

Abteilungsdirektor/in | Head of Department

Prof. Dr. rer. nat. Michael Thumm (kommissarische Leitung seit 01.10.2004)

Prof. Dr. med. Kurt von Figura (bis 30.09.2004)

Schwerpunktprofessur Molekulare Zellbiologie | [Special Professorship Molecular Cell Biology](#)

Prof. Dr. rer. nat. Michael Thumm

Hochschullehrer/innen | Professors and Lecturers

Telefon

von Figura, Kurt (seit 01/2005 Präsident der Georg-August Universität)	Prof. Dr. med. Dr. h.c.	kfigura@gwdg.de	39-4311
Lübke, Torben	Jun. Prof. Dr. rer. nat.	tluebke@gwdg.de	39-5932
Schu, Peter	PD Dr. rer. nat.	pschu@gwdg.de	39-5949
Thumm, Michael	Prof. Dr. rer. nat.	mthumm@uni-goettingen.de	39-5958
Dierks, Thomas (bis 11/2004)	Prof. Dr.	Thomas.dierks@uni-bielefeld.de	-
Fischer von Mollard, Gabriele (Nachwuchsgruppenleiterin; bis 11/2004)	Prof. Dr.	Gabriele.mollard@uni-bielefeld.de	-
Höning, Stefan (bis 12/2004)	Prof. Dr.	Shoening@uni-koeln.de	-
Körner, Christian (bis 03/2004)	Prof. Dr.	Christian.koerner@med.uni-heidelberg.de	-

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen | Other Group Leaders

Landgrebe, Jobst	Dr. med.	jlandgr1@gwdg.de	39-5902
Schmidt, Bernhard	Dr. rer. nat.	bschmid@gwdg.de	39-5951

Forschungsschwerpunkte

- ▶ Lysosomale Speicherkrankheiten
- ▶ Proteinsortierung
- ▶ Kongenitale Glykosylierungsstörungen
- ▶ Das Proteom der lysosomalen Matrix und der lysosomalen Membran

Schwerpunktprofessur Molekulare Zellbiologie

- ▶ Molekularer Mechanismus der Autophagie

Research Foci

- ▶ Lysosomal Storage Disorders
- ▶ Protein Sorting
- ▶ Congenital Disorders of Glycosylation
- ▶ Proteome of the Lysosomal Matrix and the Lysosomal Membrane

Special Professorship Molecular Cell Biology

- ▶ Molecular Mechanism of Autophagy

Einleitung

In der Forschung liegen die Schwerpunkte der Abteilung auf den Gebieten der Biogenese und der Funktion von Lysosomen, ihren genetischen Störungen und der Sortierung von Proteinen am Beispiel sekretorischer, lysosomaler und synaptischer Proteine, sowie der Autophagie. Methodisch stehen molekulargenetische und zellbiologische Verfahren an Säuger- und Hefezellen sowie an transgenen Mäusen im Vordergrund. Ein Proteom- und ein Transkriptomanalyselabor werden als Service labors betrieben.

Preface

The biogenesis and function of lysosomes, lysosomal storage disorders, the sorting and transport of secretory, lysosomal and synaptic proteins and autophagy represent the research focus of the groups working in the Department of Biochemistry II. Methods used in molecular and cell biology are applied to mammalian cells, baker's yeast and transgenic mice. Laboratories for the analysis of proteoms and transcriptoms are provided as a service to other institutes.

1. Lysosomale Speicherkrankheiten

Das Interesse unserer Gruppe an der Biogenese der Lysosomen wird bestärkt durch die Existenz einer Reihe angeborener Erkrankungen, welche die Funktion der Lysosomen beeinträchtigt. Die Identifizierung neuer molekularer Defekte bei menschlichen Erbkrankheiten ist Teil unserer Arbeit. Um die Funktion lysosomaler Proteine und Proteine, die an der Biogenese des Lysosoms beteiligt sind, zu studieren, werden transgene Mäuse erzeugt. Diese Mäuse dienen als Modell für menschliche Erbkrankheiten und dem Studium der Pathophysiologie und der Wirksamkeit neuer therapeutischer Ansätze. Einige Studien haben sich mit der Identifizierung lysosomaler Transportsignale in Membranproteinen und ihrer Erkennung durch die Transportmaschinerie beschäftigt. Laufende Projekte beschäftigen sich mit der Regulation der Wechselwirkung cytosolischer Adaptorproteine mit den lysosomalen Transportsignalen in Membranproteinen, der Funktion wichtiger lysosomaler Membranproteine, einer neuen Proteinmodifikation, die für die katalytische Aktivität von Sulfatasen wichtig ist und deren Defekt zu einer menschlichen Erkrankung führt sowie den molekularen Defekten und der Pathophysiologie einer neuen Gruppe angeborener menschlicher Krankheiten, bei denen die N-Glykosylierung von Glykoproteinen defekt ist.

Mucopolysaccharidose II (ML II: I-cell disease)

Die GlcNAc-1-Phosphotransferase katalysiert den initialen Schritt bei der Generierung von Mannose-6-Phosphat (M6P)-Resten an Oligosacchariden lysosomaler Enzyme, die für den effizienten Transport dieser Enzyme zum Lysosomen notwendig sind. Die GlcNAc-1-Phosphotransferase stellt ein Heterohexamer dar, das aus drei Untereinheiten ($\alpha_2\beta_2\gamma_2$) zu-

sammengesetzt ist. Die α/β -Untereinheiten werden durch ein bisher unbekanntes Gen, die γ Untereinheit durch ein anderes, bekanntes Gen kodiert. Die α/β -Untereinheiten werden für die katalytische Aktivität des Enzyms verantwortlich gemacht und sollen bei Defekten die schwere Mukopolysaccharidose Typ II (ML II) verursachen. Das α/β Protein wurde nach affinitätschromatographischer Reinigung von Golgi-Membran-Extrakten an rekombinanter γ -Untereinheit als Matrix und massenspektroskopischer Analyse identifiziert. Das kodierende Gen ist auf Chromosom 12q23.3 lokalisiert und kodiert ein Protein mit 1256 Aminosäuren. Die retrovirale Expression der entsprechenden cDNA in ML II-Patientenzellen korrigierte die Hypersekretion und die abnorme intrazelluläre proteolytische Prozessierung lysosomaler Enzyme. Die Daten bewiesen, dass es sich bei dem identifizierten Gen um die katalytische Domäne der GlcNAc-1-Phosphotransferase handelt. Zurzeit werden einerseits der katalytische Mechanismus des Enzyms und andererseits natürlich vorkommende Mutationen an Patientenzellen untersucht.

Mucopolysaccharidose IIIC (MPS IIIC, Sanfilippo C syndrome)

Seit etwa 05/2003 beschäftigen wir uns in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Andrea Ballabio (Telethon Institute of Genetics and Medicine, Neapel, Italien) mit der Identifizierung der molekularen Ursache der Mucopolysaccharidose Typ IIIC (MPS-IIIC). Klinisch zeichnen sich MPS-IIIC Patienten durch schwere, fortschreitende mentale Retardierungen und Skelettabnormalitäten aus. Während die molekulargenetischen Defekte bei MPS-IIIA, B und D bekannt sind, konnte das für MPS-IIIC verantwortliche Gen bis heute nicht identifiziert werden. Primäre Fibroblasten von MPS-IIIC Patienten zeigen einen völligen Verlust an Acetyl-CoA: α -glucosamin N-Acetyltransferase-Aktivität. Unser Ziel ist es, das in MPS-IIIC Fibroblasten defekte N-Acetyltransferase-Gen mittels einer Komplementations-Klonierung durch „Microcell-mediated chromosome transfer“ (MMCT) zu klonieren. Aus einem Set von Maus-Hybridzelllinien (Donorzellen), die jeweils ein zusätzlich humanes, Hygromycin-getagtes Chromosomen besitzen, werden durch Colcemid- und Cytochalasin-Behandlung, sowie Zentrifugations- und Filtrationsschritte Minizellen mit dem humanen Chromosomen gewonnen und mit MPS-IIIC-Fibroblasten fusioniert. Durch dieses Verfahren sollen alle humanen Chromosomen in zuvor immortalisierte MPS-IIIC Patientenfibroblasten transferiert werden. Es wurden sukzessive Minizellen, die verschiedene Hygromycin-markierte Chromosomen beinhalten, mit den immortalisierten MPS-IIIC Fibroblasten fusioniert und bezüglich ihrer N-Acetyltransferase Aktivität getestet. Keines der folgenden Chromosomen → Chr. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 21 ← vermochte den Defekt in den primären Patientenfibroblasten nach einer Fusion zu komplementieren. Fusionen von Patientenfibroblasten mit Minizellen, die das Hygro-getagte Chromosom-8 beinhalten, erhöhen jedoch die N-Acetyltransferase Aktivität in den Zellen auf etwa 3–6% der Normalaktivität (zum Vergleich: die entsprechende Patientenzelllinie verfügt über eine Restaktivität von etwa 0,3% gegenüber den Kontrollzelllinien).

1. Lysosomal Storage Disorders

The interest of our group in the biogenesis of lysosomes is stimulated by the existence of a spectrum of congenital disorders in man that affect the function of lysosomes. Our work includes the identification of new molecular defects in human congenital disorders. Transgenic mice are generated to study the function of lysosomal proteins and proteins involved in lysosome biogenesis and used as models for human congenital disorders for the study of the pathophysiology and the effectiveness of new therapeutic approaches. A number of studies have focussed on the identification of lysosomal trafficking signals in membrane proteins, and their recognition by the transport machinery. Current projects focus on the regulation of the interaction of cytoplasmic adaptors with the lysosomal transport signals in membrane proteins, the function of several major lysosomal membrane proteins, a novel protein modification that is required for the catalytic activity of sulfatases and deficient in a human disease and the molecular defects and pathophysiology of a new group of human congenital disorders in which the N-glycosylation of glycoproteins is defective.

The work on multiple sulfatase deficiencies focussed on the biochemical purification of FGE, the enzyme generating FGly residues in sulfatases. A rapid enzyme assay based on peptidic substrates derived from sulfatases and mass spectrometric distinction between FGly (product) and cysteine (substrate) containing peptides was essential to monitor purification. Peptide sequences of the purified protein allowed the cloning of the FGE encoding SUMF1 gene and of its paralog SUMF2. Biochemical and structural characterization of the FGE and its paralog pFGE followed. Patients with multiple sulfatase deficiency carry mutations in the SUMF1 gene.

Presently the enzymatic mechanism of FGE is characterized. We are hunting for the function of pFGE and detected naturally occurring mutations in MSD are characterized.

Mucopolipidosis II (ML II: I-cell disease)

The ML II-project was focussed on the biochemical purification of the α/β subunits of the GlcNAc-1-phosphotransferase. Together with the γ subunits, a hexameric complex is formed ($\alpha_2\beta_2\gamma_2$) which is responsible for the initial step in the generation of the mannose 6-phosphate (M6P) recognition marker. M6P residues on newly synthesized lysosomal enzymes are essential for efficient transport to lysosomes. Defects in the α/β subunits results in the fatal lysosomal storage disorder Mucopolipidosis II, the so-called I-cell disease. A so far unknown α/β protein was purified by affinity chromatography on the γ subunit. The cDNA of the α/β subunit was cloned and used for complementation of the defect in fibroblasts of patients suffering from I-cell disease. Presently the enzymatic mechanism of the enzyme is characterized and naturally occurring mutations in ML II patients are characterized.

Mucopolysaccharidosis IIIC (MPS IIIC, Sanfilippo C syndrome)

Mucopolysaccharidosis IIIC is a rare lysosomal storage disorder with a defect in the acetyl-CoA: α -glucosaminide N-acetyltrans-

ferase (GNAT). Patients with this disorder are suffering from severe progressive mental retardation and skeletal deformities due to an accumulation of heparan sulfate in lysosomes of numerous tissues. The gene responsible for this fatal disease has never been identified. GNAT is believed to be an integral membrane protein of the lysosomal membrane where it receives an acetyl-residue from cytosolic acetyl-CoA, transports it over the membrane and catalyses the transfer on heparan sulfate prior to hydrolysis. In cooperation with Andrea Ballabio and Pia Cosma, TIGEM, Naples, Italy, we try to identify the gene underlying *MPS IIIC* by a genetic approach, called Microcell-mediated chromosome transfer (MMCT). In this technique, a panel of murine donor cells containing single human chromosomes which are tagged with a marker gene are treated in that way, that they generate mini-cells including single chromosomes which are then fused with fibroblasts from MPS IIIC patients. After selection and clonal expansion of surviving fibroblasts, the formerly deficient fibroblasts are tested for reconstituted GNAT activity. So far, we tested 16 chromosomes after MMCT and determination of the GNAT activity.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD. Dr. Thomas Dierks
Prof. Dr. Kurt von Figura
Jun. Prof. Torben Lübke
Dr. Bernhard Schmidt

Kooperationen | Cooperations

Andrea Ballabio, TIGEM, Neapel, Italien
Tommaso Beccari, Dipartimento di Scienze Biochimiche e Biotechnologie Molecolare Università di Perugia, Perugia
Thomas Bräulke, Abt. Biochemie, Kinderklinik, UKE Hamburg
Maria-Pia Cosma, Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Universität Neapel, Italien
Achim Dickmanns, Abt. Strukturbiologie, Universität Göttingen
Ralph Dressel, Abt. Immunogenetik, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen
Eva Lisa Eskelinen, Abt. Biochemie, Universität Kiel
Ralf Ficner, Abt. Molekulare Strukturbiologie, Fakultät Biologie, Universität Göttingen
Jutta Gärtner, Abt. Pädiatrie II mit SP Neuropädiatrie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen
Eberhard Günther, Abt. Immunogenetik, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen
Markus Georg Rudolph, Abt. Strukturbiologie, Fakultät Biologie, Universität Göttingen
Renate Lüllmann-Rauch, Anatomisches Institut, Universität Kiel
Tobias Moser, Abt. Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen
Yoshitaka Tanaka, Division of Pharmaceutical Cell Biology, Kyushu University Fukuoka, Japan
Paul Saftig, Abt. Biochemie, Universität Kiel
Lars Slotawa, Abt. Pädiatrie II mit SP Neuropädiatrie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen
Bart de Strooper, Neuronal Cell Biology Laboratory, Interuniversity Institute for Biotechnology, K. U. Leuven and Flanders
Stephan Tiede, Abt. Biochemie, Kinderklinik, UKE Hamburg
Yasuo Uchiyama, Dept. of Cell Biology and Neurosciences, Osaka University, Osaka, Japan

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Normalverfahren Fi 253/18-1 und Fi 253/15-3, 2003-2006
EU Project Euraman QLK3-CT-2001-02458, 10/2001-10/2004
Transkaryotic Therapies (TKT), Boston, 2001-2005

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Dickmanns A, Schmidt B, Rudolph MG, Mariappan M, Dierks T, von Figura K, Ficner R (2005) Crystal structure of human pFGE, the paralog of the Calpha-formylglycine-generating enzyme. *J BIOL CHEM*, 280(15): 15180-7.

Dierks T, Dickmanns A, Preusser-Kunze A, Schmidt B, Mariappan M, von Figura K, Ficner R, Rudolph MG (2005) Molecular basis for multiple sulfatase deficiency and mechanism for formylglycine generation of the human formylglycine-generating enzyme. *CELL*, 121(4): 541-52.

Mariappan M, Preusser-Kunze A, Balleiningner M, Eiselt N, Schmidt B, Gande SL, Wenzel D, Dierks T, von Figura K (2005) Expression, localization, structural, and functional characterization of pFGE, the paralog of the Calpha-formylglycine-generating enzyme. *J BIOL CHEM*, 280(15): 15173-9.

Preusser-Kunze A, Mariappan M, Schmidt B, Gande SL, Mutenda K, Wenzel D, von Figura K, Dierks T (2005) Molecular characterization of the human Calpha-formylglycine-generating enzyme. *J BIOL CHEM*, 280(15): 14900-10.

Tiede S, Storch S, Lübke T, Henrissat B, Bargal R, Raas-Rothschild A, Braulke T (2005) Mucopolidosis II is caused by mutations in GNPTA encoding the alpha/beta GlcNAc-1-phosphotransferase. *NAT MED*, 11(10): 1109-12.

Roces DP, Lullmann-Rauch R, Peng J, Balducci C, Andersson C, Tollersrud O, Fogh J, Orlicchio A, Beccari T, Saftig P, von Figura K (2004) Efficacy of enzyme replacement therapy in alpha-mannosidosis mice: a preclinical animal study. *HUM MOL GENET*, 13(18): 1979-88. Epub 2004 Jul 21.

Dierks T, Schmidt B, Borissenko LV, Peng J, Preusser A, Mariappan M, von Figura K (2003) Multiple sulfatase deficiency is caused by mutations in the gene encoding the human C(alpha)-formylglycine generating enzyme. *CELL*, 113(4): 435-44.

2. Proteinsortierung**Mechanismus und Funktion der post-Golgi vesikulären Proteinsortierung**

Protein Sortierung im trans-Golgi Netzwerk-Endosomen System stellt die Funktionen der Organellen in späten sekretorischen Wegen und den endocytotischen Wegen sicher. Wir analysieren die Funktionen dieser Sortierungswege und ihre Mechanismen, wobei unser Schwerpunkt auf dem Adaptor-Protein Komplex 1 (AP-1) liegt, der Clathrin-umhüllte Vesikel zum trans-Golgi Netzwerk-Endosomen Transport bildet. Weitere homologe Strukturen sind der AP-3 und der AP-4 Komplex. Der AP-1 ist ein heterotetramerer Komplex aus den Untereinheiten $\gamma 1$, $\beta 1$, $\mu 1A$ and $\sigma 1$. Unsere Maus ‚knock-out‘ Modelle von AP-1 Untereinheiten zeigten, dass der AP-1 essentiell für die Embryogenese ist. AP-1 vermittelte Sortierung beeinflusst auch die Funktionen von Rezeptoren der Plasmamembran und ist essentiell für Zell-Differenzierung und Wachstum und somit auch für die Tumorbologie.

Biogenese der vakuolären Aminopeptidase I-Aktivität

Die vakuoläre Aminopeptidase I homododecamerisiert im Cytoplasma und wird durch konstitutive Autophagocytose in die Vakuole transportiert. Homododecamerisierung zum enzymatisch aktiven Komplex erfordert cytoplasmatische Faktoren, die in diesem Projekt identifiziert wurden. Die Daten deuten daraufhin, dass diese Faktoren auch für die Bildung der Transportvesikeln benötigt werden.

Wir isolierten ein ‚single-copy‘ Suppressorgen, das für ein Protein kodiert, das keiner bekannten Proteinfamilie zugeordnet werden kann. Die Funktion dieses Proteins und die Zusammensetzung und Funktionen des cytoplasmatischen Komplexes werden zur Zeit untersucht.

2. Protein Sorting**Mechanisms and functions of post-Golgi vesicular protein sorting**

We are analyzing the protein sorting functions of the heterotetrameric adaptor-protein complex AP-1A in protein sorting and transport between the trans-Golgi network and endosomes. AP-1A is ubiquitously expressed and essential for mouse embryonic development unlike the homologous AP-3 complex, which is also involved in trans-Golgi network-endosome protein sorting and transport. We demonstrated that AP-1A is essential for anterograde as well retrograde trans-Golgi network protein sorting and transport. The AP-1A consists of $\gamma 1$, $\beta 1$, $\mu 1A$ and $\sigma 1$ adaptins and we are studying the functions and mechanisms of the individual adaptins in protein sorting and transport- vesicle formation. We identified tissue-specific isoforms of AP-1 complex and we are analyzing their functions. We are also studying the mechanisms regulating membrane binding of AP-1, a critical step in transport vesicle formation.

Biogenesis of vacuolar Aminopeptidase I activity

The vacuolar aminopeptidase I of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is transported from the cytoplasm into the vacuole along the autophagy-like Cvt-pathway. Aminopeptidase I is only active as a homododecameric complex. Assembly into the active complex has to take place in the cytoplasm and proper assembly is linked to the double-membrane Cvt-vesicle formation. We are analyzing the mechanism of complex assembly and transport.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD Dr. Stefan Höning

PD Dr. Peter Schu

Drittmittelförderung | Funding

DFG, SFB 523 TP A6, bis 2005

DFG, GRK 521, bis 2005

Boehringer Ingelheim Fond Fellowship to Medigeshi Ramarao Guruprasad bis 2003
DFG, Normalverfahren Schu 802/2-3, bis 2003

DFG, SFB 523 TP A5, bis 2005

EU, TMR network Sorting of endosomal and lysosomal proteins by molecular machineries. bis 05/2005, danach Uni Köln

Kooperationen | Cooperations

Peter van der Sluijs, Universität Utrecht, NL

Margaret S. Robinson, Universität Cambridge, UK

Ludger Johannes, Institut Curie, Paris, F

Paul Luzio, Universität Cambridge, UK

Rainer Pepperkok, EMBL, Heidelberg

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Deneka, M., Neeft, M., Popa, I., van Oort, M., Sprong, H., Oorschot, V., Klumperman, J., Schu, P, van der Sluijs, P. (2003) Rabaptin-5 α /rabaptin-4 serves as a linker between rab4 and $\gamma 1$ -adaplin in membrane recycling from endosomes. *EMBO J.*, 22, (11): 2645-2657.

Lui, W.Y., Collins, B., Hirst, J., Motley, A., Millar, C., Schu, P., Owen, D., Robinson, M.S. (2003) Binding Partners for the COOH-terminal Appendage Domains of the GGAs and γ -Adaplin. *Mol Biol Cell* 14: 2385-2398.

Medigeshi, G.R., Schu, P. (2003) Characterization of the in vitro retrograde transport of MPR46. *Traffic*, 4: 739-753

Saint-Pol, A., Yélamos, B., Mills, I., Dugast, M., Tenza, D., Schu, P., Antony, C., McMahon, H.T., Lamaze, C., Johannes, L. (2004) Clathrin adaptor epsinR is required for retrograde sorting on early endosomal membranes. *Dev Cell*, 4: 525-538.

Kyttälä, A., Yliannala, K., Schu, P., Jalanko, A., Luzio, J.P. (2005) AP-1 and AP-3 facilitate lysosomal targeting of Batten disease protein CLN3 via its dileucine motif. *J Biol Chem*, 280: 10277-10283.

Neubrand, V.E., Will, R.D., Möbius, W., Poustka, A., Wiemann, S., Schu, P., Dotti, C.G., Pepperkok, R., Simpson, J.C. (2005) γ -BAR, a novel AP-1 interacting protein involved in post-Golgi trafficking. *EMBO J.*, 24: 1122-1133.

Schu, P. (2005) Adaptor-proteins in lysosome biogenesis; Landes Bioscience & Springer, Lysosomes, edited by Paul Saftig. published online March 21, 2005; p. 27-36.

3. Kongenitale Glykosylierungsstörungen

Kongenitale Glykosylierungsstörungen (CDG oder Congenital Disorders of Glycosylation) umfassen eine rasch wachsende Gruppe genetisch bedingter Störungen der N-Glykosylierung beim Menschen, die in den meisten Fällen zu multisystemischen Erkrankungen mit schweren neurologischen Störungen führen. Bei der Aufklärung der bislang bekannten 12 molekularen Defekte bei CDG war unsere Arbeitsgruppe in insgesamt sechs Fällen beteiligt. Die Defekte betreffen Schritte, die an der Biosynthese von GDP-Mannose (CDG-Ib) im Cytosol, an der Elongation des Dolicholpyrophosphat-verknüpften $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ -Oligosaccharids im Lumen des endoplasmatischen Retikulums (CDG Ic, Id und Ig) sowie an der Elongation (CDG-IId) der Protein-verknüpften Oligosaccharide im Golgi beteiligt sind. Beim CDG-IIc konnten wir darüberhinaus feststellen, dass es aufgrund eines GDP-Fucosetransporterdefekts im Golgi zu einer generellen Störung der Fukosylierung von Glykanen kommt. Bei zwei der Erkrankungen wird unterdessen eine zumindest partiell erfolgreiche Therapie durch die orale Gabe der Einfachzucker Mannose (CDG-Ib) und Fukose (CDG-IIc) durchgeführt. Neben Untersuchungen zur Identifizierung neuer CDG-Typen, befassen wir uns zur Zeit u.a. mit der Herstellung einer Reihe von Mausmodellen für bekannte CDG-Typen an denen verschiedene Aspekte der Pathobiochemie sowie experimentelle Therapieverfahren analysiert werden sollen. Bislang gelang dies für die Phosphomannomutase II (CDG-Ia). Der Verlust dieses Enzyms führt bei der Maus zur Lethalität in der frühen Embryonalphase.

3. Congenital Disorders of Glycosylation

Congenital Disorders of Glycosylation (CDG) comprise a group of so far eighteen autosomal recessive inherited human diseases, which affect the *de novo* biosynthesis of glycoproteins.

The transfer of oligosaccharide chains onto newly synthesized proteins is one of the most widespread forms of co- and posttranslational modifications which is found in animals, plants and bacteria. Glycoproteins are located inside cells predominantly in subcellular organelles and in cellular membranes and most abundantly in extracellular fluids and matrices. The oligosaccharide moieties of glycoproteins affect their folding, their transport as well as their biological activity and stability. The complex process of protein glycosylation requires more than a hundred glycosyltransferases, glycosidases and transport proteins. Oligosaccharide moieties are connected to glycoproteins predominantly by either N-glycosidic linkages, in which glycans are linked to amino groups of asparagine

side chains, or by O-glycosidic linkage, where the glycans are bound to hydroxyl groups of serine or threonine side chains.

CDG present with multi organ involvement, which mostly includes neurologic symptoms. CDG is subdivided into two groups. CDG-I comprise deficiencies which either affect the biosynthesis of dolichol-linked oligosaccharides or the transfer of oligosaccharides onto newly synthesized proteins by the oligosaccharyltransferase complex in the endoplasmic reticulum. CDG-II affect the subsequent trimming and elongation of N-glycans in the endoplasmic reticulum and the Golgi.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Christian Körner

Kooperationen | Cooperations

Prof. T. Braulke, Abt. Biochemie, Kinderklinik, UKE Hamburg

Prof. F. Hanefeld, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Prof. P. Heidemann, Augsburg

Prof. G. F. Hoffmann, Heidelberg

Prof. L. Lehle, Regensburg

Drittmittelförderung | Funding

DFG: KO 2152/1, KO 2152/2, KO 2152/3

Fonds der Chemischen Industrie, 1995-2006

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Schwarz M, Thiel C, Lubbehusen J, Dorland B, De Koning T, Von Figura K, Lehle L, Korner C (2004) Deficiency of GDP-Man:GlcNAc2-PP-dolichol mannosyltransferase causes congenital disorder of glycosylation type Ik. *AM J HUM GENET*, 74(3): 472-81. Epub 2004 Feb 16.

Thiel C, Schwarz M, Peng J, Grzmil M, Hasilik M, Braulke T, Kohlschütter A, von Figura K, Lehle L, Korner C (2003) A new type of congenital disorders of glycosylation (CDG-Ii) provides new insights into the early steps of dolichol-linked oligosaccharide biosynthesis. *J BIOL CHEM*, 278(25): 22498-505. Epub 2003 Apr 8.

4. Das Proteom der lysosomalen Matrix und der lysosomalen Membran

Das Bestreben zur lückenlosen Erfassung der lysosomalen Matrixproteine liegt darin begründet, dass annähernd jeder Ausfall bekannter, lysosomaler Matrixproteine unweigerlich mit der Ausprägung einer lysosomalen Speichererkrankung (LSD) in Verbindung zu bringen ist. Somit besteht die Vermutung, dass auch neu-identifizierten Proteinen solche Erkrankungen zugeordnet werden könnten. Zur Isolierung lysosomaler Matrixproteine konnte auf eine Zelllinie zurückgegriffen werden, die defizient für beide Mannose 6-Phosphat Rezeptoren (MPR) ist und somit die lysosomalen Matrixproteine sezernieren. Nach der MPR-affinitätschromatographischen Aufreinigung der Mannose 6-Phosphat (M6P)-haltigen, lysosomalen Matrixproteine wurden diese durch 2D-Gelelektrophorese (2D-GE) voneinander getrennt. Darüber hinaus wurde eine Multidimensionale Protein-Identifikationstechnik (MudPIT) etabliert. Das Proteome der Mannose 6-Phosphat (M6P)-haltigen, lysosomalen Matrixproteine wurde durch eine Kombination beider oben genannten Verfahren (2D-GE mit MALDI-TOF-MS bzw. MudPIT) erroiert. Insgesamt wurden 34 der etwa 50 bekannten lysosomalen Matrixproteine, sowie vier putativ neue lysosomale Matrixproteine identifiziert. Nach der Klonierung der Kandidaten cDNAs als „getaggte“ Varianten konnten wir

inzwischen für drei der vier Kandidaten eine MPR-Bindung und eine MPR-abhängige Aufnahme mit lysosomaler Lokalisation des partiell aufgereinigten Proteins in primäre Fibroblasten zeigen. Des Weiteren wurden gegen zwei der vier Kandidatenproteine, Retinsäure-induzierbare Serin-Carboxypeptidase und hypoth. 66kDa-Protein, polyklonale Seren produziert. Mittels dieser Seren konnte für diese beiden Proteine die lysosomale Lokalisation auf endogenem Expressionsniveau in murinen und humanen Zelllinien bestätigt werden.

4. Proteome of the Lysosomal Matrix and the Lysosomal Membrane

We focus on the analysis of the complete protein composition of lysosomes on eukaryotic cells. To date, approximately 50 lysosomal matrix proteins and 20 lysosomal membrane proteins are known with most of them invariably associated with a particular lysosomal (storage) disease. This provides the rationale for a systematic search for new lysosomal proteins in a proteome approach.

During their passage of the Golgi apparatus, lysosomal matrix proteins receive mannose 6-phosphate (M6P) residues. In vivo, the binding of lysosomal proteins to MPRs via M6P-containing recognition markers ensures their targeting to lysosomes. In vitro, the M6P-tag allows the affinity purification of lysosomal matrix proteins with the help of immobilized MPRs. Taking advantage of such an affinity-based purification approach, we identified 34 known lysosomal matrix proteins and four candidate proteins of the lysosomal matrix. At the moment we are on the way to characterize these candidate proteins in detail.

Due to the lack of a unique sorting signal for lysosomal membrane proteins, proteomics for these proteins turns out to be more demanding: Lysosomes are prepared from crude liver homogenates by a combination of differential centrifugation and isopycnic density gradient centrifugation.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Dr. Jobst Landgrebe

Jun. Prof. Dr. Torben Lübke

Dr. Bernhard Schmidt

Kooperationen | Cooperations

Prof. A. Hasilik, Institut für Physiologische Chemie, Universität Marburg

Dr. A. Sickmann, Experimentelle Biomedizin, Rudolf-Virchow-Zentrum, Universität Würzburg

Drittmittel | Funding

DFG, LU 1173/1-1 und LU 1173/1-2, 07/2004–07/2007

BMBF 031U104A: Proteom der Lysosomenmembran und Lysosomenmatrix. 05/2001-03/2004

Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, JP Dr. Torben Lübke, Identifizierung des Acetyl-CoA:a-glucosaminjnn N-Acetyltransferase-Gens durch Komplementationsklonierung an primären Mucopolysaccharidosis-IIIC-Fibroblasten

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, Dr. Jobst Landgrebe, Evaluation der Therapie lysosomaler Speicherkrankheiten durch Genexpressionsanalyse am Beispiel der Mucopolidose

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Kollmann K, Mutenda KE, Balleininger M, Eckermann E, von Figura K, Schmidt B, Lübke T (2005) Identification of novel lysosomal matrix proteins by proteome analysis. *PROTEOMICS*, 5(15): 3966-78.

SCHWERPUNKTPROFESSUR MOLEKULARE ZELLBIOLOGIE

SPECIAL PROFESSORSHIP MOLECULAR CELL BIOLOGY

1. Molekularer Mechanismus der Autophagie

Alle eukaryontischen Zellen transportieren bei Nährstoffmangel eigene Bestandteile in ihre Lysosomen und bauen sie dort ab. Dieser selbstkannibalistische autophagische Prozeß spielt eine wichtige Rolle bei der Zelldifferenzierung, und der Entstehung von Krankheiten wie Krebs, Cardiomyopathie, M. Huntington und M. Parkinson. Er spielt ferner eine entscheidende Rolle beim Abbau intrazellulärer Pathogene und der Alterung. Autophagie ist außerdem wichtig beim nicht apoptotischen Zelltod und es gibt Hinweise auf eine Beziehung zwischen Autophagie und Apoptose. In der Arbeitsgruppe untersuchen wir die molekularen Mechanismen der Autophagie in *Saccharomyces cerevisiae* als Modellorganismus.

1. Molecular mechanism of autophagy

All eukaryotic cells respond to nutrient limitation by transporting their own constituents for degradation to the lysosome (vacuole). This self-cannibalistic autophagic process is involved in cell differentiation and the development of diseases such as cancer, cardiomyopathy, Huntington's and Parkinson's disease. It also plays an important role in the removal of intracellular pathogens and increasing evidence points to a relationship between autophagy and ageing. Autophagy further plays an important role during the non-apoptotic type 2 cell death and there are hints for a cross-talk between autophagy and apoptosis. We are analysing the molecular mechanism of autophagy in the model eukaryote *S. cerevisiae*.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Michael Thumm

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Th752-1, seit 2003

SFB 523, seit 2004

GRK 521, seit 10/2005

DFG, Th752-2 beendet, 2002-2006

SFB 495 ausgeschieden, bis 12/2003

Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, Dr. U. Epple, Molekularer Mechanismus des stückweisen mikroautophagischen Abbaus des Zellkerns

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Meiling-Wesse K, Epple UD, Krick R, Barth H, Appelles A, Voss C, Eskelinen EL, Thumm M (2005) Trs85 (Gsg1), a component of the TRAPP complexes, is required for

the organization of the preautophagosomal structure during selective autophagy via the Cvt pathway. *J BIOL CHEM*, 280(39): 33669-78.

Fricke J, Voss C, Thumm M, Meyers G (2004) Processing of a pestivirus protein by a cellular protease specific for light chain 3 of microtubule-associated proteins. *J VIROL*, 78(11): 5900-12.

Ketelaar T, Voss C, Dimmock SA, Thumm M, Hussey PJ (2004) Arabidopsis homologues of the autophagy protein Atg8 are a novel family of microtubule binding proteins. *FEBS LETT*, 567(2-3): 302-6.

Meiling-Wesse K, Barth H, Voss C, Eskelinen EL, Epple UD, Thumm M (2004) Atg21 is required for effective recruitment of Atg8 to the preautophagosomal structure during the Cvt pathway. *J BIOL CHEM*, 279(36): 37741-50. Epub 2004 Jun 11.

Meiling-Wesse K, Bratsika F, Thumm M (2004) ATG23, a novel gene required for maturation of proaminopeptidase I, but not for autophagy. *FEMS YEAST RES*, 4(4-5): 459-65.

Epple UD, Eskelinen EL, Thumm M (2003) Intravacuolar membrane lysis in *Saccharomyces cerevisiae*. Does vacuolar targeting of Cvt17/Aut5p affect its function? *J BIOL CHEM*, 278(10): 7810-21. Epub 2002 Dec 22.

Regelmann J, Schule T, Josupeit FS, Horak J, Rose M, Entian KD, Thumm M, Wolf DH (2003) Catabolite degradation of fructose-1,6-bisphosphatase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: a genome-wide screen identifies eight novel GID genes and indicates the existence of two degradation pathways. *MOL BIOL CELL*, 14(4): 1652-63.

Anhang | Appendix

Berufungen | Appointments

Prof. Dr. Thomas Dierks, C4, Universität Bielefeld, 10/2004

Prof. Dr. Gabriele Fischer von Mollard, W3, Universität Bielefeld, 04/2005

Prof. Dr. Stefan Höning, C3, Universität Köln, 12/2004

Prof. Dr. Christian Körner, C3, Universität Heidelberg, 02/2004

Habilitationen

Haucke V, Beiträge zur molekularen Analyse der Endozytose synaptischer Vesikel. Habilitation Universität Göttingen 2003.

Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Chapuy B, Dr. med., Analyse der putativen AP-3-Funktion für die Vesikelbildung am Trans-Golgi-Netzwerk. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Illert A, Dr. med., Autophagosomen- und Lysosomenbiogenese LAMP-2-defizienter Hepatozyten. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Padva M, Dr. med., Erzeugung von Maus-knock-out-Modellen für die Sulfatasen Sulf1, Sulf2 und Arylsulfatase G. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Hanßke B, Dr. med., „Congenital Disorder of Glycosylation IIId (CDG IIId)“ – Identifizierung eines Defektes der β 1,4-Galaktosyltransferase I. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere) | Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and Others)

Malaiyalam Mariappan, Dr. rer. nat., Molecular Characterization of pFGE, the Paralog of the α -Formylglycine-generating Enzyme. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Barth H, Dr. rer. nat., AUT8, AUT10 und MAI1 – Identifizierung und funktionelle Charakterisierung neuer Komponenten der Autophagocytose und des Cvt Transportweges in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Kreykenbohm V, Dr. rer. nat., Charakterisierung der endosomalen Qb-SNAREs Vti1a und Vti1B. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Pasupuleti NR, Dr. rer. nat., Identification of a new factor essential for vacuolar aminopeptidase I activity. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Riel C, Dr. rer. nat., Rho1-adaptin – the small subunit of the clathrin adaptor complex AP-1. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Borissenko L, Dr. rer. nat., Posttranslational generation of C alpha-formylglycine in eukaryotic sulfatasases: development of the biochemical approach for the characterisation and purification of the modifying enzyme. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Bulankina AV, Dr. rer. nat., TIP47 is recruited to lipid droplets and important for the organelle biogenesis and function. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Dilcher M, Dr. rer. nat., Charakterisierung von SNARE-Proteinen in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Fang Q, Dr. rer. nat., Post-translational generation of C alpha-formylglycine in prokaryotic sulfatasases by radical SAM-proteins. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Guruprasad MR, Dr. rer. nat., Role of adaptor proteins in MPR sorting. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Diplomarbeiten | Diploma Theses

Albers V, Dipl.-Biol., Klonierung und Charakterisierung zweier Heparanulfat-modulierender Sulfatasen aus *Xenopus laevis*. Diplomarbeit Universität Göttingen 2003.

Luebbehusen J, Dipl.-Biol., Generierung eines Maus-Modells für Congenital Disorders of Glycosylation Ic (CDG-Ic). Diplomarbeit Universität Göttingen 2003.

Wissenschaftliche Tagungen | Scientific Meetings

07.-09.10. 2004, Third International Göttingen Meeting on „Protein and Membrane Transport in the Secretory Pathway“; SFB 523, Organisation: Fischer von Mollard, Schu, Göttingen

Preise und Auszeichnungen | Prizes and Awards

Prof. Kurt von Figura

Körperpreis, 2004

Wahl zum Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina 2004

Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen | Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

Prof. Dr. Kurt von Figura

Mitglied im Kuratorium des Max-Planck-Instituts für biophysikalische Chemie, Göttingen (seit 2004)

Mitglied im Kuratorium des Max-Planck-Instituts für experimentelle Medizin, Göttingen (seit 2004)

Mitglied des Kuratoriums des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin „Berlin-Buch“ (seit 2003)

Mitglied der Deutsch-Israelischen Projektkooperation (DIP) (seit 1997)

Mitglied des Auswahlausschusses der Alexander von Humboldt-Stiftung für die Humboldt- und F.W. Bessel-Forschungspreise (seit 2001)

Mitglied des Wiss. Beirats des Zentrums für Molekulare Neurobiologie der Universität Hamburg (ZMNH) (seit 2001)

Mitglied des Wiss. Beirats des Rudolf-Virchow-Zentrums für Experimentelle Biomedizin/DFG Forschungszentrums, Universität Würzburg (seit 2002)

Mitglied des Wiss. Beirats des Biochemie-Zentrums Heidelberg (BZH) (seit 2003)

Mitglied im Verwaltungsrat der GlaxoSmithKline Stiftung (früher SmithKline Beecham Stiftung) (seit 1991)

Mitglied der Expertengruppe „Strukturreform in der Berliner Hochschulmedizin“ (2002-2003)

Mitglied der Arbeitsgruppe „Forschungs- und lehrförderliche Strukturen in der Universitätsmedizin“ des Wissenschaftsrats (2001-2003)

Herausgebertätigkeit | Editorial Work

Prof. Dr. Michael Thumm

Biochemical Journal, FEMS Yeast Research, Autophagy

Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, „Molekularer Mechanismus des stückweisen mikroautophagischen Abbaus des Zellkerns“ (Epple)

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, „Evaluation der Therapie lysosomaler Speicherkrankheiten durch Genexpressionsanalyse am Beispiel der Mucopolysaccharidose II“ (Landgrebe)

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, „Identifizierung des Acetyl-CoA:a-glucosamin N-Acetyltransferase-Gens durch Komplementationsklonierung an primären Mucopolysaccharidose-IIIc-Fibroblasten“ (Lübke)

Universitäre Gremien | University Boards

Prof. Dr. Kurt von Figura

Geschäftsführender Direktor des Zentrums Biochemie und Molekulare Zellbiologie (2002-2004)

Geschäftsführender Direktor des Göttinger Zentrums für Molekulare Biowissenschaften (bis 2003)

Mitglied des Senats der Universität Göttingen (1999-2003)

Leiter des Internationalen M.Sc./Ph.D. Studiengangs „Molecular Biology“ (2000-2004)

Sprecher des SFB 523 „Protein- und Membrantransport zwischen zellulären Kompartimenten“ (1996-2004)

Präsident der Universität Göttingen seit 01/2005

EU-Projekte | European Research Projects

Euraman, QLK3-CT-2001-02458, 10/2001–09/2004

Euroglycan, QLG1-CT-2000-00047, seit 10/2000

Stipendiaten/Stipendiatinnen | Scholarship Holders

Benkert, Tanja, 02/2005-01/2007

Bremer, Sebastian, 03/2006-03/2008

Firmenkooperationen | Industrial Cooperations

TKT, Cambridge/Mass., USA

Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte

Specialised Research Equipment

Massenspektrometer: MALDI-TOF-MS, NanoLC-ESI-Iontrap-MS

Proteinsequenzer

Biacore 3000

Laserscan Mikroskop

HTS-DNA Syntheseanlage