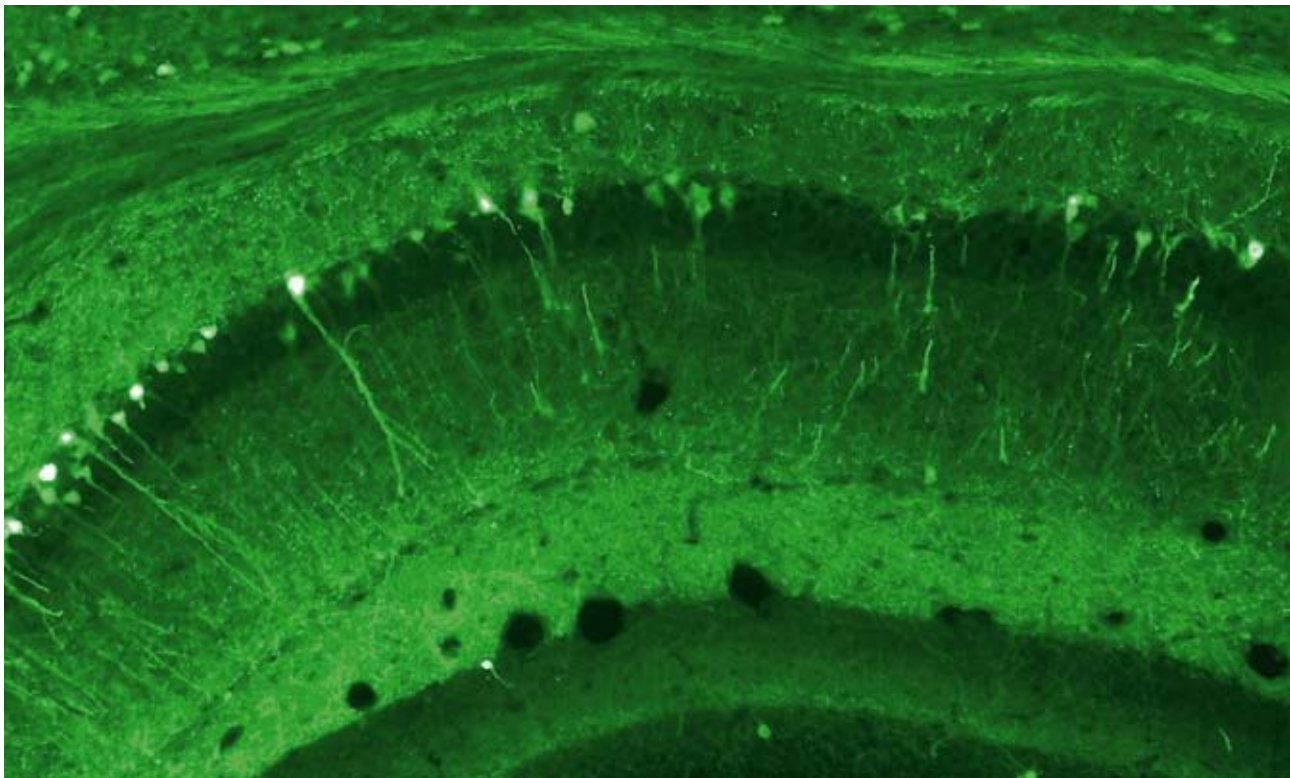


Zentrum Anatomie - Abteilung Neuroanatomie

Centre for Anatomy - Department of Neuroanatomy



Forschungsschwerpunkte Research Foci

- | | |
|--|--|
| ▷ Regulation von Nervenzellüberleben | ▷ Regulation of Neuronal Survival |
| ▷ Regulation von programmierten Zelltod | ▷ Regulation of Programmed Cell Death |
| ▷ Entwicklung und Differenzierung dopaminerger Neurone | ▷ Development and Differentiation of Dopaminergic Neurons |
| ▷ pH Regulation und HCO ₃ in Speicheldrüsen und Leber | ▷ Salivary and Biliary pH Regulation and Bicarbonate Transport |
| ▷ Zellspezifikation in der Vorderhirnentwicklung | ▷ Cell specification in forebrain development |
-

Schwerpunktprofessur Molekulare Zellbiologie Special Professorship Molecular Cell Biology

- | | |
|---|---|
| ▷ Störungen von Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems durch latente virale Infektionen | ▷ Effects of Latent Viral Brain Infections on CNS Development and Function |
| ▷ Modulation der Gap Junction Kopplung und der neuronalen Differenzierung von Ntera2/D1 Zellen | ▷ Modulation of gap junction coupling and neuronal differentiation of Ntera2/D1 cells |
-

Abteilungsdirektor Head of Department

Prof. Dr. rer. nat. Kerstin Krieglstein (bis Ende 2007)

PD Dr. med. Michael Rickmann (kommissarisch seit 2008)

Kontaktdaten Contact

Abteilung Neuroanatomie

UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN

Kreuzberggring 36, D-37075 Göttingen

Telefon +49-551 / 39-7014, Fax +49-551 / 39-14016

mrickma@gwdg.de

www.neuroanatomie.uni-goettingen.de

Hochschullehrer/innen Professors and Lecturers

+49-551 /

Krieglstein, Kerstin	Prof. Dr. rer. nat.		
Reuss, Bernhard	Prof. Dr. rer. nat.	breuss@gwdg.de	39-7059
Rickmann, Michael	PD Dr. med.	mrickma@gwdg.de	39-7014
Roussa, Eleni	Apl. Prof. Dr. med. dent.	eroussa@gwdg.de	39-7068

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen Other Group Leaders

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

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 zugrunde liegenden 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 Vorbehand-

lung der Zellen mit TGF- β jedoch bewirkt GDNF eine entsprechende Phosphorylierung. TGF- β -Behandlung kann durch Gabe des löslichen GFR- α 1 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 parasymphatic 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 Krieglstein

Kooperationen Cooperations

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

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

Drittmittelförderung Funding

DFG, Forschungszentrum CMPB, 2002-2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Roussa E, Oehlike O, Rahhal B, Heermann S, Heidrich S, Wiehle M, Krieglstein K. (2008) Transforming growth factor beta cooperates with persephin for dopaminergic phenotype induction. Stem Cells. 2008 Jul;26(7):1683-94.

Peterziel H, Paech T, Strelau J, Unsicker K, Kriegelstein K. (2007) Specificity in the crosstalk of TGFbeta/GDNF family members is determined by distinct GFR alpha receptors. *J Neurochem*. 2007 Dec;103(6):2491-504.

Schober A, Peterziel H, von Bartheld CS, Simon H, Kriegelstein K, Unsicker K. (2007) GDNF applied to the MPTP-lesioned nigrostriatal system requires TGF-beta for its neuroprotective action. *Neurobiol Dis*. 2007 Feb;25(2):378-91.

2. Regulation von programmiertem 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. Ziel der Arbeiten ist es, die molekularen Mechanismen des TGF-β-induzierten neuronalen Zelltods zu erarbeiten. Dazu gehört die Charakterisierung der TGF-β-abhängigen Signaltransduktion sowie die Überleitung der TGF-β Signalkaskade in die zellintrinsische Zelltodkaskade. Unsere Arbeiten in Oligodendrozyten haben gezeigt, dass die Balance zwischen anti- und proapoptischen Bcl2 Familienmitgliedern nicht von der Assoziation mit BH3-only Proteinen abhängt, sondern von der Assoziation mit Spaltprodukten des Zytoskelettproteins Aktin, nämlich Fraktin. Dieses bindet Bcl-xl und bewirkt den proteosomalen Abbau des anti-apoptischen Bcl-xl, was zur Apoptose führt. Im Gegensatz dazu bewirkt ein TGF-β verwandtes Zytokin, Aktin A (ActA), über die p53-vermittelte Expression von Puma die Auslösung des klassischen apoptotischen Signalwegs. Hier bindet Puma und Bcl-xl, wodurch Bax an das Mitochondrium gelangt und dort Poren bildet, durch die der Apoptose-induzierende Faktor (AIF) in das Zytosol und in den Kern gelangt, wo dieser die DNA Spaltung induziert. 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-βs are important regulators of cell growth and differentiation. Aim of the research is to characterize the molecular mechanism of TGF-β induced neural cell death. This project includes characterization of TGF-β-dependent signaling pathway feeding into the cell intrinsic genetic program of apoptosis. Our work in an oligodendroglial cell line shows, that the balance between anti- and pro-apoptotic Bcl2 family members is not dependent on the association with BH3-only proteins, but instead on the association with the Actin cleavage product Fractin. Fractin binds to Bcl-xl and thereby induces proteasomal degradation of Bcl-xl that results in apoptosis. In con-

trast to TGF-β, the related cytokine Activin A (ActA) activates classical apoptotic pathways of p53-induced expression of Puma. Puma binds to Bcl-xl, whereupon Bax translocates to the mitochondria where it forms pores. As a consequence, Apoptosis-inducing factor (AIF) leaves the mitochondria and its translocation to the nucleus induces apoptosis-related degradation of DNA.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

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, Normalverfahren, 2004-2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Schulz R, Vogel T, Dressel R, Kriegelstein K. (2008) TGF-beta superfamily members, ActivinA and TGF-beta1, induce apoptosis in oligodendrocytes by different pathways. *Cell Tissue Res*. 2008 Dec;334(3):327-38.

Gohla G, Kriegelstein K, Spittau B. (2008) Tie3/Klf11 induces apoptosis in OLI-neu cells and enhances the TGF-beta signaling pathway by transcriptional repression of Smad7. *J Cell Biochem*. 2008 Jun 1;104(3):850-61.

Wang Z, Spittau B, Behrendt M, Peters B, Kriegelstein K. (2007) Human TIEG2/KLF11 induces oligodendroglial cell death by downregulation of Bcl-X(L) expression. *J Neural Transm*. 2007 Jul;114(7):867-75.

Spittau B, Wang Z, Boinska D, Kriegelstein K. (2007) Functional domains of the TGF-beta-inducible transcription factor Tie3 and detection of two putative nuclear localization signals within the zinc finger DNA-binding domain. *J Cell*

Biochem. 2007 Jun 1;101(3):712-22.

Kriegelstein K. Cell death in the nervous system. (2006) *Adv Exp Med Biol*. 2006;557:1-10. Review.

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 beitragen, wie z.B. mesencephaler dopaminerger 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.

Wir haben ein Modell organotypischer Kulturen des Neocortex etabliert, das die Differenzierung perineuronaler Netze um die parvalbuminhaltigen GABAergen Interneurone einschließlich des spezialisierten submembranösen Zytoskeletts und der extrazellulären Matrix erlaubt. Daran testen wir die Effekte von Wachstumsfaktoren wie FGF-2 und TGF- β , die bei der Bildung dieser stabilen synaptischen Komplexe beteiligt sind.

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 isthmus 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 mid-brain 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.

We have established a culture model of organotypic slices of neocortex in which perineuronal nets (specialized neuronal submembranous and extra cellular matrix plus astroglial lamellae) develop around synapses on parvalbumin containing GABAergic interneurons. 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

Prof. Dr. Kerstin Kriegelstein

PD Dr. Michael Rickmann

Prof. Dr. med. dent. Eleni Roussa

Dr. T. Vogel

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

Dr. Frederique Varoquaux, Molekulare Neurobiologie, Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Göttingen

PD Dr. Weiqi Zhang, Physiologie, Universität Göttingen

Drittmittelförderung Funding

DFG, Normalverfahren, 2003-2006

DFG, SFB 406, 2003-2006

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Heupel K, Sargsyan V, Plomp JJ, Rickmann M, Varoquaux F, Zhang W, Kriegelstein K. (2008) Loss of transforming growth factor-beta 2 leads to impairment of central synapse function. *Neural Dev.* 2008 Oct 14;3:25.

Lacmann A, Hess D, Gohla G, Roussa E, Kriegelstein K. (2007) Activity-dependent release of transforming growth factor-beta in a neuronal network in vitro. *Neuroscience.* 2007 Dec 12; 150(3):647-57.

Roussa E, Oehlke O, Rahhal B, Heermann S, Heidrich S, Wiehle M, Kriegelstein K. (2008) Transforming growth factor beta cooperates with persephin for dopaminergic phenotype induction. *Stem Cells.* 2008 Jul;26(7):1683-94. PMID: 18420832.

Roussa E, Wiehle M, Dünker N, Becker-Katins S, Oehlke O, Kriegelstein K. (2006) Transforming growth factor beta is required for differentiation of mouse mesencephalic progenitors into dopaminergic neurons in vitro and in vivo: ectopic induction in dorsal mesencephalon. *Stem Cells.* 2006 Sep;24(9):2120-9.

4. 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 Säugtierzellen wird durch die koordinierte Wirkung von verschiedenen Transportproteinen für Säuren und Basen reguliert. Dabei unterscheidet man Proteine, die einen elektrogenen Transport vermitteln 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⁻ Transportproteinen, die an den Bikarbonattransport in Speicheldrüsen und Leber beteiligt sind, um die

Mechanismen der Transportprozesse besser verstehen zu können. Darüber hinaus untersuchen wir die Umverteilung bzw. Änderung des Expressionsniveaus von H⁺ und HCO₃⁻ Transportproteinen bei Störungen des Säure-Basen-Haushalts und bei experimentell erzeugter Cholestase.

4. 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 trans-epithelial H⁺ and HCO₃⁻ transport. Our group is interested in elucidating the molecular identity of H⁺ and HCO₃⁻ transport proteins involved in salivary and biliary bicarbonate transport and thereby develop a better understanding of ion transport mechanisms. Moreover, we are focusing on expression changes and redistribution of H⁺ and HCO₃⁻ transporters during acid base disturbances and after experimentally induced cholestasis.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. 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

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Brandes A, Oehlke O, Schümann A, Heidrich S, Thévenod F, Roussa E. (2007) Adaptive redistribution of NBCe1-A and NBCe1-B in rat kidney proximal tubule and striated ducts of salivary glands during acid-base disturbances. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007 Dec;293(6):R2400-11.

Rickmann M, Orlowski B, Heupel K, Roussa E. (2007) Distinct expression and subcellular localization patterns of Na⁺/HCO₃⁻ cotransporter (SLC 4A4) variants NBCe1-A and NBCe1-B in mouse brain. *Neuroscience.* 2007 May 25;146(3):1220-31.

Roussa E, Bertram J, Berge KE, Labori KJ, Thévenod F, Raeder MG. (2006) Differential regulation of vacuolar H⁺ ATPase and Na⁺/H⁺ exchanger 3 in rat cholangiocytes after bile duct ligation. *Histochem Cell Biol.* 2006 Apr;125(4):419-28.

Oehlke O, Sprysch P, Rickmann M, Roussa E. (2006) Na⁺(+)/H⁺(+) exchanger isoforms are differentially regulated in rat submandibular gland during acid/base disturbances in vivo. *Cell Tissue Res.* 2006 Feb;323(2):253-62.

5. Zellspezifikation in der Vorderhirnentwicklung – Einfluss von Wachstums- und Transkriptionsfaktoren

Im Fokus des Interesses stehen die molekularen Vorgänge, die bei der Zellspezifikation von Vorläuferzellen während der Entwicklung des Vorderhirns ablaufen. Einerseits wird die neurale Spezifizierung betrachtet, bei der Vorläuferzellen auf bestimmte Signale hin in festgelegte Subtypen, nämlich Neurone, Astro- und Oligoglia differenzieren. Andererseits untersuchen wir die Spezifikation neuronaler Subtypen bei der Entstehung des 6-schichtigen zerebralen Kortex. Im Zusammenhang mit der neuronalen Spezifikation vermittelt das Zytokin TGF- β die neuronale Differenzierung von Stammzellen. Wir untersuchen die molekularen Komponenten und Zielgene, die dieses Differenzierungspotential vermitteln. Die genaue Aufklärung der einzelnen Signalwege des pleiotrop wirkenden Wachstumsfaktors ist insbesondere vor dem Hintergrund eines Einsatzes von TGF- β in klinischen Studien von Bedeutung. Wir bearbeiten diese Fragestellung mittels in vitro Kultur primärer Neurone und Stammzellen, sowie mittels konditionell inaktivierbarer Mutationen des TGF- β Rezeptors II.

Im Rahmen der neuronalen Spezifizierung untersuchen wir Moleküle, die epigenetische Modifikationen an Histonen vermitteln und so ein lang anhaltendes Aktivitätsmuster spezifischer Gene vermitteln. Epigenetische Modifikationen sind zunehmend im Verdacht, Ursache neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen sein zu können, weshalb die Implikationen während der normalen Entwicklung von Interesse sind. Progenitoren, die den 6-schichtigen Kortex aufbauen, residieren in zwei angrenzenden teilungsaktiven Zonen, der ventrikulären und der subventrikulären Zone. Wir untersuchen die Funktion des Transkriptionsfaktors AF9, der in der subventrikulären Zone aktiv ist und über Proteininteraktion mit Dot1l epigenetische Veränderungen vermitteln kann. Mutationen des humanen AF9 resultieren in einer verzögerten Entwicklung der Motorik, mentaler Retardierung, Epilepsie und Ataxie. Unter Einsatz einer AF9-defizienten Maus versuchen wir, die Rolle von AF9 für die korrekte Entwicklung des 6-schichtigen Kortex aufzuklären. Ebenfalls von Interesse sind Mitglieder der Polycomb Proteine, die in unterschiedlich zusammengesetzten Komplexen in Stammzellen und postmitotischen Neuronen voneinander abweichende Funktionen haben und Zellproliferation, und –differenzierung vermitteln.

5. Cell specification in forebrain development – Influence of growth and transcription factors

We are interested in the molecular mechanisms that are responsible for the determination and development of stem cells during the development of the forebrain. One of our topics is the neural specification, which leads to the differentiation of progenitors into specific subtypes such as neurons, astro- and oligodendroglia. On the other hand, we are investigating the neuronal specification of

subtypes of the 6-layered cerebral cortex. In the context of neural specification, we are mainly investigating the role of TGF- β , which leads to neuronal differentiation in certain developmental stages. We are studying molecular components and target genes, which are mediating the neuronal differentiation potential of stem cells using *in vitro* cultures of primary neurons and stem cells, as well as conditional inactivated mutations of TGF- β receptor II.

Neuronal specification is, amongst others, dependent of epigenetic modifications of histones. Those modification lead to a long term inheritable activity of genes associated with differentiation processes. Epigenetic modifications are coming into focus in connection to neurological and psychiatric disorders. This underlines the interest for studying the implications of epigenetic modifications during normal development. Progenitors of the 6-layered cortex, reside in two adjacent mitotically active zones, the ventricular and subventricular zones. We are investigating the function of Af9, which is active in the subventricular zone and mediates epigenetic modifications through protein interactions with Dot1l. Mutations of human AF9 result in delayed motor development, mental retardation, epilepsy and ataxia. Using an Af9-deficient mouse model, we are currently investigating the role of Af9 for the correct development of the cerebral cortex. Furthermore, we are studying members of the Polycomb group of proteins, which act in large protein complexes. The composition of these complexes varies in a spatiotemporal manner during development of the cerebral cortex, indicating that they might influence diverse processes such as proliferation and differentiation in stem cells and postmitotic neurons.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. rer. nat. Tanja Vogel

Kooperationen Cooperations

Dr. S. Kügler, Department of Neurology, Georg-August-University, Goettingen Germany

Prof. Dr. S. Johnsen, Department of Molecular Oncology, Goettingen Center for Molecular Biosciences, Georg-August-University, Goettingen Germany

Dr. S. Stoykova, MPI for Biophysical Chemistry, Goettingen, Germany

Dr. V. Tarabykin, MPI for Experimental Medicine, Goettingen, Germany

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Britanova, O., de Juan, R.C., Cheung, A., Kwan, K.Y., Schwark, M., Gyorgy, A., Vogel, T., Akopov, S., Mitkovski, M., Agoston, D., Sestan, N., Molnar, Z., and Tarabykin, V. (2008). *Satb2* is a postmitotic determinant for upper-layer neuron specification in the neocortex. *Neuron* 57, 378-392.

Vogel, T., Stoykova, A., and Gruss, P. (2006). Differential expression of polycomb repression complex 1 (PRC1) members in the developing mouse brain reveals multiple complexes. *Dev. Dyn.* 235, 2574-2585.

SCHWERPUNKTPROFESSUR ZELLULÄRE NEUROANATOMIE SPECIAL PROFESSORSHIP CELLULAR NEUROSCIENCE

Die Aufgaben der Arbeitsgruppe liegen in der Forschung und Lehre. Die Aufgaben in der Lehre umfassen dabei die Mitwirkung an der Durchführung aller Lehrveranstaltungen des vorklinischen Abschnitts des Studiengangs Humanmedizin mit Bezug zu Anatomie, Neuroanatomie und Histologie, sowie die abschnittsweise Mitwir-

kung am Studiengang Molekulare Medizin und des Promotionsstudienprogramms Neurowissenschaften. Die Forschung der Arbeitsgruppe befasst sich mit der Rolle der neuronalen und glialen Gap Junction Kopplung für Funktion und Pathologie des zentralen Nervensystems. Dadurch sollen Mechanismen aufgeklärt werden, die bei der Entstehung und Behandlung neuropsychiatrischer Erkrankungen eine Rolle spielen. Methodisch werden dabei alle modernen Techniken der Molekular- und Zellbiologie eingesetzt mit einem besonderen Schwerpunkt auf morphologischen Techniken wie der Immunhistochemie und der *in situ* Hybridisierung.

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

Latente virale Infektionen des zentralen Nervensystems werden als mögliche Ursache für die Entstehung neuropsychiatrischer Erkrankungen angesehen. Als Modell hierfür wurde und wird die neonatale Infektion des Rattengehirns mit dem Borna Disease Virus (BDV) angesehen, in deren Verlauf es zur progredienten Degeneration der Körnerzellen des Gyrus Dentatus und der Purkinje Neurone des cerebellären Cortex kommt. Wir haben in den vergangenen Jahren mit Hilfe dieses Modellsystems zwei Projekte bearbeitet, von denen sich eines mit der Auswirkung einer persistierenden BDV Infektion auf die postnatale Neurogenese in Hippocampus und cerebellärem Cortex beschäftigt hat. Obwohl erste Versuche sehr vielversprechend aussahen, konnten wir jedoch aufgrund von Problemen mit der Antikörperreaktivität letztlich nicht zweifelsfrei klären, ob die hippocampale Neurogenese bei BDV infizierten Tieren tatsächlich gestört ist, oder ob die offensichtlichen Veränderungen auf einem viral bedingten Absterben der Zellen beruhen. Mit dem zweiten Projekt, das sich mit der Auswirkung einer persistierenden BDV Infektion auf die neuronale und astrogläre Gap Junction Kopplung beschäftigt hat, waren wir erfolgreicher, und so konnten wir zeigen, 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 die Expression von Cx43 und Cx36 in der CA3 Region des Hippocampus BDV infizierter Ratten stark vermindert, während gleichzeitig im Gyrus dentatus die Expression von Cx43 erhöht ist. Im cerebellären Cortex kommt es bereits vor der erst später einsetzenden Degeneration der Purkinjezellen zu einer massiven Reduktion der Expression von Cx36, während die Expression von Cx43 insbesondere in der Molekularschicht des cerebellären Cortex massiv erhöht ist. Wir haben dies einerseits durch histologische Methoden wie Immunfluoreszenzfärbung und Enzymhistochemie untersucht, andererseits wurden auch biochemische und molekularbiologische Analysemethoden wie die Western Blot Analyse und die realtime PCR angewandt. Um einen weiteren Überblick über die Veränderungen im BDV infizierten Gehirn zu erhalten, wurde von uns neben den oben genannten 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.

Modulation der Gap Junction Kopplung und der neuronalen Differenzierung von Ntera2/D1 Zellen durch Betulinsäure und Usninsäure

Betulinsäure und Usninsäure sind sekundäre Pflanzenstoffe die experimentell bei der Behandlung von Tumoren der Haut und des zentralen Nervensystems eingesetzt werden. Eine bislang ungeklärte Frage dabei ist, ob diese Substanzen auch die Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen beeinflussen und so zu einer Gewebsrekonstruktion beitragen können. Ein zelluläres Regulationssystem zur Steuerung der Gewebsdifferenzierung ist dabei die interzelluläre Kommunikation über Gap Junctions. Ziel dieses Projekts ist die Klärung der Frage, ob Betulinsäure und Usninsäure die Synthese der Gap Junction Proteine, sowie deren Funktion während der Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen beeinflussen und wie sich dies ggf. auf die neuronale Differenzierung auswirkt. Als Modellsystem für diese Untersuchungen haben wir mit den Ntera2/D1 Zellen eine humane Zelllinie ausgewählt, die durch Behandlung mit Retinsäure neuronal differenziert werden kann und für die bereits gezeigt worden ist, daß eine Reduktion der Kopplung über Gap Junctions, die aus Cx43 bestehen, eine zentrale Rolle für die neuronale Differenzierung spielt. Dazu haben wir bereits an undifferenzierten Zellen durch Immunhistochemie und Western Blot den Einfluss von Betulinsäure und Usninsäure auf die Expression von Cx43, sowie mittels Scrape Loading auf die funktionelle Gap Junction Kopplung untersucht. Es zeigte sich eine dauerhafte Erniedrigung der Cx43 Expression und der funktionellen Gap Junction Kopplung. Es soll nun anhand der neuronalen Differenzierungsmarker Nestin, Dcx und β -Tubulin der Einfluss beider Substanzen auf das Differenzierungsverhalten von Ntera2/D1 Zellen geklärt werden. Außerdem sollen die Auswirkungen der Betulinsäure und der Usninsäure auf die Expression verschiedener Retinsäurerezeptoren während der neuronalen Differenzierung von Ntera2/D1 Zellen untersucht werden. Das vorliegende Projekt weist damit zum ersten Mal den Einfluß von Betulinsäure und Usninsäure auf die neuronale Gap Junction Expression und damit einen völlig neuartigen Mechanismus zur Beeinflussung der Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen nach.

The group is involved in teaching and research. Teaching includes all courses and lectures related to anatomy, neuroanatomy and histology for medical students during the preclinical phase of their studies, as well as some courses for students of molecular medicine and for the participants of the PhD study programme neurosciences. Research includes projects dealing with the role of neuronal and astroglial gap junction coupling for normal function and pathology of the central nervous system. By this cellular mechanisms shall be identified with relevance for treatment and pathology of neuropsychiatric disorders. With respect to methodology modern cell and molecular biological techniques are currently applied, with a focus on morphological techniques such as immunohistochemistry and *in situ* hybridization.

Effects of Latent Viral Brain Infections on CNS Development and Function

Latent viral infections of the central nervous system are considered to be a possible cause for several neuropsychiatric disorders. Neonatal infection with the Borna disease virus has long been and still is considered to be a model for such an etiology. During the course of this infection a progressive degeneration of dentate gyrus granule cells and of cerebellar purkinje neurons can be observed. In the past years we have used this model system in two projects, one of which has been designed to clarify whether persistent BDV infections are associated with perturbed postnatal neurogenesis. Although initial experiments seemed to be very promising, problems with regard to antibody reactivity made it impossible to us to answer this question. With the second project we were more successful and thus we could demonstrate that persistent BDV infection leads to massive changes in the expression of the neuronal connexin Cx36 and of the astroglial connexins Cx30 and Cx43. Thus in the CA3 region of the hippocampus of BDV infected rats expression of Cx36 and of Cx43 is greatly reduced, whereas in the dentate gyrus expression of Cx43 is increased. In the cerebellar cortex expression of Cx36 is already reduced prior to virus dependent degeneration of Purkinje neurons, whereas in the molecular layer expression of Cx43 is massively increased. This has been investigated on one hand by histological techniques like immunofluorescence and enzyme histochemistry, and on the other by biochemical techniques such as Western blot analysis and realtime PCR. To obtain a wider overview on changes in gene expression caused by BDV infection we have also performed a DNA microarray analysis (Affymetrix). By this we could identify larger numbers of differentially expressed genes, the spatial and temporal expression pattern of which will have to be clarified in the future.

Modulation of gap junction coupling and neuronal differentiation of Ntera2/D1 cells by Betulinic acid and Usnic acid

Betulinic acid and Usnic acid are secondary plant metabolites which are in experimental use for the treatment of tumours of the skin and central nervous system. A question still awaiting an answer is, whether these substances modulate also the differentiation of neuronal precursor cells and by this could contribute to tissue regeneration. A cellular system being involved in the regulation of tissue differentiation is intercellular communication by gap junctions. The goal of this project is to clarify whether Betulinic acid and Usnic acid are able to influence expression and function of gap junctions during the differentiation of neuronal precursor cells. As a model system we use Ntera2/D1 cells, a human derived cell line which after treatment with retinoic acid undergoes neuronal differentiation. For this cell line it is already known that intercellular communication by gap junctions composed of Cx43 plays a key role during neuronal differentiation. In undifferentiated cells we have already analyzed the effect of both substances on Cx43 expression by immunohistochemistry and Western blot analysis and on functional gap junction coupling by the scrape loading technique. All methods demonstrated a persistent downregulation of Cx43 expression and of functional gap junction coupling by Betulinic

acid and Usnic acid. Further experiments will clarify whether this leads also to impaired neuronal differentiation as revealed by the analysis of the neuronal markers Nestin, Dcx and β III-Tubulin. We plan to further analyze the effects of Betulinic acid and Usnic acid on expression of several retinoic acid receptors during neuronal differentiation of Ntera2/D1 cells.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Reuss

Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Peter Staeheli, Institut für Virologie, Albert Ludwigs Universität Freiburg
PD Dr. Paul Lingor, Neurologische Klinik an der Universität Göttingen

Drittmittelförderung Funding

DFG, Forschungszentrum CMPB, 2003-2006
Eine weitere Förderung durch die DFG wurde beantragt

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Köster-Patzlaff C, Hosseini SM, Reuss B (2008) Layer specific changes of astroglial gap junctions in the rat cerebellar cortex by persistent Borna Disease Virus infection. *Brain Res* 1219:143-158.
Köster-Patzlaff C, Hosseini SM, Reuss B. 2007. Persistent Borna Disease Virus infection changes expression and function of astroglial gap junctions in vivo and in vitro. *Brain Res* 1184:316-332.

Anhang Appendix

Erteilte Rufe (angenommen/abgelehnt)

Awarded Appointments (accepted/rejected)

Prof. Dr. Kerstin Krieglstein hat 2007 einen Ruf auf eine W3-Professur für Anatomie an der Universität Freiburg angenommen.

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

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

Oehlke O, Dr. med., Der Einfluss von Mitgliedern der TGF- β -Superfamilie auf die Pitx3-Protein-expression während der Entwicklung mesenzephaler dopaminergener Neurone der Maus in vitro. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Kreiß D, Dr. med., Nachweis der Variabilität von Calbindin-exprimierenden periglomerulären Zellen im Bulbus olfactorius der Ratte. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Spittau B, Dr. med., Funktionelle Domänen und intrazelluläre Lokalisation des murinen TGF- β -induzierbaren Transkriptionsfaktors Tieg3 sowie dessen zellbiologische Funktion in der oligodendroglialen Zelllinie OL1-neu. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Spöhrer K, Dr. med., Expression und Lokalisation des Cl-/HCO₃-Austauschers AE1 in der Submandibulardrüse der Ratte und adaptive Veränderungen bei akuter metabolischer Azidose. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Preuß S, Dr. med., Untersuchungen der entwicklungsabhängigen Expression des Serotonin-4(a)-Rezeptors im PräBötzinger Komplex der Ratte. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Ferdinand A, Dr. med. dent., Die Auswirkungen des Fehlens des Transforming Growth Factors- β 2 (TGF- β 2) auf die Entwicklung des Nervensystems. Dissertation Universität Göttingen 2008.

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

Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and others)

Kunwar AJ, Dr. rer. nat., Functions of Vt1a and Vt1b in the Development of the Mouse Nervous System: Evidence from Double Knockout Mice. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Heupel K, Dr. rer. nat., Die Rolle von transformierenden Wachstumsfaktoren-beta (TGF- β) in der Entwicklung von Synapsen. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Schulz R, Dr. rer. nat., Untersuchung des TGF- β -induzierten Zelltods in oligodendroglialen Kulturen. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Rahhal B, Dr. rer. nat., Functions of TGF- β 2 and GDNF in the Development of the Mouse Nervous System: Evidence from Double Mutant Mice. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

29.03.-01.04.2007, 31. Neurobiologentagung, Lokale Organisatorin Prof. Dr. K. Krieglstein zusammen mit der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft, Göttingen

Preise und Auszeichnungen Prizes and Awards

Krieglstein K : Wahl zum Mitglied in die Leopoldina, 2007

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

Prof. Dr. Kerstin Krieglstein

Mitglied des Editorial Boards: Cell and Tissue Research, J Neuroscience Research

Universitäre Gremien University Boards

Prof. Dr. Kerstin Krieglstein

Koordinatorin des Bereichs „Development“ des DFG Forschungszentrums 103 (CMPB) in Göttingen, 2002-2007

Mitglied des Vorstands des DFG Forschungszentrums 103 (CMPB) in Göttingen 2002-2007

Mitglied des Fakultätsrats der Medizinischen Fakultät 2005-2007

Mitglied der Kommission für Entwicklungs- und Finanzplanung 2005-2007

Mitwirkung in diversen Berufungskommissionen

Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

Prof. Dr. Kerstin Krieglstein

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

Mitglied des Senats- und Bewilligungsausschusses für Graduiertenkollegs der DFG

Herausgebertätigkeit Editorial Work

Prof. Dr. Kerstin Krieglstein

Cell and Tissue Research

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 Saarma, Institute of Biotechnology, University Helsinki, Finland

Stipendiaten/Stipendiantinnen Scholarship Holders

Katharina Heupel, GRK 632, 2003-2006

Belal Rahhal, DAAD, 2004-2006

Firmenkooperationen Industrial Cooperations

Biopharm GmbH, Heidelberg

Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte

Specialised Research Equipment

Konfokales LSM

Laser-Mikrodissektion