

Zentrum Anatomie **ABTEILUNG NEUROANATOMIE** (seit 5/2005)
ehemals Abteilung Anatomie mit Schwerpunkt Neuroanatomie (bis 4/2005)
Centre for Anatomy **DEPARTMENT OF NEUROANATOMY** (since 5/2005)
previously Department of Anatomy with Focus on Neuroanatomy (until 4/2005)

Abteilungsdirektor/in | Head of Department

Prof. Dr. rer. nat. Kerstin Krieglstein

Schwerpunktprofessur Zelluläre Neuroanatomie
Special Professorship Cellular Neuroscience

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Reuss

Hochschullehrer/innen | Professors and Lecturers

Telefon

Krieglstein, Kerstin	Prof. Dr. rer. nat.	kkriegl@gwdg.de	39-7051
Reuss, Bernhard	Prof. Dr. rer. nat.	breuss@gwdg.de	39-7059
Dünker, Nicole (bis 11/2004)	PD Dr. rer. nat.	-	-
Rickmann, Michael	PD Dr. med.	mrickma@gwdg.de	39-7014
Roussa, Eleni	PD Dr. med. dent.	eroussa@gwdg.de	39-7068

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen | Other Group Leaders

Vogel, Tanja Dr. rer. nat. tvogel1@gwdg.de 39-7082

Forschungsschwerpunkte

- ▶ Regulation von Nervenzellüberleben
- ▶ Regulation von programmierten Zelltod
- ▶ Entwicklung und Differenzierung dopaminergere Neurone
- ▶ Bildung, Stabilisierung und Plastizität bestimmter Synapsenpopulationen
- ▶ pH Regulation und Bikarbonattransport in Speicheldrüsen und Leber

Schwerpunktprofessur Zelluläre Neuroanatomie

- ▶ Störungen von Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems durch latente virale Infektionen

Research Foci

- ▶ Regulation of Neuronal Survival
- ▶ Regulation of Programmed Cell Death
- ▶ Development and Differentiation of Dopaminergic Neurons
- ▶ Formation, Stabilisation and Plasticity of Defined Synaptic Populations
- ▶ Salivary and Biliary pH Regulation and Bicarbonate Transport

Special Professorship Cellular Neuroscience

- ▶ Effects of Latent Viral Brain Infections on CNS Development and Function

Einleitung

Die Aufgaben der Abteilung liegen in der Forschung und Lehre. Die Forschung befasst sich mit den Grundlagen der Entwicklung des Nervensystems, sowie seiner Degeneration im Rahmen neurodegenerativer Erkrankungen. Ein besseres Verständnis der molekularen, zellulären und suprazellulären Mechanismen der Entwicklung des Nervensystems, insbesondere der Mechanismen der Neurogenese, der Determinierung und Differenzierung distinkter Neuronpopulationen, Synaptogenese und der Regulation von neuronalem Überleben bzw. Tod, sollen Aufschluss geben über mögliche Fehlentwicklungen, die ursächlich mit der Entwicklung neurodegenerativer Krankheiten verbunden sein können. Methodisch werden alle modernen Techniken der Molekular- und Zellbiologie eingesetzt.

Preface

The responsibilities of the Department lie in research and teaching. Research focuses on the fundamentals of development of the nervous system and its deterioration in neurodegenerative diseases. A better understanding of molecular, cellular and supracellular mechanisms of nervous system development, in particular mechanisms involved in neurogenesis, determination and differentiation of distinct neuron populations, synaptogenesis and the regulation of neuron survival and death, will help to unravel the causes of neurodegeneration. Modern techniques are being used in research of cell and molecular biology.

1. Regulation von Nervenzellüberleben

Ein zentrales Problem der Neurobiologie ist das Verständnis der Regulation von neuronalem Überleben in der Phase des ontogenetischen Zelltods, nach Verletzung und bei degenerativen Erkrankungen. Das klassische Neurotrophe Faktor-Konzept muß auf dem Hintergrund der Vielfalt von Faktoren und neurotropher Faktor-Quellen, die mittlerweile für das Überleben von Neuronen verantwortlich gemacht werden, deutlich erweitert werden. Das Zusammenspiel dieser Faktoren bei der trophen Kontrolle von Neuronen ist noch weitgehend unverstanden. Arbeiten aus unserem Labor erweitern die Definition eines neurotrophen Faktors durch Zulassung der Möglichkeit, dass zwei Faktoren, die für sich alleine unwirksam erscheinen, in Kombination das volle neurotrophe Spektrum aufweisen: GDNF benötigt zur vollen Entfaltung seines neurotrophen Potential die Kooperativität von TGF- β in vitro. Die Analyse des zugrundeliegenden Mechanismus zeigte, dass TGF- β sowohl für der Bereitstellung des GDNF-Rezeptors- α (GFR- α 1) als auch für die Aktivierung des GDNF-Signalweges notwendig ist. Als Modellsystem wurden primäre parasymphatische Neurone des Ciliarganglions (E8) des embryonalen Hühnchens gewählt.

In dissoziierten Neuronkulturen führt die Behandlung mit GDNF nicht zu einer Phosphorylierung von ERK/MAPK. Nach Vorbehandlung der Zellen mit TGF- β jedoch bewirkt GDNF eine entsprechende Phosphorylierung. TGF- β -Behandlung

kann durch Gabe des löslichen GFR-1 α ersetzt werden. Zur Entfaltung des neurotrophen Effekts von GDNF ist jedoch zusätzlich zur Phosphorylierung von ERK/MAPK auch die Aktivierung des PI-3-Kinaseweges notwendig. TGF- β -Behandlung ist jedoch für die Aktivierung des PI-3-Kinaseweges notwendig, auch wenn löslicher GFR- α 1 substituiert wird. Darüber hinaus konnten wir an verschiedenen Läsionsmodellen zeigen, dass der GDNF/TGF- β Synergismus auch in vivo eine entscheidende Rolle spielt.

1. Regulation of Neuron Survival

A fundamental problem in neurobiology is the understanding of the regulation of neuron survival during the period of ontogenetic cell death, lesion and in neurodegenerative diseases. The characteristic neurotrophic factor model has to be enhanced on the background of diverse growth factors and their sources, which have proved to be the main contributing factor. The interaction of these neurotrophic factors to regulate neuron survival still remains largely unknown. Findings from our laboratory has broadened the definition of a neurotrophic factor by including the possibility, that two factors, non-trophic on their own, result in a very powerful activity when combined: GDNF requires the cooperative action of TGF- β to show its full spectrum of neurotrophic activity. Analysis of the underlying molecular mechanism showed that TGF- β are required for recruiting the GDNF-receptor- α (GFR- α 1) as well as for the activation of the GDNF signaling pathway. The parasympathetic ciliary ganglionic neurons (chick, embryonic day 8) were chosen as a model. In dissociate neuron cultures GDNF treatment does not result in phosphorylation of ERK/MAPK. Pretreatment with TGF- β , however, made GDNF dependent ERK/MAPK phosphorylation possible. TGF- β pretreatment can be replaced by applying soluble GFR- α 1, suggesting that TGF- β acts to recruit the GFR- α 1 to signaling hot spot on the membrane. To ensure the neurotrophic effect of GDNF, activation of the PI-3-Kinase pathway is required in addition to ERK/MAPK. Here TGF- β treatment is constantly necessary and can not be replaced by providing soluble GFR- α 1. GDNF/TGF- β synergism could also be shown to be essential using various in vivo lesion paradigms.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. M. Saarna, Institute of Biotechnology, University Helsinki, Finland

Prof. Dr. K. Unsicker, Interdisziplinäres Zentrum für Neurowissenschaften, Universität Heidelberg

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Forschungszentrum CMPB, 2002-2006

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Kriegelstein K (2004) Factors promoting survival of mesencephalic dopaminergic neurons. CELL TISSUE RES, 318(1): 73-80.

Lutz M, Kriegelstein K, Schmitt S, ten Dijke P, Sebald W, Wizenmann A, Knaus P (2004) Nerve growth factor mediates activation of the Smad pathway in PC12 cells. EUR J BIOCHEM, 271(5): 920-31.

Roussa E, Farkas LM, Kriegstein K (2004) TGF-beta promotes survival on mesencephalic dopaminergic neurons in cooperation with Shh and FGF-8. *NEUROBIOL DIS*, 16(2): 300-10.

von Bohlen und Halbach O, Schober A, Kriegstein K (2004) Genes, proteins, and neurotoxins involved in Parkinson's disease. *PROG NEUROBIOL*, 73(3): 151-77.

Kriegstein K (2003) Neurotrophic factors. In: Offermanns S, Rosenthal W (Hg.) *Encyclopedic Reference of Molecular Pharmacology*. Springer Verlag

2. Regulation von programmierten Zelltod

Während der Entwicklung des Nervensystems sterben in großer Zahl Neurone durch ontogenetischen Zelltod. Die Regulation von neuronalem Überleben bzw. Tod erfordert die abgestimmte Aktion von Molekülgruppen, die sowohl zell-extrinsisch wie auch zell-intrinsisch agieren. Transformierende Wachstumsfaktoren-beta (TGF- β) sind wichtige Regulatoren von Zellwachstum und Differenzierung. Zur Aufklärung der Bedeutung von TGF- β für ontogenetischen Nervenzelltod haben wir endogenen TGF- β in Hühnchenembryonen durch Applikation von neutralisierenden Antikörpern und T β R-II Fusionsprotein reduziert bzw. eliminiert. Durch diese Behandlung wird der ontogenetische Zelltod von Ciliar-, Spinalganglien und spinalen Motoneuronen fast vollständig aufgehoben. Durch Gabe von exogenem TGF- β kann der Zelltod nachgeholt werden. Dies bedeutet, dass TGF- β im Gegensatz zu jedem anderen einzelnen Faktor in den o.g. Systemen eine Schlüsselrolle spielt. Ziel laufender Arbeiten ist es die molekulare Mechanismus des TGF- β -induzierten neuralen Zelltods zu erarbeiten. Dazu gehört die Charakterisierung der TGF- β -abhängige Signaltransduktion sowie die Überleitung der TGF- β Signalkaskade in die zellintrinsische Zelltodkaskade. Dieser molekulare Ansatz wird von einem systemischen begleitet, der die Bedeutung des TGF- β abhängigen Zelltods in der Embryonalentwicklung und als Folge von Läsionen in vivo adressiert. Perspektivisch gesehen soll dieses Projekt in die neuroprotektive Therapie mittels Einsatz von TGF- β -Antagonisten bzw. Inhibitoren führen.

2. Regulation of Programmed Cell Death

During nervous system development approximately half of the neurons generated undergo ontogenetic cell death. The regulation of neuronal survival versus neuron death requires a fine tuned action of sets of cell-extrinsic and cell-intrinsic acting molecules. TGF- β s are important regulators of cell growth and differentiation. To unravel the role of TGF- β for ontogenetic cell death neutralization of endogenous TGF- β was achieved in chick embryos by application of anti-panTGF- β antibodies actions. TGF- β immunoneutralization resulted in lack of cell death of ciliary and dorsal root ganglionic neurons as well as lumbar spinal motoneurons. Cell death could be rescued by delayed application of recombinant TGF- β . Together these data put TGF- β on center stage to regulate neuron survival and death. Aim of current research is to characterize the molecular mechanism of TGF- β induced neural cell death. This includes characterization of TGF- β -dependent signaling path-

way feeding into the cell intrinsic genetic program of apoptosis. The molecular approach is being paralleled by a systemic approach analyzing the role of TGF- β during programmed cell death during development as well as following acute lesion in vivo.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Kerstin Kriegstein

PD Dr. Nicole Dünker

Dr. Tanja Vogel

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. E. de la Rosa, Biología Celular y del Desarrollo, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, Spain

Prof. Dr. T. Doetschmann, Department of Molecular Genetics, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA

Prof. Dr. C. Kalcheim, Department of Anatomy & Cell Biology, Hebrew University, Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel

Prof. Dr. S. Larisch, Department of Pathology, Rambam Medical Centre, Haifa, Israel

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Forschungszentrum CMPB, 2002-2004

DFG, Normalverfahren, 2004-2006

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Duenker N (2005) Transforming growth factor-beta (TGF-beta) and programmed cell death in the vertebrate retina. *INT REV CYTOL*, 245: 17-43.

Duenker N, Valenciano AI, Franke A, Hernández-Sánchez C, Dressel R, Behrendt M, De Pablo F, Kriegstein K, de la Rosa EJ (2005) Balance of pro-apoptotic transforming growth factor-beta and anti-apoptotic insulin effects in the control of cell death in the postnatal mouse retina. *EUR J NEUROSCI*, 22(1): 28-38.

Bender H, Wang Z, Schuster N, Kriegstein K (2004) TIEG1 facilitates transforming growth factor-beta-mediated apoptosis in the oligodendroglial cell line OLI-neu. *J NEUROSCI RES*, 75(3): 344-52.

Wang Z, Peters B, Klusmann S, Bender H, Herb A, Kriegstein K (2004) Gene structure and evolution of Tieg3, a new member of the Tieg family of proteins. *GENE*, 325: 25-34.

Schuster N, Bender H, Rossler OG, Philippi A, Dunker N, Thiel G, Kriegstein K (2003) Transforming growth factor-beta and tumor necrosis factor-alpha cooperate to induce apoptosis in the oligodendroglial cell line OLI-neu. *J NEUROSCI RES*, 73(3): 324-33.

3. Neurogenese, Determinierung und Differenzierung distinkter Neuronpopulationen

Reife Neurone entstehen im Vertebraten-Nervensystem in stereotypischen Positionen innerhalb eines durch die dorsoventralen und anteriorposterioren Achsen des Neuralrohrs gebildeten Netzes. Neuronale Progenitorzellen erwerben einen spezifischen Phänotyp entsprechend ihrer Position in diesem Netz. Signalzentren wie z.B. Deckplatte, Bodenplatte und Chorda dorsalis konnten für die Determinierung von Zellschicksalen entlang der DV-Achse verantwortlich gemacht werden, während Signalzentren wie z.B. die Prächordal-Platte, paraxiales Mesoderm oder die Mittelhirn-Nachhirn-Grenze für die Determinierung von Zellschicksalen entlang der AP-Achse verantwortlich zu sein scheinen. Als Moleküle, die für die Induktion von bestimmten Zellschicksalen bisher identifiziert wurden, sind sonic hedgehog (SHH) und die Knochenwachstumsfaktoren (BMPs) für die Determinierung entlang der DV-Achse und FGF2, FGF8, Retinolsäure und Wnt1 entlang der AP-Achse zu

nennen. Unsere Arbeitsgruppe interessiert sich für die molekularen Mechanismen, die zur Determinierung und Differenzierung distinkter Neuronpopulationen, wie z. B. mesencephaler dopaminergener Neurone im ventralen Mittelhirn gegenüber anderen dopaminergen Neuronen, bzw. gegenüber anderen ventralen Populationen (serotonerge Raphe-Neurone).

Desweiteren interessieren wir uns für TGF- β -abhängige Prozesse, die im Rahmen neuronaler Differenzierung zur Stabilisierung und dynamischen Anpassung der synaptischen Kopplung führen.

Unser Interesse gilt insbesondere der Charakterisierung der aktivitäts-abhängigen neuronalen Freisetzung und Aktivierung von TGF- β , sowie der TGF- β vermittelten Modulation der synaptischen Aktivität.

3. Neurogenesis, Determination and Differentiation of Select Neuron Populations

Patterning of cell types appears to be organized on a Cartesian grid of positional information, the coordinates of which correspond with the AP and dorsoventral (DV) axes of the neural tube. Neural progenitors develop according to their position in this Cartesian grid. Determination of cell fates along the DV axis is mediated by underlying mesodermal tissue (notochord), as well as the floor plate and the roof plate that develop along the entire DV axis. Patterning and compartmentation into morphogenetic units along the AP axis involves signaling centers, such as the anterior neural ridge or the isthmic organizer. Molecules that induce specific cell fates are sonic hedgehog (Shh) and members of the TGF- β superfamily along the DV axis, and e.g. FGF-2, FGF-8, retinoic acid and Wnt1 along the AP axis. We are interested in understanding the molecular mechanisms leading to the determination and differentiation of distinct neuron populations, such as dopaminergic neurons from the ventral midbrain versus other dopaminergic neuron population and versus other ventral neuron populations e.g. serotonergic raphe neurons.

Furthermore, we are interested in the understanding of TGF- β dependent mechanisms leading to synaptogenesis. Specifically, we investigate activity-dependent release and activation of TGF- β , as well as TGF- β mediated modulation of synaptic activity.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Kerstin Krieglstein
PD Dr. E. Roussa

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. CM Fang, Department of Embryology Carnegie Institution of Washington, Washington, USA
Prof. Dr. A Klar, Department of Anatomy & Cell Biology, Hebrew University, Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel
Prof. Dr. B Legutko, Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland
Prof. Dr. E Schömig, Institut für Pharmakologie, Universität Köln

Drittmittelförderung | Funding

Forscherguppe FOR, 302, 2001-2003
DFG, Normalverfahren, 2003-2006

DFG, SFB 406, 2003-2006

Land Niedersachsen, Dt.-Israelische Zusammenarbeit (Krieglstein / Klar), 2004-2005

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Rahhal B, Dünker N, Combs S, Krieglstein K (2004) Isoform-specific role of transforming growth factor-beta2 in the regulation of proliferation and differentiation of murine adrenal chromaffin cells in vivo. J NEUROSCI RES, 78(4): 493-8.

Roussa E, Krieglstein K (2004) Induction and specification of midbrain dopaminergic cells: focus on SHH, FGF8, and TGF-beta. CELL TISSUE RES, 318(1): 23-33.

Farkas LM, Dunker N, Roussa E, Unsicker K, Krieglstein K (2003) Transforming growth factor-beta(s) are essential for the development of midbrain dopaminergic neurons in vitro and in vivo. J NEUROSCI, 23(12): 5178-86.

Specht H, Peterziel H, Bajohrs M, Gerdes HH, Krieglstein K, Unsicker K (2003) TGF- β 2 is released from PC12 cells via the regulated pathway of secretion. MOL CELL NEUROSCI, 22: 75-86.

4. Bildung, Stabilisierung und Plastizität bestimmter Synapsenpopulationen

Das Konzept dreiteiliger Synapsen, d.h. den Komplex von prä-, postsynaptischem Element und Astrogliallamellen hat erst kürzlich neue Aufmerksamkeit erhalten als gezeigt wurde, dass Astrozyten die Synaptogenese und synaptische Effektivität in Zellkultursystemen verstärken können. Morphologisch kann gezeigt werden, dass eine große Anzahl von Synapsen, so die axospine Synapsen des Neocortex keinen direkten Kontakt mit der Astroglia besitzen, wogegen andere von Astrogliallamellen umhüllt werden. Die sog. Perineuronalen Netze sind diesbezüglich Extremfälle, da in ihnen auch das submembranöse Zytoskelet und die extrazelluläre Matrix spezialisiert sind. Wir haben synaptische und astroglöse Moleküle in einem Modell läsionsinduzierter synaptischer Plastizität und während der Differenzierung organotypischer Kulturen untersucht.

Während der neuronalen Plastizität nach Druchtrennung des Nervus facialis von Ratten konnte eine dramatische Reorganisation des Neuropils in den Trigemuskernen (veränderter Sensorik von den Barthaaren), im primär somatosensorischen Kortex, dem primären Motorkortex und dem Facialiskern selbst gezeigt werden. Morphologische Veränderungen dieser transsynaptisch induzierten Plastizität werden ab 1 Std. nach Läsion im Neocortex sichtbar. Zuerst reagiert die Astroglia, wie an der Umverteilung von S100 Proteinen ersichtlich. Danach kann eine Abnahme des synaptischen Adhäsionsmoleküls Neurologin-1 und lysosomale Degradation von Synapsen gezeigt werden. In den kortikalen Arealen scheint die Reorganisation transient, wogegen im Facialiskern die Veränderungen lang anhalten und in „synaptic stripping“ der axosomatischen Synapsen auf den Motoneuronen enden. Deren Plasmamembran wird 3 Tage nach Läsion von Astrogliallamellen bedeckt.

Während der in-vivo Entwicklung des parietalen Cortex der Maus, werden Astrozytenfortsätze vor der maximalen Synaptogenese gebildet. Direkte Astroglialkontakte mit Synapsen korrelieren nicht mit der Anzahl der zu bildenden Synapsen, sondern scheinen beim Abbau von Synapsen während des normalen „remodelling“ beteiligt.

Wir haben ein Modell organotypischer Kulturen des Neocortex etabliert, das die Differenzierung Perineuronaler

Netze um die parvalbuminhaltigen GABAergen Interneurone einschließlich des spezialisierten submembranösen Zytoskelets und der extrazellulären Matrix erlaubt. Z.Zt. testen wir die Effekte Wachstumsfaktoren wie FGF-2 und TGF- β , die bei der Bildung dieser stabilen synaptischen Komplexe beteiligt sind.

4. Formation, Stabilisation and Pasticity of Defined Synaptic Population

The concept of tripartite synapses, i.e. the complex of pre-, postsynaptic elements and astroglial lamellae has only recently attracted new attention because it has been shown that astrocytes can boost synaptogenesis and synaptic efficacy in culture systems. Morphology shows that large numbers of synapses, notably axospine synapses in neocortex are devoid of any direct astroglial contact whereas others are engulfed by astroglial lamellae. The so called perineuronal nets are extreme cases in which also the neuronal sub membranous cytoskeleton and extra cellular matrix are specialized. We have studied the molecular outfit of synapses in a model of post lesion plasticity and during differentiation of organotypic cultures.

During reactive neuroplasticity following transection of the facial nerve in rats, dramatic reorganisation of neuropil was shown in trigeminal nuclei (altered input from whiskers), primary somatosensory, primary motor and other cortical association areas and the facial nucleus itself. It is evident that morphological changes in transsynaptically induced reorganization appears to be extremely fast (1h post lesion in cortical areas) starting with retraction of astroglial lamellae as evidenced by a redistribution of S100 proteins, followed by decreasing amounts of the synaptic adhesion molecule neuroligin-1 and lysosomal degradation of synapses. In cortical areas reorganization, the processes appear to be transient. In the facial nucleus, however, they are long lasting and during the process of „synaptic stripping“ axiomatic synapses on motor neurons are degraded and the neuronal plasma membrane becomes enclosed by astroglial lamellae 3 days after lesion.

During in-vivo development of mouse parietal cortex we can show that astroglial processes are formed well before the peak of synaptogenesis. However, direct astroglia to synapse contacts do not correlate with the number of synapses to be formed, but correlate with degradation of synapses during synaptic remodeling.

We have established a culture model of organotypic slices of neocortex in which perineuronal nets (specialized neuronal sub membranous and extra cellular matrix plus astroglial lamellae) develop around synapses on parvalbumin containing GABAergic interneurons. Currently we are investigating the effects of growth factors like FGF-2 and TGF- β which are involved in the formation of these highly stable synaptic complexes.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD Dr. Michael Rickmann

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. Nils Brose, Molekulare Neurobiologie, Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Göttingen

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Forschungszentrum CMPB, 2002-2004

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Mannan AU, Roussa E, Kraus C, Rickmann M, Maenner J, Nayernia K, Kriegelstein K, Reis A, Engel W (2004) Mutation in the gene encoding lysosomal acid phosphatase (Acp2) causes cerebellum and skin malformation in mouse. *NEUROGENETICS*, 5(4): 229-38.

5. pH Regulation und Bikarbonattransport in Speicheldrüsen und Leber

Die Aufrechterhaltung des intrazellulären pH Wertes innerhalb einer schmalen physiologischen Breite ist essentiell für die Funktionen und das Überleben der Zellen. Der intrazelluläre pH in Säugetierzellen wird durch die koordinierte Wirkung von verschiedenen Transportproteinen für Säuren und Basen reguliert. Dabei unterscheidet man Proteine, die einen elektrogenen Transport von solchen die einen elektroneutralen Transport vermitteln. Zu den elektrogenen Transportern gehören die vakuoläre H⁺-ATPase und der Na⁺/HCO₃⁻-Kotransporter (1:2 bzw. 1:3), zu den elektroneutralen der Cl⁻/HCO₃⁻ und der Na⁺/H⁺-Austauscher. In polarisierten Epithelien weisen diese Transporter eine polarisierte Verteilung an der Plasmamembran auf, so dass bestimmte Transporter nur an der apikalen, andere nur an der basolateralen Plasmamembran vorkommen können. Durch diese polarisierte Verteilung erhalten diese Transporter eine zu der Regulation des intrazellulären pH Wertes zusätzliche Aufgabe: sie ermöglichen einen vektorialen transepithelialen Transport von H⁺ und HCO₃⁻. Unsere Arbeitsgruppe interessiert sich für die molekulare Identität von H⁺ und HCO₃⁻-Transportproteine, die an den Bikarbonattransport in Speicheldrüsen und Leber beteiligt sind um die Mechanismen der Transportprozessen besser verstehen zu können. Darüber hinaus untersuchen wir die Umverteilung bzw. Änderung des Expressionsniveaus von H⁺ and HCO₃⁻-Transportproteine bei Störungen des Säuren-Basen-Haushalts und bei experimentell erzeugte Cholestase.

5. Salivary and Biliary pH Regulation and Bicarbonate Transport

Maintenance of intracellular pH within a narrow physiological range is vital for cell function and survival. Intracellular pH of mammalian cells is regulated through the coordinated action of several acid-base transporters. They can be classified into electrogenic, such as the vacuolar H⁺ ATPase or the Na⁺/HCO₃⁻ cotransporter (1:2 or 1:3) or electro neutral, such as the Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger and the Na⁺/H⁺ exchanger. In polarised epithelial cells however, the above acid base transporters exhibit distinct membrane-domain localization with certain transporters demonstrating exclusive expression in the apical membrane and others in the basolateral plasma membrane. Due to this polar distribution acid-base transporters are involved in the regulation of intracellular pH and additionally to vectorial transepithelial H⁺ and HCO₃⁻ transport. Our group

is interested in elucidating the molecular identity of H^+ and HCO_3^- transport proteins involved in salivary and biliary bicarbonate transport and thereby develop a better understanding of ion transport mechanisms. Moreover, we are focussing on expression changes and redistribution of H^+ and HCO_3^- transporters during acid base disturbances and after experimentally induced cholestasis.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD Dr. med. dent. Eleni Roussa

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. Seth L. Alper, Harvard Medical School, Boston, USA

Prof. Dr. Morten G. Raeder, University of Oslo, Norway

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Normalverfahren, RO 2495/1-1, 2003-2005

Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Frauenförderung, Forschungsförderungsprogramm 2005: „Untersuchungen zur molekularen Regulation von hepato-biliären Transportproteine bei Cholestase“

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Clunes MT, Lindsay SL, Roussa E, Quinton PM, Bovell DL (2004) Localisation of the vacuolar proton pump (V-H⁺-ATPase) and carbonic anhydrase II in the human eccrine sweat gland. *J MOL HISTOL*, 35(4): 339-45.

Davies SL, Roussa E, Le Rouzic P, Thévenod F, Alper SL, Best L, Brown PD (2004) Expression of K⁺-Cl⁻ cotransporters in the alpha-cells of rat endocrine pancreas. *BBA-BIOMEMBRANES*, 1667(1): 7-14.

Roussa E, Nastainczyk W, Thévenod F (2004) Differential expression of electrogenic NBC1 (SLC4A4) variants in rat kidney and pancreas. *BIOCHEM BIOPH RES CO*, 314(2): 382-9.

Thevenod F, Roussa E, Benos DJ, Fuller CM (2003) Relationship between a HCO_3^- -permeable conductance and a CLCA protein from rat pancreatic zymogen granules. *BIOCHEM BIOPH RES CO*, 300(2): 546-54.

SCHWERPUNKTPROFESSUR ZELLULÄRE NEUROANATOMIE SPECIAL PROFESSORSHIP CELLULAR NEUROSCIENCE

1. Störungen von Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems durch latente virale Infektionen

Latente virale Infektionen des zentralen Nervensystems werden als eine mögliche Ursache für die Entstehung neuropsychiatrischer Erkrankungen angesehen. In unserer Arbeitsgruppe werden daher molekulare und zelluläre Mechanismen untersucht, welche Störungen von Funktion und Entwicklung des zentralen Nervensystems durch latente virale Infektionen zugrundeliegen. Als Modell dient hierzu die neonatale Infektion des Rattengehirns mit dem Borna Disease Virus (BDV), in deren Verlauf es zur progredienten Degeneration der Körnerzellen des Gyrus Dentatus und der Purkinje Neurone des cerebellären Cortex kommt. Unsere Arbeiten gliedern sich dabei momentan in zwei Projekte von denen sich eines mit der Auswirkung einer persistierenden BDV Infektion auf die postnatale Neurogenese in Hippocampus und cerebellärem Cortex beschäftigt. Hier konnten wir bislang zeigen, dass es im Verlauf einer persistierenden Infektion mit dem Borna Disease Virus zu einer

Störung der neuronalen Differenzierung adulter neuronaler Stammzellen kommt. Diese Störung tritt dabei nicht nur in vivo auf, sondern kann auch in vitro während der neuronalen Differenzierung embryonaler Karzinomzellen beobachtet werden. Sie scheint daher unabhängig von einem funktionierenden Immunsystem zu sein. Mit dem zweiten Projekt untersuchen wir die Auswirkung einer persistierenden BDV Infektion auf die neuronale und astrogläre Gap Junction Kopplung. Hier zeigte sich bislang, dass es im Verlauf persistierender Infektionen mit dem Borna Disease Virus im Hippocampus und im Cerebellum zu massiven Veränderungen der Expression sowohl des neuronalen Gap Junction Connexins Cx36, als auch der astroglären Connexine Cx30 und Cx43 kommt. So ist in der CA3 Region des Hippocampus BDV infizierter Ratten die Expression von Cx43 und Cx36 stark vermindert, während gleichzeitig im Gyrus dentatus die Expression von Cx43 erhöht ist. Im cerebellären Cortex kommt es bereits vor der Degeneration der Purkinjezellen zu einer massiven Reduktion der Expression von Cx36, während die Expression von Cx43 insbesondere in der Molekularschicht massiv erhöht ist. Die verwendeten Untersuchungsmethoden umfassen dabei histologische Methoden wie Immunfluoreszenzfärbung und Enzymhistochemie, sowie biochemische und molekularbiologische Analysemethoden wie realtime PCR und Western Blot Analyse. Um einen weiteren Überblick über die Veränderungen im BDV infizierten Gehirn zu erhalten, wurde von uns neben den o.g. Untersuchungen auch noch eine RNA Expressionsanalyse mit einer DNA Mikromatrix der Firma Affymetrix durchgeführt. Dadurch konnten wir eine größere Zahl differenziell regulierter Gene identifizieren, deren räumliches und zeitliches Expressionsmuster während einer BDV Infektion histologisch und biochemisch näher charakterisiert werden sollen.

1. Effects of Latent Viral Brain Infections on CNS Developmental and Function

Latent viral brain infections are considered to be a putative cause for the pathogenesis of neuropsychiatric disorders. Our group therefore analyses molecular and cellular mechanisms by which latent viral brain infections affect development and function of the central nervous system. The model system used for this purpose is the neonatal infection of the rat brain with the Borna Disease Virus (BDV), in the course of which a progredient degeneration of dentate gyrus granule cells and of cerebellar Purkinje neurons can be observed. At the moment we are working with two projects one of which is concerned with the effects of a persistent BDV infection on postnatal neurogenesis in the hippocampus and the cerebellar cortex. As our first results demonstrate, persistent BDV infection of the rat brain leads to impaired neuronal differentiation of adult neuronal stem cells. In addition, we could show that these disturbances occur not only in vivo, but can be observed also in vitro during neuronal differentiation of embryonic carcinoma cells. They seem therefore to be independent of a functional immune system. With our second project we are going to analyze the effect of a persistent BDV infection on neuronal and

astroglial gap junction coupling. As it turned out, persistent BDV infection leads in the hippocampus and the cerebellar cortex to massive changes in the expression of the neuronal gap junction connexin cx36 and of the astroglial connexins cx30 and cx43. Thus, in the CA3 region of the hippocampal formation expression of cx36 and cx43 is strongly decreased, whereas at the same time expression of cx43 is increased in the dentate gyrus. In the cerebellar cortex expression of cx36 is massively reduced already prior to Purkinje cell degeneration. In contrast to that, expression of cx43 is increased especially in the molecular layer. Methods applied by us include histological techniques like immunofluorescent staining and enzyme histochemistry, as well as biochemical and molecular biological techniques like Western blot analysis and real time RT-PCR. In order to obtain a wider overview on expressional changes in the BDV infected rat brain, we have performed an analysis of an Affymetrix DNA micro array. By this we could identify a larger number of differentially regulated genes, the spatial and temporal expression pattern of which during persistent BDV infection will be analyzed at more detail in the near future.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leader

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Reuss

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. Peter Staeheli, Institut für Virologie, Albert Ludwigs Universität Freiburg

Drittmittelförderung | Funding

DFG, Forschungszentrum CMPB, 2003-2006

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Reuss B, Dono R, Unsicker K (2003) Functions of FGF-2 and FGF-5 in astroglial differentiation and blood brain barrier permeability: Evidence from mouse mutants. *J NEUROSCIENCE*, 23: 6404-12.

Anhang | Appendix

Erteilte Rufe (angenommen/abgelehnt)

Awarded Appointments (accepted/rejected)

PD Dr. N. Dünker hat 2004 einen Ruf auf eine C3-Professur für Anatomie an der Universität Duisburg-Essen angenommen.

Habilitationen

Dünker N, Zur Rolle der Transformierenden Wachstumsfaktoren beta (TGF- β) im Programmieren Zelltod: Untersuchungen in verschiedenen in vivo Modellsystemen. Habilitation Universität Göttingen 2003.

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

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

Behrendt M, Dr. med., Untersuchungen zur Lokalisierung und Charakterisierung der murinen Transkriptionsfaktoren TIEG1 und TIEG3 (TGF β -inducible early gene) der Sp1-like Genfamilie und Analyse der regulierten Expression. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Klußmann S, Dr. med., Charakterisierung des murinen Transkriptionsfaktors TIEG3, eines neu identifizierten Mitglieds der TIEG (TGF- β inducible early gene)-Familie. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Preuß S, Dr. med., Untersuchungen der entwicklungsabhängigen Expression des Serotonin-4(a)-Rezeptors im PräBöttinger Komplex der Ratte. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Safavi-Abbasi S, Dr. med., Das Zytoskelett von Astrozyten bei morphologischen Transformationen und unter verschiedenen Kulturbedingungen. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Eichloff J, Dr. med., Prä- und postnatale Nachweis des 5HT 1A-Rezeptors im Zentralen Nervensystem der Ratte. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Peters B, Dr. med., Klonierung von murinem TIEG3, einem neuen Mitglied der TIEG-Familie, und Untersuchung der Induktion von Apoptose durch Überexpression von humanem TIEG2 in OLI-neu-Zellen. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Euler S, Dr. med., NADPH-Diaphorase- und NO-Synthase-positive Strukturen in der Orbita und im visuellen System des amerikanischen Laubfrosches *Hyla cinerea*. Dissertation Universität Göttingen 2003.

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

Bender H, Dr. rer. nat., Die Mechanismen der TGF- β 1 und TNF- α induzierten Apoptose oligodendroglialer Zellen, Dissertation Universität des Saarlandes, Homburg/Saar 2004.

Wissenschaftliche Tagungen | Scientific Meetings

12.-15.06.2003, 29. Neurobiologentagung/Symposium Ontogenetic Cell Death in the Nervous System, Prof. Dr. N. Elsner, Universität Göttingen

17.-20.02.2005, 30. Neurobiologentagung, Lokale Organisatorin Prof. Dr. K. Kriegelstein zusammen mit der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft, Göttingen

Preise und Auszeichnungen | Prizes and Awards

Dünker N: Wolfgang-Bargmann-Preis der Anatomischen Gesellschaft 2003

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

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

Mitglied des Editorial Boards: Cell and Tissue Research

Universitäre Gremien | University Boards

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

Koordinatorin des Bereichs „Development“ des DFG Forschungszentrums 103 (CMPB) in Göttingen, seit 2002

Mitglied des Vorstands des DFG Forschungszentrums 103 (CMPB) in Göttingen seit 2002

Mitglied des Fakultätsrats der Medizinischen Fakultät 2003-2005, 2005-2007

Mitglied in der Forschungskommission seit 2003-2005

Mitglied der Kommission zur Erarbeitung der Zentrumsordnung und Zentrumsstruktur 2003-2004

Mitglied der Kommission für Entwicklungs- und Finanzplanung 2005-2007

Mitwirkung in diversen Berufungskommissionen

Fachgutachtertätigkeit | Function as Expert Consultant

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

Mitglied Auswahlausschuss für das Feodor-Lynene-Programm der Alexander-von-Humboldt Stiftung

Herausgebertätigkeit | Editorial Work

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

Cell and Tissue Research

Cell Signalling and Growth Factors in Development, Wiley-VCH, Weinheim, 975 Seiten

Internationale wissenschaftliche Kooperationen

International Scientific Cooperations

SL Larisch, Department of Pathology, Rambam Medical Centre, Haifa, Israel

S Alper, Harvard Medical School, Boston, USA

E de la Rosa, Biología Celular y del Desarrollo, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, Spain

T Doetschmann, Department of Molecular Genetics, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA

CM Fang, Department of Embryology Carnegie Institution of Washington, Washington, USA

C Kalcheim, Department of Anatomy & Cell Biology, Hebrew University, Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel

A Klar, Department of Anatomy & Cell Biology, Hebrew University, Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel

S Larisch, Department of Pathology, Rambam Medical Center, Haifa, Israel

B Legutko, Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

MG Raeder, University of Oslo, Norway

M Saarna, Institute of Biotechnology, University Helsinki, Finland

Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Frauenförderung, Forschungsförderungsprogramm 2005: „Untersuchungen zur molekularen Regulation von hepato-biliären Transportproteine bei Cholestase“ (PD. Dr. E. Roussa)

Stipendiaten/Stipendiatinnen | Scholarship Holders

Dr. Duscia Maysinger, Professorin für Pharmakologie, Humboldt-Stipendiatin, Mai/Juni 2003

Katharina Heupel, GRK 632, seit Okt. 2003

Belal Rahhal, DAAD, seit März 2004

Gastwissenschaftler/innen | Guest Scientists

Prof. Dr. Dusica Maysinger, Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Canada, Mai-Juni 2003

Firmenkooperationen | Industrial Cooperations

Biopharm GmbH, Heidelberg

Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte Specialised Research Equipment

Konfokales LSM

Laser-Mikrodissektion