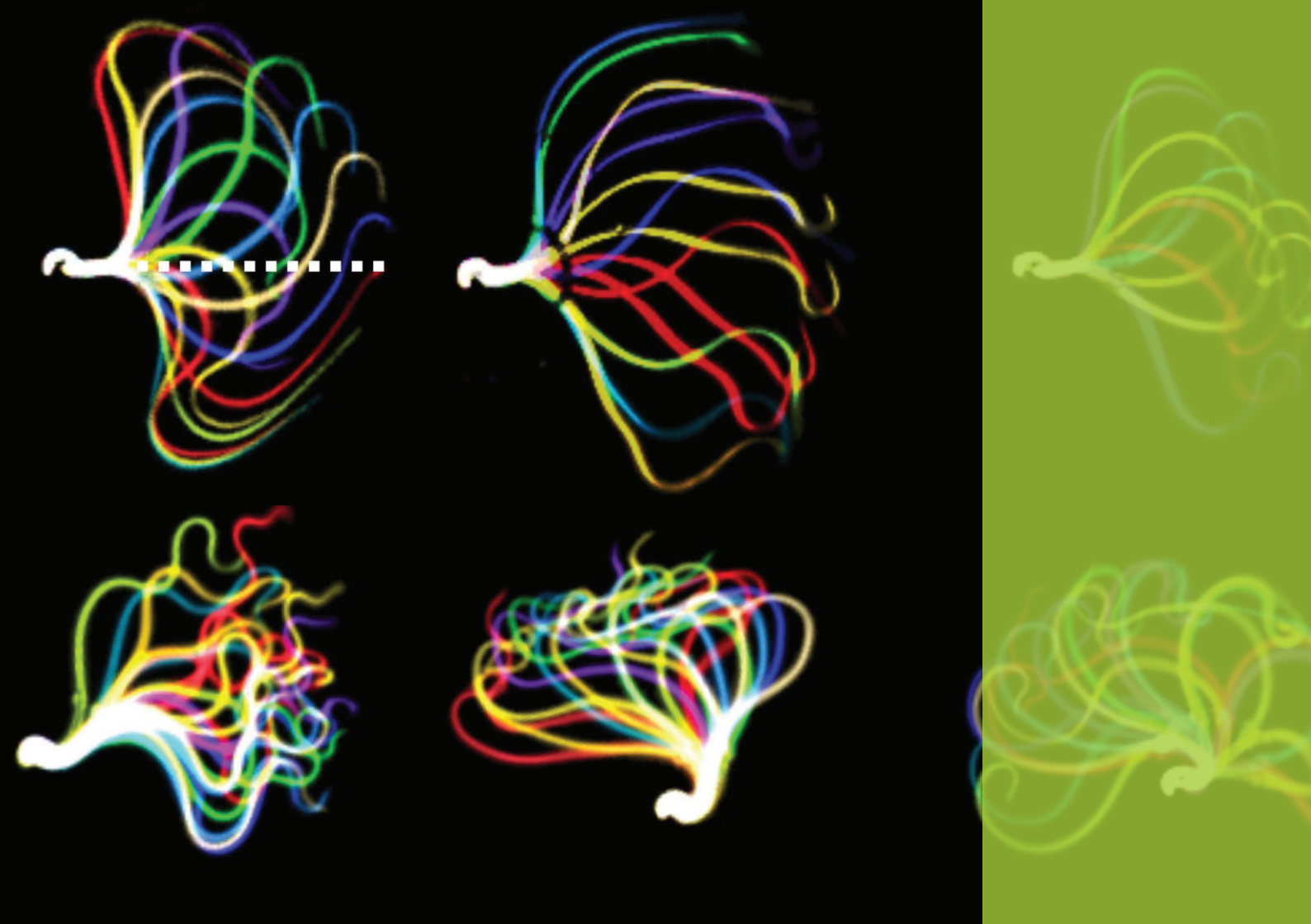




Jahresbericht 2013

caesar



center of advanced
european studies
and research



Stiftung caesar -
assoziiert mit der
Max-Planck-Gesellschaft



Stiftung caesar -
assoziiert mit der
Max-Planck-Gesellschaft

caesar



center of advanced
european studies
and research

Jahresbericht 2013



Inhaltsverzeichnis

Vorwort	7
Forschungsberichte	
Behavioral and neurobiological research Verhaltenswissenschaftliche und neurobiologische Forschung <i>Jason Kerr</i>	12
Der Unfruchtbarkeit auf der Spur <i>Dagmar Wachten</i>	17
„Umgekehrte Bionik“ – Der Schwarze Kiefernprachtkäfer mag es heiß <i>Siegfried Steltenkamp</i>	23
Epigenetische Muster – Wie Gene reguliert werden <i>Matthias Geyer</i>	31
Cytohesine als neuer Angriffspunkt für Wirkstoffe gegen Krebs- und Stoffwechselerkrankungen <i>Michael Famulok</i>	39
Berichte über abgeschlossene Doktorarbeiten	
Wie fängt man ein Protein? <i>Andreas Rennhack</i>	43
Publikationen	49
Zahlen und Fakten	
Personal	55
Finanzen	57
Organe der Stiftung	60
caesarium	62

Vorwort

Ein Forschungsinstitut, aufgebaut wie ein Max-Planck-Institut, mit drei wissenschaftlichen Abteilungen und zahlreichen Nachwuchsgruppen – dies ist der Rahmen für die personelle Entwicklung des Forschungszentrums caesar. Im Jahre 2013 ist das Institut diesem Ziel entscheidend näher gekommen.

Wichtiger Fortschritt war die Berufung von Dr. Jason Kerr zum zweiten wissenschaftlichen Direktor am Forschungszentrum caesar. Sie wurde im Juni 2013 vom Senat der Max-Planck-Gesellschaft und vom caesar-Stiftungsrat beschlossen. Nach zügigen Berufungsverhandlungen trat Herr Kerr bereits am 15. September 2013 seine neue Funktion an. Ebenso zügig fand der Aufbau der neuen Abteilung statt. Das gesamte Labor von Kerrs Max-Planck-Forschungsgruppe am Max-Planck-Institut für biologische Kybernetik in Tübingen wurde bis zum Ende des Jahres nach Bonn verlagert, auch die Mitarbeiter folgten. So konnte Herr Kerr bereits nach vier Monaten die wissenschaftliche Arbeit bei caesar fortsetzen.

Herr Kerr ist ein international anerkannter Wissenschaftler, der auf dem Gebiet der neurobiologischen Verhaltensforschung weltweit eine Spitzenstellung einnimmt. Seine Arbeiten zur Untersuchung der räumlichen und zeitlichen Steuerung neuronaler Aktivitäten während der perzeptuellen Lern- und Entscheidungsvorgänge bei Nagern prägen das Forschungsfeld maßgeblich und erfahren aufgrund ihrer außergewöhnlichen Qualität und des Einsatzes modernster bildgebender Verfahren international höchstes Ansehen. Herr Kerr konnte unter Nutzung der 2-Photonenmikroskopie erstmals nachweisen, dass es möglich ist, die Aktivitäten neuronaler Populationen im freilaufenden Tier auch für ausgedehnte Zeiträume aufzuzeichnen. Außerdem hat er erforscht, dass Ratten – obwohl sie zahlreiche Eigenschaften der zentralen Sehbahn mit Primaten und Katzen teilen – über eine grundsätzlich unterschiedliche visuelle Strategie während freier Bewegung verfügen: Während Menschen und Primaten ihre Augen parallel bewegen, um ein fusioniertes Bild zu erzeugen, bewegen sich die Augen von Ratten oft in unterschiedliche Richtungen, abhängig von Veränderungen in der Position des Kopfes. Diesen Entdeckungen kommt große Relevanz im Verständnis binokularer Vorgänge zu, und sie werfen gleichzeitig weitere fundamentale Fragen auf: Insbesondere ist unklar, wie das Gehirn von Ratten die beiden verschiedenen Bilder einer Szene kombiniert und aus welchem Grund die Ratte überhaupt über diese spezifische binokulare Sichtweise verfügt.

Durch diese Fragestellungen und sein innovatives Methodenspektrum wird Herr Kerr auf ideale Weise zum Forschungsspektrum von caesar beitragen.

Einen weiteren wichtigen Beitrag zum Forschungsspektrum des Instituts leistet die neue Arbeitsgruppe des Max-Planck-Fellow Prof. Michael Famulok, die 2013 aufgebaut wurde. Die Gruppe beschäftigt sich mit der Strukturaufklärung von Biomolekülen und der chemischen Biologie von photoaktivierbaren Substanzen. Sie arbeitet eng mit der bereits existierenden Abteilung von Prof. Kaupp und der Forschungsgruppe Physikalische Biochemie von Dr. Matthias Geyer zusammen, der wiederum vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund zu caesar gekommen ist.

Auch am Minerva-Programm der Max-Planck-Gesellschaft nimmt caesar inzwischen teil. Mit diesem Programm sollen Nachwuchswissenschaftlerinnen in W2-Positionen als Arbeitsgruppenleiterinnen gefördert werden. Das Auswahlverfahren ist streng: Die Max-Planck-Institute schlagen Kandidatinnen vor, die dann unter Hinzuziehung externer Gutachten ausgewählt werden. Mit dem Jahreswechsel hat Frau Dr. Dagmar Wachten ihre Arbeit als Minerva-Nachwuchsguppenleiterin bei caesar aufgenommen. Sie untersucht mit ihrer Gruppe die Signalwege, die die Entwicklung der Spermien steuern. Insbesondere beschäftigt sie sich mit zyklisch Nukleotid-gesteuerten Signalwegen im Verlauf der Spermatogenese und möglichen Ursachen männlicher Unfruchtbarkeit. Sie verwendet dabei biochemische, zellbiologische, gen- und fluoreszenztechnische Methoden.

Mit einer aktuellen Ausschreibung für einen Leiter einer Max-Planck-Forschungsgruppe wird das personelle Programm weiter abgerundet. Es wird ein Kandidat gesucht, der ein Forschungsprogramm vorweisen kann, das sich an der Schnittstelle zwischen theoretischer und experimenteller Neurowissenschaft bewegt. Damit sollen Fragestellungen bearbeitet werden, die die Arbeiten der übrigen Gruppen befruchten können.

Durch diese Struktur und durch die steigende Mitarbeiterzahl hat sich das Forschungszentrum caesar zu einem schlagkräftigen Institut innerhalb der Max-Planck-Familie entwickelt. 153 Mitarbeiter im wissenschaftlichen Bereich, organisiert in zwei wissenschaftlichen Abteilungen, drei Max-Planck-Forschungsgruppen und zwei Forschungsgruppen belegen den gelungenen personellen Ausbau des Institutes.



A blue ink signature of Prof. Dr. Peter Gruss, appearing to read 'P. Gruss'.

Prof. Dr. Peter Gruss
Präsident der Max-Planck-Gesellschaft
Vorsitzender des Stiftungsrates



A blue ink signature of Prof. Dr. U. Benjamin Kaupp, appearing to read 'U. B. Kaupp'.

Prof. Dr. U. Benjamin Kaupp
Geschäftsführender Direktor



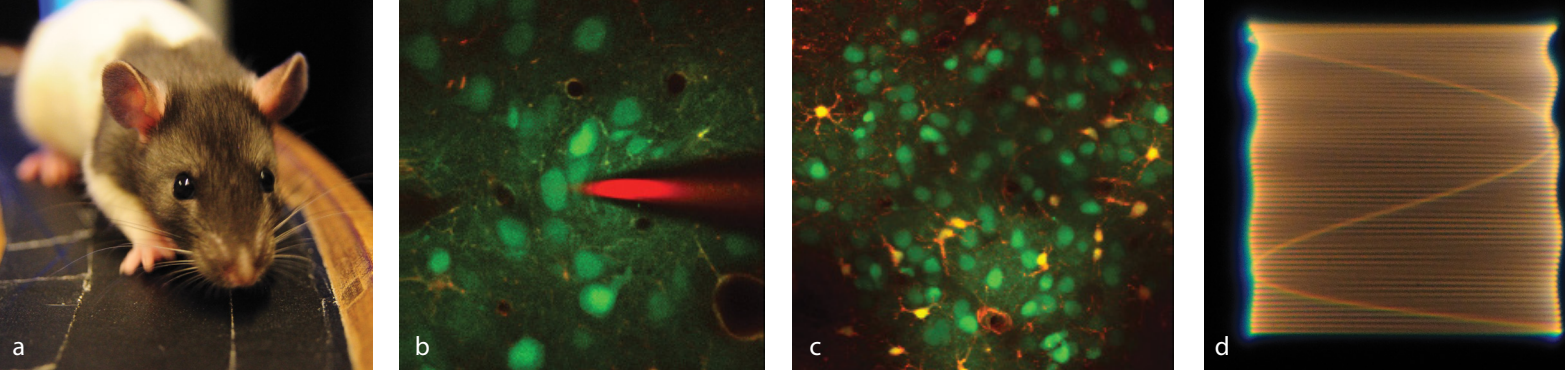
A blue ink signature of Dr. Jason Kerr, appearing to read 'Jason Kerr'.

Dr. Jason Kerr
Direktor



A blue ink signature of Gertrud Bilski, appearing to read 'G. Bilski'.

Gertrud Bilski
Kaufmännische Geschäftsführerin



Behavioral and neurobiological research

Neurophysiologist Jason Kerr, formerly Group Leader at the MPI for Biological Cybernetics, joins Ulrich Benjamin Kaupp as the second scientific Director at the caesar research center in Bonn.

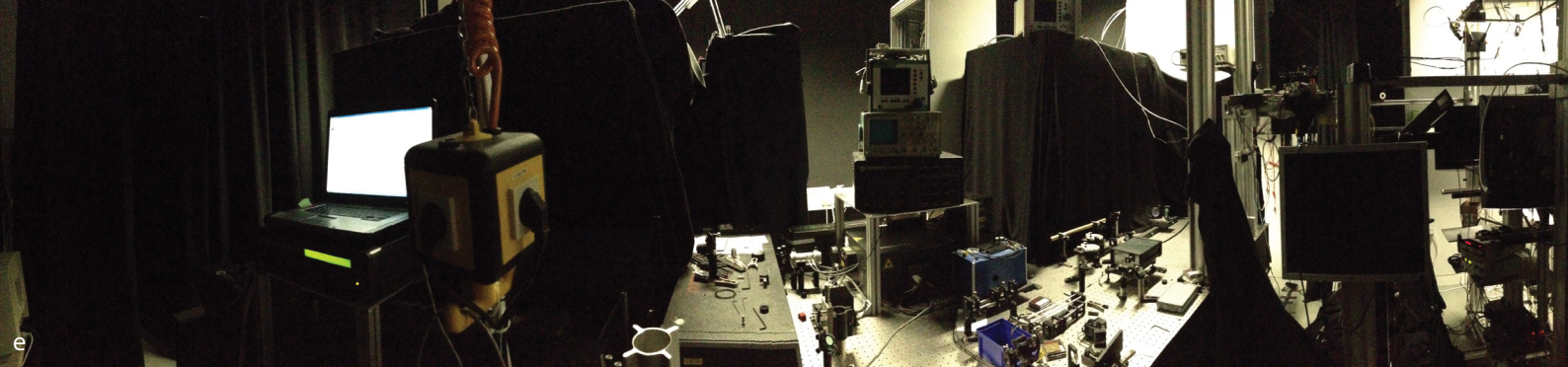
The long-term goal of Dr Kerr's research is to understand how mammals use their vision to make decisions and the neurobiological mechanisms that underlie this process. To achieve this, his group of scientists develops and uses complex methods to investigate the activity of neuronal populations in freely moving animals. In collaboration with Winfried Denk (now at the MPI of Neurobiology), he used 2-photon microscopy to conduct the first ever imaging from neuronal populations in free-moving animals, whilst simultaneously studying the animal's self-determined behaviour. In addition to imaging techniques with cellular resolution used to measure neuronal activity, he also uses imaging methods and algorithms developed by his group to measure both the animal's behavior and precise eye positions during free behavior.

In mid-2013 Jason Kerr and his group published their findings on the visual sensory system of rats to sensational acclaim. In humans and primates, the eyes move in parallel to maintain a fused image, meaning that even though we have two eyes, we see the world around us as one continuous fused image. In rats, on the other hand, the eyes were found to move in different directions, depending on the change in the animal's head position. An analysis of both eyes' field of view found that the eye movements exclude the possibility that rats constantly fuse the visual information into a single image like humans do. Instead, the eyes move in such a way that allows the space above them to be permanently in view – presumably an adaptation to help them deal with the major threat from predatory birds that rodents face in their natural environment by reducing blind spots in their visual field. How the eyes are used for gathering the information needed to direct the animal's behavior, will ultimately determine what the brain decodes and can use.

Images collected from the Department of Behavior and Brain Organization. a. Lister rats have pigmented eyes that have a large collection angle and enable a large field of view. b. Two-photon microscope generated image showing neurons (green) and glia (red/yellow) located in cortical Layer 3. In addition to recording neuronal population activity, a simultaneous electrical recording is being made using a glass pipette (red, filled with red fluorescent dye) from a single neuron. c. Single averaged image showing a cortical neuronal and glia population labelled with a fluorescence activity marker (same labelling as in b). d. Image of the XY scanning pattern of the miniaturized head-mounted two-photon microscope used for creating and imaging frame sequences (lines) and also showing the flyback trajectory for the send frame (single sinusoid path). e. Panoramic 180 degree view of some of the lasers and optical components used for shaping the infrared laser pulses used for imaging neuronal populations *in vivo*.

Contact

Jason Kerr
Research Center caesar
Department of Behavior
and Brain Organization
Phone: +49 (0)228 9656-103
jason.kerr@caesar.de



Verhaltenswissenschaftliche und neurobiologische Forschung

Bilder aus der Abteilung Organisation des Gehirns und Verhaltens. a. Lister-Haubenratten haben pigmentierte Augen mit großem Bildwinkel, die ein entsprechend großes Sichtfeld ermöglichen. b. 2-Photonenmikroskopaufnahme von Neuronen (grün) und Gliazellen (rot/gelb) in Kortexschicht III. Neben der Aktivität der neuronalen Population werden gleichzeitig die elektrischen Signale in einem einzelnen Neuron mit einer Glaspipette (gefüllt mit rotem Fluoreszenzfarbstoff) gemessen. c. Gemittelte Aufnahme einer mit Fluoreszenzfarbstoff markierten kortikalen Neuronen- und Gliazellenpopulation (Färbung wie in Abbildung b). d. XY-Scanmuster des kopfgetragenen Miniaturzweiphotonenmikroskops zur Erzeugung und Darstellung von Einzelbildreihen; gezeigt wird auch der Strahlrücklauf (sinusförmiger Einzelpfad). e. 180-Grad-Panoramaaufnahme von Lasern und optischen Elementen, mit denen Laserpulse (Infrarot) zur Darstellung neuronaler Populationen *in vivo* erzeugt werden.

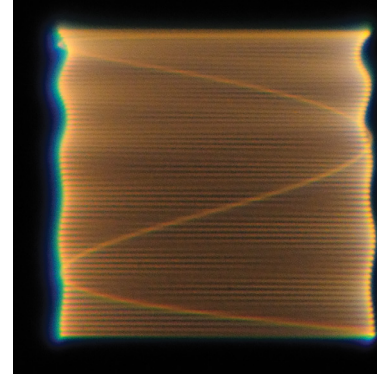
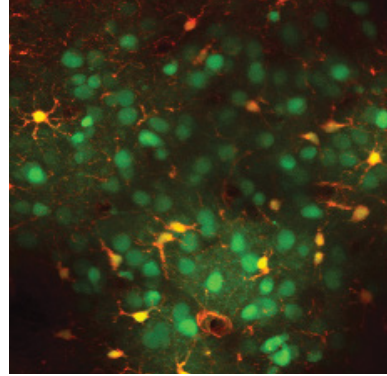
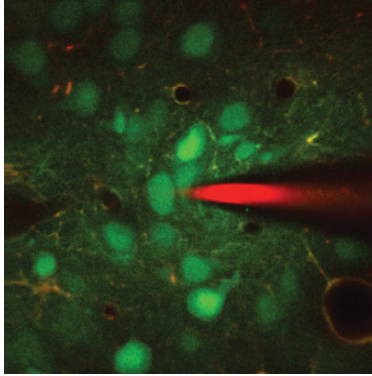
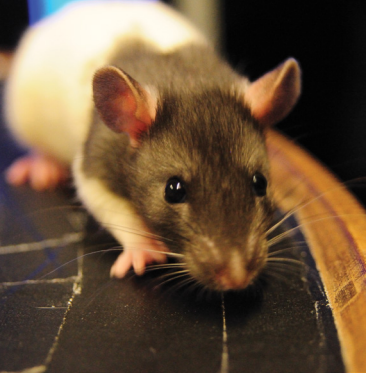
Der Neurophysiologe Jason Kerr, bislang Gruppenleiter am MPI für biologische Kybernetik, wurde nach Ulrich Benjamin Kaupp als zweiter wissenschaftlicher Direktor an das Forschungszentrum caesar in Bonn berufen.

Langfristiges Ziel der Forschung von Kerr ist es zu verstehen, wie Säugetiere aufgrund des Sehsinnes Entscheidungen fällen und welche neurobiologischen Mechanismen diesem Prozess zugrunde liegen. Dazu entwickelt seine Forschungsgruppe komplexe Methoden zur Untersuchung der Aktivitäten neuronaler Populationen bei freilaufenden Tieren. In Zusammenarbeit mit Winfried Denk (heute am MPI für Neurobiologie) gelang es Kerr mithilfe der 2-Photonen-Mikroskopie erstmals, diese neuronalen Populationen bei freilaufenden Tieren darzustellen und gleichzeitig das selbstbestimmte Verhalten dieser Tiere zu untersuchen. Neben zellulären Bildgebungsverfahren zur Messung neuronaler Aktivitäten benutzt er auch in seiner Gruppe entwickelte Bildgebungsmethoden und Algorithmen, um sowohl das Verhalten wie auch die genauen Augenpositionen bei sich frei verhaltenden Tieren zu messen.

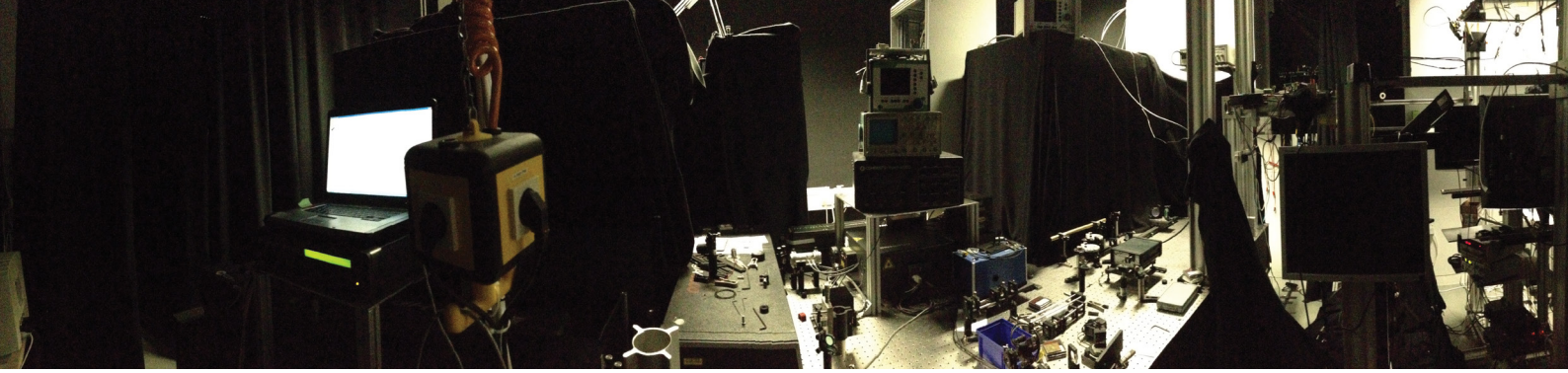
Mitte 2013 veröffentlichten Kerr und seine Gruppe einen Aufsehen erregenden Befund über das Sehsystem von Ratten. Bei Menschen und Primaten bewegen sich die beiden Augen parallel, um ein fusioniertes Bild zu erzeugen; das bedeutet, dass wir unsere Umwelt kontinuierlich als ein fusioniertes Bild wahrnehmen. Bei Ratten hingegen stellte sich heraus, dass sich die Augen oft in unterschiedliche Richtungen bewegen, abhängig von Veränderungen in der Position des Kopfes. Die Analyse der Sehfelder beider Augen ergab, dass die Augenbewegungen eine kontinuierliche Fusion der visuellen Information zu einem einzigen Bild, wie es beim Menschen der Fall ist, ausschließen. Stattdessen bewegen sich die Augen so, dass die Tiere den Raum über ihrem Kopf stets im Blick behalten, wodurch der tote Winkel reduziert wird – vermutlich ist dies dem hohen Verfolgungsdruck durch Greifvögel geschuldet, dem Nagetiere in ihrer natürlichen Umgebung ausgesetzt sind. Wie die Augen zum Sammeln verhaltenssteuernder Informationen genutzt werden, bestimmt letztlich, was das Gehirn dekodiert und nutzen kann.

Kontakt

Jason Kerr
Forschungszentrum caesar
Abteilung Organisation des
Gehirns und Verhaltens
Telefon: +49 (0)228 9656-103
jason.kerr@caesar.de



Jason Kerr was born in Wellington, New Zealand, in 1970. From 1989 onward, he initially studied human anatomy at the Department of Anatomy and Structural Biology at Otago University in Dunedin, New Zealand, graduating with a BSc in 1994, followed by a DipSci in human anatomy in 1995. He remained at Otago University, carrying out research until 1999, when he was awarded a doctorate in neurophysiology. Thereafter he held two post-doc positions, firstly from 1999 to late 2003 under Dietmar Plenz at the National Institute of Mental Health in Bethesda, Maryland, and then until 2005 with Fritjof Helmchen at the MPI for Medical Research in Heidelberg. Dr Kerr continued to work as project leader until 2006 in the department headed by Bert Sakmann, before taking up the post of leader of the Network Imaging Group at the MPI for Biological Cybernetics in Tübingen. In addition to becoming Director and head of the Department of Behavior and Brain Organization at the caesar research center, Jason Kerr is also appointed a Scientific Member of the Max Planck Society and is a member of the MPI for Neurological Research, Cologne.



Jason Kerr wurde 1970 in Wellington, Neuseeland, geboren. Ab 1989 studierte er zunächst Humananatomie am Department of Anatomy and Structural Biology an der Otago-Universität in Dunedin, Neuseeland. 1994 erlangte er dort einen Abschluss als Bachelor, 1995 ein Diplom in Humananatomie. Bis 1999 forschte er dann für seine Promotion in Neurophysiologie an der neuseeländischen Otago-Universität. Danach folgten zwei Postdoc-Stationen, zuerst von 1999 bis Ende 2003 bei Dietmar Plenz am National Institute of Mental Health in Bethesda, Maryland, dann bis 2005 bei Fritjof Helmchen am Heidelberger MPI für medizinische Forschung. Bis 2006 blieb Kerr dann noch als Projektleiter in der Abteilung von Bert Sakmann und wurde anschließend Leiter der „Network Imaging Group“ am MPI für biologische Kybernetik in Tübingen. Neben der Berufung als Direktor und Leiter der Abteilung Organisation des Gehirns und Verhaltens an das Forschungszentrum caesar wird Kerr zur Verankerung in der MPG auch zum Wissenschaftlichen Mitglied der Max-Planck-Gesellschaft berufen und ist Mitglied des MPI für Neurologische Forschung, Köln.





Der Unfruchtbarkeit auf der Spur

Dagmar Wachten

Kontakt

Dagmar Wachten

Forschungszentrum caesar

Minerva-Forschungsgruppe

Molekulare Physiologie

Telefon: +49 (0)228 9656-311

dagmar.wachten@caesar.de

Unfruchtbarkeit beim Mann kann zahlreiche Gründe haben. In etwa der Hälfte der Fälle ist die Ursache jedoch unbekannt. Uns ist es gelungen, ein neues Protein zu identifizieren, das an der Spermienentwicklung beteiligt ist. Männliche Mäuse, die dieses Protein nicht bilden, sind unfruchtbar oder aber ihre Spermien zeigen ein verändertes Schwimmverhalten, das die Befruchtung erschwert.

Kinderkriegen – die einfachste Sache der Welt? Nicht für alle Paare! In Deutschland bleibt der Kinderwunsch für mehr als 10% aller Paare unerfüllt. Lange dachte man, dass Kinderlosigkeit vor allem auf eine Unfruchtbarkeit der Frau zurückzuführen ist. Heute weiß man, dass in ca. 40% der Fälle die Ursache allein beim Mann zu finden ist.

Unfruchtbarkeit beim Mann kann zahlreiche Gründe haben. Körperliche Ursachen können entweder angeboren sein oder werden im Laufe des Lebens durch Erkrankungen, Operationen oder andere Faktoren erworben. Auch Alkohol, Nikotin, Drogen oder Umweltgifte wirken sich negativ auf die Fruchtbarkeit aus. Bei ungefähr der Hälfte der Fälle sind die Ursachen jedoch unbekannt. Bei dieser sogenannten *idiopathischen* Infertilität ist oft die Entwicklung der Spermien gestört. Um den bislang ungeklärten Ursachen für männliche Unfruchtbarkeit auf die Spur zu kommen, muss man die Proteine, die an der Spermienentwicklung beteiligt sind, kennen und ihre Funktion verstehen. Uns ist es gelungen, eines dieser Proteine zu identifizieren: Es handelt sich um CRIS (*cyclic nucleotide receptor involved in sperm function*), ein bislang unbekanntes Mitglied der Familie der zyklisch Nukleotid-bindenden Proteine.

Wie haben wir dieses neue Protein entdeckt? Die ehrliche Antwort auf diese Frage lautet: eher zufällig – wie bei so vielen Entdeckungen in der Wissenschaft! Unsere Forschung beschäftigt sich mit zyklischen Nukleotiden – intrazellulären Signalstoffen, die viele zelluläre Funktionen steuern. Doch bislang können nicht alle zyklisch Nukleotid-abhängigen Abläufe in der Zelle durch die bekannten Zielproteine für zyklische Nukleotide erklärt werden. Es stellt sich somit die Frage: Gibt es noch weitere Zielproteine für zyklische

Nukleotide? Um diese Frage zu beantworten, suchten wir in Datenbanken nach neuen Proteinen mit unbekannter Funktion. Interessant waren dabei solche Proteine, deren Aminosäuresequenz ähnlich ist wie die Sequenz von bereits bekannten zyklisch Nukleotid-bindenden Proteinen. Dabei stießen wir auf CRIS, das eine bekannte Bindestelle für zyklische Nukleotide besitzt. Der Rest des Proteins weist jedoch weder eine Ähnlichkeit zu bekannten zyklisch Nukleotid-bindenden Proteinen noch zu anderen Proteinen auf. CRIS bildet daher eine völlig neue Gruppe in dieser Proteinfamilie (Abbildung 1).

Um die physiologische Funktion von CRIS zu analysieren, stellten wir eine *Knock-out*-Maus her, in der das *Cris*-Gen ausgeschaltet wurde. CRIS wird bei diesen Mäusen nicht mehr gebildet. Diese Mäuse zeigen nur eine Auffälligkeit: Bei *Knock-out*-Männchen ist die Fruchtbarkeit stark

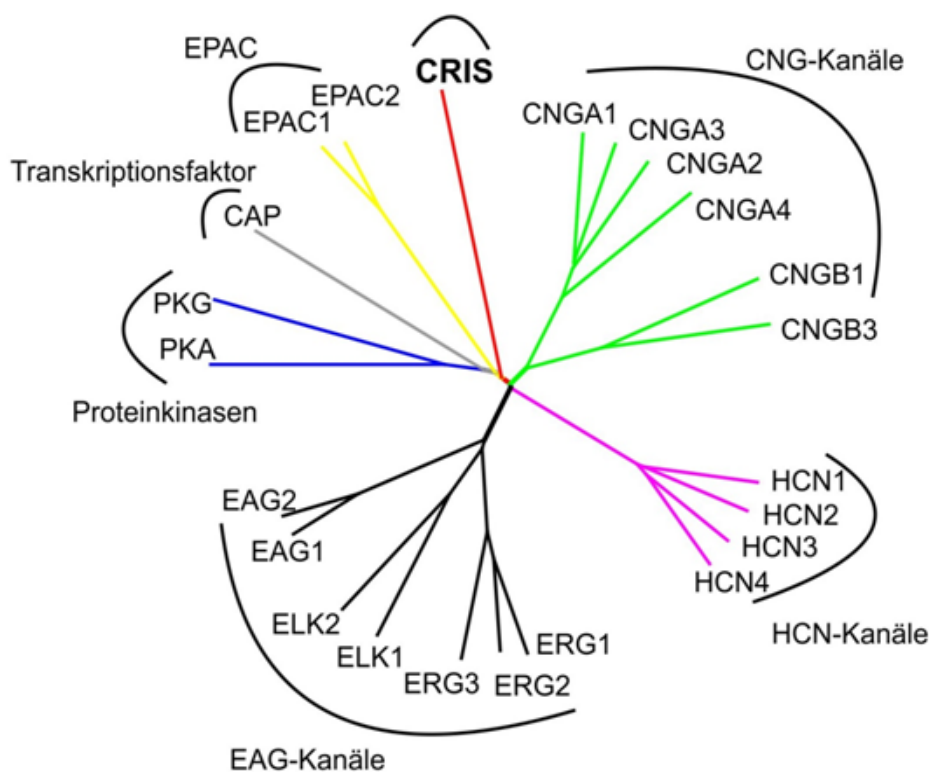


Abbildung 1: Familie der zyklisch Nukleotid-bindenden Proteine. CRIS stellt eine neue Gruppe innerhalb dieser Familie dar. CNG: cyclic nucleotid-gated; HCN: hyperpolarization activated and cyclic nucleotide-gated; EAG: ether-à-gogo; CAP: catabolite activating protein; EPAC: exchange protein activated by cAMP.

beeinträchtigt, während *Knock-out*-Weibchen fruchtbar sind. Bei den meisten Mäusen können ohne CRIS keine Spermien gebildet werden – die Männchen sind unfruchtbar. Einem Teil der Mäuse gelingt es zwar Spermien herzustellen; diese zeigen aber ein völlig verändertes Schwimmverhalten: Der Spermischwanz, das Flagellum, schlägt hauptsächlich in eine Richtung und nicht – wie bei Spermien von normalen Mäusen – symmetrisch in beide Richtungen (Abbildung 2).

Dadurch können die Spermien nicht mehr geradeaus schwimmen – sie bewegen sich nur noch auf kreisförmigen Bahnen. Ein zielgerichtetes Schwimmen hin zur Eizelle ist gestört, weshalb die Fertilität dieser Mäuse stark beeinträchtigt ist. Wir haben versucht herauszufinden, warum das Flagellum von CRIS *Knock-out*-Spermien anders schlägt. Zunächst haben wir vermutet, dass die Struktur des Motors, der für die Ausbildung des Schlagmusters verantwortlich ist, gestört ist. Diese Hypothese haben wir in Zusammenarbeit mit der Elektronenmikroskopie (Leitung Stephan Irsen) überprüft. Wir konnten jedoch zeigen, dass die Ultrastruktur des Flagellums unverändert ist (Abbildung 3).

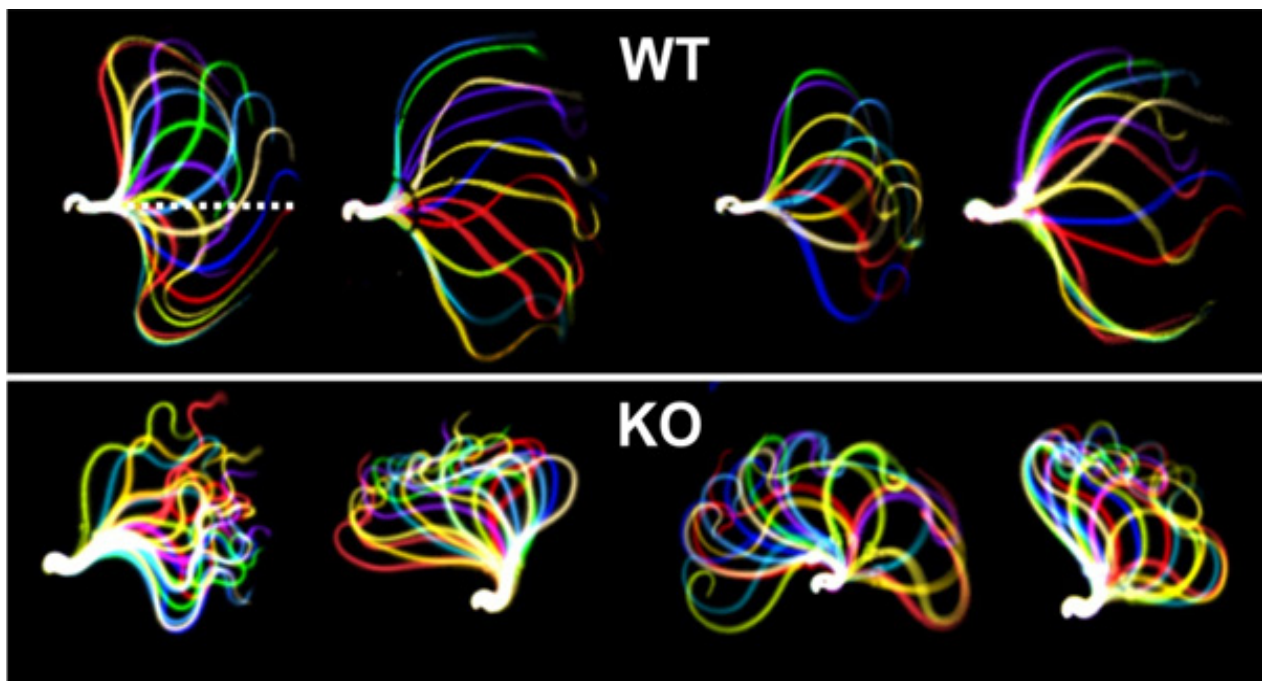


Abbildung 2: Flagellenschlag von normalen Spermien (WT) und CRIS *Knock-out*-Spermien.

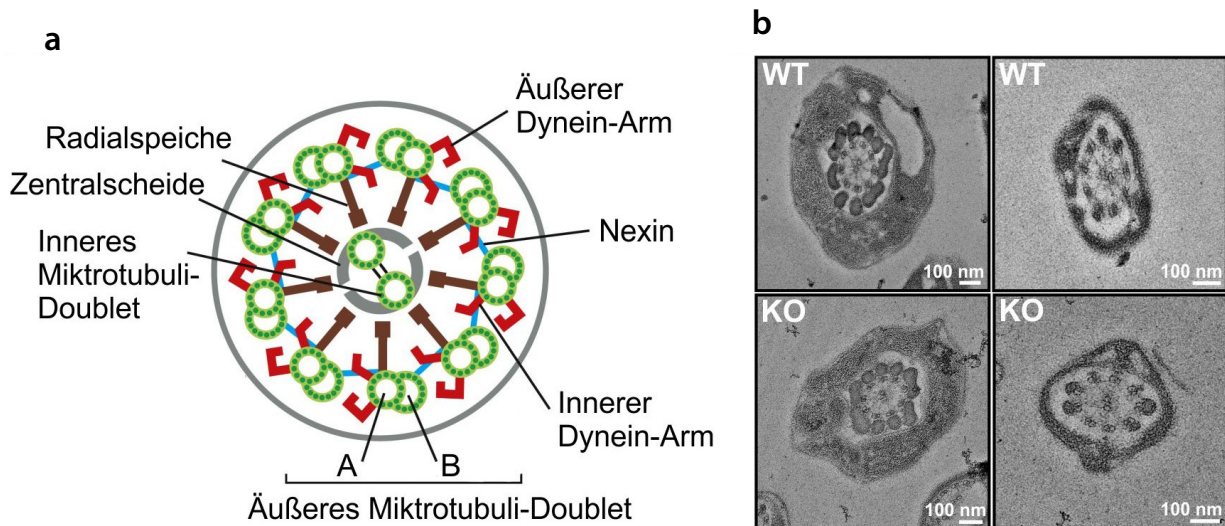


Abbildung 3: Ultrastruktur des Spermienflagellums. a. Schematische Übersicht eines Querschnitts durch ein Spermienflagellum. Die Motorproteine, die Mikrotubuli, sind in Doublets angeordnet und über Nexin-Brücken miteinander verbunden. Die Bewegung wird durch die Aktivität der Dynein-Arme vermittelt. Abbildung modifiziert aus: *Molecular Biology of the Cell* 5/e (Garland Science 2008). b. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von normalen (WT) und CRIS *Knock-out*-Spermien (KO). Links: Querschnitt durch den mittleren Teil des Spermienflagellums; rechts: Querschnitt durch den unteren Teil des Spermienflagellums. Die Ultrastruktur ist unverändert.

Was könnte dann die Ursache sein? Um diese Frage zu beantworten, suchten wir nach möglichen Interaktionspartnern von CRIS. Unsere Vermutung war, dass CRIS durch direkte Interaktion die Funktion anderer Proteine beeinflusst. Unsere Versuche zeigten, dass vor allem solche Proteine mit CRIS interagieren, die Transportprozesse im Flagellum steuern. Wir vermuten daher, dass in Spermien von CRIS *Knock-out*-Mäusen der Transport von Proteinen in das Flagellum gestört ist. Daher gelangen bestimmte Proteine nicht an ihren Bestimmungsort; die Regulation des Flagellenschlags ist gestört. Wir werden versuchen, diese Hypothese in weiterführenden Experimenten mithilfe von hochauflösender Mikroskopie zu beantworten.

Um die Funktion von CRIS beim Menschen näher zu untersuchen, wäre es hilfreich Patienten zu identifizieren, bei denen die Fruchtbarkeit aufgrund eines veränderten Schwimmmusters der Spermien – ähnlich wie bei den CRIS *Knock-out*-Spermien – eingeschränkt ist. Bei diesen



Patienten müsste man dann gezielt nach Mutationen im *CRIS*-Gen suchen, um einen Zusammenhang zwischen CRIS und Unfruchtbarkeit auch beim Menschen herzustellen.

Mit CRIS haben wir einen wichtigen Regulator der Spermienentwicklung und -funktion identifizieren können und wir hoffen nun, den Ursachen für idiopathische Infertilität bei Männern auf die Spur zu kommen.

Literatur

Krähling, M., Alvarez, L., Debowski, K., Van, Q., Gunkel, M., Irsen, S., Al-Amoudi, A., Strünker, T., Kremmer, E., Krause, E., Voigt, I., Wörtge, S., Waisman, A., Weyand, I., Seifert, R., Kaupp, U. B. & Wachten, D. (2013) "CRIS- a novel cAMP-binding protein controlling spermiogenesis and the development of flagellar bending" *PLoS Genetics*, DOI: 10.1371/journal.pgen.1003960





„Umgekehrte Bionik“ – Der Schwarze Kiefernprachtkäfer mag es heiß

Siegfried Steltenkamp

Kontakt

Siegfried Steltenkamp

Forschungszentrum caesar

Projektgruppe Mikrosystemtechnologie

Telefon: +49 (0)228 9656-371

siegfried.steltenkamp@caesar.de

Manche mögen es heiß – die Marilyn Monroe der Natur ist der Schwarze Kiefernprachtkäfer. Um sich fortzupflanzen, fliegt der Käfer zu frischen Waldbrandgebieten. Seine Larven ernähren sich von dem verbrannten Holz. Das Feuer findet er mit einem Infrarotorgan, das Wärmestrahlung wahrnimmt. Bislang ist noch nicht geklärt, aus welcher Entfernung der Käfer Feuer detektieren kann. Ein nach dem Vorbild des Käfers entwickelter technologischer Infrarotsensor kann helfen, diese Frage zu klären. Dieser Sensor soll nicht nur Rückschlüsse auf die Biologie zulassen, sondern könnte auch als Frühwarnsystem für Waldbrände dienen.

Überall in der Welt verursachen Waldbrände jedes Jahr katastrophale Schäden. Um Waldbrände effektiv zu löschen, muss es schnell gehen, denn der Aufwand wächst mit der Zeit exponentiell an. Bisherige Frühwarnsysteme sind aufwendig und teuer. Der Mensch steht dem Feuer oft noch machtlos gegenüber. Ein Blick in die Natur lohnt sich: Für viele unserer Probleme hat die Evolution bereits eine Antwort parat. Die sensibelsten sensorischen Systeme finden wir in der Tierwelt: Der Schwarze Kiefernprachtkäfer etwa kann mithilfe eines Infrarotorgans Wärmestrahlung wahrnehmen und so Waldbrände aufspüren. Die Weibchen legen ihre Eier in verkohltes Holz, von dem sich die geschlüpften Larven ernähren. In einer solchen Umgebung muss der Käfer keine Fressfeinde fürchten – eine echte ökologische Nische!

Wir möchten das Infrarotorgan des Käfers technologisch nachbauen. Hierbei stellt sich die Frage, wie sensitiv das Organ des Käfers ist. Aus welcher Entfernung kann der Käfer einen Waldbrand detektieren? Ein Blick in die wissenschaftliche Literatur offenbart eine langjährige kontroverse Diskussion. Die Theorien widersprechen sich stark: Angaben über die Sensitivität des Sensors reichen von wenigen Metern bis über 100 Kilometer!!

Zunächst fanden Wissenschaftler heraus, dass der Kiefernprachtkäfer grundsätzlich auf Wärmestrahlung reagiert [1]. Aus Verhaltensexperimenten kann man schließen, dass der Käfer eine Detektionsreichweite von 10 km hat. Im Jahr 2010 korrigierten

die Wissenschaftler die Reichweite auf 50 m [2]. Die minimale Wärmestromdichte, die der Käfer demnach wahrnehmen kann, beträgt $0,6 \text{ W/m}^2$ beziehungsweise $1,6 \cdot 10^9$ Photonen pro Sekunde und Sensorzelle (Wellenlänge von $3 \text{ }\mu\text{m}$). Das bedeutet, dass der Kiefernprachtkäfer nach dieser Theorie einen Waldbrand zufällig findet und sich mit seinem Infrarotorgan lediglich über kurze Distanzen orientieren kann.

Andere Wissenschaftler hingegen ermittelten eine Detektionsreichweite von 130 km [3]. Ihre Forschung stützt sich auf eine Entdeckung: Im Jahr 1924 fand man viele tausend Käfer bei einem Brand eines Öltanklagers in Coalinga, Kalifornien. Die Käfer tauchten wie aus dem Nichts auf. Das Tanklager befand sich inmitten eines trockenen Wüstengebiets; das nächstgelegene Waldgebiet lag etwa 130 km weit entfernt. Die Käfer mussten – so die Wissenschaftler – aus dieser großen Entfernung das Feuer detektiert haben. Basierend auf Brandsimulationen zogen die Wissenschaftler aus diesem Ereignis den Schluss, dass die Käfer eine minimale Wärmestromdichte von $4 \cdot 10^{-5} \text{ W/m}^2$ beziehungsweise $1 \cdot 10^5$ Photonen pro Sekunde und pro Sensorzelle detektieren können.

Wie das Infrarotorgan funktioniert

Das Infrarotorgan befindet sich an beiden Körperseiten unterhalb des Flügelansatzes. Das Infrarotorgan hat einen Durchmesser von etwa $100 \text{ }\mu\text{m}$ und besteht aus 70 bis 100 einzelnen Sensorzellen, den sogenannten Sensillen (Abbildung 1 b) [4]. Eine Sensille hat einen Durchmesser von etwa $15 \text{ }\mu\text{m}$ – genau abgestimmt auf Wärmestrahlung, die von einem großen Feuer ausgeht.

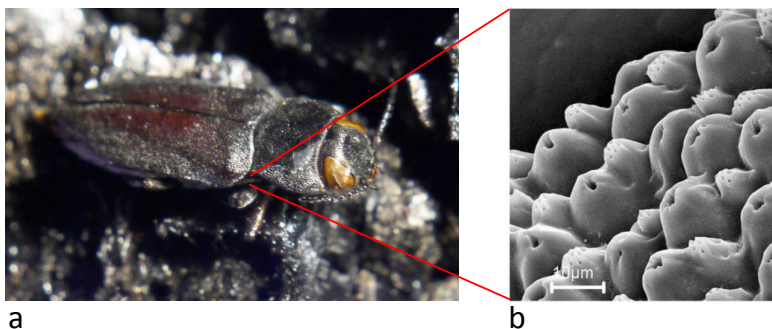


Abbildung 1: Der Schwarze Kiefernprachtkäfer mit seinem Infrarotorgan.
 a. Der Schwarze Kiefernprachtkäfer *Melanophila acuminata*. b. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Sensillen [4;5].

Die Sensillen des Käfers lösen durch die Wärmestrahlung einen mikromechanischen Reiz aus: Die Wärmestrahlung wird zunächst in den Sensillen absorbiert. Dadurch erwärmt sich die Sensillenflüssigkeit und dehnt sich aus; es entsteht eine Art Überdruck. Es wird vermutet, dass dieser Druck von einem Dendriten – einer drucksensiblen Spitze – wahrgenommen wird [6;7]. Ein möglicher Mechanismus zur Detektion wurde 2007 vorgeschlagen [8]. Die Sensille unterteilt sich in eine Druckkammer und eine Ausgleichskammer (Abbildung 2). Sie besteht aus einer schwammartigen Struktur, deren Hohlräume mit Flüssigkeit gefüllt sind. Die Druckkammer ist umgeben von einer harten Schale aus Chitin. Durch Nanokanäle ist die Druckkammer mit der Ausgleichskammer verbunden. Während kurze Intervalle der einfallenden Wärmestrahlung den Dendriten in der Druckkammer auslenken, werden langsame Erwärmungen (zum Beispiel aufgrund unterschiedlicher Tageszeiten) über die Nanokanäle und die Ausgleichskammer kompensiert [9].

Wir möchten dieses Prinzip für einen technologischen Sensor nutzen. Dieses Lernen aus der Natur bezeichnet man als Bionik. Mithilfe der Mikrosystemtechnologie kann man solche Systeme stark verkleinern. Dieses Vorgehen nennen wir μ -Bionik.

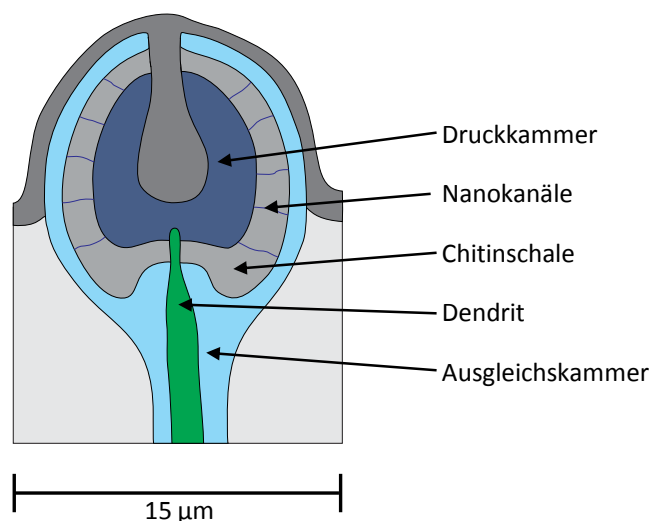


Abbildung 2: Vereinfachter Querschnitt einer Sensille [5].

Der μ -bionische Sensor

Wie das biologische Vorbild besteht auch der μ -bionische Sensor aus zwei Kammern: der Druckkammer und der Ausgleichskammer (Abbildung 3). Die beiden Kammern sind mit Flüssigkeit gefüllt und durch mikrofluidische Kanäle miteinander verbunden. Die Nanokanäle des Käfers werden im technologischen Sensor durch mikrofluidische Kanäle ersetzt. Auch das Detektionsprinzip ähnelt dem des Käfers: Die eintreffende Wärmestrahlung wird von der Flüssigkeit im Sensor absorbiert; dabei dehnt sich die Flüssigkeit aus. In der Druckkammer steigt somit der Druck an. Bei einem schnellen Anstieg wird eine Siliziumnitrid-Membran (Si_3N_4) ausgelenkt. Diese Membran ist Bestandteil eines Mikrokondensators – die μ -bionische Version des Käferdendriten. Durch die Auslenkung der Membran verringert sich der Abstand der Elektroden; die Kapazität des Kondensators vergrößert sich. Langsame Druckänderungen werden durch eine weiche Membran aus einem Polymer (PDMS) in der Ausgleichskammer kompensiert. Die Mikrofluidik wirkt dabei als Filter, indem sie langsame Änderungen ungehindert passieren lässt, für kurze Druckanstiege aber zu träge ist.

Mithilfe eines mathematischen Modells lassen sich optimale Abmessungen, Schichtdicken und Materialien bestimmen [10]. Eine von uns entwickelte Elektronik ermöglicht es, winzige Kapazitäts-

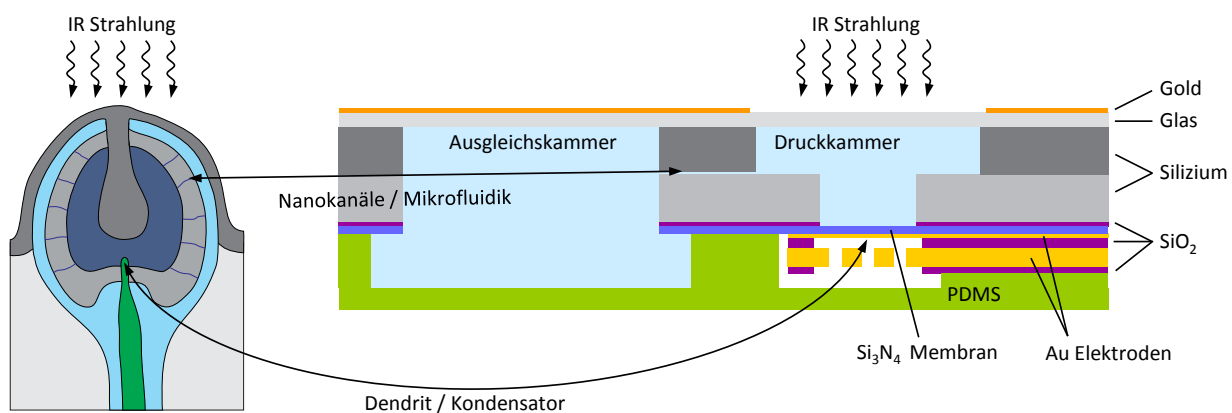


Abbildung 3: μ -bionischer Transfer des biologischen Infrarotorgans zu einem technologischen Sensor. Im rechten Querschnitt des technischen Sensors sind die mikrotechnologischen Materialien farblich gekennzeichnet [5], [9].

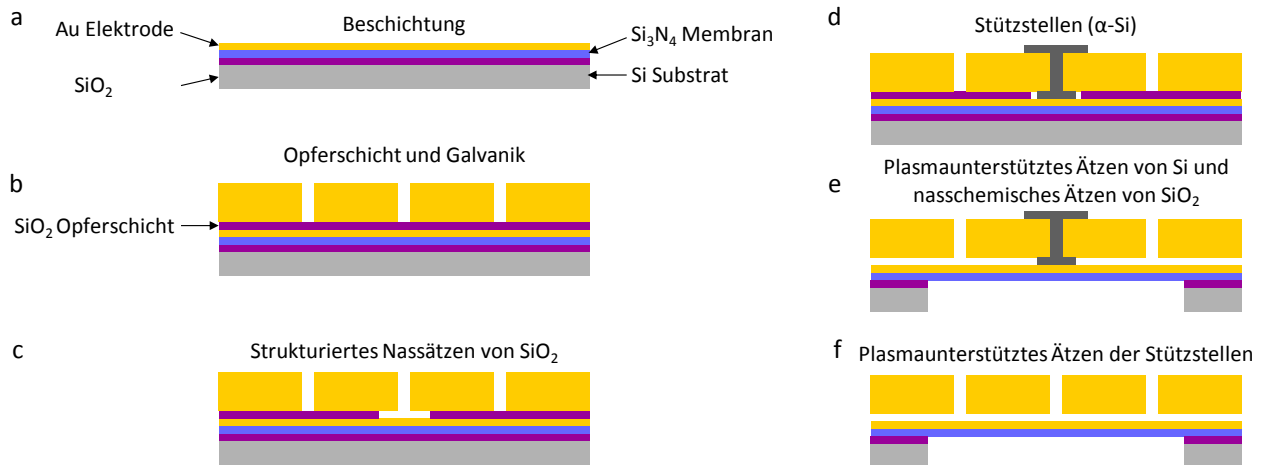


Abbildung 4: Schematische Querschnittsbilder des Herstellungsprozesses einer Mikrokapazität. Der Prozessablauf ist sehr komplex und zeitintensiv. Es wechseln sich Oxidations-, Ätz- und Beschichtungsschritte ab. Nach der Beschichtung eines Wafers mit SiO_2 , Si_3N_4 und Gold werden eine Opferschicht (SiO_2) und eine Goldschicht aufgetragen. Ein selektiver nasschemischer Ätzschritt entfernt die Opferschicht an einigen Stellen, an denen danach Stützen aus Silizium eingebaut werden. Diese Stützen sollen verhindern, dass die Elektroden während der folgenden Prozessschritte aneinander haften [5]. Nun wird die restliche Opferschicht nasschemisch entfernt. Die Stützstellen werden abschließend durch einen trockenchemischen Prozess entfernt. Es verbleibt ein sehr sensibler Kondensator mit einer dünnen Membran, die die Druckkammer abschließt.

änderungen im Bereich von Attofarad (10^{-18} F) zu messen. Wir konnten die Funktionsweise des mikrofluidischen Filters in einem vereinfachten Versuchsaufbau zeigen. Die Fertigung des Sensors ist besonders anspruchsvoll. Insbesondere die Herstellung des Mikrokapazitors ist sehr knifflig (Abbildung 4).

Wir sehen Infrarot!

Abbildung 5 a zeigt verschiedene Sensoren auf einem Wafer. Jeder dieser Sensoren beinhaltet einen Mikrokapazitor, einen vergrabenen mikrofluidischen Filter und eine Ausgleichskammer. Wir konnten zeigen, dass die Datenerfassung und der mikrofluidische Filter funktionieren. Zusätzlich haben wir ein theoretisches Modell erstellt, das die Sensorantwort voraussagt [10]. In verschiedenen Versuchen konnten wir zeigen, dass die Filterung durch Mikrofluidik unsere theoretischen Voraussagen bestätigt. Auch ein erster Sensor mit einer Mikrokapazität wurde erfolgreich hergestellt. Zwar sind

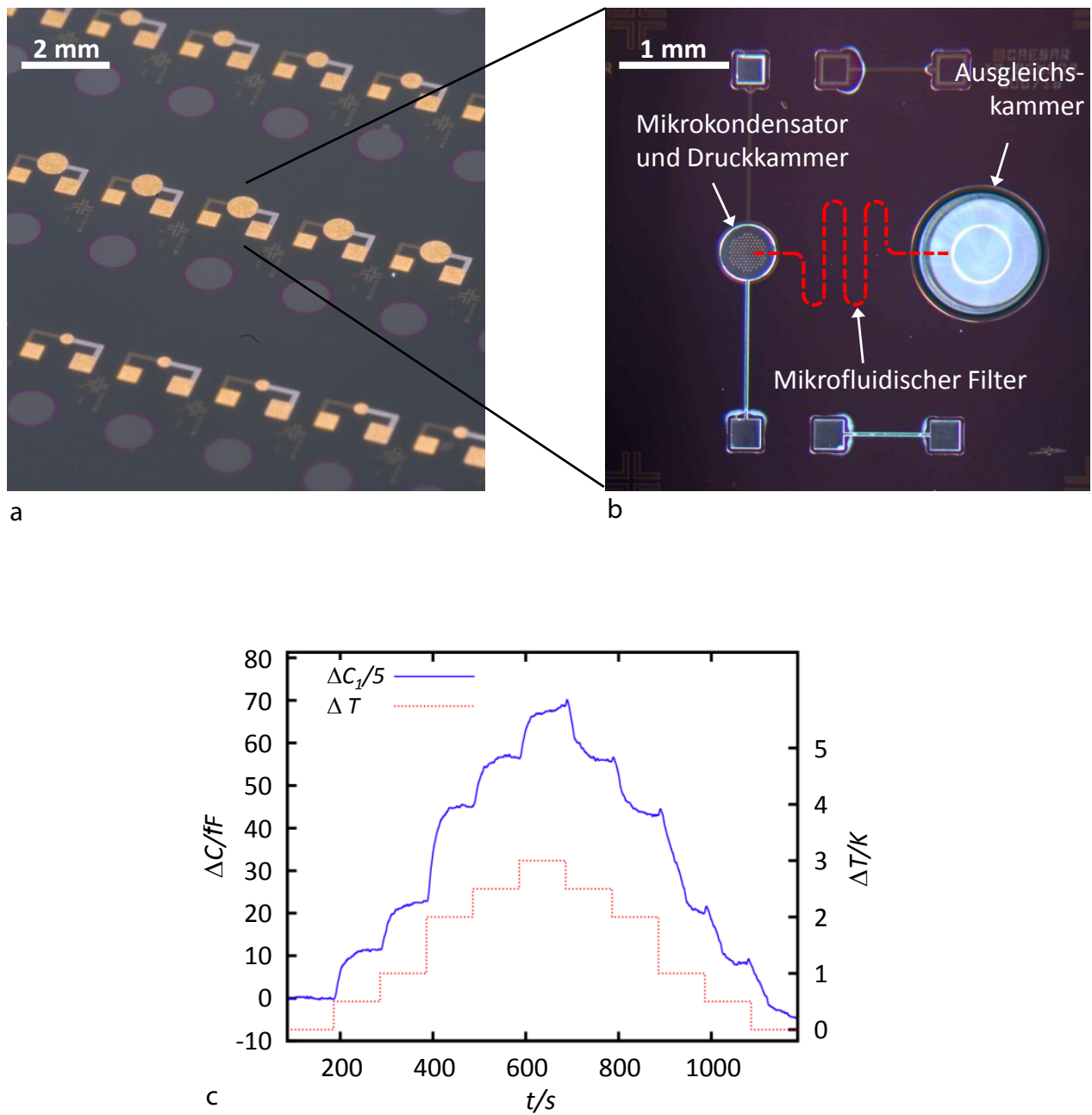


Abbildung 5: Die Mikrokapazität. a. Ausschnitt eines vollständig prozessierten Wafers. Wafer haben mehrere hundert Sensoren. b. Sensorchip mit den einzelnen Komponenten. Die vergrabene Mikrofluidik ist gesondert gekennzeichnet. c. Messung der Kapazität bei einer induzierten Temperaturänderung [10].



die Kammern noch mit Luft gefüllt, dennoch kann der Sensor Temperaturunterschiede von einem Zehntel Grad problemlos messen. Das entspricht einer Auslenkung der Membran von wenigen Nanometern; die resultierende Kapazitätsänderung beträgt mehrere 100 Attofarad. Als letzten Schritt müssen wir die Kammern mit Wasser füllen, wobei keine Luftblasen entstehen dürfen. Wir besitzen bereits ein Patent zum blasenfreien Befüllen [11]. Erste Vorexperimente zeigen positive Ergebnisse.

Umgekehrte μ -Bionik

Der fertige Sensor soll unter anderem zur Frühwarnung vor Waldbränden eingesetzt werden. Außerdem wollen wir ein biologisches Rätsel lösen: Wir möchten mithilfe des Sensors verstehen, wie der Kiefernprachtkäfer frische Waldbrände findet und auf welche Entfernung er einen Waldbrand detektieren kann. Wir betreiben also Bionik im doppelten Sinne: Zunächst entwickeln wir einen technologischen Infrarotsensor nach dem Vorbild der Natur. Darüber hinaus erlangen wir aber auch neue Erkenntnisse, um die Natur besser zu verstehen. Bionik umgekehrt, sozusagen!

Unser Forschungsprojekt geht nun ins *Verflixte Siebte Jahr*. Im Gegensatz zu dem Lektor Richard Sherman, der sich 1955 von der echten Marilyn Monroe kräftig einheizen ließ, bewahren wir einen kühlen Kopf und sind sicher, einen kompletten Sensor noch in diesem Jahr fertigstellen zu können.

Literatur

- [1] Evans, W. G. (1964) "Infrared receptors in *melanophila acuminata* degeer" *Nature* 202 , 211
- [2] Evans, W. G. (2010) "Reproductive role of infrared radiation sensors of *Melanophila acuminata* (Coleoptera: Buprestidae) at forest fires" *Ann. Entomol. Soc. Am.* 103, 823-826
- [3] Schmitz, H. & Bousack, H. (2012) "Modelling a historic oil-tank fire allows an estimation of the sensitivity of the infrared receptors in pyrophilous *melanophila* beetles" *PLoS One* 7, e37627
- [4] Klocke, D., Schmitz, A., Soltner, H., Bousack, H. & Schmitz, H. (2011) "Infrared receptors in pyrophilous ("fire loving") insects as model for new uncooled infrared sensors" *Beilstein J. Nanotechnol.* 2, 186–197
- [5] Siebke, G., Holik, P., Schmitz, S., Lacher, M. & Steltenkamp, S. (2013) "A μ -biomimetic uncooled infrared sensor" *Proc. SPIE Bioinspiration, Biomimetics, and Bioreplication*, San Diego, USA
- [6] Schmitz, H. & Bleckmann, H. (1997) "Fine structure and physiology of the infrared receptor of beetles of the genus *Melanophila* (Coleoptera: Buprestidae)" *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 26, 1441–1450
- [7] Vondran, T., Apel, K. H. & Schmitz, H. (1995) "The infrared receptor of *Melanophila acuminata* De Geer (Coleoptera: Buprestidae): Ultrastructural study of a unique insect thermoreceptor and its possible descent from a hair mechanoreceptor" *Tissue Cell* 27, 645–658
- [8] Schmitz, A., Sehrbrock, A. & Schmitz, H. (2007) "The analysis of the mechanosensory origin of the infrared sensilla in *Melanophila acuminata* (Coleoptera; Buprestidae) adduces new insight into the transduction mechanism" *Anthrop. Structure & Development* 36, 291–303
- [9] Lacher, M. (2008) "Schwarzer Kiefernprachtkäfer als Vorbild für mikrotechnischen Infrarotsensor" *caesar-Jahresbericht*, 41-46
- [10] Siebke, G., Holik, P., Schmitz, S., Schmitz, H., Lacher, M. & Steltenkamp, S. (2014) "A model for μ -biomimetic thermal infrared sensors based on the infrared receptors of *Melanophila acuminata*" *Bioinspir. Biomim.* 9, 036012
- [11] Lacher, M., Holik, P., Koch, M. & Schmitz, S. (2009) "Verfahren zum blasenfreien Füllen einer Mikrokavität" Patent DE 10 2009 052 828.8 A1, SC 09189, 16991-112



Epigenetische Muster – Wie Gene reguliert werden

Matthias Geyer

Kontakt

Matthias Geyer

Forschungszentrum caesar

Forschungsgruppe Physikalische Biochemie

Telefon: +49 (0)228 9656-233

matthias.geyer@caesar.de

Obwohl alle Zellen des Menschen nahezu die gleiche DNA-Sequenz besitzen, haben sie völlig unterschiedliche Funktionen. Denn nicht in jeder Zelle sind alle Gene aktiv. Bei der Entwicklung von der alleskönnenden befruchteten Eizelle zur Herz-, Muskel- oder Nervenzelle müssen manche Genregionen ein- und andere ausgeschaltet werden. Diese Regulation der Gene bezeichnet man als Epigenetik. Die Umschreibung der DNA in RNA, also die Transkription, wird durch Enzyme reguliert. Wir untersuchen, wie die epigenetische Information auf die Enzyme übertragen wird. Bei vielen Krankheiten wie Krebs spielt eine Überfunktion dieser Enzyme eine wichtige Rolle. Würde man den epigenetischen Code besser verstehen, könnten sich neue Ansätze ergeben, um diese Überfunktion zu kontrollieren und neue Medikamente zu entwickeln.

Das Genom ist das „Buch des Lebens“, geschrieben aus einem Alphabet mit vier Buchstaben: A wie Adenosin, G wie Guanin, C wie Cytosin und T wie Thymin – den vier Basen des DNA-Codes. Wer die Gene kennt, kennt den Menschen und kann Krankheiten wie Krebs, Diabetes und Alzheimer bezwingen. Das waren die Hoffnungen, die man hatte, als man im Jahr 2000 das menschliche Genom entschlüsselte. Groß war die Verwunderung, als man feststellte, dass der Mensch nur rund 23.500 Protein-kodierende Gene besitzt. Unwesentlich mehr als die Taufeliege oder der Regenwurm, und deutlich weniger als manche Pflanze! Es ist also keinesfalls die Anzahl der Gene, die für die Entwicklung komplexer Organismen entscheidend ist. Es ist auch nicht allein die Größe des Genoms, die beim Menschen mit rund drei Milliarden Basen sehr hoch ist. Der Mensch ist mehr als die Summe seiner Gene. Entscheidend ist, dass die Genaktivität durch einen Code gezielt reguliert werden kann.

Doch wie genau werden Gene gesteuert? Wie sieht der epigenetische Code aus? Man kennt zwei epigenetische Effekte. Die erste Codemöglichkeit besteht in einer Modifizierung der DNA: Methylgruppen ($-\text{CH}_3$) docken an den DNA-Strang an und verhindern so, dass die nachfolgende Gensequenz abgelesen werden kann. Das Gen wird praktisch abgeschaltet. Umgekehrt können Gene aber auch aktiviert werden. Um diesen zweiten epigenetischen Effekt zu verstehen,

muss man sich zunächst vor Augen halten, wie die DNA im Zellkern Platz findet. Das ist nicht trivial, denn der menschliche DNA-Strang ist etwa zwei Meter lang! Wie bitte soll dieser in einen Zellkern passen, der einen Durchmesser von wenigen Mikrometern hat? Dies geschieht durch eine geschickte Verpackungstechnik: Wie bei einer Spule wird der DNA-Strang um Millionen von Proteinen, sogenannte Histone, gewickelt. Die Histone erscheinen dann wie Perlen aneinandergereiht. So wird die DNA etwa um den Faktor 10.000 komprimiert! Den so entstehenden DNA-Protein-Komplex bezeichnet man als Chromatin. Um Gene zu aktivieren, muss das Erbgut an der entsprechenden Stelle zunächst wieder „entpackt“ werden. Werden die Histonschwänze acetyliert (Acetylgruppe: $-C(O)CH_3$), so lockert sich die Chromatinstruktur und das Ablesen der DNA wird erleichtert.

Der erste Schritt der Proteinbiosynthese ist die Transkription, also die Umschreibung der DNA in RNA. Die DNA befindet sich im Zellkern; dort können keine Proteine hergestellt werden. Der genetische Code muss zum Ort der Proteinbiosynthese gebracht werden – den Ribosomen. Dies geschieht über die sogenannte mRNA (*messenger RNA*), einer komplementären Kopie eines DNA-Teilstücks. Wichtig ist, dass bei der Transkription die epigenetische Information nicht verlorengeht. Bei der anschließenden Translation – der Übersetzung der RNA in Proteine – sollen ja schließlich nur diejenigen Proteine gebildet werden, die auch dafür vorgesehen waren. Die Transkription teilt man in drei Schritte ein: Initiation, Elongation und Termination. In allen drei Schritten ist das Enzym RNA-Polymerase II beteiligt. Bei der Initiation bindet die RNA-Polymerase II an Promotermoleküle des DNA-Strangs und „entschraubt“ die Doppelhelix. Während der Elongation kommt es zur Umschreibung von DNA in mRNA. Die RNA-Polymerase II synthetisiert dabei durch Anlagerung freier Ribonukleotide einen zur DNA komplementären mRNA-Strang. Trifft die RNA-Polymerase II auf eine Terminatorsequenz, stoppt sie und es kommt zur Ablösung des mRNA-Strangs. Wie schafft es die RNA-Polymerase II dabei, die epigenetische Information – Methylierung der DNA und Acetylierung der Histone – aufzunehmen und weiterzuleiten an die mRNA? Zu kompliziert darf das nicht sein. Denn wenn bei einer Infektion Antikörper gebildet werden müssen, sollte es schnell gehen. Um die epigenetische Information des Genoms aufzunehmen, hat die RNA-Polymerase eine eigene Plattform entwickelt – die sogenannte C-terminale Domäne.



Abbildung 1: Die C-terminale Domäne (CTD) der RNA-Polymerase II des Menschen. Am C-Terminus der großen Untereinheit der RNA-Polymerase II besitzen multizelluläre Organismen eine sich ständig wiederholende Aminosäuresequenz (Konsensussequenz), die sich aus dem Motiv Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser (YSPTSPS im Einbuchstabencode der Aminosäuren) zusammensetzt. 52 Wiederholungen dieses Motives gibt es beim Menschen. Abweichungen von der Konsensussequenz treten vornehmlich im hinteren Bereich der CTD auf.

Die C-terminale Domäne (CTD) der RNA-Polymerase II

Jedes Protein besitzt ein Amino-Ende (*N-Terminus*) und ein Carboxy-Ende (*C-Terminus*). Am C-Terminus der RNA-Polymerase II findet man beim Menschen einen ungewöhnlichen Bereich, der aus 52 Wiederholungen eines Hepta-Peptids (also eines Peptids mit sieben Aminosäuren) besteht. Das kann man sich leicht merken, denn es entspricht der Anzahl der Wochen eines Jahres und der Tage einer Woche. Die sich stets wiederholende Sequenz – die sogenannte Konsensussequenz – lautet (Abbildung 1):

Tyrosin – Serin – Prolin – Threonin – Serin – Prolin – Serin.

Die RNA-Polymerase II aller mehrzelligen Organismen sowie einiger Einzeller ist mit dieser Struktur ausgestattet [1]; diese sind jedoch unterschiedlich lang. Beim Menschen ist die Anzahl der Wiederholungen vergleichsweise hoch. Im entfernten Bereich dieser Domäne kommt es zu geringfügigen Abweichungen innerhalb der Konsensussequenz; vom Siebener-Takt wird jedoch nicht abgewichen. Der einfachste Modellorganismus für höherentwickeltes Leben, die Bäckerhefe, besitzt genau 26 Hepta-Wiederholungssequenzen, also genau halb so viele wie der Mensch. Ob hier ein metrisches System dahintersteckt, ist bislang unklar.

Die Hepta-Wiederholungssequenz ist die Tafel, auf die der epigenetische Code geschrieben wird. Doch in welcher Sprache? Die Aminosäuren werden modifiziert. Jedes Serin, Threonin oder Tyrosin in der CTD kann phosphoryliert werden. Alleine beim Menschen kommen dadurch 326 mögliche Phosphorylierungsstellen zusammen, die in allen denkbaren Kombinationen besetzt werden können. Neben der Phosphorylierung gibt es aber noch weitere Möglichkeiten der Modifizierung: Glykosylierung, Acetylierung, und eine Isomerisierung der Proline. Die Anzahl der möglichen Modifizierungsmuster – und daher die Informationsmenge, die auf die CTD geschrieben werden kann – ist unbeschreiblich groß! Die Modifizierungen sind allesamt reversibel, d.h. die Tafel kann jederzeit auch wieder abgewischt werden. Das Programm zur Genexpression – also die Frage, welche Proteine denn nun in der Zelle gebildet werden – wird durch das Modifizierungsmuster der CTD eindeutig bestimmt. Doch wer oder was schreibt eigentlich an die Tafel?

Transkriptions-Kinasen schreiben einen Code auf die CTD

Wir befassen vor allem mit den „Schreib-Enzymen“, die Phosphorylierungsmuster auf die CTD setzen – den sogenannten Kinasen. Vier der sieben Aminosäuren sind Serine und Threonine, die das typische Ziel der Kinasen darstellen. Kinasen besitzen eine Bindungstasche für Adenosintriphosphat (ATP), das bei der Phosphorylierungsreaktion in Adenosindiphosphat (ADP) und eine freie Phosphatgruppe gespalten wird. Die Phosphatgruppe wird auf das Empfängerprotein – in unserem Fall die CTD – übertragen.

Kinasen steuern viele Prozesse im Stoffwechsel des Menschen. Sie gehören daher zu den wichtigsten Zielmolekülen für die Entwicklung neuer Medikamente. Bis heute hat man fünf Kinasen gefunden, die die Transkription regulieren. Sie gehen jeweils mit einem zweiten Protein, einem Cyclin, einen Komplex ein. Daher nennt man diese Kinasen auch Cyclin-abhängige Kinasen (*cyclin-dependent kinase*; Cdk). Wir interessieren uns dafür, wie Kinasen die Transkription von der Initiation zur Elongation führen und wie genau sie dabei die CTD der RNA-Polymerase II phosphorylieren.

Bei der Initiation – der Einleitung der Transkription – werden zunächst die Serin-Reste an der Position 7 der Konsensussequenz phosphoryliert. Die RNA-Polymerase II legt dann – auf den ersten Blick überraschend! – eine Pause ein. Möglicherweise wird an dieser Stelle ein weiteres Mal überprüft, ob das Gen auch wirklich abgelesen werden soll. Nun werden die Serin-Reste an der Position 5 der Konsensussequenz phosphoryliert. Damit wird das Signal zur Elongation der Transkription gesetzt; es werden RNA-Kopien der DNA produziert. Bevor die mRNA zu den Ribosomen gelangen kann, muss die unreife mRNA noch gespleißt (von engl. *to splice* - verbinden) werden. Einige Abschnitte der mRNA werden hierbei entfernt und die übriggebliebenen neu miteinander verbunden. Wie dies genau geschehen soll, wird wiederum durch eine Kinase vermittelt. Diese phosphoryliert die Serin-2-Positionen der Konsensussequenz. Dieser epigenetische Code kann sehr schnell durch die „Schreib-Enzyme“ – die Kinasen – auf die CTD übertragen werden. Der epigenetische Code der DNA – Methylierung des Strangs und Acetylierung der Histone – wird „übersetzt“ in einen leicht ablesbaren epigenetischen Code: ein Phosphorylierungsmuster auf der CTD der RNA-Polymerase II. Danach werden die entsprechenden „Lese-Enzyme“

rekrutiert und die Informationen genutzt, um die mRNA zu spleißen [2]. Der Code kann aber auch schnell wieder gelöscht werden, damit die RNA-Polymerase II für neue Transkriptionsprozesse zur Verfügung steht.

Die Kristallstruktur von Cdk12/Cyclin K

Wir interessieren uns besonders für die beiden Cyclin-abhängigen Kinasen Cdk9 und Cdk12 und die Komplexe, die beide Kinasen mit ihrem jeweiligen Cyclin bilden. Den Komplex aus Cdk12 und Cyclin K haben wir kristallisiert. Mittels Röntgenbeugung konnten wir die dreidimensionale Struktur der beiden Proteine bestimmen (Abbildung 2) [3].

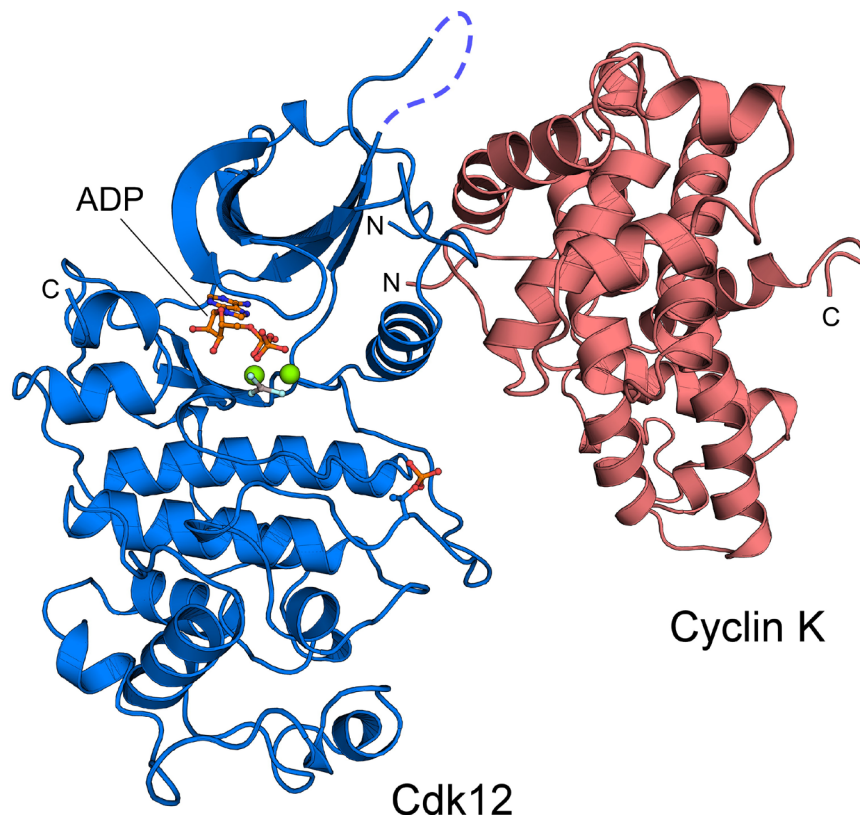


Abbildung 2: Röntgen-Kristallstruktur des Cdk12/Cyclin K-Komplexes. Die Kinase Cdk12 geht mit dem Cyclin K einen Proteinkomplex ein, der es ihr ermöglicht, die CTD der RNA-Polymerase II zu phosphorylieren. Im aktiven Zentrum der Kinase befindet sich ATP, das bei der Phosphorylierung zu ADP und einer freien Phosphatgruppe gespalten wird.

Dabei haben wir am C-terminalen Ende der Kinase einen Fortsatz identifiziert, der ein Motiv aus zwei Aminosäuren enthält (Abbildung 3). Eine genaue Analyse ergab, dass auch andere Kinasen, die bei der Regulation der Transkription beteiligt sind, dieses Motiv besitzen. Um dessen Funktion zu untersuchen, haben wir die Proteinsequenz der Kinase sukzessive verkürzt und dabei ihre Aktivität gemessen. Es zeigte sich, dass das Motiv unverzichtbar für die Transkriptionsaktivität der Kinase ist: Ein um 20 Aminosäuren verkürztes Fragment von Cdk12 zeigt eine um das Fünffache verminderte Aktivität. Inzwischen konnten wir zudem bestätigen, dass das entsprechende

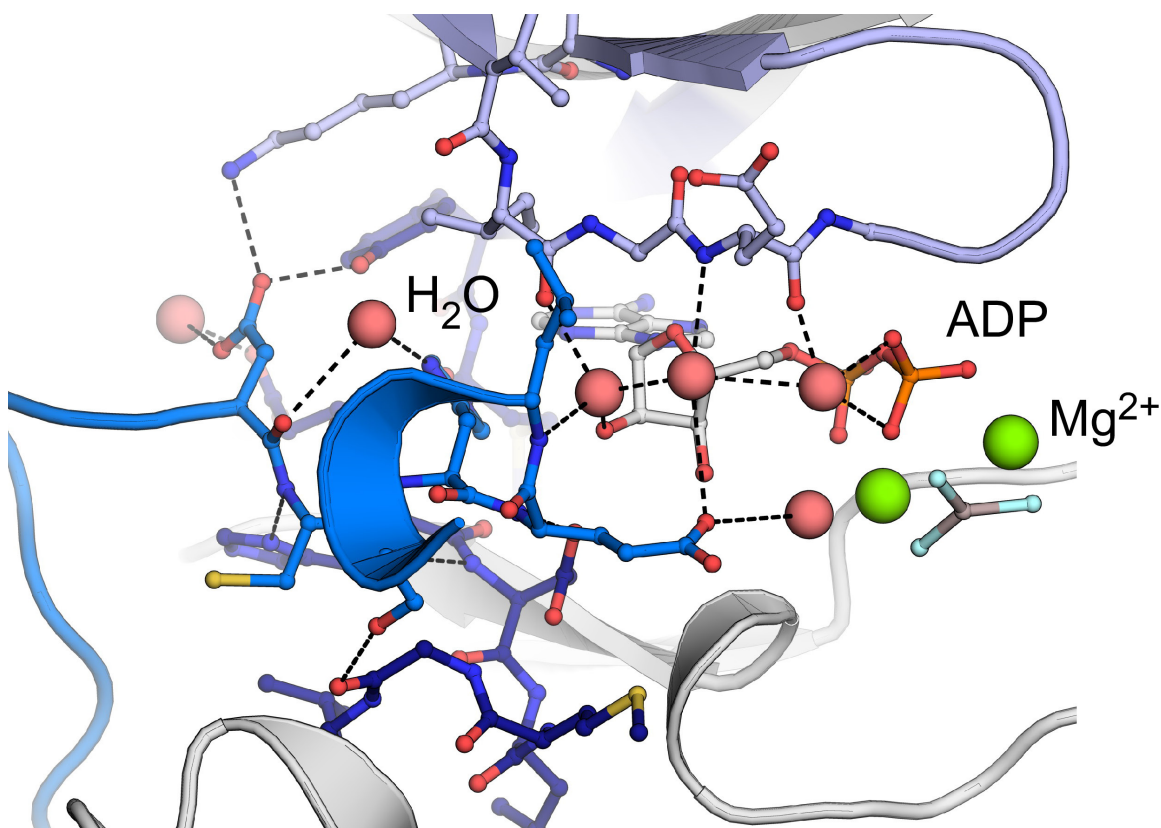


Abbildung 3: Struktur des C-terminalen Fortsatzes in Cdk12. Der C-terminale Fortsatz in Cdk12 hat über mehrere Wassermoleküle Kontakt zum ADP-Nukleotid. Die verbindenden Wasserstoffbrücken sind eingezeichnet. Die Magnesium-Ionen (Mg^{2+}) dienen der Koordination.

Motiv auch in einer zweiten Kinase, Cdk9, entscheidend für die Funktion dieses Proteins ist.

Cdk12 produziert ein spezifisches Phosphorylierungsmuster

Noch ist ungeklärt, welche Cyclin-abhängigen Kinasen an welchem Phosphorylierungsschritt beteiligt sind. Wir haben untersucht, welche Aminosäuren innerhalb der CTD von Cdk12 phosphoryliert werden. Dabei zeigte sich, dass die Kinase Cdk12 besonders aktiv ist, wenn Serin an der Position 7 der CTD-Konsensussequenz bereits phosphoryliert ist. Wie vorhin beschrieben, ist die Phosphorylierung des Serins an Position 7 ein besonderes Merkmal der Initiation. Damit ist Cdk12 prädestiniert dafür, den Übergang von der Initiation in die Elongation einzuleiten. Eine genaue Analyse ergab, dass Cdk12 in der Tat das Serin an Position 5 phosphoryliert und so das Signal zur Elongation setzt (Abbildung 4). Cdk12 ist dagegen unfähig ein CTD Peptid zu phosphorylieren, wenn dieses an Position 7 statt des Serins ein Lysin enthält. Das Phosphorylierungsmuster an den Positionen 5 und 7 der Konsensussequenz ist spezifisch für Cdk12; es konnte bislang bei keiner anderen Cyclin-abhängigen Kinase beobachtet werden.

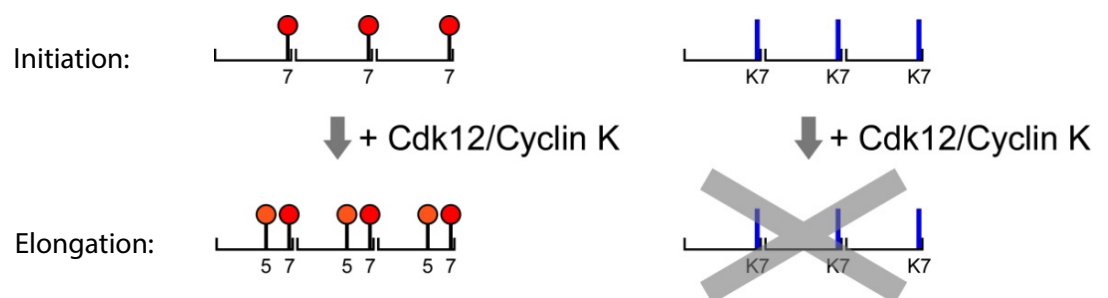


Abbildung 4: Cdk12 produziert ein spezifisches Phosphorylierungsmuster auf der CTD. Die Kinase Cdk12 phosphoryliert vornehmlich ein CTD-Substrat, bei dem an der Position 7 der Konsensussequenz das Serin bereits phosphoryliert ist. Dabei überträgt Cdk12 eine Phosphatgruppe auf das Serin an der Position 5 (links). Dagegen ist Cdk12 nicht in der Lage die CTD zu phosphorylieren, wenn Serin 7 durch Lysin (K7 im Einbuchstabencode) ersetzt ist (rechts). So entsteht ein spezifisches Phosphorylierungsmuster, das auch als *CTD code* bezeichnet wird.

Mutationen auf Cdk12 sind mit Krebserkrankungen assoziiert

Die Fehlregulation der Transkription wird zunehmend als Ursache für viele Krankheiten erkannt. Veränderungen im Gen von Cdk12 können eine Veranlagung für bestimmte Krankheiten bedeuten. So wurden in Lungen-, Brust- und Eierstockkarzinomen und Melanomen bei Genanalysen Mutationen in Cdk12 identifiziert [4, 5]. Kennt man die Struktur und den Wirkmechanismus des Enzyms, so kann man nach spezifischen Inhibitoren suchen. Mit unserer Beschreibung der dreidimensionalen Struktur von Cdk12 legen wir die Basis für die gezielte Entwicklung neuer Medikamente.

Literatur

- [1] Heidemann, M., Hintermair, C., Schüller, R., Voss, K. & Eick, D. (2011) "Die CTD der RNA-Polymerase II – eine neue Ebene der Genregulation" *BIOspektrum* 17, 270-273
- [2] Eick, D. & Geyer, M. (2013) "The RNA polymerase II carboxy-terminal domain (CTD) code" *Chemical Reviews* 113, 8456-8490
- [3] Böskén, C.A., Farnung, L., Hintermair, C., Merzel Schachter, M., Vogel-Bachmayr, K., Blazek, D., Anand, K., Fisher, R.P., Eick, D. & Geyer, M. (2014) "The structure and substrate specificity of human Cdk12/Cyclin K" *Nature Communications* 5:3505
- [4] Cancer Genome Atlas Research Network. (2011) "Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma" *Nature* 474, 609–615
- [5] Kan, Z., Jaiswal, B.S., Stinson, J., Janakiraman, V., Bhatt, D. et al. (2010) "Diverse somatic mutation patterns and pathway alterations in human cancers" *Nature* 466, 869–873



Cytohesine als neuer Angriffspunkt für Wirkstoffe gegen Krebs- und Stoffwechselerkrankungen

Michael Famulok und Anton Schmitz

Kontakt

Michael Famulok
Forschungszentrum caesar
Max Planck Fellow-Gruppe
Chemische Biologie
Telefon: +49 (0)228 73-1787
m.famulok@caesar.de

In der Chemischen Biologie verwendet man Methoden der synthetischen Chemie, um molekulare Zusammenhänge in der Biologie und der Biomedizin zu untersuchen. So können zum Beispiel Proteine chemisch markiert oder die Wirkung von Biomolekülen verändert werden. Cytohesine sind Proteine, die Signalwege in der Zelle regulieren, aber ihre genaue Wirkungsweise in der Zelle ist weitgehend unbekannt. Ein tiefgreifenderes Verständnis könnte helfen, die Mechanismen der Entstehung von Krankheiten zu verstehen und neue Wege ihrer Behandlung zu erforschen. Die Max Planck Fellow-Gruppe „Chemische Biologie“ am Forschungszentrum caesar untersucht die genaue Funktion der Cytohesine durch eine Kombination von chemischen Methoden und Strukturbiochemie.

Zellen bauen Proteine auf oder ab. Wenn beispielsweise dem Körper nach einer Zeit des Hungerns wieder Nahrung zugeführt wird, müssen die Zellen Enzyme bilden, die zur Verdauung der Nahrung gebraucht werden. Andere Enzyme, die die Zelle nicht benötigt, werden abgebaut. Wenn das Hormon Insulin an den Insulinrezeptor auf der Zelloberfläche andockt, werden solche zellulären Prozesse eingeleitet. Dabei wird ein biochemisches Signal ausgelöst und in den Zellkern weitergeleitet. Dort werden bestimmte Gen-Abschnitte auf der DNA aktiviert oder stillgelegt, was zur Bildung der benötigten bzw. zum Abbau der unerwünschten Enzyme führt. Prozesse dieser Art sind präzise aufeinander abgestimmt. Bereits kleinste Abweichungen im Zellstoffwechsel können Krankheiten verursachen.

Wir haben entdeckt, dass die Signalstärke am Insulinrezeptor nicht nur durch Insulin von außen geregelt, sondern noch einmal von innen verstärkt wird, bevor die Botschaft an den Zellkern gelangt [1]. Als Verstärker dient eine Gruppe von Proteinen, die Cytohesine. Auf diese unbekannte Funktion der Cytohesine sind wir einerseits anhand genetischer Evidenz in Zusammenarbeit mit Prof. Michael Hoch vom LIMES Institut und andererseits durch Methoden der Chemischen Biologie aufmerksam geworden. Das Prinzip ist wie folgt: Man erzeugt sogenannte Aptamere, also Nukleinsäuren, die andere Moleküle spezifisch erkennen und binden. Mithilfe eines Verdrängungsexperiments sucht man in einer großen Substanz-

Bibliothek nach kleineren Molekülen, die ähnliche Eigenschaften aufweisen. Kleine organische Moleküle sind im Vergleich zu Aptameren resistenter gegen den zellulären Abbau und dadurch *in vivo* als Wirkstoff besser einsetzbar. Mit der oben genannten Methode haben wir *SecinH3* als niedermolekulares Pendant zu dem Cytohesinspezifischen Aptamer M69 gefunden. *SecinH3* bindet wie das Aptamer an die Sec7-Domäne der Cytohesine und beeinträchtigt so ihre Aktivität. Dadurch wird das Insulinsignal im Zellkern abgeschwächt. Diese Erkenntnisse sind wichtig für das Verständnis der zellulären Mechanismen, die zu Fettleibigkeit oder Diabetes führen. Wir haben nicht nur herausgefunden, dass Cytohesine das Insulinrezeptor-Signal verstärken, sondern auch, dass sie von der Innenseite der Zellmembran einen weiteren Rezeptor regulieren, den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR; [2]). Dieser Rezeptor sitzt wie der Insulinrezeptor in der Zellmembran. Der EGFR empfängt Wachstumssignale, die unter anderem die Zellteilung auslösen. Ein zu starkes EGFR-Signal kann daher Tumore und andere Fehlfunktionen der Zelle verursachen. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass Lungentumore immer dann eine erhöhte EGFR-Aktivität aufweisen, wenn auch die Cytohesinkonzentration hoch ist. In Mäusen unterdrückt der Inhibitor *SecinH3* das Tumorwachstum [2]. Ähnliches konnten wir in menschlichen Lungenkrebszellen beobachten, die gegen *Iressa* – einen bekannten EGFR-Inhibitor – resistent sind [3]. Ein Protein aus der Gruppe der Cytohesine, das Cytohesin-2, spielt für die Verstärkung des EGFR-kontrollierten Signalweges eine wichtige Rolle. Anders als im Falle des Insulinrezeptors wechselwirkt Cytohesin-2 direkt mit dem EGFR. Beim Insulinrezeptor ist mindestens ein weiteres Protein, ein sogenanntes Gerüstprotein, zwischengeschaltet. Dadurch wird der Insulinrezeptor-Signalweg verstärkt.

Weil der EGFR membranständig ist, könnte auch die Zusammensetzung der Zellmembran seine Aktivität beeinflussen. Um dies zu untersuchen, haben wir die „*Nanodisc*“-Technik eingesetzt [4]. Nanodiscs sind synthetisch hergestellte künstliche Membranen. In die Nanodiscs kann man Membranrezeptoren einbetten, so dass sich die Rezeptoren unter nahezu nativen Bedingungen untersuchen lassen. Auch mittels NMR kann man solche komplexen Systeme *in vitro* untersuchen – wir tun dies in Zusammenarbeit mit Manuel Etzkorn von der Universität Düsseldorf und Matthias Geyer von caesar.



Ohne den Inhibitor *SecinH3* wären wir auf die Aktivität der Cytohesine als cytoplasmatische Regulatoren des Insulinrezeptors und der EGFRs nicht aufmerksam geworden. *SecinH3* ist ein Beispiel dafür, wie mithilfe chemischer Methoden bislang unbekannte molekulare Zusammenhänge in der Biomedizin entdeckt und untersucht werden können. In diesem Forschungsfeld der Chemischen Biologie können wir hoffentlich in Zukunft weitere spannende Erkenntnisse gewinnen, die zur Aufklärung von Volkskrankheiten wie Diabetes, Fettleibigkeit und Krebs beitragen können.

Literatur

- [1] Hafner, M., Schmitz, A., Grune, I., Srivatsan, S.G., Paul, B., Kolanus, W., Quast, T., Kremmer, E., Bauer, I. & Famulok, M. (2006) "Inhibition of cytohesins by SecinH3 leads to hepatic insulin resistance" *Nature* 444, 941-944
- [2] Bill, A., Schmitz, A., Albertoni, B., Song, J.N., Heukamp, L.C., Walrafen, D., Thorwirth, F., Verveer, P.J., Zimmer, S., Meffert, L. et al. (2010) "Cytohesins are cytoplasmic ErbB receptor activators" *Cell* 143, 201-211
- [3] Bill, A., Schmitz, A., König, K., Heukamp, L.C., Hannam, J.S. & Famulok, M. (2012) "Anti-proliferative effect of cytohesin inhibition in gefitinib-resistant lung cancer cells" *PLoS One* 7, e41179
- [4] Bayburt, T. & Sligar, S. (2003) "Self-assembly of single integral membrane proteins into soluble nanoscale phospholipid bilayers" *Protein Sci.* 12, 2476-2481

Berichte über abgeschlossene Doktorarbeiten



Wie fängt man ein Protein?

Andreas Rennhack

Kontakt

Dr. Andreas Rennhack
Forschungszentrum caesar
Abteilung Molekulare Neurosensorik
Telefon: +49 (0)228 9656-402
andreas.rennhack@caesar.de

Weltweit leiden etwa 350 Millionen Menschen an der Alzheimer-Krankheit. Die Organisation *Alzheimer's Disease International* sagt voraus, dass sich diese Zahl bis 2050 verdoppelt. Bei Alzheimerpatienten verklumpen im Gehirn Eiweißmoleküle, sogenannte Beta-Amyloid Proteine. Die daraus entstehenden Plaques schädigen die Nervenzellen und verursachen die alzheimertypischen Demenzererscheinungen. Beta-Amyloid entsteht durch den Abbau eines größeren Eiweißmoleküls. Es gibt Wirkstoffe, die diesen Stoffwechselprozess beeinflussen können. In meiner Doktorarbeit untersuchte ich, an welchem Punkt diese Wirkstoffe angreifen.

Die Alzheimer-Krankheit schreitet unaufhörlich voran und zerstört das Gehirn der Patienten. Die Erkrankten verlieren ihre kognitiven Fähigkeiten und haben Schwierigkeiten, Neues zu erlernen und sich an Altes zu erinnern. Betroffen sind vor allem Menschen über 65. Die Krankheit ist eine enorme Belastung für die Patienten, deren Angehörige sowie das Gesundheitssystem. Bisher gibt es keine Heilung, denn die genauen Ursachen der Alzheimer-Krankheit sind bis heute nicht geklärt. Bisher kämpft man nur gegen die Symptome.

Seit langem ist jedoch bekannt, dass Beta-Amyloid einer der Schlüsselfaktoren für die Entstehung der Alzheimer-Krankheit ist. Jeder Mensch produziert Beta-Amyloid (genauer: Amyloid- β 42, kurz: A β 42), baut dieses Molekül aber immer wieder ab. Bei Alzheimerpatienten hingegen sammelt sich A β 42 im Gehirn und verklumpt. Die daraus entstehenden Plaques schädigen die Nervenzellen und verursachen die alzheimertypischen Demenzererscheinungen.

Wie entsteht A β 42? Es wird durch den schrittweisen Abbau eines größeren Eiweißmoleküls (*Amyloid Precursor Protein*, kurz: APP) gebildet. Der letzte dieser Schritte wird von der γ -Sekretase – einem Schneidez enzym – übernommen. Eines der entstehenden Produkte ist A β 42. Vielversprechend erscheint daher ein Therapieansatz, der in diesen Stoffwechselprozess eingreift. Sogenannte γ -Sekretase-Modulatoren (GSMs, Abbildung 1) sind dazu in der Lage. Diese Stoffe sorgen dafür, dass anstelle des giftigen A β 42 vermehrt nichtgiftige, kürzere Amyloid- β Peptide gebildet werden. Wo die γ -Sekretase-Modulatoren

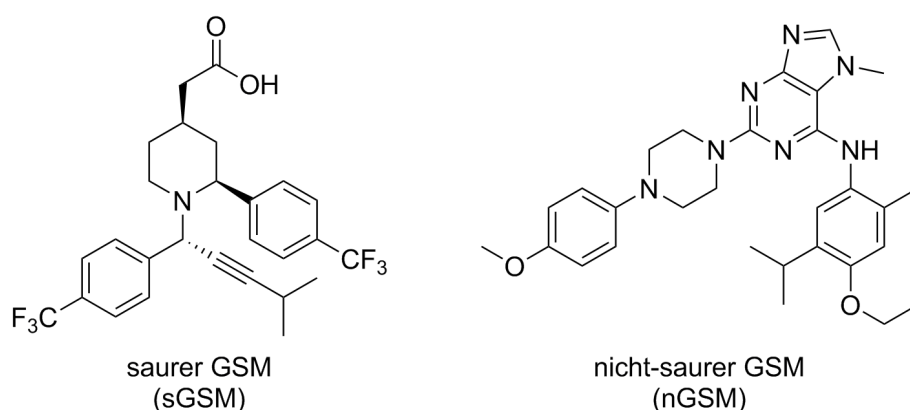


Abbildung 1: γ -Sekretase-Modulatoren (GSMs) zweier verschiedener Klassen. Links: saurer GSM (sGSM, aufgrund der vorhandenen Carbonsäuregruppe). Rechts: nicht-saurer GSM (nGSM, Sammelbegriff für GSMs ohne Carbonsäuregruppe).

wirken, ist jedoch unklar. Es wird kontrovers diskutiert, ob sie mit APP oder der γ -Sekretase wechselwirken. Dies wollte ich in meiner Doktorarbeit herausfinden. Zusammengefasst habe ich dazu mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Weggen von der Uniklinik Düsseldorf.

Um das Zielprotein der GSMs zu finden, habe ich die γ -Sekretase-Modulatoren chemisch modifiziert: Bei der Photoaffinitätsmarkierung (Abbildung 2) werden Wirkstoffmoleküle mit einer lichtreaktiven Gruppe versehen, sodass sich ihre Zielproteine unter Einsatz von UV-Licht selektiv und irreversibel markieren lassen. In meiner Arbeit habe ich als lichtreaktive Gruppe ein Diazirin (Abbildung 2, rot) verwendet. Weiterhin muss das modifizierte Wirkstoffmolekül eine Ködergruppe tragen, damit es sich von anderen Proteinen trennen lässt. Als Ködergruppe habe ich Biotin (Vitamin H, Abbildung 2, blau) eingesetzt. Mithilfe des biotinbindenden Proteins Streptavidin kann man – ähnlich wie mit einer Angel – nach den Wirkstoffmolekülen und damit nach den mit ihnen markierten Zielproteinen „fischen“. Anschließend werden die gefangenen Proteine mit biochemischen Methoden (z.B. Gelelektrophorese) identifiziert.

Es ist schwierig Wirkstoffe mit dem Diazirin und dem Biotin so zu verbinden, dass ihre biologische Aktivität nicht zu stark beeinträchtigt wird. Daher war die organisch-chemische Synthese der GSM-Photoaffinitätsmarker eine interessante Herausforderung für mich.

An den Grundgerüsten beider GSM-Klassen konnte ich Stellen identifizieren, die sich gut für das Anbringen von Diazirin und Biotin eignen. Zudem gelang es mir, für die Photoaffinitätsmarker beider Klassen vollständige Synthesewege zu entwickeln. Nach erfolgreicher Synthese der modifizierten Wirkstoffe konnten wir zudem zeigen, dass die eingebrachten Modifikationen die biologische Wirkung kaum beeinflussen. Teile der Synthese und die erhaltenen Photoaffinitätsmarker sind in Abbildung 3 dargestellt.

Photoaffinitätsmarkierung (Abbildung 2) ließ uns schließlich das Zielprotein der GSMs eindeutig identifizieren: Beide GSMs binden an Präsenilin, das die katalytische Untereinheit der γ -Sekretase ist. Die Daten deuten auch darauf hin, dass sich die Bindestellen der beiden GSM-Klassen innerhalb des Präsenilins unterscheiden könnten.

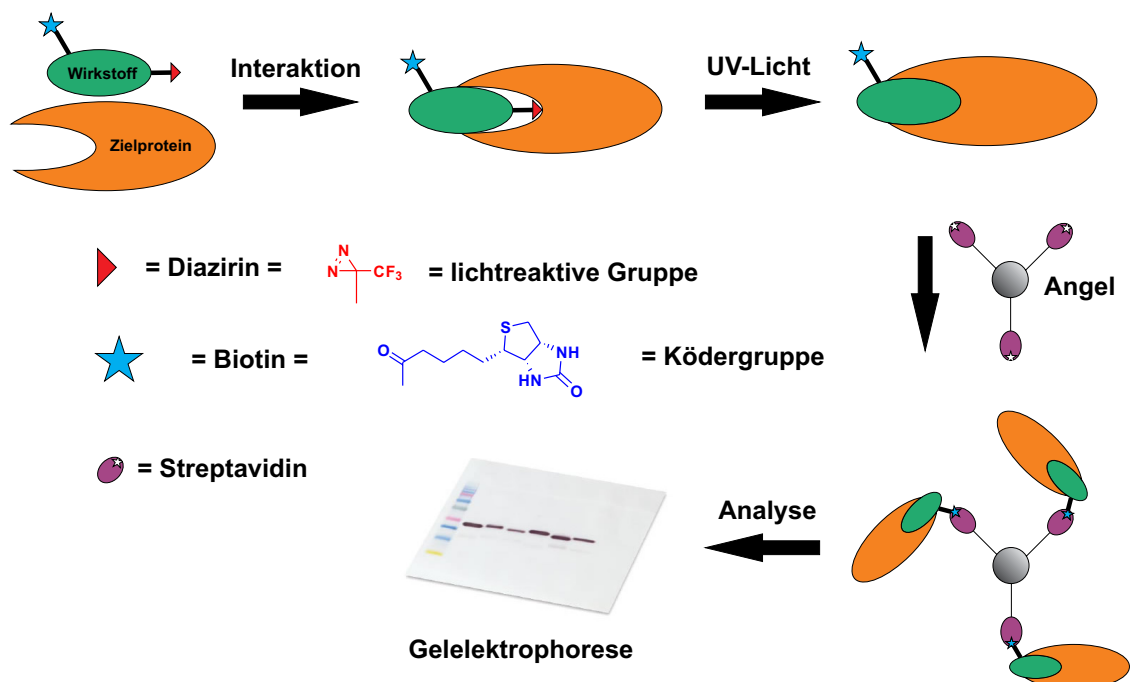


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Photoaffinitätsmarkierung. Der mit Diazirin (rot) und Biotin (blau) modifizierte Wirkstoff (der Photoaffinitätsmarker) interagiert mit seinem Zielprotein. Unter UV-Licht geht der Photoaffinitätsmarker dank der lichtreaktiven Gruppe eine irreversible Verbindung mit dem Zielprotein ein. Die mit der Ködergruppe markierten Verbindungen werden selektiv mit Streptavidin „abgefischt“. Es folgt die Analyse mit biochemischen Methoden, wie z.B. Gelelektrophorese.

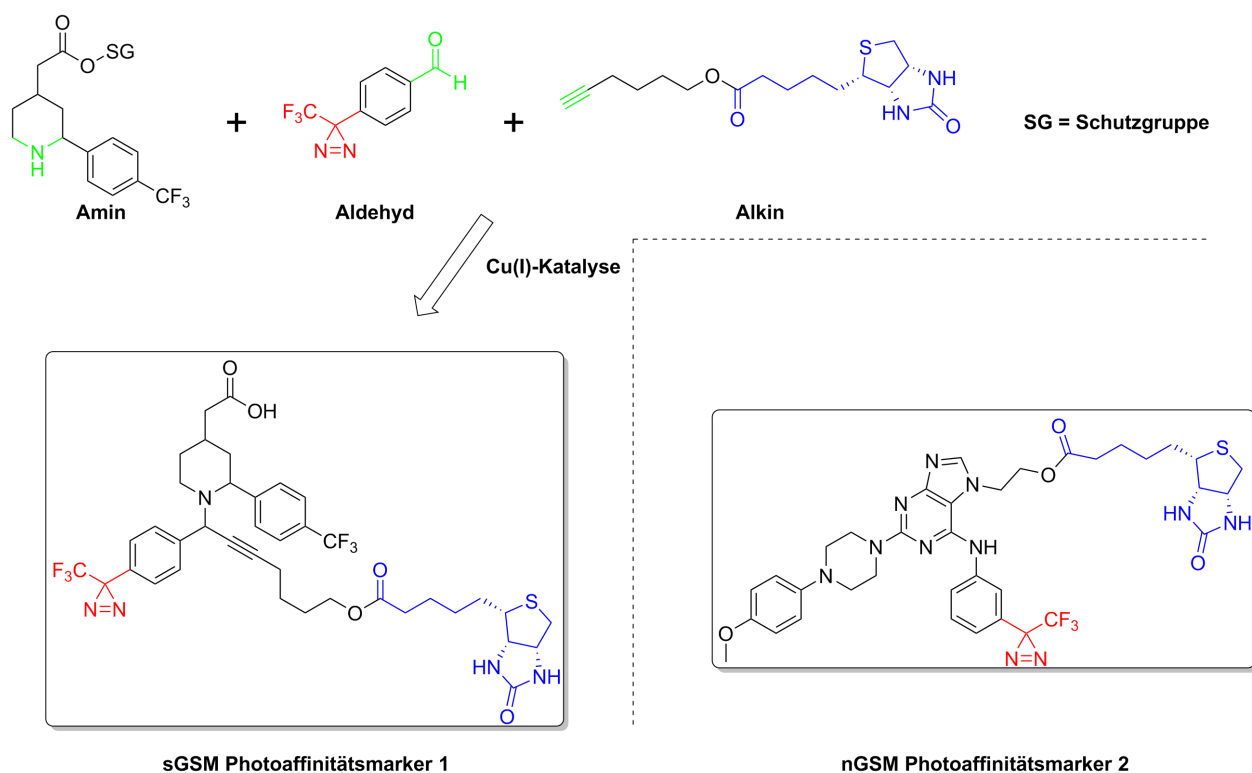


Abbildung 3: Zentrale Reaktion in der Synthese des sGSM Photoaffinitätsmarkers 1. Der zentrale Syntheseschritt ist eine kupferkatalysierte Dreikomponentenreaktion zwischen einem Amin, Aldehyd und Alkin (die funktionellen Gruppen sind jeweils in grün markiert). Das Diazirin wird als Aldehydkomponente und Biotin als Alkinkomponente eingeführt – in einem einzigen Syntheseschritt. Das Endprodukt dieser Synthese ist der biologisch aktive sGSM Photoaffinitätsmarker 1. Die Struktur des nGSM Photoaffinitätsmarkers 2 ist im rechten Kasten dargestellt. Seine Synthese ist hier nicht gezeigt.

Die Identifizierung des GSM-Zielproteins war ein wichtiger Schritt, um den Wirkmechanismus dieser potentiellen Medikamente gegen Alzheimer besser zu verstehen und bildet eine wichtige Grundlage für die Weiterentwicklung dieses Therapieansatzes, der zu einer effektiven Alzheimertherapie führen könnte.



Andreas Rennhack hat im September 2007 den Studiengang Chemie mit Materialwissenschaften an der Fachhochschule Bonn-Rhein-Sieg mit dem *Bachelor of Science* abgeschlossen. Im September 2009 folgte der *Master of Science* an der Hochschule Niederrhein im Fach Angewandte Chemie mit Schwerpunkt auf Biotechnologie und organischer Chemie. Beide Abschlüsse wurden von je einem halbjährigen Synthesepraktikum bei Hoffmann-La Roche in Basel begleitet. Ab Oktober 2009 arbeitete Andreas Rennhack am Forschungszentrum caesar in der Nachwuchsgruppe „Chemische Biologie neurodegenerativer Erkrankungen,“ an seiner Doktorarbeit, die er im März 2013 abschloss. Seitdem ist er als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung „Molekulare Neurosensorik“ tätig.

Publikationen

Akoury, E., Gajda, M., Pickhard, M., Biernat, J., Soraya, P., Griesinger, C., Mandelkow, E. & Zweckstetter, M. (2013) "Inhibition of Tau Filament Formation by Conformational Modulation" *J. Am. Chem. Soc.* 135, 2853-2862

Akoury, E., Pickhardt, M., Gajda, M., Biernat, J., Mandelkow, E. & Zweckstetter, M. (2013) "Mechanistic Basis of Phenothiazine-Driven Inhibition of Tau Aggregation" *Angew. Chem.-Int. Edit.* 52, 3511-3515

Böhm-Sturm, P., Farr, T.D., Adamczak, J., Jikeli, J., Mengler, L., Wiedermann, D., Kallur, T., Kiselev, V. & Hoehn, M. (2013) "Vascular changes after stroke in the rat: a longitudinal study using optimized magnetic resonance imaging" *Contrast Media & Mol. Imaging* 8, 383-392

Bulic, B., Pickhardt, M. & Mandelkow, E. (2013) "Progress and Developments in Tau Aggregation Inhibitors for Alzheimer Disease" *Journal Med. Chem.* 56, 4135-4155

Eick, D. & Geyer, M. (2013) "The RNA polymerase II carboxy-terminal domain (CTD) code" *Chem. Rev.* 113, 8456-8490

Frese, D., Steltenkamp, S., Schmitz, S. & Steinem, C. (2013) "In situ generation of electrochemical gradients across pore-spanning membranes" *RSC Advances* 3, 15752-15761

Geißler, K.J., Jung, M.J., Riecken, L.B., Sperka, T., Cui, Y., Schacke, S., Merkel, U., Markwart, R., Rubio, I., Than, M.E., Breithaupt, C., Peuker, S., Seifert, R., Kaupp, U.B., Herrlich, P. & Morrison, H. (2013) "Regulation of Son of sevenless by the membrane-actin linker protein ezrin" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 20587-20592

Heneka, M.T., Kummer, M.P., Stutz, A., Delekate, A., Schwartz, S., Vieira-Saecker, A., Griep, A., Axt, D., Remus, A., Tzeng, T. C., Gelpi, E., Halle, A., Korte, M., Latz, E. & Golenbock, D.T. (2013) "NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice" *Nature* 493, 674-678

Hirohashi, N., Alvarez, L., Shiba, K., Fujiwara, E., Iwata, Y., Mohri, T., Inaba, K., Chiba, K., Ochi, H., Supuran, C.T., Kotzur, N., Kakiuchi, Y., Kaupp, U.B. & Baba, S.A. (2013) "Sperm from Sneaker Male Squids Exhibit Chemotactic Swarming to CO" *Curr. Biol.* 23, 775-781

Hochgraefe, K. & Mandelkow, E. (2013) "Making the Brain Glow: In Vivo Bioluminescence Imaging to Study Neurodegeneration" *Mol. Neurobiol.* 47, 868-882

Hochgraefe, K., Sydow, A. & Mandelkow, E.M. (2013) "Regulatable transgenic mouse models of Alzheimer disease: onset, reversibility and spreading of Tau pathology" *FEBS J.* 280, 4371-4381

Jain, R., Petri, M., Kirschbaum, S., Feindt, H., Steltenkamp, S., Sonnenkalb, S., Becker, S., Griesinger, C., Menzel, A., Burg, T.P. & Teichert, S. (2013) "X-ray scattering experiments with high-flux X-ray source coupled rapid mixing microchannel device and their potential for high-flux neuron scattering investigations" *Eur. Phys. J. E* 36, 109

Jinwal, U.K., Akoury, E., Abisambra, J.F., O'Leary, J.C., Thompson, A.D., Blair, L.J., Jin, Y., Bacon, J., Nordhues, B.A., Cockman, M., Zhang, J., Li, P.F., Zhang, B., Borysov, S., Uversky, V.N., Biernat, J., Mandelkow, E., Gestwicki, J.E., Zweckstetter, M. & Dickey, C.A. (2013) "Imbalance of Hsp70 family variants fosters tau accumulation" *FASEB J.* 27, 1450-1459

Koch, M., Krieger, M., Stoelting, D., Brenner, N., Beier, M., Jaehde, U., Wiese, M., Royer, H.D. & Bendas, G. (2013) "Overcoming chemotherapy resistance of ovarian cancer cells by liposomal cisplatin: Molecular mechanisms unveiled by gene expression profiling" *Biochem. Pharmacol.* 85, 1077-1090

Körschen, H.G., Yildiz, Y., Raju, D.N., Schonauer, S., Boenigk, W., Jansen, V., Kremmer, E., Kaupp, U.B. & Wachten, D. (2013) "The non-lysosomal beta-glucosidase GBA2 is a non-integral membrane-associated protein at the ER and Golgi" *J. Biol. Chem.* 288, 3381-3393

Krabbe, G., Halle, A., Matyash, V., Rinnenthal, J.L., Eom, G.D., Bernhardt, U., Miller, K.R., Prokop, S., Kettenmann, H. & Heppner, F.L. (2013) "Functional Impairment of Microglia Coincides with Beta-Amyloid Deposition in Mice with Alzheimer-Like Pathology" *PloS One* 8, e60921

Krähling, M., Alvarez, L., Debowski, K., Van, Q., Gunkel, M., Irsen, S., Al-Amoudi, A., Strünker, T., Kremmer, E., Krause, E., Voigt, I., Wörtge, S., Waisman, A., Weyand, I., Seifert, R., Kaupp, U.B. & Wachten, D. (2013) "CRIS- a novel cAMP-binding protein controlling spermiogenesis and the development of flagellar bending" *PLoS Genet.* 9, e1003960

Messing, L., Decker, J.M., Joseph, M., Mandelkow, E. & Mandelkow, E.M. (2013) "Cascade of tau toxicity in inducible hippocampal brain slices and prevention by aggregation inhibitors" *Neurobiol. Aging* 34, 1343-1354

Nazaradeh, F., Eckermann, C., Nazaradeh, D., Dupré, M.A., Steltenkamp, S. & Kelterer, W. (2013) "Modular prosthesis of the larynx: current stage" *Int. J. Life Sci. Med. Res.* 3, 103-110

Peuker, S., Cukkemane, A., Held, M., Noé, F., Kaupp, U.B. & Seifert, R.

(2013) "Kinetics of ligand-receptor interaction reveals an induced-fit mode of binding in a cyclic nucleotide-activated protein" *Biophys. J.* 104, 63-74

Rabionet, M., Bayerle, A., Marsching, C., Jennemann, R., Grone, H.J., Yildiz, Y., Wachten, D., Shaw, W., Shayman, J.A. & Sandhoff, R. (2013) "1-O-Acylceramides are natural components of human and mouse epidermis" *J. Lipid. Res.* 54, 3312-3321

Schmökel, J., Li, H., Shabir, A., Yu, H., Geyer, M., Silvestri, G., Sodora, D.L., Hahn, B.H. & Kirchhoff, F. (2013) "Link between primate lentiviral coreceptor usage and nef function" *Cell Rep.* 5, 997-1009

Schnaars, M., Beckert, H. & Halle, A. (2013) "Assessing beta-amyloid-induced NLRP3 inflammasome activation in primary microglia" *Methods Mol. Biol.* 1040, 1-8

Schönichen, A., Mannherz, H.G., Behrmann, E., Mazur, A.J., Kühn, S., Silvàn, U., Schoenenberger, C.A., Fackler, O.T., Raunser, S., Dehmelt, L. & Geyer, M. (2013) "FHOD1 is a combined actin filament capping and bundling factor that selectively associates with actin arcs and stress fibers" *J. Cell. Sci.* 126, 1891-1901

Schröder, S., Herker, E., Itzen, F., He, D., Thomas, S., Gilchrist, D.A., Kaehlcke, K., Cho, S., Pollard, K.S., Capra, J.A., Schnölzer, M., Cole, P.A., Geyer, M., Bruneau, B.G., Adelman, K. & Ott, M. (2013) "Acetylation of RNA polymerase II regulates growth-factor-induced gene transcription in mammalian cells" *Mol. Cell* 52, 314-324

Schröter, A., Mathieu, M., Franzka, S., Feydt, J., Irsen, S. & Hartmann, N. (2013) "Fabrication of chemical templates via selective laser-induced desorption of hexadecanethiol self-assembled monolayers" *Appl. Surf. Sci.* 278, 57-61

Schwalbe, M., Biernat, J., Bibow, S., Ozenne, V., Jensen, M.R., Kadavath, H., Blackledge, M., Mandelkow, E. & Zweckstetter, M. (2013) "Phosphorylation of Human Tau Protein by Microtubule Affinity-Regulating Kinase 2" *Biochemistry* 52, 9068-9079

Siebke, G., Holik, P., Schmitz, S., Lacher, M. & Steltenkamp, S. (2013) "A μ -biomimetic uncooled infrared sensor" *Proc. SPIE Bioinspiration, Biomimetics, and Bioreplication San Diego, USA* (10.03.2013) 8686, doi:10.1117/1112.2008951

van Roeyen, C.R.C., Scurt, F.G., Brandt, S., Kuhl, V.A., Martinkus, S., Djud-

jaj, S., Raffetseder, U., Royer, H.-D., Stefanidis, I., Dunn, S.E., Dooley, S., Weng, H., Fischer, T., Lindquist, J.A. & Mertens, P.R. (2013) "Cold shock Y-box protein-1 proteolysis autoregulates its transcriptional activities" *Cell Commun. Signal.* 11:63

von Cube, F., Irsen, S., Diehl, R., Niegemann, J., Busch, K. & Linden, S. (2013) "From Isolated Metaatoms to Photonic Metamaterials: Evolution of the Plasmonic Near-Field" *Nano Lett.* 13, 703-708

Wang, Y., Lowe, R.D., Mejia, Y.X., Feindt, H., Steltenkamp, S. & Burg, T.P. (2013) "A fluorescence based method for the quantification of surface functional groups in closed micro- and nanofluidic channels" *Biomicrofluidics* 7, 026503

Wegmann, S., Medalsy, I.D., Mandelkow, E. & Mueller, D.J. (2013) "The fuzzy coat of pathological human Tau fibrils is a two-layered polyelectrolyte brush" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, E313-E321

Zempel, H., Luedtke, J., Kumar, Y., Biernat, J., Dawson, H., Mandelkow, E. & Mandelkow, E.M. (2013) "Amyloid-beta oligomers induce synaptic damage via Tau-dependent microtubule severing by TTL6 and spastin" *EMBO J.* 32, 2920-2937

Dissertationen

Bösken, C. (2013) "Strukturelle und funktionelle Charakterisierung der transkriptionsregulierenden Kinasen Cdk9 und Cdk12", Dissertation: Fachbereich Chemie der Technischen Universität Dortmund

Gunkel, M. (2013) "Supramolecular architecture of intact mouse photoreceptors and sea urchin flagella", Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Kraft, F. (2013) "Biochemische Untersuchungen zur Aktivität von P-TEFb", Dissertation: Medizinische Fakultät der Ruhr-Universität Bochum

Kühn, S. (2013) "Strukturelle und funktionelle Untersuchungen zur Regulation der humanen Formine FMNL1 und FMNL2 durch Rho GTPasen", Dissertation: Fachbereich Chemie der Technischen Universität Dortmund



Lülf, S. (2013) "Molekulare Strategien zur Inhibition des HIV-1 Nef Proteins", Dissertation: Fachbereich Chemie der Technischen Universität Dortmund

Rennhack, A. (2013) "Design und Synthese von Diazirin-basierten Photoaffinitätsmarkern zur Identifizierung des Zielproteins von γ -Sekretase-Modulatoren", Dissertation: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Personal

Personalstruktur

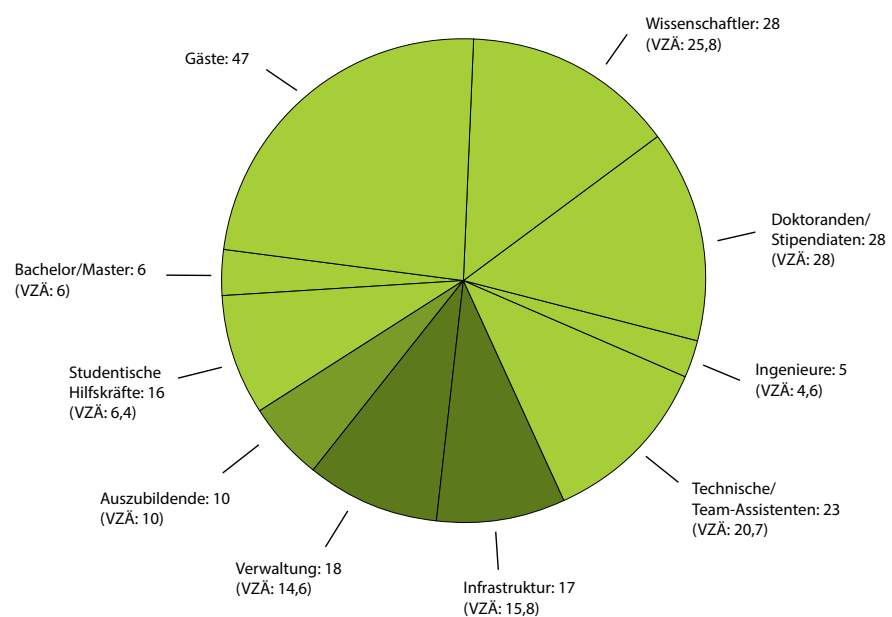
Bei der Stiftung caesar waren zum 1.1.2014 insgesamt 198 Personen beschäftigt (151 caesar-Mitarbeiter/innen und 47 Gastwissenschaftler/innen). Das Vollzeitäquivalent lag bei 178,9 Stellen. Die Mitarbeiterzahl ist in 2013 um 28 angestiegen, insbesondere aufgrund des Aufbaus der Abteilung „Organisation des Gehirns und Verhaltens“ und der Gewinnung weiterer Gäste.

Damit setzt sich der Personalzuwachs von caesar kontinuierlich weiter fort:

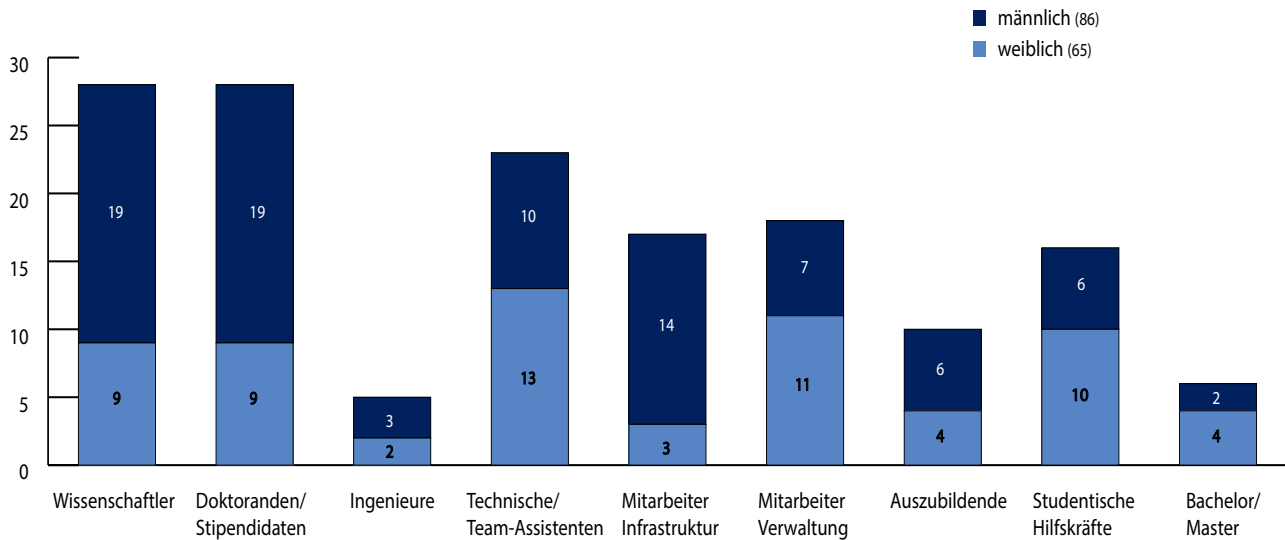
1.1.2010:	105 Personen
1.1.2011:	120 Personen
1.1.2012:	155 Personen
1.1.2013:	170 Personen
1.1.2014:	198 Personen

Die Verteilung der Mitarbeiter/innen auf die einzelnen Funktionsbereiche ergibt sich aus der unten stehenden Grafik. Danach sind 153 der Mitarbeiter/innen im wissenschaftlichen Bereich, 18 in der Verwaltung und 17 in der Infrastruktur beschäftigt. Ferner bildet caesar noch 10 Auszubildende in sechs Bereichen aus.

Mitarbeiter/innen nach Funktionen, Stand: 01.01.2014



Caesar konnte den Anteil der weiblichen Beschäftigten im vergangenen Jahr halten. 43% der Mitarbeiter sind weiblich. Insbesondere im wissenschaftlichen Bereich ist geplant, diesen Anteil noch weiter zu erhöhen. Die Aufteilung von weiblichen und männlichen Mitarbeitern, bezogen auf die einzelnen Funktionsbereiche, ist in der unten stehenden Grafik dargestellt.



Caesar hält seine Ausbildungsbemühungen auf hohem Niveau und hatte in den letzten zwei Jahren mehrere Auszubildende, die als Kammerbeste vor der IHK ihre Prüfungen abgelegt haben. Im Jahr 2013 wurde eine Auszubildende als Landesbeste in NRW ausgezeichnet. Die Gesamtzahl der Studenten/innen, Auszubildenden und Doktoranden/innen beträgt 44. Sie stellen damit weiterhin ein Viertel aller Beschäftigten.



Finanzen

Grundstock der Stiftung caesar

Caesar wurde als gemeinnützige Stiftung des privaten Rechts von der Bundesrepublik Deutschland und dem Land Nordrhein-Westfalen, im Rahmen des Bonn-Berlin-Ausgleichs, gegründet.

Das Stiftungsvermögen beträgt 383,4 Mio. € plus 6,6 Mio. € Grundstückswert, den caesar von der Stadt Bonn erhalten hat.

286,3 Mio. € des Stiftungskapitals wurden langfristig am Kapitalmarkt angelegt. Die Erträge finanzieren unter anderem die Forschung bei caesar.

Vermögen	
Sachanlagen	86.840.379 €
Finanzanlagen	297.683.343 €
Sonstige	22.946.389 €
Bilanzsumme	407.470.111 €

Erträge 2013	
Erträge aus Umsatzerlösen und Förderprojekten	3.827.879 €
Erträge aus Wertpapieren und Zinsen	10.663.676 €
Erträge insgesamt	14.491.555 €

Aufwendungen 2013	
Personalaufwand	6.280.072 €
Sachaufwand	5.092.749 €
Abschreibungen	2.610.478 €
Aufwendungen insgesamt	13.983.299 €

Jahresbilanz 2013

Bilanzabschluss zum 31.12.2013 (Angaben in €)

Aktiva	31.12.2013	31.12.2012
A. Anlagevermögen		
I. Immaterielle Vermögensgegenstände	145.655	109.279
II. Sachanlagen		
Grundstücke & Bauten *)	72.362.775	72.302.337
Andere Anlagen	14.389.789	15.929.550
Geleistete Anzahlungen & Anlagen im Bau	87.815	53.970
Summe aus II.	86.840.379	88.285.857
III. Finanzanlagen		
Beteiligungen	155.625	155.625
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Anlage des Stiftungsvermögens	292.148.269	292.148.269
Wertpapiere des Anlagevermögens zur Gebäudewiederbeschaffung	5.379.449	4.603.220
Summe aus III.	297.683.343	296.907.114
Summe für A.	384.669.377	385.302.250
B. Umlaufvermögen		
I. Vorräte	278.646	259.498
II. Forderungen und sonstige Vermögensgegenstände		
Forderungen aus Lieferungen und Leistungen	316.846	155.444
Forderungen gegen Unternehmen, mit denen ein Beteiligungsverhältnis besteht	6.240	1.198
Sonstige Vermögensgegenstände	1.376.329	1.185.299
Summe aus II.	1.699.415	1.341.941
III. Wertpapiere	11.500.000	12.500.000
IV. Kassenbestand, Bundesbankguthaben, Guthaben bei Kreditinstituten und Schecks	9.097.716	7.417.966
Summe für B.	22.575.777	21.519.405
C. Rechnungsabgrenzungsposten	224.957	211.732
Gesamtes Vermögen	407.470.111	407.033.387

*) § 253 Abs. 2 HGB wird nicht angewendet. Stattdessen werden Rücklagen gebildet.

Passiva	31.12.2013	31.12.2012
A. Eigenkapital		
I. Stiftungsvermögen		
Finanzierungskapital	286.323.453	286.323.453
Investitionskapital	97.145.457	97.145.457
Zustiftung Stadt Bonn	6.681.051	6.681.051
Zuführung Rücklagen	1.283.957	1.283.957
Summe aus I.	391.433.918	391.433.918
II. Rücklagen		
Freie Rücklage gemäß § 58 Nr. 7a AO	5.876.691	5.868.436
Instandhaltungsrücklage *)	3.943.789	3.443.788
Summe aus II.	9.820.480	9.312.224
III. Ergebnis		
Jahresüberschuss/-fehlbetrag	0	0
Summe aus III.	0	0
Summe für A.	401.254.398	400.746.142
B. Sonderposten aus Investitionszuschüssen	4.966.424	5.409.203
C. Rückstellungen	351.906	407.651
D. Verbindlichkeiten		
Verbindlichkeiten aus Lieferungen und Leistungen	720.998	375.775
Sonstige Verbindlichkeiten	166.850	92.276
Summe für D.	887.848	468.051
E. Rechnungsabgrenzungsposten	9.535	2.340
Gesamtes Vermögen	407.470.111	407.033.387

*) § 253 Abs. 2 HGB wird nicht angewendet. Stattdessen werden Rücklagen gebildet.

Organe der Stiftung

Stiftungsrat

Zum 31.12.2013 war der Stiftungsrat wie folgt zusammengesetzt:

Vorsitzender

Prof. Dr. Peter Gruss

Präsident der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.

Mitglieder

MinDir'in Bärbel Brumme-Bothe

Leiterin der Abteilung 6 im Bundesministerium für Bildung und Forschung

Staatssekretär Helmut Dockter

Ministerium für Innovation, Wissenschaft und Forschung des Landes NRW

Prof. Dr. Jürgen Fohrmann

Rektor der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Prof. Dr. Wieland B. Huttner

Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie und Genetik

Prof. Dr. Herbert Jäckle

Vizepräsident der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.,
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie

Prof. Dr. Regine Kahmann

Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie

Dr. rer. nat. Stefan Marcinowski

Vizepräsident der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.

Jürgen Nimptsch

Oberbürgermeister der Bundesstadt Bonn

Prof. Dr. Wolfgang Plischke

Mitglied des Vorstandes der Bayer AG

Tankred Schipanski

Mitglied des Deutschen Bundestages

Ulrich Schüller

Leiter der Abteilung 4 im Bundesministerium für Bildung und Forschung



Karl Schultheis

Mitglied des Landtages NRW

Prof. Dr. Petra Schwille

Max-Planck-Institut für Biochemie

Prof. Dr. Martin Stratmann

Vizepräsident der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.,
Max-Planck-Institut für Eisenforschung GmbH

Prof. Dr. Heinz Wässle

Max-Planck-Institut für Hirnforschung

Vorstand

Zum 31.12.2013 war der Vorstand wie folgt zusammengesetzt:

Prof. Dr. Ulrich Benjamin Kaupp

Geschäftsführender Direktor

Direktor der Abteilung „Molekulare Neurosensorik“

Dr. Jason Kerr

Direktor der Abteilung „Organisation des Gehirns und Verhaltens“

Gertrud Bilski

Kaufmännische Geschäftsführerin

caesarium

Caesar möchte mit dem *caesarium* zeigen, wie spannend und faszinierend Wissenschaft und Forschung sein können. Die Vorträge richten sich nicht (nur) an ein Fachpublikum, sondern gerade an interessierte Laien. Im Jahr 2013 fanden die folgenden *caesarien* statt:

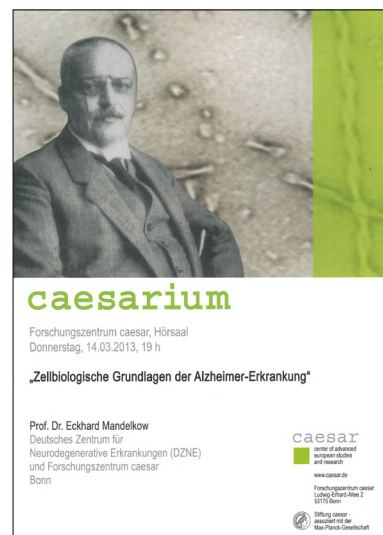
Prof. Dr. Eckhard Mandelkow

Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE)
und Forschungszentrum caesar

Bonn

„Zellbiologische Grundlagen der Alzheimer-Erkrankung“

14.03.2013



Prof. Dr. Manfred Milinski

Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie

Plön

„Der Duft der Gene - was bei der Partnerwahl wirklich entscheidet“

18.04.2013





Prof. Dr. Martin Hellwig

Max-Planck-Institut zur Erforschung von Gemeinschaftsgütern
Bonn

„Der König ist nackt! - Aber unter wie herrlichen Gewändern!“
- Was läuft falsch mit den Banken?

10.10.2013





Impressum

Herausgeber

Stiftung caesar
Ludwig-Erhard-Allee 2
D- 53175 Bonn

Redaktion und Konzept

Prof. Dr. U. Benjamin Kaupp
Dr. Jürgen Reifarth
Stefan Hartmann

Textlayout

Stefan Hartmann

Cover

Dargestellt ist der Flagellenschlag von normalen Spermien (oben) und CRIS *Knock-out*-Spermien (unten). Genauere Informationen kann man im Forschungsbericht von Dr. Dagmar Wachten nachlesen.

Druck

Brandt GmbH
Rathausgasse 13
53111 Bonn

© 2014

Stiftung caesar
Ludwig-Erhard-Allee 2
D-53175 Bonn
Tel.: +49 (0)228 9656-0
Fax: +49 (0)228 9656-111
E-Mail: office@caesar.de
<http://www.caesar.de>

