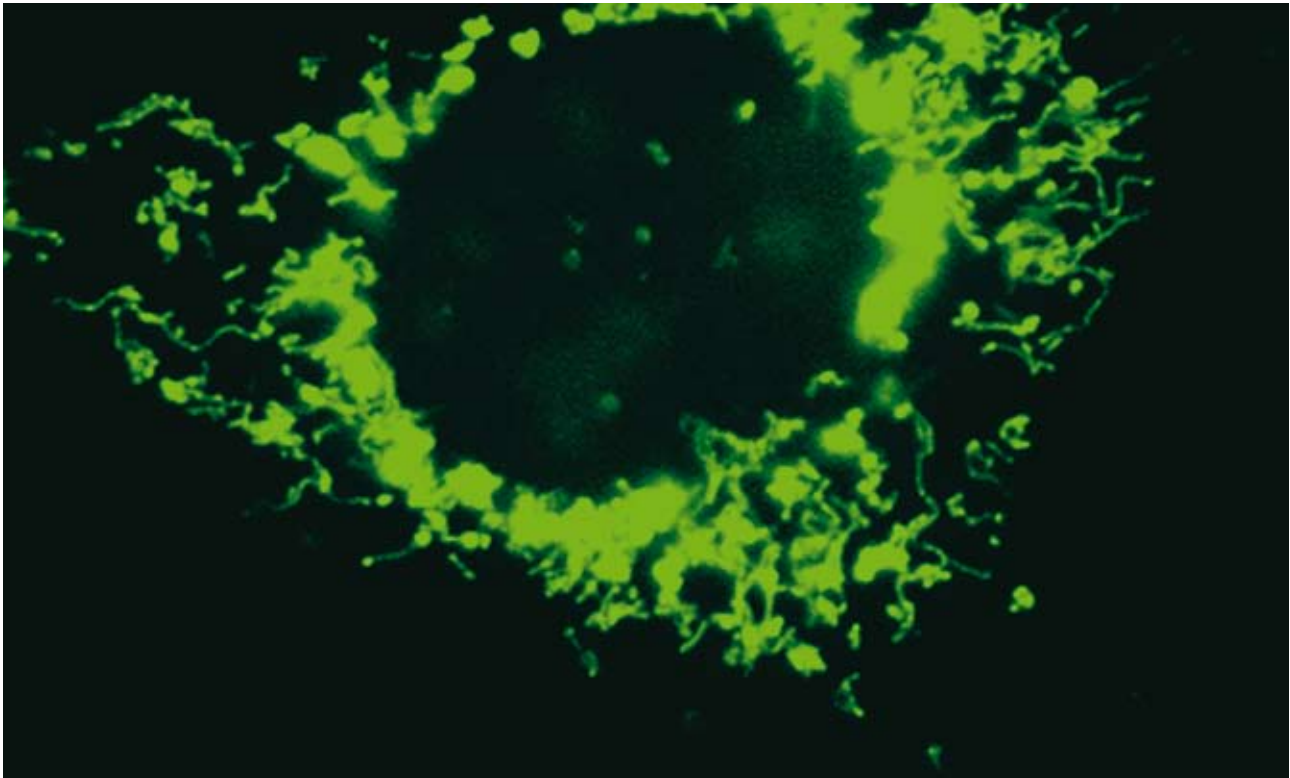


Zentrum Biochemie und Molekulare Zellbiologie

Abteilung Biochemie II

Centre for Biochemistry and Molecular Cell Biology

Department of Biochemistry II



---

#### Forschungsschwerpunkte Research Foci

- |   |   |
|---|---|
| ▷ Proteintransport in Mitochondrien   | ▷ Protein transport into mitochondria                                     |
| ▷ Assemblierung mitochondrialer Protein Komplexe, mitochondriale Erkrankungen | ▷ Assembly of mitochondrial protein complexes and mitochondrial disorders |
| ▷ Mechanismen und Funktionen der post-Golgi vesikulären Proteinsortierung     | ▷ Mechanisms and functions of post Golgi protein sorting                  |
| ▷ Biogenese lysosomaler Proteine und lysosomale Speicherkrankheiten           | ▷ Lysosomal proteins and associated disorders                             |
- 

#### Schwerpunktprofessur Molekulare Zellbiologie Special Professorship Molecular Cell Biology

---

- |  |                                    |
|--|------------------------------------|
| ▷ Molekularer Mechanismus der Autophagie | ▷ Molecular Mechanism of Autophagy |
|--|------------------------------------|
-



**Abteilungsdirektor** Head of Department

Prof. Dr. rer. nat. Peter Rehling

**Kontaktdaten** Contact

Abteilung Biochemie II  
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN  
 Humboldtallee 23, D-37073 Göttingen  
 Telefon +49-551 / 39-5948, Fax +49-551 / 39-5979  
 peter.rehling@medizin.uni-goettingen.de  
 www.uni-bc.gwdg.de/index.php

**Hochschullehrer/innen** Professors and Lecturers

+49-551 /

Rehling, Peter	Prof. Dr. rer. nat.	peter.rehling@medizin.uni-goettingen.de	39-5947
Lübke, Torben	Jun. Prof. Dr. rer. nat.	tluebke@gwdg.de	39-5902
Schu, Peter	Apl. Prof. Dr. rer. nat.	pschu@gwdg.de	39-5949
Thumm, Michael	Apl. Prof. Dr. rer. nat.	mthumm@uni-goettingen.de	39-5958

**Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen** Group Leaders

Deckers, Markus	Dr. rer. nat.	mdecker@gwdg.de	39-5983
Schmidt, Bernhard	Dr. rer. nat.	bschmid@gwdg.de	39-5951

## EINLEITUNG

In der Forschung liegen die Schwerpunkte der Abteilung auf den Gebieten der Biogenese und der Funktion von Zellorganellen, ihren genetischen Störungen und der Sortierung von Proteinen am Beispiel mitochondrialer, sekretorischer und lysosomaler Proteine, sowie der Autophagie. Methodisch stehen molekulargenetische und zellbiologische Verfahren an Säuger- und Hefezellen sowie an transgenen Mäusen im Vordergrund. Ein Proteinanalyselabor wird als Servicelabor betrieben.

## PREFACE

The main research focus of the department is the biogenesis and function of cellular organelles, genetic causes for their malfunction, and protein sorting to mitochondria, in the secretory pathway, as well as autophagy. Methods used in the department range from molecular to cell biological techniques applied to mammalian cells, baker's yeast and transgenic mice. Laboratories for the analysis of proteins are provided as a service.

## 1. Protein Transport in Mitochondrien

Mitochondrien sind die Kraftwerke unserer Zellen. In ihnen werden 95 % des geatmeten Sauerstoffes dazu genutzt, durch oxidative Phosphorylierung ATP zu synthetisieren. Darüber hinaus erfüllen Mitochondrien zahlreiche weitere wichtige zelluläre Funktionen oder sind an solchen beteiligt, wie z.B. die Synthese von Fe/S Zentren oder die Apoptose. Man geht davon aus, dass ca. 1000 bis 1500 unterschiedliche Proteine in den Mitochondrien ihren Dienst tun. Fast alle diese Proteine werden von Genen im Zellkern kodiert und nach ihrer Synthese im Cytosol posttranslational in Mitochondrien importiert. Signale dirigieren diese Proteine über die äußere und innere mitochondriale Membran. Dabei bilden Multiprotein-Komplexe (Protein Translokasen) in der äußeren und inneren Membran die Schleusen, durch die der Transport der Vorstufenproteine ins Organell erfolgt. In unserer Arbeit untersuchen wir wie Proteine in die Mitochondrien transportiert und dort an ihr Ziel dirigiert werden. Der Schwerpunkt unserer Analysen liegt auf der molekularen Untersuchung der Protein Translokasen der mitochondrialen Innenmembran und wie sie ein zu importierendes Protein erkennen und über die Membran schleusen. Unsere Arbeiten wurden zunächst an der Universität Freiburg durchgeführt. Seit 2007 arbeiten wir an dieser hoch aktuellen Thematik der molekularen Zellbiologie (Zur Übersicht: Alberts, Molecular Biology of the Cell, Fifth Edition) an der Universität Göttingen.

## 1. Protein transport into mitochondria

Mitochondria are the powerhouse of eukaryotic cells. In the process of oxidative phosphorylation they consume 95 % of the oxygen breathed to synthesize the ATP for the cellular demands. In addition, mitochondria have been implicated in a variety of cellular functions such as the production of Fe/S clusters and apoptosis. Approximately 1000 to 1500 different proteins are considered to fulfill their diverse functions in mitochondria. Most of these proteins are encoded by nuclear genes and imported into mitochondria posttranslationally from the cytosol. Signals direct these precursor proteins across the outer and inner mitochondrial membranes. Multiprotein complexes (protein translocases) in the outer and inner mitochondrial membranes act as gates and mediate the translocation of the precursor proteins across the membranes. We analyze the molecular mechanisms by which these protein complexes recognize precursor proteins and transport them across the membrane. We have previously carried out our work at the University of Freiburg. Since 2007 we analyze this current aspect of modern molecular cell biology (For review: Alberts, Molecular Biology of the Cell, Fifth Edition) at the University of Göttingen.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Peter Rehling

### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Agnieszka Chacinska, International Institute of Molecular and Cell Biology in Warsaw, Poland

Dr. Bernard Guiard, Laboratoire propre du CNRS Université Pierre et Marie Curie, Gif-sur-Yvette, France

Prof. Dr. Helmut Meyer, Medizinisches Proteom-Center, Ruhr-University Bochum

Prof. Dr. Nikolaus Pfanner, Institut für Biochemie und Molekularbiologie, ZBMZ, and Centre for Biological Signalling Studies (bioss), University of Freiburg

Prof. Dr. Albert Sickmann, Department of Bioanalytics, ISAS - Institute for Analytical Sciences, Dortmund

Prof. Dr. Kaye Truscott, Department of Biochemistry, La Trobe University, Melbourne 3086, Australia

Prof. Dr. Richard Wagner, Department of Biophysics, University of Osnabrück

Prof. Dr. Markus Zweckstetter, Max-Planck Institute for Biophysical Chemistry, Göttingen

### Drittmittelförderung Funding

DFG, Normalverfahren RE 1384/2-1

### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Gebert, N., Chacinska, A., Wagner, K., Guiard, B., Koehler, C.M., Rehling, P., Pfanner, N., and Wiedemann, N. (2008), Assembly of the three small Tim proteins precedes docking of the mitochondrial carrier translocase. *EMBO Rep.* 9, 548-554

Hutu, D.P., Guiard, B., Chacinska, A., Becker, D., Pfanner, N., Rehling, P., and Van der Laan, M. (2008), Mitochondrial protein import motor: differential role of Tim44 in the recruitment of Pam17 and J-complex to the presequence translocase. *Mol. Biol. Cell* 19, 2642-2649

Wagner, K., Gebert, N., Guiard, B., Brandner, K., Truscott, K.N., Wiedemann, N., Pfanner, N., and Rehling, P. (2008), The Assembly Pathway of the Mitochondrial Carrier Translocase Involves four Preprotein Translocases. *Mol. Cell Biol.* 28, 4251-4260

Van der Laan, M., Meinecke, M., Dudek, J., Hutu, D. P., Lind, M., Perschil, I., Guiard, B., Wagner, R., Pfanner, N., and Rehling, P. (2007), Motor-free mitochondrial presequence translocase drives membrane integration of preproteins. *Nat. Cell Biol.* 9, 1152-1159

Meinecke, M., Wagner, R., Kovermann, P., Guiard, B., Mick, D.U., Hutu, D.P., Voos, W., Truscott, K.N., Chacinska, A., Pfanner, N., and Rehling, P. (2006), Tim50 Maintains the Permeability Barrier of the Mitochondrial Inner Membrane. *Science* 312, 1523-1526

Van der Laan, M., Wiedemann, N., Mick, D.U., Guiard, B., Rehling, P., and Pfanner, N. (2006), A role for Tim21 in membrane-potential-dependent preprotein sorting in mitochondria. *Curr. Biol.* 16, 2271-2276

van der Laan, M., Rissler, M., and Rehling, P. (2006), Presequence translocase of the inner mitochondrial membrane - an intricate and highly dynamic molecular machine. *FEMS Yeast Res.* 6, 849-861

Albrecht, R., Rehling, P., Chacinska, A., Brix, J., Cadamuro, S.A., Volkmer, R., Guiard, B., Pfanner, N. and Zeth, K. (2006), The Tim21 binding domain connects the preprotein translocases of both mitochondrial membranes. *EMBO Rep.* 7, 1233-1238

## 2. Assemblierung mitochondrialer Proteinkomplexe, mitochondriale Erkrankungen

Die mitochondriale Innenmembran ist eine der proteinreichsten zellulären Membranen. Hier sind die Komplexe der Atmungskette lokalisiert sowie eine Vielzahl von Transportern für Metabolite. Die Atmungskettenkomplexe transportieren Elektronen und übertragen diese auf molekularen Sauerstoff. Dabei generieren sie einen Protonen-Gradienten über der Membran, der die ATP Synthese durch die  $F_1F_0$ -ATPase antreibt. Vier Multiprotein-Komplexe, die miteinander durch mobile Redox-carrier verbunden sind, bilden die so genannte Atmungskette. Wir gehen in unseren Untersuchungen der Frage nach, wie diese Membranprotein-Komplexe aus individuellen Untereinheiten assembliert werden. Eine besondere Problematik dieses Prozesses liegt in der Tatsache begründet, dass einige der Untereinheiten in den Mitochondrien selbst synthetisiert werden, während andere aus dem Cytosol importiert und in die Membran inseriert werden müssen. Zahlreiche Assemblierungsfaktoren in den Mitochondrien vermitteln und regulieren auf verschiedenen Ebenen den Assemblierungsprozess. Störungen im Assemblierungsprozess, die durch einen Defekt in strukturellen Untereinheiten der Komplexe oder Ausfall eines Assemblierungsfaktors bedingt sein können, führen beim Menschen zu schweren neuromuskulären Erkrankungen, den so genannten mitochondrialen Enzephalomyopathien wie dem Leigh Syndrom. Der Schwerpunkt unserer Untersuchungen liegt auf der Analyse der Assemblierung der Cytochrom c Oxidase (Komplex IV) und der Rolle des SURF1/Shy1 und seiner Interaktionspartner in diesem Prozess, dem Export und der translationalen Regulation von Cox1, sowie der Rolle von Cardiolipin im Assemblierungsprozess.

## 2. Assembly of mitochondrial protein complexes and mitochondrial disorders

The mitochondrial inner membrane is one of the protein-rich membranes of a cell. The inner membrane contains the respiratory chain protein complexes and a large number of carrier proteins for metabolite exchange between the mitochondrial matrix and the cytosol. The respiratory chain complexes transport electrons and deliver them to molecular oxygen. In the course of this process a proton gradient across the inner membrane is established, which drives ATP synthesis by the  $F_1F_0$ -ATPase. Four multi protein complexes in

the membrane, which are connected by mobile redox carriers, form the so-called respiratory chain. We analyze how these membrane protein complexes are assembled from their individual subunits. In this regard, it is especially problematic for the process that some subunits are synthesized within mitochondria while others are imported from the cytosol and inserted into the inner mitochondrial membrane. A large number of assembly factors in mitochondria mediate and regulate this assembly process. Defects in complex assembly that are due to a lack of functional structural subunits or assembly factors can lead to severe neuromuscular disorders in human, the so-called mitochondrial encephalomyopathies such as the Leigh syndrome. Focus of our studies lies in the analysis of cytochrome c oxidase (complex IV) assembly and the role of SURF1/Shy1 and its interaction partners for this process, the export and translational regulation of Cox1, as well as the function of cardiolipin for the assembly process.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Peter Rehling

Dr. Markus Deckers

### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Roland Beckmann, Genzentrum, Department of Chemistry and Biochemistry, University of Munich

Prof. Dr. Ralf Ficner, Abt. Molekulare Strukturbiologie, Fakultät Biologie, Universität Göttingen  
Dr. Bernard Guiard, Laboratoire propre du CNRS Université Pierre et Marie Curie, Gif-sur-Yvette, France

Prof. Dr. Johannes Herrmann, Department of Cell Biology, Technical University Kaiserslautern

Prof. Dr. Helmut Meyer, Medizinisches Proteom-Center, Ruhr-University Bochum

Prof. Dr. Nikolaus Pfanner, Institut für Biochemie und Molekularbiologie, ZBMZ, and Centre for Biological Signalling Prof. Dr. Mike Ryan, Department of Biochemistry, La Trobe University, Melbourne 3086, Australia

Prof. Dr. Irmgard Sinning, Zentrum für Biochemie (BZH), University of Heidelberg

Prof. Dr. Richard Wagner, Department of Biophysics, University of Osnabrück

Prof. Dr. Bettina Warscheid, Clinical & Cellular Proteomics (CCP) Medizinische Fakultät/ZMB, University Duisburg-Essen

### Drittmittelförderung Funding

DFG, Normalverfahren RE 1384/3-1

DFG, Normalverfahren RE 1384/4-1

DFG, Normalverfahren RE 1384/5-1

GRK 532 in 2008

### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Stuart, R. A. and Rehling, P. (2008), Mitochondrial biogenesis: is an old dog still teaching us new tricks? *EMBO Rep.* 9, 33-38

Kutik, S., Rissler, M., Guan, X.L., Guiard, B., Shui, G., Gebert, N., Heacock, P.N., Rehling, P., Dowhan, W., Wenk, M.R., Pfanner, N. and Wiedemann, N. (2008), The translocator maintenance protein Tam41 is required for mitochondrial cardiolipin biosynthesis. *J. Cell Biol.* 183, 1213-1221

Reinders, J., Wagner, K., Zahedi, R.P., Stojanovski, D., Eyrich, B., Van der Laan, M., Rehling, P., Sickmann, A., Pfanner, N., and Meisinger, C. (2007), Profiling phosphoproteins of yeast mitochondria reveals a role of phosphorylation in assembly of the ATP synthase. *Mol. Cell. Proteomics* 6, 1896-1906

Mick, D. U., Wagner, K., Van der Laan, M., Frazier, A. E., Perschil, I., Pawlas, M., Meyer, H.E., Warscheid, B., and Rehling, P. (2007), Shy1 couples Cox1 translational regulation to cytochrome c oxidase assembly. *EMBO J.* 26, 4347-4358

Frazier, A.E., Taylor, R., Mick, D.U., Warscheid, B., Stoepel, N., Meyer, H.E., Ryan, M.T., Guiard B., and Rehling, P. (2006), Mdm38 interacts with ribosomes and is a component of the mitochondrial protein export machinery. *J. Cell Biol.* 172, 553-564

Wiedemann, N., Pfanner, N., and Rehling, P. (2006), Import of precursor proteins into isolated yeast mitochondria. *Methods Mol. Biol.* 313, 373-384

### 3. Proteinsortierung

#### **Mechanismen und Funktionen der post-Golgi vesikulären Protein-sortierung: Entwicklung der Vertebraten und Organfunktionen**

Protein und Membran Sortierung im trans-Golgi Netzwerk-Endosomen System stellt die Funktionen der Organellen in späten sekretorischen Wegen und den endocytotischen Wegen sicher. Sortierung von Rezeptoren und Rezeptorliganden in diesen Wegen ist auch essentiell für die Regulation der Zell-Zell Kommunikation und Organfunktionen. Diese Transportwege sind auch für die lysosomale Sortierung essentiell, so daß unsere Arbeiten auch in enger Beziehung zu den beiden Forschungsschwerpunkten ‚Charakterisierung neuer lysosomaler Proteine‘ und ‚Autophagocytose‘ der Abteilung stehen. 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 bildet und Protein- und Membrantransport zwischen dem trans-Golgi Netzwerk und Endosomen vermittelt. Weitere homologe Strukturen sind der AP-3 und der AP-4 Komplex und der AP-2 Komplex der Plasmamembran. Mit den Funktionen des AP-1 sind weiterhin die Funktionen der verwandten, monomeren Adaptorproteine GGA-1, -2 und -3 gekoppelt. Der AP-1 ist ein ubiquitär exprimierter heterotetramerer Komplex, dessen Untereinheiten jeweils spezifische Funktionen im Prozess der Proteinsortierung und der Vesikelbildung ausüben. Daneben existieren auch gewebsspezifischen Isoformen. Unsere Maus ‚knock-out‘ Modelle von ubiquitär exprimierten Untereinheiten des AP-1 zeigen, dass der AP-1 essentiell für die Embryogenese ist. Mäuse mit Defizienzen der gewebsspezifischen Untereinheiten zeigen Störungen in der Entwicklung und Funktionen einzelner Organe in adulten Tieren. AP-1 vermittelte intrazelluläre Sortierung ist daher essentiell für Zell-Differenzierung und Wachstum und somit von Bedeutung für die Entwicklungsbiochemie als auch für die Tumorbologie.

#### 3. Post-Golgi Vesicular Protein Sorting in Vertebrata Development and Disease

Protein and membrane sorting in the trans-Golgi network-endosome system ensures the functions of these organelles in late secretory and endocytic pathways. Sorting of receptors and their ligands in these pathways is also essential for cell-cell communication and organ function. These transport routes are also essential for lysosomal protein sorting and are thus closely related to other research focuses in our institute: ‘Characterisation of novel lysosomal proteins’ and ‘Autophagocytosis’. We are analyzing the protein sorting functions of the heterotetrameric adaptor-protein complex AP-1 in protein sorting and transport. It mediates the formation of clathrin-coated-vesicles and protein sorting between the trans-Golgi network and endosomes. Additional homologous structures are the AP-3 and AP-4 complexes and the AP-2 complex of the plasma membrane. Functions of the AP-1 complex are also coupled to the

functions of the homologous, monomeric adaptor-proteins GGA1, -2 and -3. The AP-1 is ubiquitously expressed and its four subunits fulfill individual functions in the process of protein sorting as well as vesicle formation. In addition, vertebrates express tissue specific isoforms subunits. Our mouse ‘knock-out’ models of ubiquitously expressed adaptins demonstrate that AP-1 is essential for embryonic development. Mice deficient in tissue-specific isoforms show also developmental phenotypes and impaired organ functions in adult organisms. AP-1 mediated intracellular protein sorting steps are essential for cell differentiation and development and thus also for tumorbiology.

#### **Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders**

Prof. Dr. rer. nat. Peter Schu

#### **Kooperationen Cooperations**

Prof. Dr. Jürgen Klingauf, Universität Münster

Prof. Dr. Volker Haucke, Freie Universität Berlin

Prof. Dr. Nabil G. Seidah, Montreal, Canada

Prof. Dr. Stefan Höning, Universität zu Köln

Prof. Dr. Claus Munck Petersen, University of Århus

Oliver Blacque, Ph.D University College Dublin, IRL

Alexandre Benmerah, PhD, Université Paris Descartes

Daniela Zizioli, PhD, University Brescia

#### **Drittmittelförderung Funding**

DFG SFB 523/TP A6;

GRK 532 in 2006-2008

#### **Ausgewählte Publikationen Selected Publications**

Camus, G., Segura-Morales, C., Molle, D., Lopez-Vergès, S., Begon-Pescia, C., Schu, P., Benarous, R., Bertrand, E., Berlioz-Torrent, C. and Basyuk, E. (2007) The clathrin adaptor complex AP-1 binds HIV-1 and MLV Gag and facilitates their budding. *Mol. Biol. Cell.*, 18, 3193-3203

Nielsen, M.S., Gustafsen, C., Madsen, P., Nyengaard, J., Hermey, G., Bakke, O., Mari, M., Schu, P., Pohlmann, R., Dennes, A. and Petersen, C.M. (2007) Sorting of SorLA depends on AP-1, AP-2, GGAs, SNX1 and Vps35. *Mol. Cell. Biol.* 19, 6842-6851

Rollason, R., Korolchuk, V., Hamilton, C., Schu, P. and Banting, G. (2007) Clathrin mediated endocytosis of a lipid raft associated protein is mediated via a dual tyrosine motif. *J. Cell Sci.*, (120) 21, 3850-3858

Medigeshi, G.R., Krikunova, M., Karthikeyan, R., Wenzel, D., Klingauf, J. and Schu, P. (2008) AP-1 membrane-cytoplasmic recycling regulated by  $\mu$ 1A. *Traffic* 9, 121-132

Schu, P. (2008) Methods in Enzymology: Autophagy, Vol 451, edited by D. Klionsky, Chapter 6 Aminopeptidase I enzymatic activity, p. 67-79

### 4. Biogenese lysosomaler Proteine und lysosomale Speicherkrankheiten

Ein Schwerpunkt der Abteilung liegt in der Biogenese der Lysosomen, lysosomaler Proteine und deren genetischen Störungen der Lysosomen, die als lysosomale Speicherkrankheiten zusammengefasst werden. Neben der Identifizierung und Charakterisierung neuer lysosomaler Proteine wollen wir untersuchen, ob diese neuen lysosomalen Proteine mit Erkrankungen unbekannter Ätiologie in Verbindung stehen. Knock-out Mausmodelle und transgene Mäuse sollen helfen, die physiologischen Funktionen der Proteine zu studieren und Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen zu ziehen.

Darüber hinaus stehen bereits Mausmodelle für diverse lysosomale Erkrankungen wie z. B.  $\alpha$ -Mannosidose, Mucopolysaccharidose IIIC (MPSIIIC) und Mucopolysaccharidose II zur Verfügung, mit deren Hilfe Therapieformen entwickelt und allgemeine pathophysiologische Veränderungen untersucht werden. In einem laufenden Projekt beschäftigen wir uns mit einer neuen Proteinmodifikation, die für die katalytische Aktivität von Sulfatasen wichtig ist und deren Defekt zu einer menschlichen Erkrankung führt.

#### 4. Lysosomal Proteins and Associated Disorders

One focus of interest of our group lies in the biogenesis of lysosomal proteins. Our work includes the identification of novel lysosomal proteins, modifications on lysosomal proteins and molecular defects in human congenital disorders. Therefore, we identified and characterized a number of novel lysosomal soluble proteins and integral membrane proteins. 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. In cooperation with Andrea Ballabio and Pia Cosma, TIGEM, Naples, Italy, we characterized mutations underlying mucopolysaccharidosis IIIC (*MPS IIIC*) and in cooperation with Thomas Braulke, UKE Hamburg, we are currently generating a knock-out model for mucopolysaccharidosis II (MLII). In an EU project (HUE-MAN), we are currently investigating the epigenetics, biochemical alterations and therapy by enzyme replacement in a mouse model for the lysosomal storage disease  $\alpha$ -mannosidosis. In addition, we analysed the pathophysiology of a new disease in human called congenital disorders of glycosylation type IIc (CDG-IIc) in which the fucosylation of glycoproteins is defective due to the lack of the Golgi GDP-fucose transporter by exploiting a mouse model for CDG-IIc. In a current project we focus on a novel protein modification that is required for the catalytic activity of sulfatasen and that is missing in the fatal lysosomal storage disease multiple sulfatase deficiency (MSD) in human. This work on multiple sulfatase deficiency is focussed on the biochemical purification of FGE (SUMF1), the enzyme generating FGly residues in sulfatasen and its paralog pFGE (SUMF2) of so far unknown function. A rapid enzyme assay based on peptidic substrates derived from sulfatasen 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 and the function of pFGE analyzed. Furthermore, naturally occurring mutations in MSD were characterized.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Jun. Prof. Torben Lübke

Dr. Bernhard Schmidt

#### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Andrea Ballabio, TIGEM, Neapel, Italien

Prof. Dr. Thomas Braulke, Abt. Biochemie, Kinderklinik, UKE Hamburg

Prof. Dr. Maria-Pia Cosma, Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Universität Neapel, Italien

Dr. Achim Dickmanns, Abt. Strukturbiologie, Universität Göttingen

Prof. Dr. Thomas Dierks, Abt. Biochemie, Universität Bielefeld

Prof. Dr. Ralf Ficner, Abt. Molekulare Strukturbiologie, Fakultät Biologie, Universität Göttingen

Prof. Dr. Jutta Gärtner, Abt. Pädiatrie II mit SP Neuropädiatrie, Universitätsmedizin Göttingen, Universität Göttingen

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

Prof. Dr. Paul Saftig, Abt. Biochemie, Universität Kiel

Prof. Dr. Markus Georg Rudolph, Abt. Strukturbiologie, Fakultät Biologie, Universität Göttingen

Prof. Dr. Renate Lüllmann-Rauch, Anatomisches Institut, Universität Kiel

Dr. Lars Schlotawa, Abt. Pädiatrie II mit SP Neuropädiatrie, Universitätsmedizin Göttingen, Universität Göttingen

#### Drittmittelförderung Funding

DFG, Normalverfahren LU 1173/1-1, LU 1173/1-2

EU Project HUE-MAN, LSHM-CT-2006-018692; 04/2006-10/2009

Transkaryotic Therapies (TKT), Boston, 2001-2005

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Thiel C, Lübke T, Matthijs G, von Figura K, Korner C. (2006) Targeted disruption of the mouse phosphomannomutase 2 gene causes early embryonic lethality. *Mol Cell Biol.* 26(15): 5615-20

Deuschl F, Kollmann K, von Figura K, Lübke T. (2006) Molecular characterization of the hypothetical 66.3-kDa protein in mouse: Lysosomal targeting, glycosylation, processing and tissue distribution. *FEBS Lett.* 580(24): 5747-52

Hellbusch CC, Sperandio M, Frommhold D, Yakubenia S, Wild MK, Popovici D, Vestweber D, Grone HJ, von Figura K, Lübke T, Korner C. (2007) Golgi GDP-fucose transporter-deficient mice mimic congenital disorder of glycosylation IIc/Leukocyte adhesion deficiency II. *J Biol Chem.* 282(14): 10762-10772

Fedele AO, Filocamo M, Di Rocco M, Sersale G, Lübke T, di Natale P, Cosma MP, Ballabio A. (2007) Mutational analysis of the HGSNAT gene in Italian patients with mucopolysaccharidosis IIIC (Sanfilippo C syndrome). *Hum Mutat.* 28(5): 523 Mutation in brief #959

Gande, S. L., Mariappan, M., Schmidt, B., Pringle, T. H., von Figura, K., and Dierks, T. (2008), Paralog of the Formylglycine-generating Enzyme - Retention in the Endoplasmic Reticulum by Canonical and Noncanonical Signals. *FEBS Journal* 275, 1118-1130

Mariappan, M., Gande, S. L., Radhakrishnan, K., Schmidt, B., Dierks, T., and von Figura, K. (2008), The Non-catalytic N-terminal Extension of Formylglycine-generating Enzyme Is Required for Its Biological Activity and Retention in the Endoplasmic Reticulum. *J. Biol. Chem.* 283, 11556-11564

Mariappan, M., Radhakrishnan, K., Dierks, T., Schmidt, B., and von Figura, K. (2008), ERp44 Mediates a Thiol-independent Retention of Formylglycine-generating Enzyme in the Endoplasmic Reticulum. *b 283, 6375-6383*

Adham, I. M., Khulan, J., Held, T., Schmidt, B., Meyer, B. I., Meinhardt, A., and Engel, W. (2008), Fas-associated factor (FAF1) is required for the early cleavage stages of mouse embryo. *Mol. Hum. Rep.* 14, 207-213

Schröder, B., Elsässer, H.-P., Schmidt, B. and Hasilik, A. (2007), Characterisation of lipofuscin-like lysosomal inclusion bodies from human placenta. *FEBS Letters* 581, 102-108

Roeser, D., Schmidt, B., Preusser-Kunze, A. and Rudolph, M. G. (2007), Probing the oxygen-binding site of the human formylglycine-generating enzyme using halide ions. *Acta Cryst. D63, 621-627*

Roeser, D., Preusser-Kunze, A., Schmidt, B., Gasow, K., Wittmann, J. G., Dierks, T., von Figura, K., and Rudolph, M. G. (2006), A general binding mechanism for all human sulfatasen by the formylglycine-generating enzyme. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 103, 81-86

## SCHWERPUNKTPROFESSUR MOLEKULARE ZELLBIOLOGIE

### SPECIAL PROFESSORSHIP MOLECULAR CELL BIOLOGY

#### *Molekularer Mechanismus der Autophagie*

Alle eukaryontischen Zellen transportieren bei Nährstoffmangel eigene Bestandteile in ihre Lysosomen und bauen sie dort ab. Dieser autophagische Prozeß spielt unter anderem eine wichtige Rolle bei der Zelldifferenzierung und der Entstehung von Krankheiten wie Krebs, Kardiomyopathien, M. Huntington und M. Parkinson. Er hat ferner eine entscheidende Funktion beim Abbau intrazellulärer Pathogene und der Alterung. Autophagie ist außerdem wichtig für den 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.

#### *Molecular mechanism of autophagy*

All eukaryotic cells respond to nutrient limitation by transporting their own constituents for degradation to the lysosome (vacuole). This 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 has 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

SFB 523, seit 2004

GRK 521, seit 10/2005

DFG, Th 752/2-1

DFG, Th 752/1-3

DFG, Th 752/1-4

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Prick, T., and M. Thumm. (2008). Measuring macroautophagy in *S. cerevisiae*: Autophagic body accumulation and total protein turnover. *Methods in Enzymology* 451, 57-66

Klionsky, D. J., et al. (2008). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes. *Autophagy* 4, 151-75

Santt, O., Pfirrmann, T., Braun, B., Juretschke, J., Kimmig, P., Scheel, H., Hofmann, K., Thumm, M. and Wolf, D. H. (2008). The Yeast GID Complex, a Novel Ubiquitin Ligase (E3) Involved in the Regulation of Carbohydrate Metabolism. *Mol. Biol. Cell* 19 (8), 3323-33

Krick, R., Muehe, Y., Prick, T., S. Bremer, P. Schlotterhose, E.-L. Eskelinen, J. Millen, D. S. Goldfarb and M. Thumm (2008). Piecemeal microautophagy of the nucleus requires the core macroautophagy genes. *Mol. Biol. Cell* (19), 4492-4505

R. Krick, S. Henke, J. Tolstrup and M. Thumm (2008). Dissecting the localization and function of Atg18, Atg21 and Ygr223c. *Autophagy* 4(7), 896-905

Tanja Prick, Michael Thumm, Karl Köhrer, Dieter Häussinger and Stephan vom Dahl (2006). Osmosensitivity of autophagy in yeast is mediated by Hog1. *Biochem. J.* 394(1), 153-161

Tanja Prick, Michael Thumm, Dieter Häussinger and Stephan vom Dahl (2006). Deletion of HOG1 leads to osmosensitivity in starvation-induced, but not rapamycin-dependent Atg8 degradation and proteolysis: Further evidence for different regulatory mechanisms in yeast autophagy. *Autophagy* 2, 241-243

Roswitha Krick, Jörn Tolstrup, Anika Appelles, Sandra Henke and Michael Thumm (2006). The relevance of the phosphatidylinositolphosphat-binding motif FRRGT of Atg18 and Atg21 for the Cvt pathway and autophagy. *FEBS Lett.* 580, 4632-4638

Meiling-Wesse, K., Epple, U. D., Barth, H., Appelles, A., Voss, C., Eskelinen, E.-L., and 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, 33669-33678

## Anhang Appendix

#### Berufungen Appointments

Prof. Dr. Peter Rehling received several offers for W3 professorships amongst them the Charité Universitätsmedizin Berlin; Center of Excellence, University of Frankfurt, and the Universitätsmedizin Göttingen, 2007 (accepted)

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

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

Hansen J, Dr. med., Phosphorylierungsstatus des Clathrin-assoziierten Adaptor Komplexes AP-2 in MDBK Zellen. Dissertation Universität Göttingen 2007

Schulz S, Dr. med., Expression und Charakterisierung menschlicher Sulfatasen. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Deuschl F, Dr. med., Molekulare Charakterisierung des murinen 66.3-kDa-Proteins. Dissertation Universität Göttingen 2008

#### Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere)

##### Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and Others)

Roces D P, Dr. rer. nat., Efficacy of enzyme replacement therapy in  $\alpha$ -mannosidosis mice. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Radhakrishnan K, Dr. rer. nat., Studies on AP-1 Sorting Function and Regulation of Membrane Binding. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Gande S L, Dr. rer. nat., Mechanism of pFGE and FGE Retentin in Endoplasmic Reticulum. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Mieczko A, Dr. rer. nat., A novel pathway for VLDL assembly in the mouse liver. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Hellbusch Ch, Dr. rer. nat., Ein Knockout-Mausmodell für Congenital Disorder of Glycosylation-IIc: Defizienz des Golgi-GDP-Fucose-Transporters. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Appelles A, Dr. rer. nat., in vivo- und in-vitro-Untersuchungen der intravakuolären Lyse autophagischer Vesikel in *Saccharo cerevisiae*. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Mühe Y, Dr. rer. nat., Mikroautophagischer Abbau von Teilen der Kernhülle und Untersuchungen zum Transport und der Aktivität von Atg15p in der Hefe *S. cerevisiae*. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Späte K, Dr. rer. nat., Signalbindung und Membraninteraktion von heterotetrameren Adaptorprotein-Komplexen, Dissertation Universität Göttingen 2007.

Kanwar N, Dr. rer. nat., Analysis of mice deficient in late endosomal SNARE proteins VAMP8/ endobrevin and Vti1b, Dissertation Universität Göttingen 2007.

Kollmann K, Dr. rer. nat., Identifizierung und molekulare Charakterisierung des lysosomalen Matrixproteins Serincarboxypeptidase 1, Dissertation Universität Göttingen 2008.

Baltes J, Dr. rer. nat., Etablierung und Analyse von „knock-out“ Mausmodellen der  $\Delta$ 1-Untereinheiten des AP-1 Komplexes, Dissertation Universität Göttingen 2008.

Benkert T, Dr. rer. nat., Charakterisierung der Eaf1-Funktion für die Biogenese der Aminopeptidase 1. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Schieweck O, Dr. rer. nat., Proteomanalyse lysosomaler Membranen: Identifizierung und Charakterisierung neuer lysosomaler Membranproteine. Dissertation Universität Göttingen 2008.

#### Diplomarbeiten Diploma Theses

Diekmann S, Dipl.-Biol., Transkriptomanalyse bei Fucose Substitution in CDG-IIc Fibroblasten, Diplomarbeit Universität Göttingen 2006.

Hönnemann J, Dipl.-Biol., Autophagozytose in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*: Untersuchung zur Topologie von Atg15 und Identifikation neuer Interaktionspartner, Diplomarbeit Universität Göttingen 2006.

**Hohensee I**, Dipl.-Biol., Molekulare und biochemische Analyse des Gene trap Mausmodelles für das 66.3-kDa-Proteins. Diplomarbeit Universität Göttingen 2008.

#### **Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings**

25.-29.11. 2007, Frontiers in Mitochondrial Research; University Residential Centre of Bertinoro, Scientific committee: Peter Rehling

01.-03.11. 2008, Analytica Conference 2008 of the GDCh and GBM, Organization of the Cell Biology section, Peter Rehling

29.3.-2.4., Proteomic Forum 2009, Scientific advisory board, Peter Rehling

20.9., Symposium of the Göttingen Proteomics Forum, organization committee, Bernhard Schmidt

#### **Herausgebertätigkeit Editorial Work**

Prof. Dr. Michael Thumm

Biochemical Journal, FEMS Yeast Research, Autophagy

#### **Universitäre Gremien University Boards**

##### **Prof. Dr. Peter Rehling**

Mitglied der Forschungskommission der Universitätsmedizin Göttingen (seit 2008)

Mitglied der Studienkommission der Universitätsmedizin Göttingen (seit 2008)

Mitglied der Kommission Vorklinische Lehre der Universitätsmedizin Göttingen (seit 2008)

##### **Prof. Dr. Michael Thumm**

Mitglied der Habilitationskommission der Universitätsmedizin Göttingen

##### **Prof. Dr. Torben Lübke**

Mitglied der Promotionskommission der Universitätsmedizin Göttingen (seit 2007)

Mitglied der Kommission „Auszeichnung von Persönlichkeiten“ (seit 2007)

##### **Dr. Bernhard Schmidt**

Organisationskomitee Göttingen Proteomics Forum (seit 2006)

#### **EU-Projekte European Research Projects**

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

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

HUE-MAN LSHM-CT-2006-018692, seit 04/2006

#### **Stipendiaten/Stipendiatinnen Scholarship Holders**

Benkert, Tanja, 02/2005-01/2008

Bremer, Sebastian, 03/2006-03/2008

Reinhold, Robert, 02/2008-09/2008

#### **Firmenkooperationen Industrial Cooperations**

TKT, Cambridge/Mass., USA

#### **Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte Specialised Research Equipment**

Massenspektrometer: MALDI-TOF-MS,

NanoLC-ESI-Iontrap-MS

Proteinsequenzer cLC

Laserscan Mikroskop

Starion IR Multi Color Fluoreszenz Scanner FLA 9000

Sorvall RC-12, Zentrifuge

Beckman Optima Max, Zentrifuge

Beckman Optima L90K, Zentrifuge

Hitachi F-7000, fluorescence photometer

Storm Phosphimager,

Äkta purifier system

NanoVue, spectro photometer