### Multi-User-Geräte

Mikroskop von Olympus für konv. Immunhistologie und Immunfluoreszenzmikroskopie. Kamera von Olympus: Digitale Speicherung und Dokumentation der Untersuchungsergebnisse.

### Ausgewählte Publikationen:

1. Ergin A, Syrbe U, Scheer R, Thiel A, Adam T, Bussow K, Duchmann R, Zeitz M, **Sieper J.** 2011. Impaired peripheral Th1 CD4+ T cell response to Escherichia coli proteins in patients with Crohn's disease and ankylosing spondylitis. *J Clin Immunol* 31: 998-1009
2. Syrbe U, Scheer R, Wu P, **Sieper J.** 2012. Differential synovial Th1 cell reactivity towards Escherichia coli antigens in patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 71: 1573-6
3. Appel H, Maier R, Wu P, Scheer R, Hempfing A, Kayser R, Thiel A, Radbruch A, Loddenkemper C, **Sieper J.** 2011. Analysis of IL-17+ cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis Res Ther* 13: R95
4. Appel H, Maier R, Bleil J, Hempfing A, Loddenkemper C, Schlichting U, Syrbe U, **Sieper J.** 2013. In situ analysis of IL-23 and IL-12 secreting cells in the spine of patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* in press
5. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, **Sieper J,** Rudwaleit M. 2012. Baseline radiographic damage, elevated acute-phase reactant levels, and cigarette smoking status predict spinal radiographic progression in early axial spondylarthritis. *Arthritis Rheum* 64: 1388-98
6. Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Schett G, **Sieper J.** 2012. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 71: 572-4

### Drittmittelprojekte:

SFB 650: TP22 „Antigen-spezifische regulatorische T-Zellen für zelluläre Therapie“. Dr. A. Thiel/Prof. Dr. J. Sieper. DFG-Projekt

DFG Projekt GZ: SI 620/11-1: Osteoimmunology – IMMUNOBONE – Untersuchungen zur Interaktion zwischen Entzündung, Knochenzerstörung und Knochenneubildung bei Patienten mit AS

BMBF/DLR Projekt FKZ 01EC1009A: ArthroMark Verbund: Biomarker und Bildgebung zur Diagnose und Stratifizierung der Rheumatoiden Arthritis und Spondyloarthritis.

BMBF/DLR Projekt FKZ 01EC1002D: ANCYLOSS Verbund: Klinik und Pathophysiologie von Osteophytenformation und Ankylose/TP 4 Prof. Sieper

**AG Molekulare Bibliotheken****Arbeitsgruppenleiter:**

Dr. rer. nat. Rudolf Volkmer  
Institut für Medizinische Immunologie  
Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Hessische Str. 3-4  
10115 Berlin

**Mitarbeiter:**

Dr. Livia Otte, Dr. Prisca Boisguerin, Dr. Rolf Stigler, Dipl. Biol. Lars Vouilleme, Dipl. Biol. Judith Müller, Dipl. Biol. Anja Heiduk, Ines Kretzschmar, Christiane Landgraf, Annette Hayungs

**Forschungsthemen:**

Die AG Volkmer fokussiert sich auf Untersuchungen von Protein-Protein-Interaktionen. Dafür nutzen wir die Technologie der Peptid-Arrays im Mikro- als auch Makro-Format. Diese Technologie nutzen wir sowohl im proteomischen Sinn als auch als zielgerichtete Methode. Im besonderen Fokus der AG stehen Protein-Interaktions-Domänen wie z. B. WW, SH3 oder PDZ Domänen. Diese wurden im Falle der SH3 Domänen proteomweit oder im Fall einer krankheitsrelevanten PDZ Domäne (Mukoviszidose) zielgerichtet untersucht. Im letzteren Fall wurde ein selektiver Inhibitor der betreffenden PDZ Domänen gesucht und auch gefunden. Ein weiterer Schwerpunkt war die Untersuchung des Oligomerisierungsverhaltens von Coiled-Coil Domänen. Unsere Arbeiten führten hier zur Aufdeckung von Regeln die die Ausbildung von doppelsträngigen oder dreisträngigen Coiled-Coils steuern.

Immunologische Schwerpunkte der AG waren Arbeiten zum T-Zell Epitopmapping (Pepmix-Technologie) und zum Kartieren von B-Zell Epitopen. Unsere Technologie konnten wir kürzlich erfolgreich auf die Kartierung von IgE Epitopen im Zusammenhang mit einer Nahrungsmittelallergie anwenden. Im Zusammenhang mit der dilatativen Kardiomyopathie wird momentan versucht selektive IgG-3-Fc-bindende Peptide aufzuspüren. Diese Arbeiten sind eine hohe Herausforderung und noch nicht abgeschlossen.

Das Einschleusen von biologisch aktiven Peptiden in Zellen ist ein weiterer Schwerpunkt der AG. Ziel ist es die über Peptidarrays selektierten Peptide in ausgewählte Zellen einzuschleusen, um intrazellulären Prozessen zu beeinflussen. Im speziellen wollen wir die Auswirkung von EB1-bindenden Peptiden und von PDZ-bindenden Peptiden intrazellulär untersuchen. Dies bedeutet einen Schritt vorwärts in Hinsicht auf die Entwicklung von *in vivo Arrays* dar.

Als Service für das RCIS kann die AG Volkmer die Möglichkeit zur Peptidsynthese im mg-Maßstab als auch die Peptid-Arraytechnologie zu besonderen Konditionen anbieten.

**Drittmittelprojekte:**

DFG VO 885/3-1: Entwicklung eines *in vivo Arrays*  
Mukoviszidose-Stiftung: Selektive CAL PDZ Inhibitoren  
ProFIT: Neurotensin-Rezeptor-Tracer

**Ausgewählte Publikationen:**

**Volkmer R**, Tapia V, Landgraf C Synthetic peptide arrays for investigating protein interaction domains. *FEBS Lett* 2012, 586:2780-6.

Buey RM, Sen I, Kortt O, Mohan R, Gfeller D, Veprintsev D, Kretzschmar I, Scheuermann J, Neri D, Zoete V, Michielin O, de Pereda JM, Akhmanova A, **Volkmer R**, Steinmetz MO. Sequence determinants of a microtubule tip localization signal (MtLS). *J Biol Chem* 2012, 287:28227-42.

Filippakopoulos P, Picaud S, Mangos M, Keates T, Lambert JP, Barsyte-Lovejoy D, Felletar I, **Volkmer R**, Müller S, Pawson T, Gingras AC, Arrowsmith CH, Knapp S. *Histone recognition and large-scale structural analysis of the human bromodomain family. Cell* 2012, 149:214-31.

Koo SJ, Markovic S, Puchkov D, Mahrenholz CC, Beceren-Braun F, Maritzen T, Dervede J, **Volkmer R**, Oschkinat H, Haucke V *SNARE motif-mediated sorting of synaptobrevin by the endocytic adaptors clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia (CALM) and AP180 at synapses. Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108:13540-5.

Müller J, Triebus J, Kretschmar I, **Volkmer R**, Boisguerin P. *The agony of choice: how to find a suitable CPP for cargo delivery. J Pept Sci* 2012, 18: 293-301.



**Kontakt:**

Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Büro Forschungsmanagement RCIS  
Kirsten Kindler  
Tel.: +49 (0)30 450 513 302  
Fax : +49(0)30 450 7513 302  
E-Mail : [rcis@drfz.de](mailto:rcis@drfz.de)  
<http://rcis.charite.de>