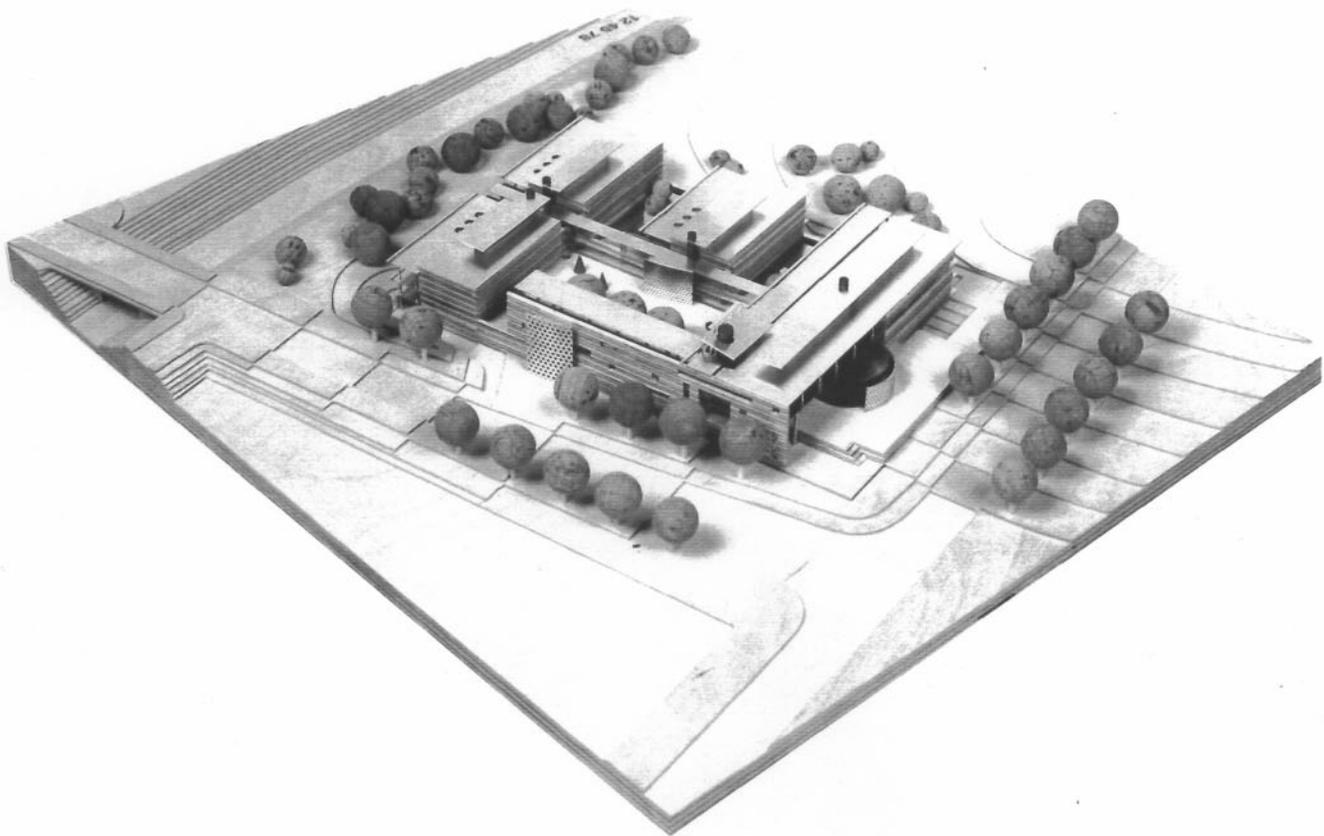


# Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie

Dortmund



Jahresbericht 1993

*Scanned by...*

**Titelbild:** Preisgekrönter Entwurf für den auf dem Universitätsgelände geplanten Neubau des Max-Planck-Instituts für molekulare Physiologie (Architektenbüro Heinrich & Wörner & Vedder, Dortmund)

(Foto: Falk Sieland)

# INHALTSÜBERSICHT

|   | Seite |
|---|-------|
| <b>Allgemeine Vorbemerkungen</b>  | 1     |
| <br>  |       |
| <b>ABTEILUNG II: EPITHELPHYSIOLOGIE</b><br>(Leitung Prof. Dr. R.K.H. Kinne) |       |
| 1. Arbeitsgruppe Prof. Dr. R.K.H. Kinne                                     | 2     |
| 2. Arbeitsgruppe Dr. A. Werner  | 11    |
| 3. Arbeitsgruppe PD Dr. E. Kinne  | 14    |
| 4. Arbeitsgruppe PD Dr. F. Wehner   | 19    |
| 5. Arbeitsgruppe PD Dr. K. Zierold  | 28    |
| 6. Arbeitsgruppe Dr. B. Bechinger   | 32    |
| 7. Arbeitsgruppe Dr. C.T. Lin   | 34    |
| <br>  |       |
| <b>Z.ZT. DEM KOLLEGIUM DIREKT UNTERSTELLTE ARBEITSGRUPPEN</b>               |       |
| 1. Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. Acker   | 41    |
| 2. Arbeitsgruppe PD Dr. S.C. Müller   | 44    |
| 3. Arbeitsgruppe PD Dr. M. Markus   | 50    |
| 4. Arbeitsgruppe Dr. Th. Plesser  | 53    |
| 5. Arbeitsgruppe Dr. A. Boiteux   | 55    |
| 6. Arbeitsgruppe Dr. H. Prinz   | 57    |
| 7. Arbeitsgruppe Dr. M.A. Delpiano  | 60    |
| <br>  |       |
| <b>Emeritusarbeitsgruppen</b>   |       |
| Prof. Dr. D.W. Lübbers  | 64    |
| Prof. Dr. B. Hess   | 68    |
| <br>  |       |
| <b>Geschichte des Instituts und Technologietransfer</b>                     | 70    |

**ZENTRALE EINRICHTUNGEN**

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 1. | Zentrales Laboratorium für funktionelle Morphologie (PD Dr. H. Hentschel)      | 73  |
| 2. | Zentrales Labor für Zellkultur und Immunologie (Dr. F. Pietruschka)            | 80  |
| 3. | Zentrale Einrichtung Elektronische Meßgeräte und Digitaltechnik (M. Grote)     | 83  |
| 4. | Zentrale Einrichtung EDV (Dr. Th. Plessner)                                    | 86  |
| 5. | Zentrale Einrichtung Sicherheit-Materialfluß-Mikroelektroden                   |     |
|    | a) Sicherheit und Materialfluß (D. Krüger)                                     | 90  |
|    | b) Labor für Mikroelektroden und Dünnschnittechnik (H. Baumgärtl)              | 92  |
| 6. | Zentrale Einrichtung Glastechnik (Dr. D. von Wulffen)                          | 102 |
| 7. | Zentrale Einrichtung Präzisionsgerätebau und Erprobung (R. König)              | 104 |
| 8. | Zentrale Einrichtung Synthese und Sequenzierung (PD Dr. H.-J. Wieker)          | 109 |
| 9. | Zentrales Laboratorium für Mikrobiologie und Biotechnologie (Dr. D. Kuschnitz) | 111 |

**Liste der Publikationen und Vorträge**

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 1. | Kongressvorträge, zu denen eingeladen wurden und sonstige Vorträge, zu denen eingeladen wurden |     |
|    | Abteilung I  | 114 |
|    | Abteilung II   | 116 |
|    | Emeritusarbeitsgruppen   | 117 |
|    | Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen   | 119 |

|    |  |            |
|----|--|------------|
| 2. | Freie Kongreßbeiträge sowie sonstige freie Vorträge  |            |
|    | Abteilung I  | 123        |
|    | Abteilung II   | 124        |
|    | Zentrale Einrichtungen   | 126        |
|    | Emeritusarbeitsgruppen   | 128        |
|    | Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen   | 129        |
| 3. | 1993 erschienene oder im Druck befindliche Originalarbeiten<br>in referierten Zeitschriften (ohne Abstracts) |            |
|    | Abteilung I  | 131        |
|    | Abteilung II   | 134        |
|    | Abteilung III  | 139        |
|    | Zentrale Einrichtungen   | 140        |
|    | Emeritusarbeitsgruppen   | 141        |
|    | Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen   | 142        |
| 4. | Andere Veröffentlichungen  |            |
|    | Abteilung I  | 144        |
|    | Abteilung II   | 145        |
|    | Abteilung III  | 146        |
|    | Zentrale Einrichtungen   | 148        |
|    | Emeritusarbeitsgruppen   | 148        |
|    | Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen   | 150        |
| 5. | Abstracts  |            |
|    | Abteilung I  | 153        |
|    | Abteilung II   | 153        |
|    | Abteilung III  | 154        |
|    | Zentrale Einrichtungen   | 155        |
|    | Emeritusarbeitsgruppen   | 156        |
|    | Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen   | 157        |
|    | <b>Diplomarbeiten, Promotionen, Habilitationen und<br/>Auszeichnungen</b>                                    | <b>161</b> |
|    | <b>Förderung durch Drittmittel, Gastwissenschaftler etc.</b>   | <b>163</b> |

**Wissenschaftliche Zusammenarbeit**

|    |                     |     |
|----|---------------------|-----|
| 1. | Inland              | 164 |
| 2. | Ausland             | 170 |
| 3. | Auslandsaufenthalte | 175 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Mitarbeit an Universitäten und anderen Instituten</b> | 177 |
|--|-----|

**Veranstaltungen**

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 1. | Seminarvorträge                        | 181 |
| 2. | Biomedizinische Kolloquien             | 186 |
| 3. | Kongresse, Arbeitsgespräche, Symposien | 186 |

**Berufsausbildung am Institut**

|    |                          |     |
|----|--------------------------|-----|
| 1. | Biologielaboranten       | 188 |
| 2. | Feinmechaniker           | 189 |
| 3. | Glasapparatebauer        | 189 |
| 4. | Fotolaborant             | 189 |
| 5. | Liste der Auszubildenden | 190 |

**Verzeichnis der wissenschaftlichen Mitglieder, der wissenschaftlichen und wissenschaftlich-technischen Mitarbeiter sowie der Stipendiaten, Doktoranden und Diplomanden**

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 1. | Abteilung I: Prof. Dr. A. Wittinghofer | 191 |
| 2. | Abteilung II: Prof. Dr. R.K.H. Kinne   | 192 |
| 3. | Abteilung III: Prof. Dr. R. Goody      | 193 |
| 4. | Geschäftsführer                        | 194 |
| 5. | Verwaltung / VAD                       | 194 |
| 6. | Zentrale Einrichtungen                 | 194 |

|    |   |            |
|----|---|------------|
| 7. | Sonstige wissenschaftliche Organisationseinheiten         |            |
|    | a) Emeriti  | 197        |
|    | b) Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen | 197        |
| 8. | Studentische Hilfskräfte                                  | 198        |
|    | <b>Index</b>  | <b>199</b> |

## **Allgemeine Vorbemerkungen**

Am 01.01.1993 wurden das Max-Planck-Institut für Ernährungsphysiologie und das Max-Planck-Institut für Systemphysiologie zu einem neuen Institut, dem Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, vereinigt.

Im Rahmen des Neuanfangs erfolgte daher schwerpunktmäßig der Aufbau der Abteilungen Strukturelle Biologie, Leitung Prof. Dr. A. Wittinghofer und der Abteilung Physikalische Biochemie, Leitung Prof. Dr. R. Goody sowie die Zusammenführung und Neuorganisation verschiedener zentraler Einrichtungen. Damit verbunden waren Bauarbeiten, Renovierungen und Umzüge innerhalb des Hauses. Dadurch bedingt, kann dieser Bericht nur begrenzt Auskunft über die wissenschaftlichen Arbeiten des neuen Instituts und insbesondere der neuen Abteilungen geben - zur Information über die in den letzteren bearbeiteten Gebiete sind daher nur die Veröffentlichungslisten beigefügt. Außerdem ist zu beachten, daß die Arbeiten unter erschwerten Bedingungen durchgeführt wurden. Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern ist an dieser Stelle daher für Ihre Unterstützung bei der Neugestaltung und Ihren Einsatz für die wissenschaftliche Arbeit besonders zu danken.

## ABTEILUNG II: EPITHELPHYSIOLOGIE (Leitung: Prof. Dr. R.K.H. Kinne)

### 1. Arbeitsgruppe Prof. Dr. R.K.H. Kinne

#### Allgemeine Thematik:

#### 1. Struktur-Funktionsbeziehung von Natriumkotransportsystemen:

Zu diesem Thema wurden die vergleichend physiologischen Untersuchungen fortgesetzt, wobei unsere Arbeitsgruppe die phänomenologische Beschreibung der Transporteigenschaften (Phenotyping) übernahm, während parallel molekularbiologische Arbeiten in der Arbeitsgruppe von Frau Dr. A. Morrison-Shetlar bzw. von Herrn Dr. A. Werner durchgeführt wurden. Ziel dieser Arbeiten ist es, die funktionell wesentlichen Elemente in der Struktur der Kotransporter zu identifizieren und die Wechselwirkung zwischen Struktur und Funktion zu definieren (siehe auch Arbeitsbericht Dr. C.T. Lin).

#### 2. Osmo- und Volumenregulation in papillären Sammelrohrzellen:

Hierbei stehen insbesondere die organischen Osmolyte und ihre Freisetzung betreffende Fragen im Mittelpunkt des Interesses. Veränderungen von elektrophysiologischen Membranparametern und intrazellulären Parametern, wie Calcium oder pH, werden parallel in der Arbeitsgruppe von Herrn Dr. F. Wehner untersucht.

#### 3. Arbeiten im Rahmen der medizinischen Forschung:

Hier lagen die Schwerpunkte zum einen auf der Etablierung molekularbiologischer Methoden für pathologische Fragestellungen, zum anderen wurden Fragen der Therapie von Harnblasentumoren mit Hilfe der Zellkultur und biochemisch untersucht.

#### **Projekt 1: Vergleich der Eigenschaften des renalen D-Glukosetransporters in der Haifischniere (*Squalus acanthias*) und des Rochens (*Raja erinacea*)**

(E. Kinne-Saffran, H. Kipp, A. Morrison-Shetlar)

Wie schon berichtet, unterscheiden sich die Transportsysteme dieser beiden Elasmobranchier in der Transportstöchiometrie, in ihrer Affinität für D-Glukose und ihrer Affinität für Phlorrhizin. Ziel der jetzt durchgeführten Untersuchungen war es, die Wechselwirkung der Transporter mit Phlorrhizin näher zu untersuchen. Dazu wurden

Bürstensaummembranvesikel aus den Nieren mit Hilfe der Differentialpräzipitation isoliert und mit Hilfe der Filtrationsmethode ihre Transporteigenschaften analysiert. Dabei zeigte sich bei der Analyse der Daten nach Dixon, daß in der Rochenniere Phlorrhizin den natriumabhängigen D-Glukosetransport kompetitiv hemmt. In der Haifischniere ergab sich eine nichtkompetitive Hemmung. Die Ergebnisse lassen sich erklären, wenn man annimmt, daß Phlorrhizin in beiden Systemen sowohl mit der D-Glucosebindungsstelle als auch mit weiteren Bindungsstellen für den aromatischen Agluconanteil des Glykosids in Wechselwirkung tritt. Da im Falle der Rochenniere die Affinität für D-Glucose sehr viel höher ist, wird die Wirkung von Phlorrhizin hauptsächlich durch die Eigenschaften der D-Glucosebindungsstelle bestimmt und es resultiert das Bild einer kompetitiven Hemmung, wobei D-Glucose mit dem glykosidischen Zucker des Phlorrhizins kompetiert. Im Falle der Haifischniere ist die Affinität für D-Glucose geringer und wahrscheinlich die Bindung für den Agluconanteil verstärkt, daher wird eine nicht kompetitive Hemmung beobachtet. Diese Befunde bestätigen zum einen die Unterschiede in der D-Glucoseaffinität, zum anderen weisen sie auf zusätzliche Unterschiede in der Struktur der Agluconbindungsstellen hin. Zur Zeit durchgeführte Sequenzierung der Klone von beiden Transportern sollten Aufschlüsse über Struktur- Funktionsbeziehungen bringen.

**Projekt 2: Kinetische Eigenschaften des Natrium-Phosphatkotransportsystems in der Flunder (*Pseudopleuronectes americanus*)**

(E. Kinne-Saffran, A. Werner)

Wie schon ausgeführt (siehe Arbeitsbericht Dr. A. Werner) wird im proximalen Tubulus der Flunderniere anorganisches Phosphat sowohl resorbiert als auch sezerniert, während z. B. bei der Ratte nur eine Resorption beobachtet wird. Es muß also ein signifikanter Unterschied der Natriumphosphatkotransportsysteme in beiden Spezies vorliegen. Deshalb wurden Bürstensaummembranvesikel aus isolierten Tubuli der Flunderniere isoliert und die Kinetik der Phosphataufnahme mit Hilfe der Filtrationsmethode bestimmt. Dabei zeigte sich, daß in den Vesikeln Phosphat in der Anwesenheit eines Natriumgradienten vorübergehend akkumuliert wird, daraus kann auf die Anwesenheit eines Natriumphosphatkotransportsystems geschlossen werden. Folgende kinetische Daten wurden ermittelt: scheinbare Affinität für Phosphat (pH=8.2) 0.47 mM, scheinbare Affinität für Natrium (0.05 mM  $P_i$ ) 58 mM. Im Hill plot ergab sich ein Hill-Koeffizient von 3.2 was für eine hohe Stöchiometrie ( $Na/P_i = 3$ ) spricht. Die pH-Abhängigkeit des Transportes ergab, daß der Transport im Bereich von 6.2 bis 8.2 ständig anstieg, was für eine bevorzugte Translokation des sekundären  $HPO_4^{2-}$  sprechen kann.

Die hier gefundenen Eigenschaften zeigen signifikante Unterschiede zu denen, die für den von Herrn Dr. A. Werner aus Flundernierentubuli klonierten und in Oocyten exprimierten Phosphattransporter ermittelt wurden. Der Grund dafür könnte in der Heterogenität der Tubuli oder auf einen unterschiedlichen Status des Transporters bei Untersuchung in der nativen Umgebung oder nach Expression hinweisen. Weitergehende Untersuchungen werden versuchen, diese Fragen zu klären.

**Projekt 3: Quantitative Bestimmung freigesetzter und intrazellulärer organischer Osmolyte aus Sammelrohrzellen der Rattenniere mit Hilfe von HPLC**

(B. Ruhfus)

In Sammelrohrzellen werden neben Sorbit und Glycerophosphorylcholin (GPC), die bisher von unserer Arbeitsgruppe untersucht wurden, auch myo-Inosit, Betain und Taurin in größerem Umfang zur Osmoregulation benutzt. Bisher konnten die letzteren Osmolyte nicht untersucht werden, da geeignete Nachweismethoden fehlten. Daher wurde eine Methode im Labor entwickelt, mit der alle Osmolyte mit hoher Empfindlichkeit sowohl in wässrigen Überständen als auch in Zellextrakten bestimmt werden können.

Gemische organischer Osmolyte, diverser Zucker wie Glucose, Maltose und Fructose, sowie Harnstoff können mit einer speziellen HPLC-Säule (Sugar Pak I von Waters, Millipore) getrennt und mittels Eichstandards quantifiziert werden. Das bedeutet, daß gleichzeitig alle wichtigen organischen Osmolyte intrazellulär sowie in Überständen erfaßbar werden, wobei die Nachweisgrenze im Picomolbereich liegt. Die Proben müssen für die HPLC mittels spezieller Kartuschen entfettet und ensalzt werden.

**Projekt 4: Aufbau von polarisierten Primärkulturen aus Sammelrohrzellen der Rattenniere**

(B. Ruhfus)

Mit Hilfe differenzierter, polarisierter Kulturen aus Sammelrohrzellen soll die Lokalisation der Transportsysteme der organischen Osmolyte bestimmt werden.

IMCD-Zellen aus der Rattenniere werden nach der Methode von Grunewald/Kinne isoliert und in DMEM-Nährmedium aufgenommen. Auf dünn mit Kollagen bestriche-

nen Filtern werden die Zellen ausgesät und beidseitig 2.5 ml isotones (600 mosmol) Nährmedium zugegeben, das zur Osmolaritätserhöhung 200 mosmol NaCl und 100 mosmol Harnstoff enthält. Neben den Zusätzen, die auch die Arbeitsgruppe Dr. H. Sauer verwendet, werden außerdem Aldosteron (0.1  $\mu$ M), Vasopressin (1  $\mu$ M), Insulin (1  $\mu$ M) sowie jeweils 5 mM Betain und Taurin zugesetzt. Die unbedingt notwendige Konfluenz der Zellmonolayer wird durch Bestimmung von Laktat im basalen und apikalen Kompartiment sowie über Widerstandsmessungen mit einem speziellen Epithel-Volt-Ohmmeter sichergestellt. Je höher der Widerstand ist, desto mehr ist der Ausstrom von Laktat auf das basale Kompartiment beschränkt. Sobald der Widerstand mindestens 300  $\Omega$  beträgt - in der Regel nach 5 Tagen - gelten die Kulturen als konfluent.

Bei hypotonem Schock treten die Osmolyte entsprechend der Lage der Transportsysteme entweder apikal oder/und basal aus dem Zellmonolayer aus und können im Überstand gemessen werden.

Aus den Ergebnissen der Bestimmung der Osmolyte nach hypotonem Schock der polarisierten Primärkulturen geht hervor, daß die Transportsysteme für Sorbit und myo-Inosit wahrscheinlich in der basal-lateralen Membran lokalisiert sind, während GPC einen etwas stärkeren Ausstrom auf der luminalen Seite zeigt. Für Betain können noch keine eindeutigen Aussagen getroffen werden.

Die bis jetzt gewonnenen Ergebnisse sollen in Zukunft gefestigt werden. Darüber hinaus werden Versuche mit verschiedenen Stimulatoren und Hemmstoffen der Transportsysteme durchgeführt werden, um ihren Einfluß auf die Freisetzung oder Aufnahme organischer Osmolyte zu charakterisieren. Ein Schwerpunkt wird dabei die Untersuchung der Rolle der G-Proteine sein, ein weiterer der Einfluß von ATP.

### **Projekt 5: $\text{Ca}^{2+}$ -Abhängigkeit der Osmolytfreisetzung** (B. Ruhfus)

In vorangegangenen Arbeiten konnten wir zeigen, daß die Freisetzung von Sorbit im hypotonen Schock von der Anwesenheit extra- (und intrazellulären) Calciums abhängig ist. Offen war die Frage, ob auch die Freisetzung anderer Osmolyte durch Calcium gesteuert wird.

Suspensionen frisch isolierter IMCD-Zellen der Rattenniere wurden einem hypotonen Schock unterzogen und die Freisetzung der organischen Osmolyte mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$  zum Transportmedium mit Hilfe der HPLC bestimmt.

Dabei ergab sich eine relativ strenge Ca-Abhängigkeit für die Freisetzung von Sorbit sowie eine teilweise Abhängigkeit für myo-Inosit, während Betain  $\text{Ca}^{2+}$ -unabhängig freigesetzt wurden. GPC scheint durch Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$  während des hypotonen Schocks eher gehemmt zu werden.

In Zukunft sollen ähnliche Versuche an den polarisierten Zellkulturen durchgeführt werden, besonders um festzustellen, von welcher Seite Calcium wirksam ist.

### **Projekt 6: Charakterisierung des myo-Inosit-Transporters in isolierten Sammelrohrzellen**

(B. Ruhfus)

Die myo-Inosit-Aufnahme in IMCD-Zellen der Rattenniere soll mit Hilfe von tritiiertem myo-Inosit ( $^3\text{H}$ -myo-Inosit) untersucht werden. Als Vorversuch wurden zunächst die Extra- und Intrazellulärräume der Suspension aus frisch isolierten Sammelrohrzellen bestimmt.

Die Zellen wurden bei 300 mosmol isoliert und unterschiedlich lang mit  $^3\text{H}$ -markiertem Wasser und  $^{14}\text{C}$ -markiertem Polyethylenglykol inkubiert. Das Wasser verteilt sich im gesamten Zellvolumen, während das Polyethylenglykol die Zellmembranen nicht passieren kann und somit den Extrazellulärraum markiert. Durch Unterdruckfiltration über eine poröse Membran wird überflüssige Lösung abgesaugt und nur die Substanzen im Intra- und Extrazellulärraum bleiben zurück und können in einem Szintillationszähler vermessen werden. Aus der Differenz von Gesamtvolumen und Extrazellulärraum läßt sich dann entsprechend der Intrazellulärraum berechnen.

Sowohl bei  $37^\circ\text{C}$  als auch bei  $0^\circ\text{C}$  ergab sich ein Gesamtvolumen von  $2000 \mu\text{l}/\text{mg}$  Protein), wovon rund 46 % ( $920 \mu\text{l}/\text{mg}$  Protein) auf den Intrazellulärraum entfielen.

Bei zukünftigen Untersuchungen des myo-Inosit-Transportsystems können die Ergebnisse nun auf den Intrazellulärraum bezogen werden.

**Projekt 7: Charakterisierung der Transportsysteme für Alanin, Leucin und Prolin in papillären Sammelrohrzellen der Rattenniere**  
(G. Bauernschmitt)

Der zuvor beschriebene  $\text{Na}^+$ -abhängige Transport von radioaktiv markiertem Alanin in die Sammelrohrzellen (siehe Jahresbericht 1992) wurde durch weitere Untersuchungen näher charakterisiert. Die Selektivität der Alaninaufnahme ließ sich durch die Applikation des jeweils 40-fachen Überschusses unmarkierter Aminosäuren bestimmen. Glycin und Prolin, beides Substrate für das Transportsystem A für neutrale Aminosäuren, führten zu einer signifikanten Hemmung der Alaninaufnahme um 31,3 % bzw. 23,4 %. Die Erhöhung der Glycin- und Prolinkonzentration von 2 auf 10 mM verstärkte die Hemmung auf 68,2 % bzw. 55,9%. Leucin, welches Substrat für das Transportsystem L für verzweigte Aminosäuren ist, führte zu einer signifikanten Hemmung um 39,7 %. Diese Befunde deuten auf eine Beteiligung der Transportsysteme A und L beim Alanintransport hin. Der weitaus größte Teil wird, wie zuvor ermittelt, (siehe Jahresbericht 1992) durch das Transportsystem ASC für neutrale Aminosäuren aufgenommen (80 % der  $\text{Na}^+$ -abhängigen Aufnahme).

Um die Natur des Einflusses von Leucin auf die Alaninaufnahme zu bestimmen, wurde die  $\text{Na}^+$ -abhängige Aufnahme von radioaktiv markiertem Leucin untersucht. Es zeigte sich, daß der 40-fache Überschuß von Alanin (und ebenso Serin und Cystein) den Leucintransport um 48,1 %, 51,7 % und 72,3 % hemmen konnten. Diese Hemmung war kompetitiv, wie durch einen Dixon-Plot ermittelt werden konnte. Der  $K_m$ -Wert der Leucinaufnahme mit 4,2 mM entsprach annähernd dem  $K_i$ -Wert von Leucin für die Alaninaufnahme von knapp 4 mM. Da Leucin normalerweise  $\text{Na}^+$ -unabhängig transportiert wird, wurden weitere Untersuchungen mit 2-Amino-2-Norbornancarboxylat (BCH), dem spezifischen Substrat für das Transportsystem L, durchgeführt. Hier zeigte sich, daß die Leucinaufnahme durch BCH nicht beeinflusst wird. In einer Positivkontrolle hemmte BCH die Leucinaufnahme in Rattenleberzellen dagegen deutlich (ca. 50 %). Aus diesen Befunden läßt sich ableiten, daß das Transportsystem L in den untersuchten Sammelrohrzellen nicht vorkommt und Leucin ebenfalls über das ASC-System aufgenommen wird, da Glycin und Prolin die Leucinaufnahme nicht beeinflussen.

Erste Untersuchungen zur Lokalisierung des Alanintransports innerhalb der Plasmamembran der Sammelrohrzellen ergaben eine deutliche Polarität der Aufnahme. Dazu wurden die Zellen nicht wie zuvor in Suspensionskultur gehalten, sondern über mehrere Tage auf porösen Membranfiltern mit 2 getrennten Kompartimenten für das

Medium kultiviert, so daß basolaterale und apikale Alaninaufnahme getrennt bestimmt werden konnten. Der basolaterale Anteil war dabei etwa 3,2-mal so hoch wie der apikale Anteil. Diese Verteilung erscheint für die Situation sinnvoll, da die Aminosäurekonzentration im Lumen des Sammelrohrs (apikale Zellseite) nur noch sehr gering ist. Die Versorgung der Zellen mit Aminosäuren erfolgt also über die basolaterale Seite.

Weitere Untersuchungen galten der Aufnahme von Leucin sowie dem Transportsystem von Prolin. Die  $\text{Na}^+$ -abhängige Leucinaufnahme zeigte einen  $K_M$ -Wert von 4,2 mM. Die maximale Aufnahme lag bei 18  $\mu\text{mol/g}$  Protein/min. und war damit wesentlich höher als die Alaninaufnahme mit knapp 1  $\mu\text{mol/g}$  Protein/min. Die unspezifische und  $\text{Na}^+$ -unabhängige Aufnahme erreichte mit knapp 70 % der Gesamtaufnahme ebenfalls einen höheren Wert als die Alaninaufnahme mit etwa 30 %. Die Prolinaufnahme erwies sich als schwierig zu untersuchen, da der  $\text{Na}^+$ -abhängige Anteil an der Gesamtaufnahme mit etwa 10 % nur gering war. Eine Sättigung der Aufnahme wurde auch bei einer Konzentration von 20  $\mu\text{mol/g}$  Protein/min. nicht erreicht. Die Selektivität des Prolintransports konnte nicht festgestellt werden. Ein 40-facher Überschuß verschiedener unmarkierter Aminosäuren führte außer bei Alanin nicht zu einer Hemmung der Prolinaufnahme. Alanin hemmte die Prolinaufnahme um 40,1 %. Glycin war dagegen ebenso wie Prolin selbst ohne Effekt. Die Gründe für dieses ungewöhnliche Verhalten sind nicht eindeutig bekannt. Daher soll die Prolinaufnahme durch weitere Versuche eindeutig charakterisiert werden.

**Projekt 8: Nachweis von HIV-Proviren in formalinfixiertem und paraffineinbettetem Untersuchungsmaterial**

(A. Determann, Th. Kiese, in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Schwarze, Pathologisches Institut der Städtischen Kliniken, Dortmund)

Zum Nachweis von HIV-Proviren in menschlichen Lymphknotentumoren wurde eine "nested" (geschachtelte) PCR-Methode entwickelt, bei der in einer ersten PCR-Reaktion ein bestimmter Genbereich amplifiziert wird und das gebildete Produkt dann in einer zweiten PCR-Reaktion mit Primern, die innerhalb des zuerst amplifizierten Genabschnittes liegen, nachgewiesen wird.

Nach Austestung der verschiedensten Versuchsparameter konnte festgestellt werden, daß die Nachweisgrenze bei etwa 10 Virusgenomen pro Ansatz liegt. Um sicherzustellen, daß optimale Bedingungen im Hinblick auf den Gewebeaufschluß, als auch auf die Versuchsbedingungen gegeben sind, wurde als Kontrolle der Nachweis

des Beta-Globin-Gens, welches in allen menschlichen Zellen vorhanden ist, eingesetzt. In allen Proben konnte dieses Gen ohne Schwierigkeiten nachgewiesen werden, was darauf schließen läßt, daß mit dieser Methode als HIV-negativ eingestufte Proben tatsächlich weniger als 10 Virusgenome enthalten.

Die Primer und die entsprechenden Gensonden wurden von der Zentralen Einrichtung für Synthese und Sequenzierung (Leitung Dr. Wieker) hergestellt.

### **Projekt 9: Wirkungsweise von Adriamycin und Mitomycin auf Blasencarcinomzellen**

(E. Okamoto, Ch. Pfaff, in Zusammenarbeit mit Prof. J. Sökeland, Urologische Klinik der Städtischen Kliniken Dortmund)

In dieser Studie soll untersucht werden, inwieweit ein in vitro System aufgebaut werden kann, an dem die Wirkung von Zytostatika auf Blasenzelltumoren untersucht und optimiert werden kann. Dazu wurde zunächst der Einfluß von Adriamycin und Mitomycin auf verschiedene Vitalitätsparameter wie Aufnahme von Trypanblau und Freisetzung von Laktatdehydrogenase (LDH) untersucht. Zwei Zelllinien, Linie EJ 28 und RT 112 wurden verwendet.

Blasencarcinom-Zellkulturen wurden mit Trypsin-EDTA-Lösung vereinzelt, für 2 h in F 12-Medium bei 37°C mit 1 mg/ml Adriamycin oder Mitomycin inkubiert, anschließend sedimentiert und zum einen die Anfärbbarkeit der Zellen mit Trypanblau und zum anderen die Freisetzung der LDH in den Zellüberstand enzymatisch gemessen.

Adriamycin steigerte nur in RT 112-Zellen signifikant die Aufnahme von Trypanblau (MW 960,8 Da), jedoch nicht die Freisetzung von LDH (MW 140,000 Da). Mitomycin erhöhte hingegen in beiden Zelllinien sowohl die Trypanblau- als auch die LDH-Freisetzung. Der Effekt ist dabei in RT 112-Zellen stärker ausgeprägt als in EJ 28-Zellen und die Trypanblau-Aufnahme ist generell mehr gesteigert als die LDH-Freisetzung. Diese Untersuchungen zeigen, daß die beiden Cytostatika schon nach kurzer Einwirkungsdauer eine erhebliche Erhöhung der Plasmamembranpermeabilität, insbesondere für "kleinmolekulare" Stoffe bewirken. Dabei ist die Wirkung von Mitomycin größer als die von Adriamycin und die Empfindlichkeit der Blasencarcinom-Zelllinie RT 112 höher als die der Linie EJ 28. Bei der Evaluierung der Potenz von Cytostatika müssen daher neben der antimitotischen Wirkung auch membranschädigende Einflüsse berücksichtigt werden.

In weiteren Untersuchungen sollen auch der langfristige Einfluß auf die Proliferationsrate und der Einfluß von Interferonen auf die Wirksamkeit überprüft werden. Desgleichen sind Untersuchungen über den Einfluß von Substraten des MDR-Systems (siehe Projekt 5, Arbeitsbericht Dr. E. Kinne) auf die Toxizität der beiden Substanzen geplant.

**Projekt 10: Einfluß der Volumenregulation auf die Transportrate der Na/K-ATPase in Primärkulturen von Rattenzellen**

(H. Schütz, in Zusammenarbeit mit F. Wehner)

Nachdem aus elektrophysiologischen Untersuchungen an Leberzellprimärkulturen bei RVI ein verstärkter Natriumeinstrom, gefolgt von einem Austausch durch Kalium, über die Na/K-ATPase postuliert worden war, wurde versucht, mit Hilfe von Rb-Flüssen die Transportrate der ATPase in intakten Zellen zu untersuchen. Nachdem eine starke Abhängigkeit der Rb-Aufnahme durch Ouabain gezeigt werden konnte, wurden Versuche während der RVI durchgeführt. Dabei konnten die aus den elektrophysiologischen Untersuchungen abgeleiteten Arbeitshypothesen voll bestätigt werden. (Näheres siehe Projekt 4, Arbeitsbericht Dr. F. Wehner.)

## 2. Arbeitsgruppe Dr. A. Werner

Mitarbeiter: B. Kohl, Ch. Weber, S. Lambotte

### Allgemeine Thematik

Das vergangene Jahr stand ganz im Zeichen eines Wechsels: Dr. Alison Morrison-Shetlar verließ als Arbeitsgruppenleiterin nach 6 Jahren das MPI für molekulare Physiologie Mitte Mai 1993. Dazu kam der Weggang von mehreren wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern. Andreas Werner übernahm die Gruppe ab September 1993.

Das Themengebiet, mit dem sich die Gruppe beschäftigt, hat sich nicht grundlegend geändert. Es kann (immer noch) mit "Studium epithelialer Transportvorgänge in Niere und Darm auf molekularer Ebene" umschrieben werden. Zusätzlich zum Na/D-Glukosekotransporters werden jedoch die Na/Phosphat-Kotransportsysteme untersucht.

### 1. Projekt: Genomische Analyse der Beta-Untereinheit des menschlichen Natrium/D-Glukosetransportsystems

(S. Lambotte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. H. Koepsell, Universität Würzburg)

Eine menschliche Genbank im Bakteriophagen Lambda ZAP wurde mit einem klonierten PCR-Produkt der  $\beta$ -Untereinheit aus dem menschlichen Darm untersucht. Es konnte ein Phagenklon mit einer Insertlänge von etwa 18 kbp Länge isoliert werden. Zwei Restriktionsfragmente des Phageninserts, die im Southern-Blot mit der Probe hybridisierten, wurden in den Plasmidvektor Bluescript SK+ subkloniert. Diese beiden Subklone sind 3800 bzw. 6000 Basenpaare lang und überlappen sich um etwa 800 bp.

Eine vergleichende Kartierung der Restriktionsschnittstellen im PCR-Produkt der cDNA und im längeren der beiden Subklone ergab keinerlei Hinweise auf in der genomischen Sequenz vorhandene Introns. Vermutlich umfassen diese beiden Klone daher zusammen etwa 3500 bp der 5'-nichttranslatierten Region, etwa 2000 bp der kodierenden Region und etwa 3500 bp im 3'-nichtkodierenden Bereich.

Durch die bisher noch unvollständige Sequenzierung konnte gezeigt werden, daß zumindest die ersten 100 bp des kodierenden Bereiches der genomischen Sequenz

mit der der cDNA-Sequenz identisch sind. Der Promotorbereich zeigt einige für Eukaryonten typische regulatorische Sequenzen.

Nach der Sequenzierung sind weitere Untersuchungen zur Funktion, Regulation und Lokalisation des Genes der  $\beta$ -Untereinheit des Natrium/D-Glukosetransporters geplant.

## 2. Projekt: Gezielte Mutagenese am MinK-Kanal

(B. Kohl in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. G. Boheim, Ruhr-Universität, Bochum)

Die Sekundärstruktur des langsamen, spannungsabhängigen Kalium-Kanals (MinK) besteht aus einer Membran durchspannenden  $\alpha$ -Helix mit einem anschließenden  $\beta$ -Faltblatt. Es wird angenommen, daß die Kanalpore durch diese Faltblattstruktur ausgekeidet ist. Wie weit das Modell mit der biologisch aktiven Struktur übereinstimmt, sollte mit Hilfe von gezielt geänderten Aminosäuren in der MinK-Sequenz in Kombination mit dem Oozyten Expressionssystem überprüft werden.

Die synthetisch hergestellte cDNA (Diplomarbeit R. Röspel) lag im Bakteriophagen M13mp19 vor. Anschließend wurden in der Nukleotidsequenz 9 verschiedene Einzelmutationen und 2 Doppelmutationen eingeführt. Dazu wurde die dUTP-Methode nach Kunkel angewandt. Diese Mutationen zielten darauf ab, erstens die potentielle Struktur des Kanals zu stabilisieren und damit die Aktivität zu erhöhen, zweitens das  $\beta$ -Faltblatt zu zerstören und damit die Funktion zu hemmen, oder drittens die potentiellen Glycosilierungsstellen zu entfernen, um deren Einfluß auf die Aktivität oder das Sorting zu testen.

Die Veränderungen in der cDNA-Sequenz wurden erfolgreich durchgeführt, was durch Sequenzierung bestätigt wurde. Anschließend folgte die *in vitro* Synthese der entsprechenden Information (cRNA) für den veränderten MinK. Der funktionelle Test der cRNA in *Xenopus laevis* Oozyten und damit die Antwort auf die oben aufgestellten Hypothesen steht noch aus.

Zum Schluß der Arbeit wurden noch erste Versuche unternommen, das MinK-Protein in einem *E. coli* Expressionssystem zu synthetisieren. Dabei stellte sich allerdings heraus, daß Probleme mit Plasmidinstabilität, Induzierbarkeit der T7-RNA-Polymerase und der Isolierung der exprimierten Proteine den Rahmen der Diplomarbeit sprengten.

**3. Projekt: Klonierung und Charakterisierung von renalen und intestinalen Na/P<sub>i</sub>-Transportsystemen in der Flunder (*Pseudopleuronectes americanus*)**  
(Ch. Weber)

Im Gegensatz zu den Nieren der Säugetiere, die anorganisches Phosphat (P<sub>i</sub>) ausschließlich resorbieren, ist die Flunderniere in der Lage, P<sub>i</sub> zu resorbieren als auch zu sezernieren. Auf zellulärer Ebene setzt dies neben den bekannten apikalen und basolateralen P<sub>i</sub>-transportierenden Systemen ein weiteres Protein in der Bürstensaummembran voraus, durch welches P<sub>i</sub> die Zelle ins Tubuluslumen verlassen kann. Die Richtung des P<sub>i</sub>-Flusses hängt von diversen Faktoren wie Blutphosphat Spiegel, pH oder spezifischen, noch unbekanntenen Hormonen ab. Die damit verbundene Aktivierung/Inaktivierung der einzelnen Transportproteine setzt eine genaue Regulation über "second messenger"-Systeme voraus. Eine Analyse dieses Zusammenspiels ist nur möglich, wenn die molekulare Struktur der einzelnen Komponenten bekannt ist.

Im vergangenen Jahr wurde ein Na/P<sub>i</sub>-Kotransportsystem (flounder Na/P<sub>i</sub>-II) aus der Flunderniere kloniert, das für die P<sub>i</sub>-Resorption (mit)verantwortlich ist. Die cDNA hat eine Länge von 2424 Basenpaaren und kodiert für ein Protein von 637 Aminosäuren. Ein berechnetes Modell dieses Na/P<sub>i</sub>-Kotransporters weist 8 transmembranale Domänen auf. In diesem Bereich zeigt das Protein 78 % Identität zum analogen Protein in der Rattenniere. In den hydrophilen Bereichen sinkt die Homologie auf 30 %.

*In vitro* transkribierte RNA (cRNA) von flounder Na/P<sub>i</sub>-II stimuliert in *Xenopus laevis* Oozyten spezifisch die Na-abhängige Aufnahme von P<sub>i</sub>. Die Transportsteigerung ist linear abhängig von der Inkubationszeit sowie von der Menge der injizierten cRNA. Die Affinitäten für Na und P<sub>i</sub> sind vergleichbar mit denen für Rattentransporter publizierten Werten.

Auf einem Northern-Blot konnte gezeigt werden, daß im Darm der Flunder ein zu flounder Na/P<sub>i</sub>-II analoges System exprimiert wird. Auch dieses intestinale Protein wurde kloniert und in Oozyten exprimiert. Hingegen stehen die Sequenzaufklärung und die genaue Analyse der kinetischen Eigenschaften dieses Kotransportsystems noch aus.

### 3. Arbeitsgruppe PD Dr. E. Kinne

Mitarbeiter: E. Bauernschmitt (bis 31.03.1994), Ch. Pfaff, H. Schütz

#### Allgemeine Thematik

1. Ausarbeitung von Isolierungsverfahren für luminale und kontraluminale Membranen in Epithelien:  
Zu diesem Thema wurden Methoden entwickelt, um an der Forellenniere den Transport von Mg an der Bürstensaummembran des proximalen Tubulus unter Verwendung von Membranvesikeln zu untersuchen.
2. Analyse von ATP abhängigen Transportsystemen in epithelialen Zellmembranen:  
Hierbei stand die Analyse des ATP getriebenen MDR-Proteins im Vordergrund.
3. Vergleichende Physiologie von Transportprozessen:  
Die entsprechenden Versuche wurden gemeinsam mit Prof. Dr. R. Kinne im Mount Desert Island Biological Laboratory in Maine, U.S.A., durchgeführt und sind in dessen Arbeitsbericht erwähnt.
4. Geschichtliche Entwicklung der Nephrologie und Epitheliologie:  
Hierbei ging es um die Untersuchung der Rolle von Jakob Henle bei der Aufklärung der Tubulusstruktur und bei der Etablierung eines umfassenden Konzeptes für das epitheliale Gewebe.

- 1. Projekt: Isolierung und enzymatische und funktionelle Charakterisierung von Bürstensaummembranen aus der Forellenniere**  
(C. Freire, H. Schütz, R.K.H. Kinne, in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. K. Beyenbach, Cornell University, Ithaca, N.Y., U.S.A.)

Brush border membrane vesicles were prepared from rainbow trout kidney through the differential precipitation method using Mg as the divalent cation. Those vesicles are well enriched in marker enzymes for the brush border membrane, such as alkaline phosphatase and glutamyl transpeptidase (over 8-fold as compared to the starting homogenate), as described in last year's report. We could then with this preparation fully characterize the Na/D-glucose cotransporter, itself also a marker for this highly folded apical membrane of the proximal tubule of the vertebrate kidney. The method used was the rapid filtration technique with tritiated D-glucose. It could be shown that Li, choline, N-methyl-glucamine, K or mannitol were not able to substitute Na in cis-

stimulating D-glucose uptake. Furthermore, D-glucose modified at the 2nd or 3rd carbon (2-deoxy-D-glucose or 3-o-methyl-D-glucose) was not taken up by the transporter, showing these sides of the glucose molecule to be relevant in binding to the transporter. L-glucose could also not substitute D-glucose. This Na-dependent D-glucose uptake was sensitive to phlorizin, the specific inhibitor for the transporter in the mammalian kidney, with a  $K_i$  of 12  $\mu\text{M}$  as indicated by the Dixon Plot. Under short-circuit conditions, attained with 100 mM KSCN on both sides of the membrane and 100  $\mu\text{M}$  valinomycin, a  $K_M$  of 1.3 mM was obtained for D-glucose, with the  $V_{\text{max}}$  of 7.1 nmol/mg protein. For Na, considered as substrate, a very high  $K_M$  of 240 mM was obtained with a  $V_{\text{max}}$  of 0.78 nmol/mg protein. The Hill plot indicated a 1:1 stoichiometry of binding.

## **2. Projekt: Untersuchungen über den Mechanismus des Mg-Transportes in isolierten Bürstensaummembranen der Forellenniere**

(C. Freire, H. Schütz, R.K.H. Kinne, in Zusammenarbeit mit Prof. K. Beyenbach, Cornell University, Ithaca, N.Y., U.S.A.)

A different approach was used to obtain Mg-free vesicles for the study of Mg transport. Microsomal vesicles were prepared through a differential centrifugation method using sucrose, and the final "microsomal" membrane fraction obtained showed some enrichment in the brush-border membrane marker enzymes cited above (above 5.5-fold). Mg transport experiments were performed using the short half-life isotope Mg also with the rapid filtration technique. Since the above described membrane preparation is not directed to isolate exclusively border membranes, it was desirable to have further indication that the Mg pathway could possibly be related to the brush border membrane. This was accomplished by pre-incubating vesicles with Mg and observing that their Mg content after a certain time was sensitive to the voltage inside the vesicles as generated by the action of the Na/D-glucose cotransporter. This provided evidence for both pathways being present in the same membrane vesicles, or in the same membrane domain, i.e., the brush-border membranes originated from the proximal tubule. Since it is known that Mg binds strongly to the membranes and to a large extent unspecifically it was important to determine the relative amount to ascertain that we were dealing with real movement of Mg to the internal volume of the vesicles. When vesicles were pre-shrunk with 0.5 M sucrose and the uptake was subsequently reduced to 28 % (after 1 min), showing that a considerable amount of Mg goes indeed to the osmotically-responsive space inside the vesicles. The voltage-dependent and osmotically-responsive movement of Mg through the membrane of those vesicles was shown to

be sensitive to PCMB and PCMBS and to the ionophore A23187, all those 3 compounds greatly increasing the permeability to Mg. Sodium gradients had no clear effect, as well as proton or chloride gradients. Likewise, Ca-channel inhibitors such as verapamil, D-600, diltiazem or NiCl<sub>2</sub> had no major effect, suggesting that we are not dealing with some sort of calcium channel. Trivalent cations such as La and Gd were highly potent in inhibiting Mg movement (0.1 mM), whereas divalent cations were much less effective (20 mM) but acted in a selective way, in that Co, Mn and Mg itself were the most potent inhibitors (also being the ions with the smallest radius); Ca, Sr and Ba had little or no effect. The present results show that we have evidence for a selective Mg pathway in the brush-border membrane of the rainbow trout kidney. A further characterization is under progress.

**3. Projekt: Vergleichend physiologische Untersuchungen über den Na-Glukose und den Na-Phosphatkotransport in Fischnieren**

(siehe 1. und 2. Projekt im Arbeitsbericht Prof. R.K.H. Kinne)

**4. Projekt: Nachweis des "multi drug resistance" (MDR) Proteins in Nierenzellmembranen und Blasenzelltumoren**

(Ch. Pfaff, R.K.H. Kinne, E. Okamoto in Zusammenarbeit mit Prof. J. Sökeland, Urologische Klinik der Städtischen Kliniken, Dortmund)

Unter Verwendung eines kommerziell erhältlichen Antikörpers wurde ein ELISA etabliert, mit dem es möglich ist, semiquantitativ das MDR Protein in biologischen Proben nachzuweisen. Beim Aufbau des Tests war entscheidend, eine Methode für die Fixierung der Proben an die Multiwellplatten zu finden, die eine optimale Antigen-Antikörperreaktion erlaubt. Dies gelang mit der sog. Alkalibehandlung, jedoch nicht mit der Glutaraldehydfixierung.

Mit dieser Methode konnte die Anwesenheit des Proteins in Bürstensaummembranen der Haifischniere und in dem Blasenzelltumorklinien RT 112 und EJ 28 nachgewiesen werden. Die Anwesenheit im Bürstensaum soll mit ATP-getriebener Sekretion von Xenobiotica in Verbindung stehen. Dieser Transport ist jedoch noch nicht direkt nachgewiesen worden und wird weiter untersucht.

Bei den Blasenzelltumoren zeigte sich, daß die Menge an MDR, bezogen auf das Gesamtprotein, in der Linie RT 112 signifikant niedriger war als in der Linie EJ 28. Damit könnte die höhere Empfindlichkeit der letzteren Zelllinie gegenüber Cytostatika dadurch erklärt werden, daß EJ 28 durch die höhere MDR Protein Konzentration diese Stoffe verstärkt aus der Zelle heraustransportiert und somit intrazellulär eine

niedrigere Dosis erreicht wird. Eine genauere Untersuchung der Transporteigenschaften dieses Systems könnte Ansätze für die Verbesserung der Therapie bringen.

**5. Projekt: Rolle der Aldosereduktase bei der osmotischen Adaptation von Blasenzellkulturen an verschiedene Osmolaritäten**

(Ch. Pfaff, R.K.H. Kinne, in Zusammenarbeit mit Prof. Boldt und Dr. Föllmann, Abteilung Toxikologie des Instituts für Arbeitsphysiologie, Dortmund)

Zellen der Harnblase sind, ebenso wie die Zellen des inneren Nierenmarks, starken Schwankungen der Osmolalität ausgesetzt. Um die Mechanismen der Adaptation der Blasenzellen an verschiedenen Osmolalitäten zu untersuchen, wurden Primärkulturen von Schweineblasenzellen angelegt und diese bei 300 mosmol, 600 mosmol oder 900 mosmol weiterkultiviert. Die unterschiedliche Osmolalität wurde durch stufenweise Erhöhung der NaCl-Konzentration im Medium erreicht. Nach etwa 2 Wochen wurden die Zellen geerntet, lysiert und die Homogenate durch Ultrafiltration eingeeengt. Die Messung der Aldosereduktase in diesen Proben erfolgte dann über einen an NADPH gekoppelten Testansatz.

Es ergab sich dabei eine mit der Osmolalität ansteigende, spezifische Aktivität der Aldosereduktase. In Zellen, die bei 900 mosmol kultiviert worden waren, fand sich eine um den Faktor 10 höhere Aktivität als in den Zellen, die bei 300 mosmol gewachsen waren.

Diese Befunde zeigen, daß die Adaptation von Harnblasenzellen an unterschiedliche Osmolalitäten, ähnlich wie in der Nierenpapille, über eine Erhöhung der Aktivität der Aldosereduktase erfolgt. In weiteren Untersuchungen soll geklärt werden, inwieweit Harnblasenzellen auch noch andere Osmolyte als Sorbitol enthalten und wie die intrazelluläre Konzentration der organischen Osmolyte reguliert wird.

**6. Projekt: Die Rolle von Jakob Henle bei der Beschreibung der Struktur des Nierentubulus und der Etablierung des Begriffs epitheliales Gewebe**

(auf Einladung von Prof. De Santo und Prof. Capasso, Neapel, Italien)

Im Rahmen eines Beitrages zum ersten Internationalen Kongress der Geschichte der Nephrologie wurde der Lebenslauf von Jakob Henle (1809 - 1885) rekonstruiert und seine Untersuchungen über die Tubulusstruktur und insbesondere die Umstände der Entdeckung der nach ihm benannten Tubulusschleife im Nierenmark nach

vollzogen. Dabei zeigte sich, daß sich ein erster Hinweis auf das Vorhandensein von schleifenartigen Strukturen im Nierenmark aus hufeisenförmigen Ausgusskonkrementen in Leichennieren ergab. Anschließend wurden die Segmente durch geeignete Mazerationsverfahren und lichtmikroskopische Analysen sicher nachgewiesen (1862). Ihre Zuordnung zum Nephronverlauf erfolgte jedoch erst durch Schweigger-Seidl (1865). Die funktionelle Bedeutung im Gegenstromsystem und ihre Rolle bei der Harnkonzentrierung wurde erst 1951 von Wirz, Hargitay und Kuhn postuliert.

Bei der Recherche zeigte sich, daß J. Henle sich in seiner lateinischer Sprache verfaßten Habilitationsschrift (1837) allgemein mit Epithelien befaßte und als erster durch lichtmikroskopische Untersuchungen nachwies, daß sämtliche innere Oberflächen des Körpers mit zellulären Elementen bedeckt sind, die sich in Form und Funktion unterscheiden. Er prägte die Begriffe Plattenepithel, Zylinderepithel und Flimmerepithel und ist damit als Vater der Epitheliologie zu betrachten. Diese Untersuchungen sind zur Veröffentlichung eingereicht.

#### 4. Arbeitsgruppe Dr. F. Wehner

Mitarbeiter: G. Beetz, S. Boese, A. Giffey (ab 15.07.1993), C. Kirchhofer (bis 14.02.1993), S. Rosin-Steiner, Dr. H. Sauer, C. Theiss (vom 01.03.-30.06.1993), H. Tinel

##### **Methoden und allgemeine Thematik**

Die Arbeitsgruppe untersucht epitheliale Transportprozesse mit elektrophysiologischen und optischen Methoden. Zu den verwendeten Techniken gehören die Ableitung von einzelnen Ionen-Kanälen ('patch-clamp'), intrazelluläre Messungen mit konventionellen und ionensensitiven Mikroelektroden, Bestimmung von Ionenströmen mit der 2-Elektroden-Spannungsklemme ('voltage-clamp'), Messung transepithelialer elektrischer Parameter, mikrofluorometrische Messungen des Zell-Ca<sup>++</sup> sowie konfokale Laser-Rastermikroskopie.

Es wurden folgende Projekte bearbeitet:

##### 1. Mechanismen der zellulären Osmoregulation

Regulatorische Volumenabnahme und regulatorische Volumenzunahme an verschiedenen Systemen (konfluente Ratten-Hepatozyten in Primärkultur, konfluente Primärkulturen von papillären Sammelrohrzellen der Rattenniere).

##### 2. Transportprozesse in den Zellmembranen von Rattenhepatozyten

Gallensäuretransport und Transport von Bromosulphthalein (BSP), Wirkung verschiedener Stilben-Derivate auf die Zellmembran von Hepatozyten.

##### 3. Ca<sup>++</sup> und pH-Regulation in Sammelrohrzellen der Rattenniere

##### 4. Untersuchung von Integrinen in Uterus-Epithelzellen

#### **1. Projekt: Ionale Mechanismen der regulatorischen Volumenzunahme von Ratten-Leberzellen in Primärkultur**

(G. Beetz, S. Rosin-Steiner)

In der isolierten, perfundierten Rattenleber besteht die Reaktion von Hepatozyten auf hypertonen Streß (nach einer initialen, passiven Schrumpfung) in einer teilweisen regulatorischen Volumenzunahme ('regulatory volume increase' = RVI). Im Gegensatz hierzu zeigen isolierte Ratten-Leberzellen kein RVI, sondern nur ein 'post RVD-RVI', d.h. eine regulatorische Volumenzunahme bei Rückkehr zu normosmotischer Außenlösung nach vorangegangener RVD ('regulatory volume decrease') unter hy-

potonem Streß. Als Mechanismus von RVI und 'post RVD-RVI' wird eine Zunahme der Aktivität des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers in der sinusoidalen Membran der Leberzellen diskutiert. (Diese Arbeitshypothese beruht im wesentlichen auf der Hemmbarkeit dieser Prozesse durch 1 mmol/l Amilorid).  $\text{Na}^+$  würde die Zelle dann über die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase wieder im Austausch gegen  $\text{K}^+$  verlassen, so daß sich netto die  $\text{K}^+$ -Konzentration in den Zellen erhöht. Als weiterer Mechanismus wird (für die Leber der Maus) eine Abnahme der  $\text{K}^+$ -Leitfähigkeit unter hypertonem Streß diskutiert, die jedoch für sich allein nur eine unterstützende Wirkung beim RVI haben dürfte.

Die ionalen Mechanismen des RVI und des post RVD-RVI von Ratten-Leberzellen wurden an konfluenten Monolayern in Primärkultur mit Hilfe konventioneller Mikroelektroden in Ionen-Substitutionsversuchen ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ) und in Kabelanalysen untersucht. Es ergab sich ein von der oben beschriebenen Arbeitshypothese abweichendes Bild, das z.Zt. quantifiziert wird.

**2. Projekt: Veränderungen der intrazellulären  $\text{Na}^+$ -Konzentrationen von Ratten-Leberzellen in Primärkultur unter hypertonem Streß**  
(S. Rosin-Steiner)

Die Auswirkungen von hypertonem Streß auf die intrazellulären  $\text{Na}^+$ -Konzentrationen wurden mit Hilfe von ionensensitiven Glasmikroelektroden untersucht. Hierzu wurden Zellen gleichzeitig mit  $\text{Na}^+$ -sensitiven und konventionellen (Referenz) Einkanal-Elektroden punktiert. Es zeigte sich eine transiente, etwa 2fache Erhöhung der intrazellulären  $\text{Na}^+$ -Konzentration beim RVI, nicht aber beim post RVD-RVI.

**3. Projekt: Messung der intrazellulären  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Gehalte von Ratten-Leberzellen im Rahmen von RVI und post RVD-RVI mit Hilfe der Röntgen-Mikrosonde**  
(S. Rosin-Steiner, in Zusammenarbeit mit K. Zierold und S. Dongard)

Die Röntgen-Mikrosonde ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung des intrazellulären Gehaltes an  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  und damit auch Rückschlüsse auf die Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. In ersten Versuchen zeigte sich eine transiente Erhöhung des zellulären  $\text{Na}^+$ -Gehaltes beim RVI, während sich der  $\text{K}^+$ -Gehalt nicht deutlich ändert.

Die Versuche werden fortgeführt

**4. Projekt: Bestimmung der Transportrate der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase von Ratten-Leberzellen in Primärkultur vor und während RVI und post RVD-RVI**  
(in Zusammenarbeit mit R.K.H. Kinne und H. Schütz)

Die Aktivität der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase wurde über die zeitabhängige und Ouabain-hemmbarbare Aufnahme von <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup> bestimmt. Es zeigte sich bereits eine signifikante Erhöhung der <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup>-Aufnahme während des RVI auf ca. 135 % der Kontrolle.

Die Versuche stehen kurz vor ihrem Abschluß.

**5. Projekt: Regulatorische Volumenzunahme (RVI) von Ratten-Hepatozyten in Primärkultur**  
(H. Sauer)

Für die Quantifizierung der regulatorischen Volumenzunahme (RVI) von Ratten-Hepatozyten wurde ein neues Verfahren entwickelt, das auf dem Fluoreszenzeigenquench des Fluoreszenzfarbstoffes Calcein beruht. Durch Erhöhung der Osmolarität des Außenmediums schrumpfen die Zellen osmotisch und der Fluoreszenzfarbstoff wird im Zytoplasma konzentriert. Durch den Fluoreszenzeigenquench kommt es zu einer teilweisen Auslöschung des Fluoreszenzsignals. Die regulatorische Volumenzunahme führt zu einem Wiederanstieg der Fluoreszenz. Kontrollversuche, die mittels der Technik optischer Schnittserien durchgeführt wurden (vergl. Projekt 9), erlaubten es, die Fluoreszenzdaten in absolute Volumenänderungen umzurechnen. Eine Erhöhung der Außenosmolarität von 300 auf 400 mosmol/l führte zu einem Schrumpfen der Zellen um ca. 11 %. In den folgenden 10 min kam es zu einer regulatorischen Volumenzunahme (RVI) von ca. 50 %. Nach Wiederherstellung der isotonen Kontrollbedingungen wurde ein Anschwellen der Zellen bis auf 7 % über den Kontrollwert beobachtet. In den darauffolgenden 5 min wird die Zellschwellung auf den Kontrollwert zurückreguliert (post RVI-RVD). Werden die Zellen in hypoosmotischem (220 mosmol/l) Inkubationsmedium 10 min präinkubiert und danach mit isoosmotischem Medium (300 mosmol/l) superfundiert (relativer hypertoner Schock), kommt es zu einem Schrumpfen der Zellen um ca. 19 % mit nachfolgender teilweiser Rückregulation um ca. 51 % der passiven Zellantwort. Rücküberführung in hypoosmotisches Medium führt hier zu einer Zellschwellung auf 9 % über Kontrolle. Ein post RVI-RVD konnte nicht beobachtet werden.

## **6. Projekt: Vergleichende Untersuchung der depolarisierenden Wirkung verschiedener Gallensäuren auf das Membranpotential von Ratten-Leberzellen in Primärkultur**

(G. Beetz, in Zusammenarbeit mit A.F. Hofmann, San Diego/USA)

Wie im Jahresbericht 1992 beschrieben, depolarisiert die Gallensäure Taurocholat das Membranpotential von Ratten-Leberzellen dosisabhängig durch Erhöhung der  $\text{Na}^+$ -Leitfähigkeit. Dieser Effekt erfolgt nach Aufnahme von Taurocholat in die Zellen und stellt möglicherweise einen negativen Rückkopplungs-Mechanismus für den Einwärtstransport dieser Gallensäure über den  $\text{Na}^+$ -Taurocholat-Kotransporter dar. In diesem Jahr wurden vergleichend die Wirkungen der Gallensäuren Cholat, Glycocholat, Deoxycholat, Taurodeoxycholat, Glycodeoxycholat, Chenodeoxycholat, Taurochenodeoxycholat, Glycochenodeoxycholat und Tauroursodeoxycholat auf das Membranpotential von Leberzellen untersucht. Es zeigten sich bei allen Gallensäuren dosisabhängige Depolarisation, die sich jedoch in ihren Amplituden deutlich voneinander unterscheiden.

Ziel ist es, die depolarisierenden Wirkungen der Gallensäuren mit ihren Strukturen, den physikochemischen Eigenschaften und/oder der Akzeptanz der bekannten Gallensäuretransporter zu korrelieren.

## **7. Projekt: Membraneffekte verschiedener Stilben-Derivate**

(G. Beetz und S. Rosin-Steiner)

Im Jahresbericht 1992 wurde beschrieben, daß das Stilben-Derivat DIDS (4,4'-diisothiocyanatostilben-2,2'-disulfonsäure) - eine Substanz, die als Standard-Hemmstoff von Anionen-Transportprozessen gilt - in konfluenten Primärkulturen von Ratten-Hepatozyten zu einer erheblichen Hyperpolarisation des Membranpotentials führt. Dieser Effekt beruht auf der Erhöhung der zellulären  $\text{K}^+$ -Leitfähigkeit nach Aufnahme der Verbindung über den Bilirubin/BSP (Bromosulphthalein)-Transportweg.

In diesem Jahr wurden die Untersuchungen auf andere Stilben-Derivate ausgedehnt. Wie sich in Ionen-Substitutionsversuchen und in einer Kabelanalyse zeigte, ist  $\text{H}_2$ -DIDS (4,4'-diisothiocyanatodihydrostilben-2,2'-disulfonsäure) in seiner Wirkung auf die Leberzellmembran dem DIDS im wesentlichen ähnlich. Im Gegensatz hierzu führt SITS (4-acetamino-4'-isothiocyanatostilben-2,2'-disulfonsäure) zu keinen Veränderungen des Membranpotentials, aber zu einer signifikanten Herabsetzung der  $\text{Cl}^-$ -Leitfähigkeit (die DIDS und  $\text{H}_2$ -DIDS ebenfalls zeigen).

Es ist geplant, die Untersuchungen auf andere Stilbene auszudehnen. Eine solche vergleichende Studie wäre von besonderem Interesse, da mittlerweile eine breite

Palette von Substanzen verfügbar ist, ist die als Hemmstoffe von Anionen-Transportprozessen gehandelt werden und sich bezüglich Selektivität und Reversibilität deutlich voneinander unterscheiden. Darüber hinaus könnten diese Substanzen zur weiteren Charakterisierung des Bilirubin/BSP-Transportweges von Nutzen sein (s. oben).

**8. Projekt: Membraneffekte von Bromsulphthalein (BSP)**  
(G. Beetz und S. Rosin-Steiner)

Der Bilirubin/BSP-Transportweg in der sinusoidalen Membran von Leberzellen wird zur Zeit noch wenig verstanden. Obwohl der Transporter eine erhebliche intrazelluläre Konzentrierung seiner Substrate bewirkt, ist er nicht primär aktiv und offenbar nicht  $\text{Na}^+$ -abhängig. Im Gegensatz hierzu zeigt der Transporter eine deutliche  $\text{Cl}^-$ -Abhängigkeit; es handelt sich aber nicht um einen Anionen-Austauscher. Bei der Untersuchung des DIDS-Effektes (vergl. Projekt 7) kam BSP als Hemmstoff der DIDS-Aufnahme über den Bilirubin/BSP-Transporter zum Einsatz. Hierbei fanden wir, daß Zugabe von BSP zum Superfusat zu einer dosisabhängigen Depolarisation der Zellen führte, die mit einer erheblichen Erhöhung des Eingangswiderstandes einhergeht. In ersten weiterführenden Versuchen zeigt sich eine deutliche  $\text{Na}^+$ -Abhängigkeit dieses Effektes, die z. Zt. näher untersucht wird.

**9. Projekt: Abhängigkeit der regulatorischen Volumenabnahme (RVD) von papillären Sammelrohrzellen der Rattenniere (IMCD-Zellen) in Primärkultur von der  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus intrazellulären Speichern**  
(H. Sauer, A. Giffey)

Die Volumenregulation von IMCD-Zellen unter hypotonem Streß wurde mittels konfokaler Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM) bestimmt. CLSM erlaubt es, Fluoreszenzsignale aus kleiner als  $1 \mu\text{m}$  dicken optischen Schnitten aufzuzeichnen, wobei störendes Streulicht weitgehend ausgeschaltet wird. IMCD-Zellen wurden mit dem pH-sensitiven Farbstoff BCECF angefärbt. Das Fluoreszenzsignal wurde bei einer Wellenlänge von  $450 \text{ nm}$ , am pH-insensitiven isosbestischen Punkt, aufgezeichnet. Bei Verwendung eines  $20 \times$  vergrößernden Objektivs mit einer numerischen Apertur von  $0,75$  gelang es, optische Schnitte von ca.  $0,9 \mu\text{m}$  Dicke zu erreichen. Während des Verlaufs der Messung wurden in  $1 \text{ min}$ -Abständen optische Schnittserien von der basalen zur apikalen Seite der Zellkultur durchgeführt. Die Fläche optischer Schnitte einzelner Zellen wurde bestimmt und das Zellvolumen nach einem Kegelstumpfmmodell errechnet. Es konnte beobachtet werden, daß  $1 \text{ min}$  nach dem Wechsel von

isoosmotischem zu hypoosmotischem Medium die Zellen um ca. 35 % angeschwollen waren. In den darauffolgenden 5 min fand eine regulatorische Volumenabnahme (RVD) um ca. 73 % statt. Wurden die Versuche in  $\text{Ca}^{2+}$ -verarmtem Medium ( $\text{Ca}^{2+} = 10 \text{ nmol/l}$ ) durchgeführt, so veränderte sich der RVD nicht signifikant. Wurden jedoch Inhibitoren der  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus intrazellulären Speichern (TMB-8 bzw. Caffeine) zum Inkubationsmedium gegeben, blieb der RVD aus. Die Versuche lassen den Schluß zu, daß der RVD von IMCD-Zellen  $\text{Ca}^{2+}$  aus intrazellulären Speichern benötigt.

**10. Projekt: Die Rolle von  $\text{Ca}^{2+}$  bei der Osmoregulation von Sammelrohrzellen der inneren Medulla (IMCD) der Rattenniere**  
(H. Tinel und H. Sauer)

Die Sammelrohrzellen der Niere sind großen Schwankungen der extrazellulären Osmolarität ausgesetzt. Es gibt Hinweise dafür, daß das intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$  bei der Osmoregulation dieser Zellen eine wichtige Rolle spielt.

Zur Untersuchung dieser Fragestellung wurden Messungen der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration mit Hilfe des Fluoreszenzfarbstoffes Fura-2 an konfluenten Primärkulturen von Sammelrohrzellen durchgeführt.

Unter hypotonem Schock erhöht sich die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration. Hierbei kann man zwei Phasen unterscheiden: einen transienten Peak und ein Plateau. Reduktion des  $\text{Ca}^{2+}$  im Außenmedium (10 nmol/l) führt zur Verringerung der ersten Phase und völliger Inhibition der Plateau-Phase. Präinkubation mit TMB-8 und Caffein (Inhibitoren der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ausschüttung aus intrazellulären Speichern) führt zur Inhibition der  $\text{Ca}^{2+}$ -Antwort sowohl in  $\text{Ca}^{2+}$ -haltigem als auch in  $\text{Ca}^{2+}$ -freiem Medium. Diese Befunde weisen darauf hin, daß für die transiente Erhöhung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus intrazellulären Speichern verantwortlich ist, während die Plateau-Phase durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom von außen zustande kommt.

Die zeitliche Beziehung zwischen beiden Prozessen wurde in Experimenten, in denen  $\text{Mn}^{2+}$  als Ersatz für  $\text{Ca}^{2+}$  diente, untersucht. Fura-2 hat eine große Affinität zum  $\text{Mn}^{2+}$ , wobei die Fluoreszenz bei allen Wellenlängen gleichermaßen gequencht (herabgesetzt) wird. Da  $\text{Mn}^{2+}$  durch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle in die Zelle gelangt, ist es möglich, den Zeitpunkt der Öffnung der Kanäle zu bestimmen. Die Experimente zeigen, daß bei hypotonem Schock zuerst das  $\text{Ca}^{2+}$  aus den Speichern ausgeschüttet wird und sich dann (ca. 17 s später) die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle in der Zellmembran öffnen. Weiterhin zeigt sich, daß es in der Plateau-Phase nicht zu einer Inaktivierung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle kommt.  $\text{Ca}^{2+}$  wird während dieser Phase wahrscheinlich aktiv aus der

Zelle und/oder in die Speicher transportiert und dadurch die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration gesenkt.

Weiterführend sind Untersuchungen zum Transduktionsmechanismus der Volumenänderung in ein Signal für die Ausschüttung des  $\text{Ca}^{2+}$  aus den Speichern geplant.

### **11. Projekt: Spontane $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung von IMCD-Zellen in Primärkultur**

(H. Sauer, A. Giffey)

Primärkulturen von IMCD-Zellen (7 Tage alt) wurden mit dem  $\text{Ca}^{2+}$ -Indikator Fluo-3 gefärbt und am konfokalen Laser-Raster-Mikroskop untersucht. Dabei wurden spontane intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Antworten individueller Zellen beobachtet. Diese  $\text{Ca}^{2+}$ -Antworten finden gleichzeitig in allen Zellen statt, sind jedoch nicht synchronisiert, was auf eine geringe (elektrische) Kopplung innerhalb der Zellkultur hinweist. Auch die Höhe der  $\text{Ca}^{2+}$ -spikes und die Frequenz ihres Auftretens sind sehr heterogen. Gelegentlich findet sich ein oszillatorisches Verhalten. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen soll zunächst eine Eichung des zytosolischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegels durchgeführt werden. Des weiteren soll untersucht werden, inwieweit die spontanen  $\text{Ca}^{2+}$ -spikes abhängig von extrazellulärem  $\text{Ca}^{2+}$  bzw. der  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Speichern sind.

### **12. Projekt: Veränderung des intrazellulären pH von IMCD-Zellen in Primärkultur unter hypotonem Streß**

(H. Sauer und C. Theiss)

Messungen zum intrazellulären pH von IMCD-Zellen wurden mit dem pH-sensitiven Fluoreszenzfarbstoff BCECF am konfokalen Laser-Raster-Mikroskop durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, daß hypoosmotischer Streß zu einer schnellen Ansäuerung des intrazellulären pH um ca. 0,2 pH Einheiten führt. Innerhalb von 10 min wird der intrazelluläre pH auf den Ausgangswert zurückreguliert. Gegenwärtig wird versucht, die an der Ansäuerung des zytosolischen pH, bzw. der pH-Rückregulation beteiligten Transportsysteme in Ionen-Substitutionsversuchen und in Versuchen mit Inhibitoren näher zu charakterisieren.

### **13. Projekt: Nachweis des Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauschers in isolierten Sammelrohrzellen der Rattenniere**

(H. Sauer)

Frisch isolierte Sammelrohrzellen wurden mit dem pH-Indikator BCECF gefärbt und am konfokalen Laser-Raster-Mikroskop auf Anwesenheit des Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauschers untersucht. Dabei wurde die NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Präpuls-Technik angewandt. Diese Technik beruht auf der größeren Permeabilität von Plasmamembranen für NH<sub>3</sub> als für NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Werden Zellen in NH<sub>4</sub>Cl-haltigem Medium inkubiert, so diffundiert NH<sub>3</sub> schnell in die Zelle, assoziiert mit intrazellulärem H<sup>+</sup> und führt zu einer Alkalinisierung des intrazellulären Milieus. Wird das NH<sub>3</sub> im Außenmedium wieder entfernt, findet ein rascher Ausstrom von ungeladenem NH<sub>3</sub> statt, die Protonen werden im Zytoplasma zurückgelassen und säuern das zytoplasmatische Milieu an. Der zytoplasmatische pH wird nachfolgend durch pH-regulierende Transportsysteme der Zelle auf das Normalniveau zurückreguliert. Die Anwesenheit des Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauschers wurde über den Hemmstoff Amilorid in HEPES-gepufferter Lösung nachgewiesen. Wurde dem Inkubationsmedium 1 mmol/l Amilorid zugesetzt, so blieb die Rückregulation des zytoplasmatischen pH nach Ansäuerung mit der NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Präpuls-Technik aus.

### **14. Projekt: Die Rolle von Ionen-Kanälen bei der Osmoregulation von Sammelrohrzellen der inneren Medulla (IMCD) der Rattenniere**

(S. Boese)

Die Zellen der inneren Medulla der Niere sind in vivo starkem osmotischen Streß durch das sie umgebende Medium ausgesetzt. Sie reagieren deshalb im Rahmen ihrer Volumenregulation mit der Verschiebung von anorganischen (z.B. Kalium-Ionen) und organischen (z.B. Sorbit) Osmolyten über die Plasmamembran. Die organischen Osmolyte sind an diesen Vorgängen allerdings in größerem Maße beteiligt als die anorganischen Osmolyte.

Alle Zellen beinhalten in ihrer Plasmamembran Kanalproteine, durch die anorganische Ionen zum Teil sehr selektiv die Zelle verlassen bzw. in sie eintreten können. Neuere Untersuchungen zeigen, daß durch solche Kanalproteine prinzipiell auch organische Osmolyte permeieren können.

Ziel dieses Projektes ist es, die Kanäle der Membran von IMCD-Zellen zu charakterisieren (Selektivität, Leitwert etc.) und ihren Beitrag zur Osmoregulation zu untersuchen. Die Messungen werden an konfluenten Monolayern von IMCD-Zellen der Rattenniere in Primärkultur mit Hilfe der patch-clamp-Technik vorgenommen.

Der Hauptteil der bisherigen Arbeit bestand darin, den patch-clamp Meßplatz sowie die Meßbedingungen zu optimieren. Verbessert wurde bisher zum einen die elektrische Abschirmung der Meßkammer, welche bei Strommessungen im Picoampere-Maßstab ( $10^{-12}$  A) von besonderer Bedeutung ist, sowie die 'seal'-bildung zwischen Meßpipette und Zellmembran, ohne die Messungen nicht möglich sind.

Es wurden bisher Einzelkanal-Messungen in der inside-out-patch-clamp Konfiguration vorgenommen. Es deutet nach den bisherigen Messungen einiges darauf hin, daß in der Membran sowohl ein Kationen-Kanal, als auch ein  $K^+$ -Kanal präsent ist. Der Kationen-Kanal läßt im gleichen Maße  $K^+$ -, wie  $Na^+$ -Ionen permeieren. Er zeigt einen Leitwert von ca. 27 pS, und seine Öffnungswahrscheinlichkeit ist weder vom Membranpotential noch von der Calcium-Konzentration abhängig. Der  $K^+$ -Kanal ist einwärts-gleichrichtend und zeigt einen Leitwert von ca. 37 pS.

#### **15. Projekt: Nachweis von Integrin-Untereinheiten in epithelialen Zelllinien des Uterus durch fluoreszenzmarkierte Antikörper**

(H. Sauer, in Zusammenarbeit mit M. Thie und H.-W. Denker, Anatomisches Institut, Universitätsklinikum Essen)

Die Expression fluoreszenzantikörpermarkierter alpha 6, beta 1 und beta 4 Integrin-Untereinheiten in verschiedenen uterinen Zellkulturlinien wurde mit konfokaler Laser-Raster-Mikroskopie untersucht. Die Zelllinie RL95-2 ist spontan adhesiv für den Trophoblasten, die HEC-1A Zelllinie ist verzögert adhesiv, und die Zelllinie AN3-CA ist nicht adhesiv. Es konnte gezeigt werden, daß die unpolarisierte Zelllinie RL95-2 alle Integrin-Untereinheiten in apikalen, lateralen und basalen Membrandomänen aufweist. In der HEC-1A Zelllinie konnten die Integrin-Untereinheiten alpha 6 und beta 4 ausschließlich in lateralen Membranen nachgewiesen werden; nur die beta 1 Untereinheit wurde in allen Membranregionen vorgefunden. In AN3-CA Zellen wurde die alpha 6 Integrin-Untereinheit in lateralen Membranbereichen nachgewiesen, wogegen beta 1 ausschließlich im Zytoplasma lokalisiert wurde. Die beta 4 Untereinheit wurde hier nicht exprimiert.

## 5. Arbeitsgruppe PD Dr. K. Zierold

Mitarbeiter: A. Brodde, S. Dongard

Die unter 1. - 3. aufgeführten Projekte betreffen - abgesehen von Projekt 3d - die Lokalisierung und Messung von Elementen in Zellen in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand mit der Röntgenmikroanalyse ultradünner Kryoschnitte im Rastertransmissionselektronenmikroskop. Hierbei handelt es sich um die Anwendung einer im Institut entwickelten Methode auf Fragestellungen der Zellbiologie und Physiologie. Das 4. Projekt beschreibt die im Jahr 1993 begonnene Entwicklung eines Kryoraster-Kraft-Mikroskops zur Abbildung von Zellmembranen und Zelloberflächen mit hoher räumlicher Auflösung (Dr. Achim Brodde).

### **1. Projekt: Messung der Elektrolytzusammensetzung in Ratten-Hepatozyten in Abhängigkeit von der Volumenregulation** (in Zusammenarbeit mit F. Wehner)

Die Versuche wurden an Primärkulturen von Ratten-Hepatozyten, die auf Petriperforfolie zu Monolayern zusammengewachsen waren, durchgeführt. Diese Zellen zeichneten sich unter Kontrollbedingungen fast immer durch ein hohes intrazelluläres K/Na-Verhältnis mit geringer interzellulärer Variation aus. Die Inkubation der Zellen in hyperosmotische Tyrode-Lösung (300 mosm) führte nach 2 min zu einem leichten Anstieg der Na-Konzentration und einem Rückgang der K-Konzentration. Nach 10 min Inkubation näherte sich die K-Konzentration wieder dem Ausgangswert, während die Na-Konzentration weiter anstieg. Zur Diskussion der Ergebnisse s. Arbeitsbericht Dr. Wehner.

### **2. Projekt: Messung der Elektrolytverteilung in Chloridzellen des Kiemenepithels von Knochenfischen** (in Zusammenarbeit mit H. Hentschel)

Die Chloridzellen des Kiemenepithels von Knochenfischen (Keys-Willmer-Zellen) resorbieren NaCl unter Süßwasser-Bedingungen, während sie nach Adaptation an Salzwasser NaCl sezernieren. In Anpassung an das Außenmedium beträgt die Osmolarität des Blutserums 250 - 280 mosm unter Süßwasser-Bedingungen und 350 - 360 mosm unter Seewasserbedingungen. Die im Vorjahr im Institut entwickelte Kryostanze zur Kryofixierung von Gewebeproben während der Probenentnahme er-

möglicht nun die Immobilisierung und anschließende Messung der Elektrolytverteilung in Zellen des Kiemenepithels unter definierten physiologischen Bedingungen. Zu diesem Zweck wurden Kiemenepithelproben von Süßwasser-adaptierten Guppies (*Poecilia reticulata*) nach Betäubung der Fische durch Eiswasser mit der Kryostanze entnommen. Erste Messungen an Kryoschnitten zeigen ein zumeist hohes intrazelluläres K/Na-Verhältnis. Messungen an Salzwasser-adaptierten Tieren sind in Vorbereitung. Von den Versuchen werden Erkenntnisse über die Anpassung von Ionen-transportsystemen an unterschiedliche Umgebungsbedingungen erwartet.

### **3. Projekt: Externe Zusammenarbeiten:**

#### **a) Messung der Elektrolytverteilung in Malpighi-Gefäßen von Drosophila-Larven**

(in Zusammenarbeit mit Prof. Wessing/Gießen)

Die seit mehreren Jahren bestehende Zusammenarbeit zur Aufklärung des Ionen-transportes in Epithelzellen von Malpighi-Gefäßen wurde fortgesetzt.

Die bereits früher beschriebene Anreicherung von Kalium in den Mikrovilli der Epithelzellen im Vergleich zum benachbarten intermediären Cytoplasma beruht vermutlich auf einer Bindung von K an Glykosaminoglykanen (GAG). Diese Vermutung wird bestätigt durch die gemessene Verringerung der K-Anreicherung in den Mikrovilli nach Injektion von Brefeldin in die Larve. Brefeldin transformiert den Golgi-Apparat in funktionsunfähige Vesikel, und das zur Bindung der K-Ionen erforderliche GAG wird nicht mehr gebildet.

Nachdem bisher vor allem der transepitheliale Kalium-Transport untersucht wurde, galt das Interesse nun dem Chloridion. Nach früheren Messungen schien die intrazelluläre Cl-Verteilung der K-Verteilung zu folgen, wenn auch auf niedrigerem Konzentrationsniveau. Die Messungen nach Inkubation der Malpighi-Gefäße in Cl-freier Salzlösung bzw. nach Injektion von Furosemid (zur Hemmung des Na(K/Cl) - Kon-transportsystems) sowie von Anthrazen-9-carboxylat (zur Inaktivierung der Cl-Kanäle) legen allerdings den Schluß nahe, daß Chlorid unabhängig vom Kalium transportiert wird und an der Harnbildung nicht beteiligt ist. Ersetzt man Cl in der Hae-molymphe durch Gluconat, so wird es im Lumen durch P substituiert.

**b) Messung der Elektrolytverteilung in Podocoryne carnea Hydra-Polypen in Abhängigkeit vom pulsierenden Wachstum bzw. von der Osmolarität des umgebenden Seewassers**

(in Zusammenarbeit mit Dr. N. Kazakova/Moskau)

Die Elementzusammensetzung cytoplasmatischer Vakuolen war unter hypertonen Bedingungen, entsprechend der Retraktionsphase beim pulsierenden Wachstum, ähnlich der des Seewassers. Unter hypotonen Bedingungen - entsprechend der Ausdehnungsphase beim pulsierenden Wachstum - stiegen K und Na in den cytoplasmatischen Vakuolen deutlich an. Auf Grund der bisherigen Ergebnisse wird vermutet, daß in der Ausdehnungsphase K aus dem Cytoplasma und Na aus dem Seewasser in die Vakuolen gepumpt wird. Die Absicherung der Ergebnisse erfordert weitere Messungen und Auswertungen.

**c) Nachweis von Calcium-anreicherung in massedichten Granula in Photorezeptor-Zellen von Drosophila Mutanten**

(in Zusammenarbeit mit Dr. W. Schröder, Jülich und I. Sahly, Jerusalem)

**d) Gefrierbruchdarstellung der Phasenumwandlung von Mizellen in Cetyltrimethylammoniumbromid in wäßriger Lösung**

(U. Feldmann in Zusammenarbeit mit Prof. T. Wolff, Siegen)

**4. Projekt: Konstruktion eines Kryo-Raster-Kraft-Mikroskops zur Abbildung von Membranproteinen in Zelloberflächen**

(A. Brodde)

Im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms "Neue mikroskopische Techniken für Biologie und Medizin) wird ein Kryo-Raster-Kraft-Mikroskop (Scanning Force Microscope, SFM) zur Durchführung von hochaufgelösten Messungen an membrangebundenen Proteinen im wasserhaltigen gefrorenen Zustand ohne Aufdampfschicht aufgebaut. Von diesen Messungen werden neue Erkenntnisse über die Topographie der Zellmembran und der in sie eingelagerten Proteine in unterschiedlichen funktionellen Zuständen erwartet, da die Raster-Kraft-Mikroskopie im Gegensatz zur Rasterelektronenmikroskopie prinzipiell eine Auflösung von makromolekularen Strukturen im nm-Bereich ohne vorherige Metallbeschichtung erlaubt.

Von Messungen an kryofixierten Zelloberflächen wird die Darstellung von Membranproteinen sowie ihren Untereinheiten ohne die die Auflösung begrenzende Eigenbewegung der Membranbestandteile erwartet. Insbesondere sollte die Immobilisierung

einzelner Moleküle in einem definierten funktionellen Zustand (Kryofixierung) es ermöglichen, unterschiedliche Funktionszustände der Membranproteine mit einer geänderten Größe oder Form der beobachteten Partikel zu korrelieren. Von derartigen Abbildungen werden Kenntnisse über die Struktur-Funktions-Beziehung komplexer Transportsysteme in der Zellmembran erwartet.

Da ein Kryo-SFM zur Zeit kommerziell nicht erhältlich ist, wird ein Experimentiergerät aufgebaut, das sich im wesentlichen aus den Komponenten Meßkopf, Kryostat, Vakuumsystem, Steuerelektronik, Rechnersystem und Software zur Steuerung der Messungen und zur Bildverarbeitung zusammensetzt.

Um eine Kontamination der Proben während der Messungen zu vermeiden, wird der Meßkopf in einen evakuierbaren Rezipienten integriert, der in der feinmechanischen Werkstatt des Instituts angefertigt wird und Messungen unter Ultrahochvakuum-Bedingungen (UHV) erlaubt. Ein Kryotransfersystem ermöglicht den Wechsel der Präparate und der SFM-Abtastspitze ohne Unterbrechung der Kühlung oder des Vakuums. Nach Überprüfung der Eignung eines kommerziell erhältlichen Meßkopfes für die Verwendung bei tiefen Temperaturen wurde dieser angeschafft. Der Einsatz dieses Meßkopfes in Kombination mit dem Kryostaten erfordert jedoch noch einige Modifikationen, die ebenso wie die Anfertigung des Kryostaten in Zusammenarbeit mit der feinmechanischen Werkstatt erfolgen sollen.

Für die Steuerung und Auswertung der Messungen wurde eine kommerziell erhältliche Elektronik sowie Software ausgewählt, die eine universelle Verwendbarkeit und Erweiterungsmöglichkeit auch für andere Rastersonden-Mikroskopien ermöglicht. Das mit Unterstützung der Zentralen Einheit Datenverarbeitung angeschaffte und installierte Rechnersystem gewährleistet in Kombination mit der bereits gelieferten und getesteten Software eine effektive Steuerung und Auswertung der Messungen. Schwerpunkt der kommenden Arbeiten ist die Fertigstellung des UHV-Rezipienten in Kombination mit dem Aufbau des Vakuumsystems aus bereits gekauften Komponenten, wobei der Rezipient noch in einen vorhandenen vibrationsarmen Tisch integriert werden muß. Vor ersten Testmessungen muß die Steuerlektronik an den Meßkopf adaptiert sowie eine schwingungsgedämpfte Aufhängung des Meßkopfes konstruiert werden, so daß mit ersten Ergebnissen im Sommer 1994 gerechnet werden kann.

## 6. Arbeitsgruppe Dr. B. Bechinger

Mitarbeiter: P. Glitz (1/2), B. Griewel, J. Luig, I. Neidhardt

Mit dem Wechsel der Leitung zu Beginn des Jahres hat sich in der NMR-Gruppe auch der Forschungsschwerpunkt geändert, wobei in Zukunft die Strukturanalyse von membrangebunden Proteinen im Vordergrund stehen wird. Dies machte nicht nur einige technische Veränderungen an den NMR-Spektrometern erforderlich, sondern auch den Bau von speziellen NMR-Probenköpfen und die Einrichtung eines chemisch-biochemischen Labors. Obwohl diese Umstrukturierung und die zu den neuen Projekten gehörenden Vorversuche zeitaufwendig sind, konnten wir mit ersten Untersuchungen der Struktur, Funktion und Wechselwirkungen von verschiedensten Membranpolypeptiden beginnen.

Die erfolgreiche Expression und Reinigung von Membrankanälen mit 100 und mehr Aminosäuren sind wichtige Voraussetzungen für deren Untersuchung mittels NMR-Spektroskopie. Biochemische Methoden erlauben es, Proteine zu mutieren oder mit stabilen Isotopen ganz oder selektiv zu markieren. Parallel hierzu können mit Hilfe chemischer Festphasensynthese kleinere membranaktive Polypeptide mit hoher Reinheit dargestellt, in beliebiger Weise 'mutiert' und selektiv mit  $^2\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$  oder  $^{13}\text{C}$  markiert werden.

Diese Polypeptide werden im folgenden mittels multidimensionaler homo- und heteronuklearer NMR-Spektroskopie untersucht, wobei wir speziell an den Struktur-Funktionsbeziehungen von Membrankanälen und den Gesetzmäßigkeiten der Polypeptidorganisation in Membranen interessiert sind. Während die Multidimensionale Hochauflösungs-NMR-Spektroskopie Auskunft über die Sekundär- und Tertiärstruktur von in der Natur vorkommenden oder 'auf dem Reißbrett entworfenen' Polypeptiden in Mizellen gibt, kann die Orientierung von  $\alpha$ -Helizes und  $\beta$ -Faltblättern relativ zur Oberfläche von uniaxial orientierten Lipiddoppelschichten mittels ein- und zweidimensionaler Festkörper-NMR-Spektroskopie analysiert werden. Ergänzende  $^{31}\text{P}$ -NMR-Messungen an Phospholipiden in Modellmembranen erlauben das Studium deren makroskopischen Phasenverhaltens und vervollständigen unser Bild der Protein-Lipid-Wechselwirkungen.

In Zusammenarbeit mit der Gruppe um Dr. Martin Engelhard untersuchen wir außerdem die Proteinierungszustände von Aspartaten des Bacteriorhodopsins, die für die Funktion dieser lichtbetriebenen Protonenpumpe von äußerster Wichtigkeit sind. Obwohl die detaillierte Strukturbestimmung dieses Proteins der Purpurmembran beim jetzigen Stand der Technik nicht möglich ist, konnten spezielle Fragen mittels

CP-MAS-Festkörper-NMR-Techniken an selektiv mit  $^{13}\text{C}$  markierten Proteinen und Mutanten beantwortet werden.

## 7. Arbeitsgruppe Dr. C.T. Lin

Mitarbeiter: H. Kipp, H. Sauerwald, K. Rosenthal (ab 01.12.1993)

### Allgemeine Thematik:

Die neue Gruppe wird sich zunächst mit der Identifizierung der Substrat-Bindungsstellen und der Aufklärung der Topographie des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransporters in gereinigtem Zustand und/oder in natürlicher Umgebung (d.h. in der Umgebung von natürlicher Membran) beschäftigen.

Um dies zu erreichen, sollen zunächst folgende Probleme gelöst werden:

1. Ein Expressionssystem ist zu finden, das Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransportproteine in einer relativ hohen Dichte oder hohem Prozentsatz der gesamten Proteine exprimieren kann.
2. Ein empfindliches System ist zu finden, das zur Reinigung und Identifizierung sehr kleiner Mengen von Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransportproteinen spezifisch eingesetzt werden kann.
3. Spezifische bifunktionelle chemische Proben sind zu synthetisieren, die einerseits mit dem Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransporter spezifisch irreversibel reagieren und andererseits radioaktiv markiert werden können.

### 1. Projekt: Untersuchungen der Na<sup>+</sup>/D-Glukoseaufnahme bei LLC-PK<sub>1</sub>-Zellen (Schweinenierenzellen) unter dem Einfluß von verschiedenen Induktionsmitteln

(H. Sauerwald, in Zusammenarbeit mit F. Pietruschka und A. Langerak)

Es ist bekannt, daß verschiedene Faktoren die Proteinsynthese in eukaryotischen Zellen spezifisch oder unspezifisch beeinflussen können. Obwohl der genaue Mechanismus noch nicht ganz klar ist, vermutet man doch, daß zum Teil die Regulation der Transkription eine Rolle spielt. Wir haben versucht, die Substanzen, die in der Literatur für die Induktion als transkriptionale Faktoren bekannt sind, auch für die Zellkultur von LLC-PK<sub>1</sub>-Zellen einzusetzen.

LLC-PK<sub>1</sub>-Zellen bis zur Konfluenz gezüchtet wurden dann folgendermaßen behandelt:

1. Weitere Inkubation mit 200 µM IBMX und 20 µM Forskolin für 6 Stunden. Dies soll die intrazelluläre cAMP-Konzentration erhöhen (cAMP spielt eine wesent-

liche Rolle bei der transkriptionalen Regulation und führt zu einer Stimulation der Genexpression von mehreren Proteinen in verschiedenen Zellarten).

2. Weitere Inkubation mit 5 mM HABA (hexamethylene bisacetamide) in einer 1:1 Mischung von DMEM und Ham's F12 für 2 Wochen (HABA induziert Differenzierung von LLC-PK<sub>1</sub>-Zellen und gleichzeitig auch von Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransportproteinen).
3. Weitere Inkubation mit einem glukosearmen Medium (5 mM) für 7 bis 8 Tage. Die Effekte an den Reagenzien wurden anhand der Aufnahme von [<sup>14</sup>C] α-Methylglukose (AMG) in der Anwesenheit von Natrium festgestellt. Die vorläufigen Ergebnisse zeigten, daß das cAMP-Niveau wenig Einfluß auf die Aufnahme der AMG hat. Die mit HABA behandelten und in glukosearmem Medium gewachsenen Zellen zeigten jedoch eine vier- bis sechsfach erhöhte AMG-Aufnahme gegenüber den Kontrollzellen. Auch die natriumabhängige Phlorizinbindung wurde bei den glukoseverarmten Zellen erhöht. Diese Befunde stimmen mit den früheren Berichten überein, in denen eine Erhöhung von mRNA des Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransporters durch den Entzug von Glukose beschrieben wurde.

Weiter wurden die Zellen auch mit Calcitonin (1 mg/ml, 24 h), das die IP<sub>3</sub>-Produktion induziert, und mit Indometacin (5 mM, 24 h), einem Hemmstoff der Cyclooxygenase, behandelt. Die Ergebnisse in unseren vorläufigen Experimenten zeigten, daß die beiden Reagenzien auch die AMG-Aufnahme zu stimulieren scheinen. Dies bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

Eine Erhöhung der Dichte des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransporters wird vorteilhaft sein für die Reinigung und Isolierung des Kotransporters.

## **2. Projekt: Hemmung des Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransporters durch monoklonale und polyklonale Antikörper**

(H. Sauerwald, in Zusammenarbeit mit F. Pietruschka)

In der Vergangenheit wurden monoklonale Antikörper gegen verschiedene Sequenzen der extrazellulären Schleife der klonierten Peptidsequenzen des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransporters in unserer Abteilung produziert. Obwohl es beschrieben wurde, daß Antikörper, die bei verschiedenen Arbeitsgruppen produziert wurden, unterschiedliches Verhalten gegenüber der Na<sup>+</sup>-abhängigen Aufnahme von D-Glukose oder Phlorizinbindung hatten, so zeigten jedoch die meisten verwendeten Antikörper eine Änderung der Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransportaktivität. Nimmt man einen positiven Effekt (Hemmung des Transports) eines Antikörpers als ein Anzeichen für die Identifi-

zierung des Kotransporters, so werden die Beobachtungen eindeutig und zuverlässig.

LLC-PK<sub>1</sub>-Zellen wurden in einer 24-Well-Kunststoffschale bis zum Zustand des Konfluenz gezüchtet (6 bis 7 Tage). Die Aktivität des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransporters wurde durch die Na<sup>+</sup>-abhängige Aufnahme von AMG vermessen. In der Anwesenheit eines isotonischen Mediums und NaCl (120 mM) war die Aufnahme von AMG bei 37°C bis zu einer Stunde linear. Wurde das Na<sup>+</sup>-Ion durch Cholin substituiert, war die Aufnahme von AMG unter 1 % der Aufnahme, die im Na<sup>+</sup>-Medium gemessen wurde. Die AMG-Aufnahme wurde durch 0,5 mM Phlorizin fast vollständig gehemmt. Die monoklonalen Antikörper (MAK), die gegen vier Peptidsequenzen an verschiedenen Stellen der extrazellulären Schleifen (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>) produziert wurden, wurden in Na<sup>+</sup>-ionenhaltigem Medium für 30 min bei 37°C mit LLC-PK<sub>1</sub> Zellen inkubiert, bevor die AMG-Aufnahme gemessen wurde. Während der MAK von P<sub>2</sub> eine klare Hemmung der AMG-Aufnahme zeigte, konnten keine eindeutigen Effekte der MAK von P<sub>1</sub>, P<sub>3</sub>, und P<sub>4</sub> festgestellt werden. Im Gegensatz dazu zeigte der polyklonale Antikörper (PAK) von P<sub>4</sub> eine signifikante Hemmung der AMG-Aufnahme in der Anwesenheit von Natriumionen.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die MAK von P<sub>2</sub> und der PAK von P<sub>4</sub> für die Identifizierung des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransportproteins nützlich zu sein scheinen.

Die Befunde zeigen außerdem, daß P<sub>2</sub> und P<sub>4</sub> - wie schon für das in den Oozyten exprimierte Transportsystem berichtet - (siehe Arbeitsbericht Morrison et al. 1993) der Zellberfläche zugewandt sind. Außerdem scheinen die Sequenzen (oder Epitope) von P<sub>2</sub> und P<sub>4</sub>, die von den Antikörper erkannt werden, zum einen für die Funktion des Transporters wichtig zu sein und zum anderen bei Schwein und Kaninchen ähnlich konfiguriert zu sein.

(P<sub>1</sub>=AS 49-65; P<sub>2</sub>=AS 89-103; P<sub>3</sub>=AS 229-241; P<sub>4</sub>= AS 618-625) des D-lukose-cotransporters der Kaninchenniere.

### **3. Projekt: Immunoblot-System zur Erkennung des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransportproteins oder dessen Untereinheiten im Picogramm-Bereich** (H. Sauerwald und K. Rosenthal)

Wegen der geringen Konzentration des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransportproteins in isolierten Bürstensaummembranen ist eine direkte Erkennung von Proteinen durch entsprechende Antikörper wie in der Literatur bekannt, immer noch sehr schwierig. Mit einem empfindlichen Erkennungssystem wird es möglich sein, auch die Proteine von Zellextrakten zu untersuchen. Dies erscheint auch sinnvoll zu sein für die Untersuchung der Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransportproteine in einem exprimierten System.

Ungefähr 3 - 10 ng Protein werden ausreichend sein für die Trennung auf einem SDS-Mini-Gradienten-Gel (4 - 20 % Gel, 6 x 7 cm für 10 - 12 Proben). Nach der Elektrophorese wurden Proteinbanden auf ein Nitrozelluloseblatt transferiert und mit Gold-Kolloid eingefärbt. Man erkennt, daß die Anzahl der gesamten Proteinbanden viel höher ist als die mit den normalen Farbreagenzien wie Coomassieblau oder Aminoschwarz. Die Banden sind sehr scharf und reproduzierbar. Die Prozedur ist einfach und schnell. Man kann die Empfindlichkeit noch um das 10fache oder mehr erhöhen, wenn man eine Nachbehandlung mit Silberlactat hinzufügt. Für die Erkennung des Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransporters wird der Immunoblot zuerst mit Protein-G Gold und weiter mit Silberlactat behandelt.

LLC-PK<sub>1</sub>-Zelleextrakt (10 µg) aus 0,2 % Nonidet P-40 wurde elektrophoretisch mit dem Minigelsystem getrennt und mit der Western-Blot-Analyse gegen Pre-Immuns Serum vom Schaf oder gegen den polyklonalen Antikörper (PLA-1), der gegen das P<sub>4</sub> (s. 2. Projekt) im Schaf produziert wurde, durchgeführt.

Drei Polypeptidbanden (um 96 kD, 60 kD und 45 kD) waren im PLA-1 behandelten Blot erkennbar. Weiter wurde der Zellmembranextrakt von LLC-PK<sub>1</sub> durch eine Mono Q-Säule (FLPC) geschickt und die Fraktionen durch einen stufenweisen NaCl-Gradienten getrennt. Es wurde festgestellt, daß die PLA-1-positiven Proteine in der Fraktion, die mit 250 mM NaCl eluiert wurde, im Western-Blot erkennbar waren. Es bedarf jedoch noch ausführlicherer Experimente, um die Na<sup>+</sup>/Glukose-Kontransportproteine in der Fraktion eindeutig zu identifizieren. Zum Beispiel wird der Nitrozellulose-Blot von der Fraktion mit einem P<sub>4</sub>-BSA-Konjugat vorinkubiert und anschließend mit PAK PLA-1 weiter behandelt. Mit diesen Schritten werden die Banden von den Na<sup>+</sup>/Glukose-Kotransportern durch P<sub>4</sub>-BSA-Konjugate kompetitiv verdrängt und sind im Blot zum Schluß nicht mehr erkennbar.

Das P<sub>4</sub>-BSA-Konjugat wurde schon in unserer Gruppe hergestellt.

#### **4. Projekt: Different sensitivities of cotransporter in LLC-PK<sub>1</sub> cells towards blockade of N-glycosylation**

(in Zusammenarbeit mit A. Langerak und F. Pietruschka)

Na<sup>+</sup>/D-glucose and other cotransporter on the epithelial cell surface are glycoproteins. The functional role of oligosaccharides of cotransporter is poorly understood. We postulate that not all transport proteins are glycosylated in vivo to the same extent and have the same type of oligosaccharide structure. This was tested by blocking N-glycosylation in LLC-PK<sub>1</sub> cultured renal cells. When LLC-PK<sub>1</sub> cells in a 24-well plate reached confluence, unicamycin (20 µg/ml) was added for different time periods. After 24 h the Na<sup>+</sup>/glucose cotransport activity, determined as α-methyl glu-

coside (AMG) uptake, is reduced to  $57 \pm 8 \%$  ( $n = 3$ ), while the activity of  $\text{Na}^+$ /proline cotransport is not affected. This inactivation leveled off to 40 % of the control even at a higher concentration (100  $\mu\text{g/ml}$ ). To reach a 50 % of the total inactivation with 20  $\mu\text{g/ml}$  of tunicamycin, it required ten hours. Kinetic analysis revealed that tunicamycin seems to reduce the affinity for AMG (apparent  $K_M$  of the control vs. tunicamycin treated cells :0.064 mM vs. 0.16 mM) but not the  $V_{\text{max}}$  of the  $\text{Na}^+$ /D-glucose cotransport. We suggest that the blockade of N-glycosylation might lead to a change in structure of the oligosaccharide attached to the  $\text{Na}^+$ /glucose cotransporter. This could in turn selectively alter the affinity for glucose transport. Alternatively, changes in sorting and/or turnover of the protein could occur.

### **5. Projekt: Entwicklung eines Photoaffinitätsmarkers für die Zuckerbindungsstelle des Natrium/D-Glukose-Kotransporters**

(H. Kipp in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Kreher, Fachbereich Chemie der Universität Dortmund)

Aus früheren Studien zur Substratspezifität des Natrium/D-Glukose-Kotransporters ist bekannt, daß Modifikationen des Glukosemoleküls in C1- und C6-Position nur einen geringen Einfluß auf die Proteinbindung haben und Substitutionen mit Alkylgruppen (insbesondere an C<sub>1</sub>) darüberhinaus durch zusätzliche hydrophobe Wechselwirkung zu einer erhöhten Affinität führen. Zur Weiterentwicklung eines Photoaffinitätsmarkers wurden die variierbaren Positionen des D-Glukosemoleküls mit der photolabilen Diazirinogruppe modifiziert.

Das bereits im letzten Jahresbericht vorgestellte C6-Derivat der D-Glukose, Methyl-6-C-azi-6,7-deoxy- $\alpha$ -D-gluco-hepto-1,5-pyranosid, wurde zur Erhöhung der Affinität zu dem Transportsystem mit einem hydrophoben trans3-Hexenyl-aglycon substituiert. Das Präparat zeigt eine kompetitive Hemmung der Aufnahme von D-Glucose in renale Bürstensaummembran-Vesikel ( $K_i = 65 \mu\text{M}$ ) und ist darüberhinaus durch katalytische Hydrierung des ungesättigten Aglyconteils mit Tritiumgas zur Inkorporation eines radioaktiven Isotops geeignet. Es ist zu erwarten, daß mit der Hydrierung und damit der Flexibilisierung des Aglycons eine weitere Erhöhung der Affinität zu dem Transportsystem verbunden ist. Durch Glykolyse von 2-Azi-octanol-1 wurde ein photolabiles Octylglucosid synthetisiert, das die Diazirinogruppe an einer Verlängerung der C1-Position trägt. Die Verbindung (2-Azi-octyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid zeigt eine hohe Affinität zu dem Transportprotein ( $K_i = 28 \mu\text{M}$ ) und ist durch Oxidation der C6-Hydroxymethylgruppe gefolgt von einer Reduktion mit komplexem Borhydrid ebenfalls zu einer Isotopenmarkierung geeignet. Durch Bestrahlung mit langwelligem UV (ca. 350 nm) generieren beide Verbindungen mit kurzer Halb-

wertszeit (1-2 min.) ein hochreaktives Carben, das zur kovalenten Substrat-Transportsystem-Verknüpfung geeignet ist.

Versuche zur irreversiblen Photoinaktivierung des Transportsystems durch die synthetisierten Verbindungen an suspendierten Bürstensaummembran-Vesikeln führten aufgrund der hohen Dispersion des eingestrahltten Lichtes durch das heterogene System nicht zu reproduzierbaren Ergebnissen, dieses Problem sollte sich durch Solubilisierung der Membranen mit Detergenzien umgehen lassen. Octylglucosid wurde in der Vergangenheit für diese Zwecke häufig verwendet, da diese Verbindung als einzige von den kommerziell erhältlichen Detergenzien keine UV-Absorptionen aufweist, eine besonders hohe kritische Micellenkonzentration besitzt und sich daher leicht durch Dialyse entfernen läßt. Da sich Octylglucosid als hochaffiner, kompetitiver Inhibitor des untersuchten Transportsystems erwies ( $K_I = 15 \mu\text{M}$ ) und als Detergenz für Markierungsversuche daher ungeeignet war, wurde das isomere Mannosederivat, n-Octyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid, synthetisiert, das dem Octylglucosid vergleichbare Detergenzeigenschaften zeigt jedoch den renalen Natrium/D-Glukose-Kotransport nicht inhibiert.

Ziel der weiteren Arbeit ist eine Substratbindung der mit dem neuen Detergenz solubilisierten renalen Bürstensaumfraktion nachzuweisen und die am renalen Natrium/D-Glukose-Kotransport beteiligten Polypeptide mit Hilfe der isotopen-markierten Photoaffinitätsmarker zu identifizieren.

#### **6. Projekt: Untersuchung der Substratbindungsstelle des Natrium/D-Glukose-Kotransporters mit Hilfe modifizierter Liganden**

(H. Kipp in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Kreher, Fachbereich Chemie der Universität Dortmund)

Um Informationen über die Eigenschaften der Zuckerbindungsstelle des natrium/D-Glukose-Kotransporters zu erhalten, wurden verschiedene C1- und C6-Derivate der D-Glucose synthetisiert und deren Hemmwirkung auf den renalen natriumabhängigen D-Glucose synthetisiert und deren Hemmwirkung auf den renalen natriumabhängigen D-Glucosetransport gemessen. Ziel dieser Untersuchungen ist es, Substitutionsmuster und Funktionalitäten zu finden, die eine möglichs-teffektive Transporthemmung bewirken und damit Hinweise für die Synthese eines hochaffinen Photoaffinitätsmarkers liefern. Es konnte gezeigt werden, daß der Ersatz der C6-Hydroxygruppe in Methyl- $\alpha$ -D-Glukose durch die hydrophobe Methyl-Azi-Funktion zu einer erheblichen Erhöhung der Affinität führt,  $I_{50} = 160 \mu\text{M}$  gegenüber  $I_{50} = 2.1 \text{ mM}$  für das entsprechende D-Glukosederivat, was auf eine hydrophobe Wechselwirkung mit dem Portein auch über die C6-Position hindeuten könnte. Eine weitere Vergrößerung

des hydrophoben Substituenten mit der n-Octyl-Azi-Gruppe führt jedoch nicht zu einer wesentlichen Steigerung der Affinität ( $I_{50} = 120 \mu\text{M}$ ). Zu hochaffinen Transportinhibitoren führen Substitutionen der C1-Position mit n-Alkylgruppen; insbesondere mit n-Hexyl- ( $K_i = 20 \mu\text{M}$ ) oder n-Octyl-Resten ( $K_i = 15 \mu\text{M}$ ). Ein wesentliches Kriterium für eine optimale Wechselwirkung scheint die Flexibilität der hydrophoben Seitenkette zu sein, so daß eine Verringerung der Flexibilität durch Einführung einer trans-Doppelbindung oder eines Phenylrestes zu einem Verlust an Affinität führt; trans-3-Hexenyl- $\beta$ -D-glucopyranosid ( $K_i = 140 \mu\text{M}$ ), 3-p-Methoxyphenoyl-propyl- $\beta$ -D-glucopyranosid ( $I_{50} = 120 \mu\text{M}$ ).

Für die Zukunft ist geplant, die Ergebnisse dieser Versuche als Grundlage für computersimulierte Bindungsmodelle zu verwenden.

## Z.ZT. DEM KOLLEGIUM DIREKT UNTERSTELLTE ARBEITSGRUPPEN

### 1. Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. Acker

Mitarbeiter: B. Bölling, A. Görlach, G. Holtermann, P. Horn, E. Merten, Th. Porwoll, E. Schebaum, M. Wartenberg, D. Xue

#### Allgemeine Thematik:

Angiogenese, Wundheilung, Zellwachstum, Proteinproduktion und Ionenkanalkonduktivität sind Zellaktivitäten, die von zellulären Sauerstoffsensoren in Abhängigkeit vom Sauerstoffdruck kontrolliert werden können. Unsere Gruppe bemüht sich, den Wirkungsmechanismus dieser Sauerstoffsensoren mit der dazu gehörigen Signalkaskade zu charakterisieren. Um diese Untersuchungen möglichst am intakten Zellverband durchführen zu können, bemühen wir uns um die methodische Weiterentwicklung von optischen, nichtinvasiven Meßverfahren.

#### 1. Projekt: Charakterisierung und Lokalisierung des Sauerstoffsensorproteins

(B. Bölling, A. Görlach, G. Holtermann, E. Merten, Th. Porwoll, D. Xue in Zusammenarbeit mit W. Jelkmann und J. Fandrey/Bonn, W. Kummer/Marburg, J.T. Curnutte/San Diego, T. Segal/London)

Wie auch von anderen Gruppen nun bestätigt, scheint sich unsere anfängliche Vermutung, ein Zytochrom b<sub>558</sub>, ähnlich der NAD(P)H Oxidase der Leukozyten, könnte das Sauerstoffsensorprotein sein, zu bestätigen. Zellen, die wegen ihrer Aktivitäten auf das Vorhandensein eines Sauerstoffsensors schließen lassen, wie Endothelzellen, neuroepitheliale Körperchen der Lunge, Paraganglien, Glomus caroticum- oder HepG2-Zellen, lassen immunhistochemisch das Zytochrom b<sub>558</sub> sowie die dazu gehörige Sauerstoffradikalproduktion erkennen. Um die Bedeutung dieses Hämproteins für den Sauerstoffsensorvorgang und damit auch die nachgeschaltete Signalkette zu erhellen, wurden bei konstant gehaltenem Sauerstoffdruck Redoxveränderungen des Zytochrom b<sub>558</sub>, wie in der Literatur beschrieben, durch Gaben von Kobaltchlorid und Kohlenmonoxid durchgeführt. Dabei zeigten die

HepG2-Zellen eine erhöhte Erythropoietinproduktion mit gleichzeitiger Reduktion des Zytochrom b-Komplexes und eingeschränkter  $H_2O_2$ -Generierung. Diese Experimente bestätigen Befunde von eingeschränkter hypoxisch bedingter Erythropoietinproduktion durch Gaben von  $H_2O_2$ . Kohlenmonoxid führt bei ausreichender Sauerstoffversorgung zu einer drastisch erhöhten lichtempfindlichen Chemorezeptorentladung des Glomus caroticum ohne eine Veränderung der spektralen Eigenschaften. Erst bei hypoxisch bedingten Absorptionsänderungen führt CO zu den erwarteten Oxidationen der Zytochrome. Dieser überraschende Befund weist auf Bindungsstellen des CO hin, die photometrisch durch unsere Meßverfahren nicht erfaßbar sind, aber einen wichtigen Stellenwert in dem Chemorezeptorprozess haben. Die Versuche zur Abklärung des Sauerstoffsensorvorganges zielen, wie ersichtlich ist, auf die Aufklärung der Struktur des Zytochrom b<sub>558</sub> in den Sauerstoffsensorzellen wie auch auf die Analyse der dazugehörigen Signalkette.

Bei der Aufklärung des Wirkungsmechanismus der antiproliferativen Wirkung von Interferonen bei menschlichen Melanomzellen konnten wir eine signifikante Veränderung der  $H_2O_2$ -Produktion dieser Zellen durch die Zytokine messen. Auch hier konnte ein sauerstoffradikalproduzierendes Zytochrom b<sub>558</sub> photometrisch charakterisiert werden. Durch die Analyse der Interaktion von Interferon und Zytochrom b<sub>558</sub> besteht vielleicht eine neue Möglichkeit, die Therapie von Melanomen zu verbessern.

## **2. Projekt: Erfassung von Zellaktivitäten im dreidimensionalen Gewebeverband**

**(B. Bölling, G. Holtermann, P. Horn, E. Merten, N. Opitz, Th. Porwoll, M. Wartenberg)**

An dem Modell der multizellulären Sphäroide studieren wir die Möglichkeiten, dreidimensional mit Hilfe der Registrierung von intrazellulären Fluoreszenzfarbstoffen durch die konfokale Laserrastermikroskopie verschiedene Zellaktivitäten zu erfassen und zu rekonstruieren. Dadurch können die Vitalität von Zellen, der intrazelluläre pH-Wert, das intrazelluläre Kalzium oder Membranpotentialveränderungen in verschiedenen Tiefen der multizellulären Sphäroide gemessen werden. Die Fluoreszenzintensität, angeregt durch das Laserlicht in verschiedenen Tiefen des Gewebes, kann beschrieben werden durch die Gleichung:  $I(z) = A \cdot (z^*)^B \cdot \exp(-z^*(C+D))$ . Der Ausdruck  $\exp(-C \cdot z^*)$  beinhaltet die Lichtdämpfung durch Absorption und Streuung. A charakterisiert die Intensität des einfallenden Lichtes und B, D gibt die Fluoreszenzdichtefunktion im Gewebe wieder. Unter Berücksichtigung der Verschiebung des Refraktionsindex ist es möglich, dreidimensionale Rekonstruktionen

der mit Hilfe des konfokalen Laserrastermikroskopes erhaltenen optischen Schnitte durchzuführen. Die Schichtdicke von vitalen Zellen erreicht ein Maximum bei einem Sphäroiddurchmesser von 220  $\mu\text{m}$  während die zentrale Nekrose schon bei einem Durchmesser von 350  $\mu\text{m}$  sichtbar ist. In den Sphäroiden ist immer eine Schicht von Zellen zu entdecken, die nicht durch vitale oder letale Farbstoffe anzufärben sind und zwischen nekrotischen und lebenden Zellen liegt. Die Visualisierung von intrazellulären Parametern wie pH oder Kalzium erfordert auf Grund einer fehlenden topographisch invarianten intrazellulären Eichung - d.h. Eichkurven innerhalb einer Zelle variieren von Ort zu Ort entweder auf Grund von intermolekularen Wechselwirkungen oder Umverteilungen auf Grund von wechselnder Hydrophilie der Fluoreszenzfarbstoffe - Verfahren, die eine Pixel zu Pixel Kalibrierung ermöglichen. Dazu wurden dynamische Eichverfahren entwickelt, die zeitsparend auf Grund der Minimierung von Eichpunkten sind. Die konfokale Laserrastermikroskopie von Fluoreszenzfarbstoffen eröffnet eine vielversprechende Möglichkeit, um Therapieeffekte auf die Überlebensfähigkeit von Tumorzellen zu visualisieren.

## 2. Arbeitsgruppe PD Dr. St. C. Müller

Mitarbeiter: Zs. Ungvarai-Nagy, F. Krüger, B. Neumann, K.R. Reddy, U. Hartenberger, O. Steinbock, V.S. Zykov, D. Stock, K. Agladze, K. Matthiessen, M. Böckmann, M. Dahlem, I. Beyer, A. Warda, A.K. Dutt.

### Allgemeine Thematik

Chemische und biologische Wellen

#### 1. Projekt: Beeinflussung der Erregbarkeit

Eine der zentralen Fragen bei der Untersuchung der Musterbildung in nichtlinearen chemischen Systemen betrifft die Auswirkungen, welche auf einer Änderung ihrer Erregbarkeit beruhen, denn die Erregbarkeit kontrolliert weitgehend das zeitliche und räumliche Verhalten dieser Systeme. Zunehmend werden die Systemparameter, aus denen sich die Erregbarkeit des Systems bestimmt, gezielt durch verschiedene chemische und physikalische Methoden modifiziert.

- a.) Einfluß von organischen Säuren im Gelreaktor  
(Zs. Ungvarai-Nagy, F. Krüger, B. Neumann, B. Hess)

Ein wesentlicher Teil unserer Messungen wird in Gelsystemen durchgeführt, wenn immer es notwendig ist, räumliche Störungen durch andere Einflüsse, z.B. hydrodynamische Konvektion zu unterdrücken. Wir haben die Eigenschaften der verwendeten Silika-Gele und ihren Einfluß auf die Wellenausbreitung untersucht und die optimalen Bedingungen für ihren Einsatz in Reaktions-Diffusions-Systemen charakterisiert. Besonders wichtig wird ihre Verwendung in den kontinuierlichen Gelreaktoren, einer speziellen Neuentwicklung zur Aufrechterhaltung stationärer, gleichgewichtsferner Reaktionsbedingungen, die notwendige Voraussetzung der Wellenausbreitung sind.

In der für Musterbildung meistens verwendeten Belousov-Zhabotinsky(BZ)-Reaktion ist die  $Br^-$ -Konzentration ein kritischer Modellparameter für die Erregbarkeit und somit für das räumlich-dynamische Verhalten der Systeme. Zur Modifikation der  $Br^-$ -Produktion wurden Zwischenprodukte der Reaktion (z.B. Mesoxalsäure, Tatron-

säure) verwendet, die die Erregbarkeit auf chemischem Wege indirekt ändern und in einem kontinuierlichen Gelreaktor auch zu charakteristischen Änderungen der Welleneigenschaften, insbesondere der Wellendynamik, führten. Beispielsweise konnten bei verschiedenen Konzentrationsvorgaben dieser organischen Säuren Übergänge zwischen meandrierenden und kreisförmigen Bahnen der Spiralspitze nachgewiesen werden, die bisher nur aus nicht-stationären Experimenten in alternden Lösungen als transiente Phänomene bekannt sind. In diesen Reaktoren werden eine Reihe anderer Übergänge zu komplexeren Zuständen nachweisbar sein.

b.) Intensitätsänderung eingestrahlt Lichts  
(K.R. Reddy, Zs. Ungvarai-Nagy)

Die Erregbarkeit wurde in der lichtempfindlichen, mit einem Ruthenium-Komplex katalysierten BZ-Reaktion durch eine physikalische Größe, die Lichtintensität, in kontrollierter Weise verändert. In diesem System sind bereits in den beiden letzten Jahren interessante Effekte qualitativ beobachtet worden. Um diese Ergebnisse interpretieren zu können, wurden nun systematische Messungen der Wellengeschwindigkeit, die eine theoretisch gut und quantitativ verstandene Welleneigenschaft ist, als Funktion der chemischen Zusammensetzung und Lichtstärke durchgeführt. Diese Untersuchungen sind dazu geeignet, den bislang nur in Umrissen bekannten Mechanismus der Lichtempfindlichkeit dieser Reaktion und damit ihrer lichtabhängigen Erregbarkeit näher aufzuklären.

c.) Einfluß von Sauerstoff  
(U. Hartenberger, B. Neumann in Zusammenarbeit mit A.M. Zhabotinsky,  
Waltham, USA)

Sauerstoff hat ebenfalls einen großen (in diesem Fall einen inhibierenden) Einfluß auf die Erregbarkeit des Systems und damit auf die Wellenausbreitung. Die Geschwindigkeit der Wellen an der unbedeckten Oberfläche einer dünnen Schicht einer BZ-Lösung, wo Luftsauerstoff einwirkt, nimmt ab, während die Geschwindigkeit der Wellen in der Nähe des Bodens der Schicht unverändert bleibt. Mit Hilfe von speziellen, in der Schicht höhenverstellbaren Sauerstoff-Elektroden (Clark-Elektroden) gelang es, den vertikalen Sauerstoff-Gradienten unter verschiedenen chemischen Bedingungen in einer weniger als 1 mm dicken Schicht zu bestimmen. Durch Einsatz einer Gasmischpumpe können dabei unterschiedliche Atmosphären über der Schicht eingestellt werden. Die Vermessung der Sauerstoffprofile dient dem Verständnis der

Wechselwirkung zwischen Wellenstrukturen, die sich häufig unabhängig an Ober- und Unterseite der Schicht ausbilden.

## **2. Projekt: Äußere Kontrolle**

(O. Steinbock, V.S. Zykov)

Als effizientes Werkzeug zur externen Beeinflussung und Kontrolle von Wellenmustern hat sich Laserlicht erwiesen, das auf die lichtempfindliche BZ-Reaktion eingestrahlt wird. In Experimenten, in denen die Beleuchtung global erfolgte und in ihrer Intensität sinusförmig moduliert wurde, gelang es meandrierenden Spiralen den externen Rhythmus aufzuzwingen und eine unerwartete Vielfalt von offenen und geschlossenen Hypozykloid-Bahnen oder komplexe, aus vielen Frequenzen zusammengesetzte Bahnen zu erzeugen. In der von Amplitude und Frequenz der Modulation aufgespannten Ebene sind deutlich Bereiche zu erkennen, in denen unterschiedliche Frequenzverhältnisse (bei fester Phasenbeziehung) zwischen externem Taktgeber und intrinsischer Frequenz des Umlaufs einer Meanderschleife bestehen. Dieses Verhalten konnte mit einem Zwei-Variable-Modell, das auf der Oregonator Kinetik mit zusätzlichem Term für die lichtinduzierte Bromidproduktion basiert, numerisch reproduziert werden. Eine Reihe komplizierterer Spiralbahnen wird jetzt auf quasiperiodische bzw. chaotische Eigenschaften hin analysiert.

## **3. Projekt: Dreidimensionale Wellen**

(D. Stock, in Zusammenarbeit mit A. Pertsov, Syracuse, USA)

Die Dynamik zweidimensionaler Reaktions-Diffusions-Strukturen ist in dünnen Lösungsschichten bereits in quantitativem Detail untersucht worden. Dagegen verursacht die komplexe Topologie dreidimensionaler Strukturen weitergehende dynamische Eigenschaften, deren Veranschaulichung und Analyse ein schnittbildgebendes Verfahren erfordert. Hierfür wurde eine tiefenempfindliche optische Methode entwickelt, mit der einzelne Schichten der Probe auf ihre Absorptionseigenschaften abgerastert werden. In Anlehnung an das in der Fluoreszenzmikroskopie bewährte konfokale Abbildungsprinzip wird störende Bildinformation aus Vorder- und Hintergrund mittels punktförmiger Detektoren ausgeblendet. Als wichtige Voraussetzung der Untersuchungen wurden Methoden der kontrollierten Präparation und Manipulation solcher komplizierter Strukturen verbessert, zum Teil unter Verwendung der lichtempfindlichen Variante der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion.

#### **4. Projekt: Kinematische Theorie**

- a.) Modellerweiterung  
(V.S. Zykov)

Eine einfache kinematische Modellbeschreibung des Phänomens der Spiraldynamik in erregbaren Medien wurde dahingehend erweitert, daß die zeitliche Entwicklung einer Wellenfront unter expliziter Einbeziehung der refraktären Eigenschaften des Mediums berechnet wurde. Dabei ergeben sich Übergänge zwischen rotierender Bewegung um eine ortsfeste Achse und verschiedenen Meandermustern, wie sie aus Experimenten im BZ-System bekannt sind.

- b.) Anwendungen  
(V.S. Zykov, K. Agladze, O. Steinbock)

Diese recht allgemeingültige theoretische Ansatz wurde auch dazu verwendet, Wellenausbreitung in heterogenen Medien zu beschreiben, beispielsweise entlang eines schmalen Streifens erhöhter Erregbarkeit (und damit schnellerer Wellenausbreitung). Wellen erfahren dort eine V-förmige Ausstülpung, deren vorhergesagte Form und Geschwindigkeit hervorragend mit dem Experiment übereinstimmt.

Eine weitere Anwendung der kinematischen Theorie betraf die Spiraldynamik in einer kleinen, in ihrer Dimensionierung mit der Wellenlänge vergleichbaren Scheibe erregbarer Substanz. Wechselwirkung mit dem undurchlässigen Rand bewirkt eine Verformung der Spirale und ihre Drift entlang der Peripherie oder auf den Rand zu, was letztendlich zu ihrer Auslöschung führt. Diese Studien sind von großem Interesse für einige biologische Systeme, die von Natur aus klein im Vergleich zum Erregungsmuster sind (Herzmuskel, Retina).

#### **5. Projekt: Oszillationen im CSTR** (A.K. Dutt)

Langzeit-Untersuchungen von periodischen oder aperiodischen (chaotischen) Oszillationen erfolgen sinnvollerweise unter offenen Bedingungen, d.h. bei kontinuierlichem Zusatz von Ausgangssubstanzen unter ständigem Rühren im sogenannten CSTR (continuously fed stirred tank reactor). Damit werden Drifteffekte aufgrund von Alterungsprozessen in der Lösung vermieden und dynamische Zustände präzise einstellbar. Wir haben einen solchen CSTR konstruiert, erprobt

und zur Kontrolle der zeitlichen Dynamik in der BZ-Reaktion parallel zu den Untersuchungen räumlicher Strukturen in dünnen Schichten eingesetzt.

Besonderes Interesse galt den Effekten der Rührgeschwindigkeit und der Temperatur auf verschiedene Varianten dieser Reaktion. Bei Verwendung von Gallussäure, anstelle von Malonsäure als Substrat, beobachteten wir erstmals eine Bistabilität zwischen einem oszillierenden und einem stationären Zustand.

## **6. Projekt: Kopplung an Hydrodynamik**

(K. Matthiessen, M. Böckmann, in Zusammenarbeit mit H. Miike und S. Kai, Japan, und H.R. Brand, Bayreuth, B. Hess)

Unter den konvektiven Phänomenen in strukturbildenden gelfreien Reaktions-Diffusionssystemen sind Strömungen von besonderem Interesse, die direkt durch die Änderung des chemischen Zustands hervorgerufen werden. Die Reproduzierbarkeit von globalen Flüssen, die sich über viele Wellenfronten hinweg erstrecken und im Takt der passierenden Wellenfronten die Richtung wechseln, wurde durch Verbesserung der präparativen Bedingungen erheblich erhöht. Diese Oszillationen der Flußrichtung können Amplituden erreichen, die zum Zerreißen der Fronten führen und ein chemisch turbulentes Muster hinterlassen. Eine spezieller optischer Aufbau ermöglicht nun die gleichzeitige Analyse der lokalen Flußgeschwindigkeit und des globalen Musters.

Fortschritte im Verständnis des Kopplungsmechanismus wurden durch zwei Experimente erzielt. Mittels eines Mach-Zehnder-Interferometers konnte erstmals eine Deformation der Oberfläche der Lösungsschicht nachgewiesen werden, die mit der Wellenfront mitwandert und auch bei hoher Wellenamplitude weniger als 2  $\mu\text{m}$  beträgt. Dieses Ergebnis unterstreicht die wichtige Rolle der Oberflächenspannung. Andererseits wurde eine Zelle mit einem pyroelektrischen Wärmesensor konstruiert, um die Änderung der lokalen Temperatur mit dem chemischen Zustand empfindlich zu messen. Die bisher detektierte Temperaturerhöhung bleibt unter  $0.04^\circ\text{C}$ , ein Wert, der jedoch ausreicht, um bei der Kopplung der Konvektion an die Reaktions-Diffusions-Struktur berücksichtigt werden zu müssen.

## **7. Projekt: Wellenausbreitung auf der Retina**

(M. Dahlem in Zusammenarbeit mit W. Hanke, H. Hohenheim, und V. Lima, Campinas, Brasilien)

Ein den chemischen Wellen nahe verwandtes Phänomen der Wellenausbreitung, bekannt unter dem Namen "spreading depression" (SD), wurde experimentell auf der

Netzhaut von Küken untersucht. Unter SD versteht man eine komplette Abflachung des Elektro-enzephalogramms nach lokaler epicorticaler Stimulierung. Diese Abflachung breitet sich mit einer Geschwindigkeit von 2-5 mm/min über den ganzen Cortex aus. Es handelt sich allerdings nicht um ein für den Cortex spezifisches Phänomen, da es auch in anderen Bereichen des zentralen Nervensystems ausgelöst werden kann.

Allgemein kann man in der Retina das komplexe räumliche Verhalten der SD Wellen gut studieren, da es ein intrinsisches optisches Signal gibt, das mit der Erregungswelle korreliert. Wir beobachteten erstmalig, daß die spiralförmige Wellenausbreitung, die man dort initiieren kann, ein auffälliges mäandrierendes Muster aufweist, für das es bisher keine Vorhersagen im Rahmen von Modellsimulationen gibt. Dieses läßt Rückschlüsse auf die Länge der Erholungsphase und die Erregbarkeit des Mediums zu.

Wegen der Verwandtschaft zu Ausbreitungsphänomenen von lokalen epileptischen Anfällen kommt der SD eine allgemeine Bedeutung zu, und es ist möglich, daß sie auch bei fokaler Epilepsie oder fokaler Migräne eine Rolle spielt.

### **3. Arbeitsgruppe PD Dr. M. Markus**

Mitarbeiter: C. Schäfer, A. Gasper, H. Emmerich, K. Stavridis,, St. Leute,  
Th. Dütemeyer

#### **1. Projekt: Beobachtung und Analyse von Turbulenz in einem chemischen Medium**

(K. Stavridis)

Es wurde zum ersten Mal Turbulenz in der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion ohne Konvektion und mit homogenen Kontrollbedingungen experimentell beobachtet. Dazu benutzten wir die lichtempfindliche Ruthenium-katalisierte Reaktion in einem Gel. Turbulenz trat bei extrem niedrigen Ruthenium-Konzentrationen auf. Bei niedrigen Lichtintensitäten erhielten wir bekannte periodische Wellen. Wellenfrontinstabilitäten (aperiodische Unregelmäßigkeiten in der Wellenfront) traten bei Erhöhung der Lichtintensität auf. Weitere Erhöhung der Intensität verursachte ein Aufreißen der Fronten, was zu chaotischer Spiralenreproduktion oder zu labyrinthartigen Strukturen führte. Noch höhere Intensitäten führten zu chaotisch umherwandernden, nicht-spiralisierenden Wellenfetzen ("frazzle-gas"). Jede dieser Strukturen konnte 1 bis 2 Stunden aufrecht erhalten werden. Dieses System ist eine übersichtliche und leicht zu handhabende Anordnung zur Erzeugung von Turbulenz; sie erlaubt somit allgemeine Eigenschaften von räumlich-zeitlichem Chaos, einschließlich seiner Kontrolle, zu untersuchen, sowie bildanalytische Quantifizierungsmerkmale zu testen. Zu beachten ist dabei die formale Analogie der BZ-Reaktion mit dem neuromuskularen Gewebe des Herzens, in dem Turbulenzen die Ursache von Arrhythmien (Fibrillation) sind.

#### **2. Projekt. Chemische Linsen**

(C. Schäfer, K. Stavridis)

Die in Projekt 1 benutzte Reaktion wurde verwendet, um Brechungseffekte periodischer Wellen zu untersuchen. In den Experimenten wurde eine kreisrunde Lichtfläche auf die Petrischale, in der die Reaktion stattfindet, projiziert. Es zeigte sich, daß solch eine Fläche wie eine optische Linse wirkt: Wellenfronten werden verformt, z.B. von konvex zu konkav, und es läßt sich eine effektive Brennweite bestimmen. Mit Hilfe eines stochastischen, zellulären Automaten konnten wir diese Wellenverformungen simulieren und durch Vergleich mit Experimenten eine Parameter-Optimie-

rung durchführen. Diese Untersuchungen sind von Bedeutung im Hinblick auf die Verwendung der lichtempfindlichen BZ-Reaktion als Bildverarbeitungssystem.

### **3. Projekt: Quantitative Analyse von "fat fractals"**

(A. Gasper, Th. Düttemeyer)

Der Lyapunov-Exponent (ein Maß der Unvorgersagbarkeit eines Systems) wurde für populationsdynamische Rekursionen im Parameterraum graphisch mit einer von uns bereits entwickelten Technik dargestellt. Nun analysierten wir die topologischen Eigenschaften der Bereiche in denen der Exponent negativ ist, also Periodizität herrscht. Es zeigte sich, daß diese Bereiche trotz Selbstähnlichkeit eine ganzzahlige Dimension haben, also keine Fraktale im Sinne von Hausdorff sind. Das Skalierungsverhalten der Fläche  $F$  gegenüber der Bedeckungs-Kantenlänge  $E$  zeigte jedoch das Verhalten eines sog. "fat fractals":  $F = F_0 = CE^b$ . Wir entwickelten Methoden zur Bestimmung von  $F_0$ ,  $C$  und  $b$  durch nicht-lineare Optimierung.

### **4. Projekt: Modellierung von Muschelpigment-Mustern**

(St. Leute)

Es wurde ein zellulärer Automat zur Modellierung der Pigmentmuster auf Mollusken-schalen entwickelt. Dabei wurden Kinetiken eines Aktivators und eines Inhibitors berücksichtigt. Durch Parametervariation konnten periodische und chaotische, in der Natur auftretende Muster simuliert werden. Während mit den alternativen partiellen Differentialgleichungen von Meinhardt & Klinger verschiedene Modelle für unterschiedliche Muster postuliert wurden, konnte mit unserer Methode eine Vielzahl von Mustern mit einem einzigen Modell simuliert werden. Unsere Methode hat den weiteren Vorteil, daß sie unabhängig von der algebraischen Form experimentell nicht zugänglicher Kinetiken ist.

### **5. Projekt: Minimalmodell für tektonische Prozesse**

(H. Emmerich in Zusammenarbeit mit der Universidade Lisboa)

Ein Haft-Rutsch-Modell für die Bewegung tektonischer Platten wurde unter der Nebenbedingung minimiert, daß die Erdbebenstatistik von Gutenberg & Richter erhalten bleibt. Es zeigte sich, daß ein zellulärer Automat mit nur zwei Zuständen (Binärmodell) zur Beschreibung ausreicht. Die Sequenzen der Ruhezustände der Platten ließen sich mit den bekannten Automatenklassen von Wolfram klassifizieren. Neuartig war das Auftreten größerer Parameterbereiche mit sog. Klasse-IV-Verhal-

ten, d.h. weder periodisch noch chaotisch (unvordersagbar), sondern "unentscheidbar" im dem Sinne, daß kein Attraktor mit wohl definiertem Lyapunov-Exponent feststellbar ist.

#### 4. Arbeitsgruppe Dr. Th. Plesser

Mitarbeiter: K.H. Müller, R. Hübner, U. Storb

##### Allgemeine Thematik:

Der Schwerpunkt der Arbeiten 1993 lag auf der numerischen Analyse der Trajektorien, der Spitze einer sich spiralförmig ausbreitenden Welle in einem erregbaren Medium.

Als Beispiel für das in der Natur weitverbreitete Konzept des erregbaren Mediums wurde ein chemisches System, die Belousov-Zhabotinsky-Reaktion, gewählt. Für die Wellenbildung in diesem System gibt es zahlreiche experimentelle Beobachtungen und eine überraschend einfache Beschreibung der Dynamik des Systems durch zwei Variable, den Aktivator oder Propagator und den Inhibitor oder Controller. Die Dynamik, gekoppelt mit der Diffusion liefert für die obengenannten Variablen ein System von zwei partiellen Differentialgleichungen, das nur numerisch gelöst werden kann. Die wellenförmigen Lösungen wurden in Abhängigkeit von zwei Parametern, die die Dynamik charakterisieren, untersucht. Der Parameter  $\varepsilon$  beschreibt die Geschwindigkeit des Anstiegs des Aktivators nach Erregung, und der Parameter  $f$  ist ein Maß für den Schwellenwert des Aktivators, der überschritten werden muß, damit die Erregung sich ausbreitet.

In Abhängigkeit der beiden Parameter ( $\varepsilon$ ,  $f$ ) zeigt die Bewegung der Spitze einer Spiralwelle sehr unterschiedliche Bewegungsmuster. Für kleine Werte erhält man die bekannte Rotation um ein festes Zentrum. Steigt  $f$  an, so gibt es Bifurkationen zu komplexeren Mustern. Bei unserer Analyse fanden wir zwei neue Bifurkationen für  $\varepsilon = 0,01$  bei  $f > 6,0$  und  $f > 8,7$ . Durch Fourieranalyse konnten wir zeigen, daß die Grundstruktur der komplexen Bewegungsmuster der Spiralspitze durch das Epizykel-Modell der Astronomie zu beschreiben ist. Als besonderes Ergebnis stellte sich heraus, daß das Epizykel mit der höchsten Frequenz die Geometrie und das Zeitverhalten der Spirale außerhalb der Zentralregion bestimmt, das erregbare Medium ist ein Hochpass-Filter. Unabhängig davon, welche Bewegung die Spiralspitze vollführt, wird die Dynamik der Spiralwelle durch die Drehbewegung mit der höchsten Drehgeschwindigkeit ( $\omega_r$ ) bestimmt.

Auf dem Arbeitsgebiet "Photozyklus des Bacteriorhodopsin" wurde in Zusammenarbeit mit I. Chizov (Moskau) der gesamte Zyklus im Temperaturbereich von 0 Grad bis 40 Grad im Wellenlängenbereich von 330 bis 730  $\mu\text{m}$  analysiert. Die spektrale Auflösung der Daten betrug 4  $\mu\text{m}$ . Bei gleichzeitigem Fit aller Daten ergab sich, daß

sieben Exponentialfunktionen notwendig sind, um die experimentellen Daten zu beschreiben.

## 5. Arbeitsgruppe Dr. A. Boiteux

Mitarbeiter: W. Siebers

### 1. Projekt: Zelluläre Oszillationen

Im Verlaufe des Jahres 1993 wurden die experimentellen Arbeiten über zelluläre Oszillationen mit dem Umzug aus der 6. in die 3. Etage abgebrochen.

Eine Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse ist publiziert in "Glycolysis - from enzymatic control elements to mathematical models" in "Some physicochemical and mathematical tools for understanding of living systems", H. Greppin et al eds, University of Geneva, 1993, pp 141-168.

### 2. Projekt: Metabolische Studien am Flow-Reaktor

Gegenwärtig befinden sich in der Auswertung experimentelle Untersuchungen im Flow-Reaktor an synchron sich teilenden Zellen von *S. cerevisiae*. Die Zellen lassen sich bei limitiertem Substratfluß beliebig lange im Synchron-Zustand halten; damit eignet sich dieses System hervorragend zum Studium metabolischer Vorgänge vor und während der Zellteilung. Gemessen wurden im Zuchtmedium sowie in den Zellen die Konzentration des Substrates Glukolyse, des Reservestoffes Trehalose, sowie einer Reihe von glykolytischen Metaboliten in Abhängigkeit von der mikroskopisch bestimmten Phase des Zellzyklus. Außerdem wurden kontinuierlich die für pH-Konstanz erforderliche Menge an Alkali (titrimetrisch), die Zellmasse (densitometrisch),  $pO_2$  und  $pCO_2$  (elektrometrisch) registriert.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen als erstes Zeichen der einsetzenden Zellteilung einen deutlichen Anstieg der cytosolischen Konzentrationen von Zuckerphosphaten und Glukose. Diese Konzentrationsänderungen erfolgen 2 bis 2 1/2 Stunden vor dem ersten Auftreten von knospenden Hefezellen. In der Tat finden dramatische Veränderungen des glykolytischen Flusses statt, lange bevor die ersten knospenden Zellen im mikroskopischen Bild sichtbar werden: Etwa 1 Stunde vorher startet fast "explosionsartig" der glykolytische Fluß, getriggert durch die Aktivierung der Enzyme Trehalase und Phosphofruktokinase. Dieser Fluß ist so schnell, daß der große Vorrat an Trehalose in den Zellen in weniger als 15 Minuten verbraucht ist und zu einem erheblichen zwischenzeitlichen Anstieg der cytosolischen Glukosekonzentration führt. Während dieser glykolytischen "Stoßwelle" wird keine weitere Glukose aus

dem Medium aufgenommen, d.h. der Fortschritt der Zellteilung erfolgt unabhängig von weiterer Zufuhr von Substrat, also mit zelleigenen Baustoffen und Energiereserven. Während etwa 90 Minuten, gerechnet vom Start der "Stoßwelle", wird das glykolytische Endprodukt Ethanol vollständig zu Acetat und dieses wiederum zu  $\text{CO}_2$  und Wasser oxidiert, und erst nach der vollständigen Oxidation beider Stoffe lassen sich im Mikroskop die ersten Anzeichen knospender Zellen erkennen.

Ein derartiger Verlauf des Zellzyklus von *S. cerevisiae* ließ sich bei allen Variationen (pH, Temperatur, Substrat und Substratzufuhr rate) der Zuchtbedingungen nachweisen. Stets folgte auf eine mehr oder weniger lange Periode des Anhäufens von Reservestoffen (Trehalose, Glykogen) ein stoßartig einsetzender glykolytischer Fluß, der die einsetzende Mitose bis zum Auftreten von knospenden Zellen unabhängig von externen Parametern ablaufen ließ. Es stellt sich die Frage, inwieweit, unabhängig von detaillierten Mechanismen, ein derartiger Verlauf des Zellzyklus allgemein die Regel ist.

## 6. Arbeitsgruppe Dr. H. Prinz

### Allgemeine Thematik

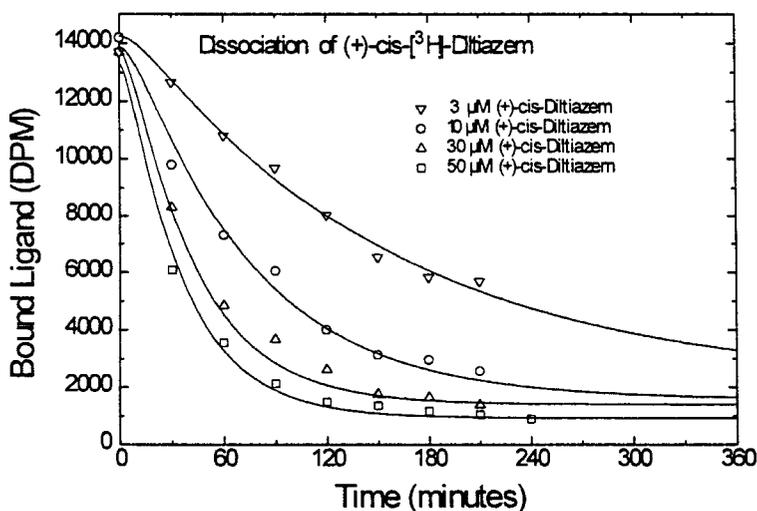
Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Wechselwirkung von Proteinen und hochaffinen Liganden. Der Schwerpunkt liegt bei der Analyse komplexer Kinetiken.

### 1. Projekt: Der Bindungsmechanismus von $\text{Ca}^{++}$ -Antagonisten an einem spannungsabhängigen Kalziumkanal.

(in Zusammenarbeit mit H. Glossmann und J. Striessnig, Universität Innsbruck, Österreich)

Der durch Depolarisation induzierte Kalziumstrom in elektrisch erregbaren Zellen wird von verschiedenen spannungsabhängigen Kanälen hervorgerufen. Der hier untersuchte Kalziumkanal des Typs L befindet sich in der Membran von neuronalen, muskulären und innersekretorischen Zellen. Er ist pharmakologisch bedeutsam, weil er durch mindestens drei unterschiedliche Klassen von hochaffinen synthetischen Liganden (Benzothiazepine, Dihydropyridine und Phenylalkylamine) auf verschiedene Weise moduliert werden kann. Der Bindungsmechanismus erscheint extrem kompliziert. So sind bisher insgesamt sieben verschiedene allosterisch gekoppelte Bindungsstellen postuliert worden.

Die Bindung von Benzothiazepinen (wie (+)-cis-Diltiazem) entspricht zunächst der einfachen Bindung von Liganden an eine Bindungsstelle. Wenn jedoch die Dissoziation von radioaktivem (+)-cis-Diltiazem nach Zugabe von verschiedenen Konzentrationen nicht radioaktiven (+)-cis-Diltiazems gemessen wird, hängt die Dissoziationskinetik von der Konzentration des verdrängenden Liganden ab:



Solch eine Beobachtung wurde bisher mit einem spezifischen Mechanismus, meistens als allosterische Wechselwirkung von zwei Bindungsstellen, erklärt, aber nicht berechnet. Hier konnte die gesamte Kinetik zum ersten Mal mit einem einfachen Modell berechnet werden: Hochaffine Liganden binden in der Regel nicht an eine einzelne Stelle des Proteins, sondern an einen Satz schwach affiner Anlagerungspunkte. Beschleunigte Dissoziation ist immer dann zu erwarten, wenn eine Konkurrenz um einzelne solcher Anlagerungspunkte möglich ist. (H. Prinz und J. Striessnig, 1993 *J. Biol. Chem.* **268**, 18580-18585)

Die mit radioaktiven Isotopen im Filtrationsexperiment gemessene Bindung von Dihydropyridinen wie Nifendipin und Isradipin entspricht ebenfalls der einfachen Bindung von Liganden an eine Bindungsstelle. Bei Gleichgewichtsbindungsstudien hing jedoch die Zahl der Bindungsstellen von der Ligandenkonzentration ab. Die vollständige Analyse der Bindungskinetik eines fluoreszierenden Dihydropyridins zeigte einen stufenweisen Bindungsmechanismus (W. Berger, H. Prinz, J. Striessnig, H.C. Kang, R. Haugland und H. Glossmann, 1993 in Vorbereitung). Unterschiedliche Affinitäten des vorgelagerten Gleichgewichts beeinflussen die Anlagerungskinetik des fluoreszierenden Liganden, erscheinen im Filtrationsexperiment aber nur als unterschiedliche apparente Rezeptorkonzentrationen.

Als dritte pharmakologische Substanzklasse werden Phenylalkylamine wie Verapamil und Devapamil untersucht. Auch hier war ein fluoreszierender Ligand mit den gewünschten pharmakologischen Eigenschaften synthetisiert worden (H.-G.Knaus, T. Moshhammer, K. Friedrich, H.C. Kang R. P. Haugland und H. Glossmann, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 3586-3590). Eine vollständige Analyse der kinetischen Experimente war bisher nicht möglich, weil die Konzentration dieses hydrophoben Liganden von Experiment zu Experiment stark variierte. Die vorläufige Analyse zeigt einen stufenweisen Bindungsmechanismus und beschleunigte Dissoziation wie bei den Benzothiazepinen.

Sowohl der stufenweise Mechanismus als auch die beschleunigte Dissoziation ergibt sich nach unseren Rechnungen aus den generellen Eigenschaften von Makromolekülen. Die gegenseitige Beeinflussung der Kinetiken verschiedener Kalziumantagonisten entspricht nach diesem Modell sterischen Wechselwirkungen in einer hydrophoben Tasche. Wir hoffen, mit unseren einfachen Modellvorstellungen zur vollständigen Berechnung aller Kinetiken von Kalziumantagonisten am spannungsabhängigen Kalziumkanal zu kommen.

**2. Projekt: Pharmakologische Charakterisierung des Dioxin-Rezeptors.**

(in Zusammenarbeit mit Y. Fujii-Kuriyama, Tohoku University, Japan)

Der Rezeptor für aromatische Kohlenwasserstoffe (Ah-Rezeptor oder Dioxin-Rezeptor) war von der Arbeitsgruppe Fujii-Kuriyama kloniert worden (Biochem.Biophys.Res.Commun. 184, 246-253, 1992). Er wurde hier in einem geeigneten System, dem *E. coli* - Stamm BL 21, exprimiert. Die Reinigung des exprimierten Rezeptors scheiterte bisher an der Labilität des an Ni<sup>++</sup>-NTA Harz gebundenen Proteins. Erfolgversprechender erscheint klassische Ionenaustausch-Chromatografie an der FPLC. Das Ziel dieses Projekts ist die pharmakologische Charakterisierung und immunologische Lokalisation des Dioxin-Rezeptors.

**3. Projekt: Der Bindungsmechanismus von Ran, RCC1 und GDP**

(in Zusammenarbeit mit Ch. Klebe, MPI Heidelberg, F. Wittinghofer, R. Goody)

Ran, ein kleines GTP-bindendes Protein ("Ras-related nuclear protein") ist von Christian Klebe im MPI für medizinische Forschung in Heidelberg kloniert, exprimiert und gereinigt worden. Die von ihm durchgeführten kinetischen Messungen mit einem fluoreszierenden GDP-Analogon und RCC1 ("Regulator of Chromosomal Condensation"), einem anderen kleinem Protein aus dem Zellkern, werden zur Zeit hier analysiert.

## 7. Arbeitsgruppe Dr. M.A. Delpiano

Mitarbeiterin: Carmen Danz

### Allgemeine Thematik

Jede Zelle im Organismus benötigt Energie für ihr Wachstum, ihre Teilung und Aufrechterhaltung der Zellfunktion. Diese Energie kann im Zellstoffwechsel der Heterotrophen aus der enzymatischen Spaltung organischer Nährstoffmoleküle mit "energiereichen Verbindungen" in Form von Adenosintriphosphat (ATP) als Energiespender gewonnen werden. In den aeroben Zellen erfolgt diese Energiegewinnung durch die Oxidation der Nährstoffmoleküle durch molekularen Sauerstoff. Es ist deswegen notwendig, daß eine Gewährleistung der Zellfunktion unabhängig von jeglichem limitierendem Sauerstoffangebot erfolgen kann. Der Organismus besitzt dafür spezialisierte sauerstoffsensitive Zellen, die auf feinste Änderungen der Sauerstoffversorgung mit regulatorischen Vorgängen reagieren und so eine mögliche Zellschädigung durch Hypoxie verhindern.

Unser Interesse ist es, mittels elektrophysiologischer Messungen mit der Patch-Clamp-Technik, die initialen neurosekretorischen Antworten dieser sauerstoffrezeptiven Zellen auf Hypoxie zu untersuchen. Als Modell wurde eine Endothelzelllinie gewählt (E-49), um das Verhalten ihrer Membranströme auf verschiedene Beeinflussungen ihres Stoffwechsels zu studieren und so die molekularen chemotransduktiven Prozesse zu erklären.

### 1. Projekt: **Gesamtströme an Endothelzellen von Kapillaren des Rattenhirns und der Effekt von Hypoxie und anderen Faktoren**

(C. Danz in Zusammenarbeit mit A. Langerak und F. Pietruschka)

Im vorigen Jahr wurden drei verschiedene  $K^+$ -Auswärtsströme an diesen Endothelzellen (EC) charakterisiert (siehe Arbeitsbericht 1992), und festgestellt, daß Hypoxie die Membranleitfähigkeit für  $K^+$ -Ionen unterschiedlich beeinflusst. Es ist aus der Literatur bekannt, daß die Typ I-Zellen des *Glomus caroticum* sowie auch die glatten Muskelzellen der Lungengefäße und die sogenannten "pulmonary neuroepithelial bodies" unter Sauerstoffmangel ebenfalls mit einer Leitfähigkeitsänderung ihrer  $K^+$ -Kanäle antworten. Es konnte ferner beobachtet werden, daß diese ECs anscheinend keine  $Na^+$ -Kanäle und nur schnell inaktivierende und niedrigere spannungsaktivierte  $Ca^{2+}$ -Kanäle besitzen (T-Typ). Ihre Leitfähigkeit wird durch Hypoxie ( $P_{O_2}$ : 20 Torr),

ähnlich wie bei den Typ I-Zellen des *Glomus caroticum*, nicht beeinflusst. Diese  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle können jedoch durch akute Ansäuerung des Superfusats (pH: 7,4 auf pH: 6,8) durch Salzsäure oder Propionsäure reversibel gehemmt werden. Ebenfalls werden die  $\text{K}^+$ -Kanäle durch niedrigen external pH teilweise gehemmt. Diese Hemmung könnte dadurch erklärt werden, daß die treibende Kraft von freiem  $\text{Ca}^{2+}$  für die  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängigen  $\text{K}^+$ -Kanäle herabgesetzt wird. Mit anderen Worten, hemmt saurer pH hauptsächlich die  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierten  $\text{K}^+$ -Kanäle in den ECs des Rattenhirns. Das Protonophor Dinitrophenol (DNP), das sowohl die Zellatmung entkoppelt und dadurch auch eine starke intrazelluläre Ansäuerung verursacht, hat zwei unterschiedliche Wirkungen auf die  $\text{K}^+$ -Kanäle gehabt: eine initiale Hemmung (30 s) bei niedriger Konzentration (28  $\mu\text{M}$ ), gefolgt von einer Aktivierung (90 s). Bei höheren Konzentrationen (250  $\mu\text{M}$ ) DNP, ähnlich wie bei Hypoxie, ist die  $\text{K}^+$ -Leitfähigkeit der Zellmembran erhöht.

Es soll weiter geklärt werden, welche der drei  $\text{K}^+$ -Kanal Typen an dieser chemorezeptiven Antwort beteiligt ist.

## 2. Projekt: **Voltage-Clamp-Experimente zur Bestimmung von T-Typ Calcium-Kanälen in den Endothelzellen.**

(C. Danz in Zusammenarbeit mit Dr. Adolfo Cavalié, MPI für Psychiatrie, Martinsried)

Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Einwärtsströme der ECs, wie im vorigen Jahr berichtet, wurden weiter in ihren elektrischen und pharmakologischen Eigenschaften charakterisiert. Um sie frei von anderen kontaminierenden Ein- und Auswärtsströmen untersuchen zu können, wurden Kalium und Natrium in der extra- als auch in der intrazellulären Lösung durch N-methyl-D-glucamine ersetzt und die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im Medium auf 10 mM erhöht. Unter diesen Voraussetzungen zeigen diese Einwärtsströme einen schnell aktivierenden und inaktivierenden Verlauf, wenn sie aus einem Haltepotential von -80 mV mit superponierenden Spannungspulsen (10 mV Amplitude und 150 ms Dauer) stimuliert werden. Ihre Aktivierungsschwelle liegt in der Stromspannungsbeziehung bei -50 mV und ihre Amplitudenmaxima liegen bei 25 bis 120 Picoampere bei -25 mV. Der stationäre Verlauf ihrer Inaktivationskinetik ist spannungsabhängig mit Zeitskonstanten von ca. 15 bis 57 ms, die schneller als die Zeitskonstanten ihrer Deaktivationskinetik in ihren "tail currents" sind. Die Stromamplitude ändert sich nicht durch Erhöhung der extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration von 2,5 auf 10 mM oder durch Anwendung von 10 mM  $\text{Ba}^{2+}$  anstatt  $\text{Ca}^{2+}$  im Superfusat. Weder der Dihydropyridinagonist Bay K-8644 (10  $\mu\text{M}$ ) noch die Antagonisten Nifedipine (5  $\mu\text{M}$ ), PN200-110 (10  $\mu\text{M}$ ) und D888 (10  $\mu\text{M}$ ) erhöhen oder hemmen diese schnell inakti-

vierenden  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme. Nur  $\text{Ni}^+$  und Amilorid können diese Ströme mit einem  $\text{IC}_{50}$  von 25 und 32  $\mu\text{M}$  total hemmen. Man kann daher auf Grund dieser elektrischen und pharmakologischen Eigenschaften behaupten, daß es sich hier um sogenannte "low voltage-activated"  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme handelt oder T-Typ  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle. Dies bestätigt frühere Annahmen, daß Endothelzellen aus dem Kapillarbereich tatsächlich spannungsgesteuerte, niederschwellige  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle besitzen. Aus diesem Grund bieten sich unsere ECs als ein gutes Modell für die Untersuchungen dieser nicht kontaminierten Kanäle an, da sie kaum aktive "high voltage-activated"  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle beinhalten.

### **3. Projekt: Der Effekt von extrazellulärem $\text{Mg}^{2+}$ auf die $\text{K}^+$ - und $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme der Endothelzellen.**

(C. Danz in Zusammenarbeit mit Prof. Burton M. Altura, State University of New York, Brooklyn, NY, U.S.A.)

Magnesium-Ionen spielen eine wichtige Rolle in der Regulation von Ionenkanälen, Enzymen, und anderen Zellfunktionen wie Zellwachstum oder  $\text{Ca}^{2+}$ -Homöostasis. In dieser Hinsicht ist es bekannt, daß der intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt von glatten Muskelzellen der Blutgefäße durch das extrazelluläre  $\text{Mg}^{2+}$  reguliert werden kann und daher an der Entstehung vaskulärer Krankheiten beteiligt ist. Obwohl es auch an der  $\text{Ca}^{2+}$ -Regulation von Endothelzellen mitbeteiligt ist, weiß man dennoch wenig darüber. Die Wirkung von externem  $\text{Mg}^{2+}$  in verschiedenen Konzentrationen (0,3, 1,2, 2,4, 4,8 mM) auf die Membranströme von Kapillarendothelzellen, die nicht in Verbindung mit glatten Muskelzellen stehen, wurde deswegen mit der Patch-Clamp-Technik untersucht. Man konnte feststellen, daß der  $\text{K}^+$ -Auswärtsstrom durch Erhöhung der physiologischen  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration von 1,2 mM auf 2,4 um 20 % und von 1,2 auf 4,8 mM um 35 % gehemmt werden kann. Erniedrigung der  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration von 1,2 auf 0,3 mM ging mit einem leichten aber deutlichen Anstieg der Membranleitfähigkeit für  $\text{K}^+$  einher. Die weiteren Messungen an den  $\text{Ca}^{2+}$ -Einwärtsströmen mit hohem  $\text{Mg}^{2+}$  und deren Hemmung zeigten wie erwartet, daß  $\text{Mg}^{2+}$  einem schwachen  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanal-Hemmer entspricht. Diese Messungen bestätigten außerdem die Existenz von  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierten  $\text{K}^+$ -Kanälen an diesen Endothelzellen. Interessanterweise wurden die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme anscheinend durch eine niedrigere  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration von 0,3 mM ebenfalls auf 30 % gehemmt. Da aber diese Hemmung mit einer Verschiebung von ca. 10 mV der  $\text{Ca}^{2+}$ -Umkehrspannung in der Stromspannungsbeziehung einhergeht, kann man annehmen, daß es sich hier nicht um eine echte Hemmung handelt, sondern möglicherweise um ein  $\text{Mg}^{2+}$ -"screening" auf der Zellmembran. Mit anderen Worten destabilisiert der  $\text{Mg}^{2+}$ -Entzug die

Membranoberfläche, wie es schon für  $\text{Ca}^{2+}$  bekannt ist. Falls diese Annahme stimmt, erwartet man, daß die Inaktivationskinetik des  $\text{Ca}^{2+}$ -Stroms unter niedrigem  $\text{Mg}^{2+}$  mehr zur negativen Spannung verschoben ist. Diese Fragestellung wird weiter untersucht.

## EMERITUSARBEITSGRUPPE

**Prof. Dr. D.W. Lübbers**

Mitarbeiter: G.A. Holst

Studentische Hilfskräfte: A.-M. Treeck (3/4)  
F. Beiderwieden (1/2)  
T. Köster (1/2)

**1. Projekt: Nichtinvasive Bestimmung des lokalen Sauerstoffverbrauches der Haut beim Menschen (Untersuchung zur Physiologie der normalen und pathologischen Sauerstoff- und Substratversorgung der Haut)**  
(Zusammenarbeit mit Prof. Dr. U. Schulz-Ehrenburg, St. Josefs-Hospital, Ruhr-Universität Bochum, cand. med. M. Falkenberg, Ruhr-Universität Bochum)

Problem: Bei Patienten mit Hautdurchblutungsstörungen hat sich gezeigt, daß relativ häufig an der Haut Areale auftreten, deren Versorgung besonders gefährdet ist. Für eine optimale Therapie wäre eine frühzeitige Erkennung dieser Areale notwendig. Hier kann vielleicht die Bestimmung der lokalen O<sub>2</sub>-Aufnahme der Haut weiterhelfen, da erste klinische Berichte über eine Veränderung der Haut-O<sub>2</sub>-Aufnahme in solchen Arealen als Frühzeichen einer Störung vorliegen. Der Sauerstoffverbrauch der Haut wird dadurch bestimmt, daß nach O<sub>2</sub>-Atmung und Durchblutungsstopp der pO<sub>2</sub>- Abfall auf der Haut mit einer transkutanen pO<sub>2</sub>-Elektrode gemessen wird.

Die Untersuchungen wurden im Rahmen einer Dissertation von cand. med. M. Falkenberg durchgeführt. Es wurden unterdessen ca. 50 Patienten mit chronisch venöser Insuffizienz untersucht. Dabei ergaben sich sehr interessante neuartige Befunde, an deren Deutung zur Zeit gearbeitet wird.

**2. Projekt: Simulationsrechnungen zur Sauerstoffversorgung der Haut: Mikro-zirkulation und Gasaustausch durch die Hautoberfläche**  
(F. Beiderwieden)

Problem: Es ist seit langem bekannt, daß die menschliche Haut Sauerstoff aus der sie umgebenden Luft aufnimmt und zwar ca. 1 - 2% von der Ruheatmung (ca. 250 ml O<sub>2</sub>/min). Dies ist für den Gesamtorganismus wenig, kann aber für die lokale Sauerstoffversorgung der Haut eine große Bedeutung haben. Wir haben gezeigt, daß sich durch Simulationsrechnungen aufgrund der relativ regelmäßigen Struktur der oberen Hautschicht eine mikro-zirkulatorische Einheit definieren läßt, an der die Sauerstoffversorgung der Haut untersucht werden kann. Im Institut wurde ein umfangreiches Programm entwickelt, mit dem sich solche Analysen unter Variation der verschiedenen Parameter durchführen lassen.

Die Simulationsrechnungen haben ergeben, daß unter sonst konstanten Bedingungen die lokale Durchblutung und der O<sub>2</sub>-Flux eng korreliert sind. Der O<sub>2</sub>-Flux von aussen kann also als indirekter Indikator für die lokale Mikro-zirkulation gebraucht werden.

**3. Projekt: Untersuchungen zur Sauerstoff- und Substratversorgung der Haut, des Herzens und des Gehirns mit Hilfe fotometrischer Meßmethoden**  
(F. Beiderwieden in Zusammenarbeit mit Dr. J. Hoffmann, Bremen)

Problem: Um verlässliche Daten über die O<sub>2</sub>-Versorgung von Organen zu erhalten, sind optische Methoden von besonderer Bedeutung, da sie nichtinvasiv sind und sich am intakten Organismus einsetzen lassen. Wie tief die optische Strahlung ins Gewebe eindringt, hängt von der Wellenlänge und von der Streuung der Strahlen ab. Im sichtbaren liegt die Eindringtiefe im Millimeterbereich, im nahen Infrarot (NIR) beträgt sie mehrere Zentimeter. Mit der NIR-Strahlung lassen sich also Informationen über die Verhältnisse im Gewebeinneren erhalten. Das Problem aber ist, daß die Streuung die Gewebespektren so stark verändern kann, daß einfache Auswertverfahren versagen.

Um die Streuung zu erfassen, haben wir mit dem Rapidspektrometer (100 Spektren/s) große spektrale Bereiche aufgenommen und diese Spektren nach der Zweiflußtheorie nach Kubelka und Munk ausgewertet. Es zeigte sich, daß die von uns aufgenommenen Gewebespektren nach dieser Theorie mit hoher Genauigkeit simu-

liert werden können. Das spricht dafür, daß mit unserer Meßmethode vorwiegend die diffuse Reflexion erfaßt wird.

In Zusammenarbeit mit Dr. J. Hoffmann wurde ein umfangreiches Auswertprogramm erarbeitet. Das Programm läuft auf einem PC. Es wurden früher aufgenommene Herzspektren ausgewertet und aufgrund dieser Auswertung an weiteren Verbesserungen gearbeitet.

#### **4. Projekt: O<sub>2</sub>-Flux-Optode - FLOX-Meßsystem (Meßsystem mit neuartigem Sensor)**

(G. Holst, T. Köster)

Der Sensorkopf für die O<sub>2</sub>-Flux-Optode wurde aufgrund der Meßergebnisse und Erfahrungen mit den Diffusionstestmembranen um eine Testkammer oberhalb der Optode erweitert und an das Meßsystem angepaßt. Das entwickelte Flox-Meßsystem entspricht dem projektierten 3-Optoden-Meßplatz, der bei dem verwendeten Meßprinzip der Fluoreszenzlöschung die durch die Abklingzeit verursachte Phasenverschiebung eines cosinusförmig modulierten Lichtsignales als Information benutzt. Somit besteht das FLOX aus drei Meßmodulen (FO1 - FO3), die jeweils die Lichtquellen (LEDs) und die Lichtdetektion (PMTs) mit anschließender analoger Signalverarbeitung (inkohärenter Hüllkurvenempfänger) enthalten. Die Weiterverarbeitung der niederfrequenten Meßsignale findet mit Einschubkarten in einem PC (FLOX-Control) statt. Um eine flexiblere Anpassung sowohl an den Indikator als auch an seine Matrix zu gestatten, ist anstelle der ursprünglich auf eine Frequenz begrenzten Frequenzerzeugung mit dem Einsatz eines Direct-Digital-Synthesizers (DDS) die Frequenzerzeugung variabel gestaltet worden. So ist mit entsprechender Anpassung der Bandbreiten der analogen Schaltungen ein Modulationsfrequenzbereich von 100 - 900 kHz möglich. Zusätzlich enthält das Gerät noch eine Meßeinheit für barometrische Daten (Raumtemperatur, Luftfeuchte, Luftdruck) und die Thermostatisierungen für die Sensorköpfe. Die Ankopplung durch Lichtwellenleiterbündel an den Meßort gestattet einen weitgehend variablen Einsatz, so daß Messungen in Flüssigkeiten, in Meßkammern und mit Sensorköpfen problemlos möglich sind.

Somit ist der Prototyp des FLOX entwickelt und aufgebaut worden mit der dazu notwendigen Software für Kontrolle, Meßsignalerfassung und -darstellung. FLOX-Control ist ein IBM-kompatibler 486er PC der über zwei analoge Input-/Output-Karten und eine digitale Input-/Output-Karte mit dem FLOX verbunden ist. Die Meßfähigkeit dieses Systems ist mit Messungen unter idealen Bedingungen, d.h. Messungen mit Fluorophoren, zwei Ruthenium-Komplexe, in wässriger Lösung und Vergleich mit

Referenzwerten aus der Literatur und aktuellen Messungen mit einem Abklingzeitmeßsystem erfolgreich nachgewiesen worden. Zusätzlich sind mit beiden Farbstoffen in wässriger Lösung Temperaturkennlinien bei unterschiedlich tonometrierten Farbstofflösungen aufgenommen worden, um die Temperaturabhängigkeit der Fluorophore zu bestimmen. Des weiteren wurden Vergleichsmessungen mit unterschiedlichen Farbstoffimmobilisierungen sowie unterschiedlichen Diffusionsmembranen in der Doppel-Flux-Testkammer durchgeführt. Die Farbstoffvergleichsmessungen führten zur Auswahl des Tris(1,10-phenantrolin)Ruthenium(II) chloridhexahydrat (RuPhe) als geeignetem Indikator für die O<sub>2</sub>-Flux-Optode, da er bei der angewandten Technik der Folienherstellung im physiologisch interessanten Bereich der Sauerstoffpartialdrucke die größte Signaländerung verursacht.

**Prof. Dr. B. Hess**

1. Neben der Fortführung der Untersuchungen der Temperturrelaxation einzelner Übergänge des Photozyklus von Bakteriorhodopsin und der Ableitung der Übergangsenthalpien und -entropien wurden im Berichtsjahr Untersuchungen über die Gesamtbilanz aller thermalen Übergänge in Bakteriorhodopsin sowie die Quantenausbeute der Ausbleichung des Pigmentes angestellt. Von besonderem allgemeinen Interesse war die Entdeckung außerordentlich hoher Übergangsentropien, die auf komplexe strukturelle Übergänge während des Übergangs des N- zum O-Intermediat hinweisen und auch bei bestimmten anderen Übergängen zu erwarten sind. Zur Zeit wird ein neuartiges Spektrophotometer aufgebaut, das es erlaubt, jeden einzelnen Übergang im Detail zu studieren und damit zum ersten Mal die Reaktionskoordinaten eines Membranprozesses zu erhalten, die wohl als Modellfall gelten werden (zusammen mit I. Chizhov und M. Engelhard).
2. Im Zusammenhang mit früheren Untersuchungen über die Spiralbildung konzentrierte sich mein Interesse auf Probleme der **mikroskopischen** Selbstorganisation. - Meine langjährigen Arbeiten hatten die Aufklärung der makroskopisch-molekularen Mechanismen typischer Netzwerkeigenschaften in Form von Selbsterregbarkeit, Oszillation, dissipativem Chaos, räumlicher Selbstorganisation, insbesondere chemischer, zellulärer und interzellulärer Spiralen bis zur dritten Raumdimension zum Ziel -. Diese Phänomene reflektieren den inhärent nichtlinearen Charakter biologischer, aber auch chemischer Prozesse. Unsere Ergebnisse zeigen nicht nur die prinzipiellen Mechanismen auf, sondern weisen darauf hin, daß komplizierte Formen schon mit relativ einfachen Mechanismen zustande kommen können.

Die neue Thermodynamik offener Systeme, weit vom thermodynamischen Gleichgewicht, ergab somit erste Einblicke in die mikroskopischen Mechanismen derartiger Erscheinungen. Die prinzipiellen Probleme der **mikroskopischen** Selbstorganisation in lebenden Systemen jedoch sind bis heute weder formuliert noch bearbeitet. Zelluläre Prozesse laufen in mikroskopischen Raumstrukturen mit kritischen Längen im Mikronmaßstab ab, ihre Einzelkomponenten unterliegen statistischen Fluktuationen. Da bei vielen Prozessen nur eine kleine Zahl von Molekülen beteiligt ist, sind thermale und hydrodynamische Fluktuationen signifikant.

Die klassischen Modelle der makroskopischen Selbstorganisation im wesentlichen in Form partieller Differentialgleichungen im Kontinuum lokaler Variablen sind für Nichtgleichgewichtsbedingungen formuliert und erfolgreich angewandt worden. Diese Bedingungen müssen auf die Bedingung zellulärer Systeme übertragen und auf deren Raum- und Zeitskalen sowie auf die Moleküldimensionen weiterentwickelt werden. Es zeigt sich schon jetzt, daß eine ganze Reihe von mikroskopischen Erscheinungen im Mikronlängenmaßstab einer lebenden Zelle qualitativ neuartige Eigenschaften aufweisen. Dazu gehören die Bedingungen der Regulation intrazellulärer räumlicher Verteilungsmuster von Botenstoffen oder Vesikeln sowie des intrazellulären Traffics, die Funktion hochaktiver hydrodynamischer Flüsse, die durch Energiezufuhr ständig am Laufen gehalten werden und wesentlich zur räumlichen Organisation von hoch- und niedermolekularen Reaktanten beitragen. Die makroskopischen Größenordnungen dieser Flüsse wurden vor kurzem (zusammen mit S.C. Müller und H. Miike) erhalten. Unter Benutzung der Theorie hydrodynamischer Fluktuationen lassen sich die Flüsse für mikroskopische Bedingungen ableiten. Ich bin kürzlich von der Redaktion von "Science" aufgefordert worden, über die Probleme der zellulären Selbstorganisation zu berichten. Detaillierte Arbeiten sind im Druck bzw. in Vorbereitung (zusammen mit A. Mikhailov). Eng im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen stehen die seit längerer Zeit laufenden Untersuchungen der Kopplung chemischer Wellen, thermischer Wellen sowie hydrodynamischer Flüsse an exothermen makroskopischen Systemen, zu denen neue Apparaturen errichtet werden mußten (zusammen mit S.C. Müller). Ich sollte hinzufügen, daß kürzlich von ganz anderer Seite stoffwechselabhängige intrazelluläre hydrodynamische Flüsse beobachtet wurden.

## **Geschichte des Instituts und Technologietransfer**

### **Geschichte des Instituts**

E. Schindler

In diesem Jahr wurde hauptsächlich an der Geschichte des Kaiser-Wilhelm-/Max-Planck-Instituts für Arbeitsphysiologie und Max-Planck-Instituts für Ernährungsphysiologie gearbeitet. Die Schriftensammlung zu diesem Thema umfaßt mittlerweile 100 Titel. Zusätzlich ermöglichten es Frau Böhm, eine frühere Mitarbeiterin des Max-Planck-Instituts für Ernährungsphysiologie, sowie Frau Mohr, die Tochter von Heinrich Kraut, daß eine umfangreiche Photosammlung angelegt werden konnte. Beide haben uns Photoalben zur Verfügung gestellt, an Hand derer die Zentralen Einrichtungen wissenschaftliche Dokumentationen (ca. 130 Reproduktionen) angefertigt haben. Für die Veranstaltung anläßlich der Zusammenlegung der Max-Planck-Institute für Systemphysiologie und für Ernährungsphysiologie und der Einführung der neuen Direktoren wurden einige Poster zur Geschichte des Max-Planck-Institutes für molekulare Physiologie angefertigt. Sie dienten als Grundlage für eine Broschüre, die zum Ende des Jahres 1993 erscheinen soll. An beiden Projekten waren die Mitarbeiter der Zentralen Einrichtungen 'Wissenschaftliche Dokumentation' und 'Wissenschaftlicher Schreibdienst' beteiligt.

## Wissens- und Technologietransfer

Dipl.-Phys. H. Grube

Hauptzielstellung meiner Arbeit war es, nach Möglichkeiten zu suchen, sowohl die Öffentlichkeitsarbeit des Instituts zu intensivieren als auch den Wissenstransfer von der Forschung zur Anwendung auszubauen. Dabei sollten die bei der wissenschaftlichen Arbeit entstandenen und entstehenden methodischen Entwicklungen und Geräte der breiten Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden, um so einen Beitrag zur Förderung vor allem der klein- und mittelständischen Industriebetriebe zu leisten.

Mit dem Beginn meiner Tätigkeit am Max-Planck-Institut war es möglich, eine kontinuierliche Mitarbeit und Zusammenarbeit mit der Koordinierungsstelle "Forschungsland NRW" an der RWTH Aachen, im Geschäftsbereich des Ministeriums für Wissenschaft und Forschung, aufzubauen. In dieser Koordinierungsstelle sind alle Transferstellen der Universitäten, Hochschulen und Institute des Landes NRW vertreten, so daß vielfältige Kontakte und ein breiter Erfahrungsaustausch gegeben sind. Die Koordinierungsstelle hat die Aufgabe alle Aktivitäten der Transferstellen des Landes und den Informationsaustausch untereinander zu fördern und besonders alle Möglichkeiten der Präsentation, der Beteiligung an regionalen und überregionalen Ausstellungen und Messen zu koordinieren. Im Rahmen dieser Zusammenarbeit konnte durch das Institut erstmals die Möglichkeit einer Teilnahme am Gemeinschaftsstand "Forschungsland NRW - Erneuerung durch Wissenschaft" auf der Hannovermesse 1993 und CEBIT 1993 in Hannover genutzt werden. Mit dem Entschluß zur Messebeteiligung wurde schwerpunktmäßig und gezielt mit den Messenvorbereitungen begonnen. Dabei waren zahlreiche organisatorische und materielle Voraussetzungen zu schaffen und zu koordinieren, sowohl innerhalb des Instituts als auch mit allen anderen Beteiligten (Koordinierungsstelle an der RWTH Aachen, Deutsche Messe AG Hannover, u.s.w.). Es waren u.a. Fragen der Finanzierung, der zusätzlichen und kurzfristigen Gerätebeschaffung, der Verpackung und des Transports der Exponate, der Sicherung der Exponate auf dem Messestand zu lösen. Als Beispiel für einen erfolgreichen Technologietransfer und der Zusammenarbeit mit einem Industrieunternehmen der Region wurde das **PC-gesteuerte Mikroinjektionssystem für biologische Systeme** als Messeexponat nominiert. Dieses System wurde am Max-Planck-Institut im Rahmen der Forschungstätigkeit entwickelt und patentiert, und durch Lizenzvergabe sowie in kooperativer Zusammenarbeit mit der Firma "Luigs & Neumann Feinmechanik + Elektrotechnik", Ratingen, zu einer verkaufsfähigen Laboreinrichtung weiterentwickelt. Unter Nutzung aller gebotenen Möglichkeiten und zur weiteren Darstellung der Leistungsfähigkeit des Instituts wurde im

Dezember kurzfristig eine weitere Entwicklung der Wissenschaftler des MPI für Systemphysiologie als zweites Messeexponat nachnominiert, die **Mikronadelelektroden zur O<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>-Partialdruckmessung**. Um die Einsatzmöglichkeiten dieser unscheinbaren, aber äußerst leistungsfähigen Mikronadelektrode auf der Messe repräsentativ zu demonstrieren, wurde nach Beratung mit den Entwicklern und Bearbeitern ein halbautomatischer Meßplatz konzipiert und in sehr kurzer Zeit für den Einsatz auf der CEBIT 1993 und der Hannovermesse 1993 aufgebaut und erprobt. Im Rahmen der Messenvorbereitungen und unter Einbeziehung des Gesichtspunktes einer breiten Öffentlichkeitsarbeit wurden entsprechende Informationsmaterialien zum Institut und den Exponaten erarbeitet und u.a. als Presseinformation und Messekatalog des Gemeinschaftsstandes NRW aufbereitet. Da von der Koordinierungssitzung eine einheitliche Gestaltung, bzw. Einzelstände des Gemeinschaftsstandes festgelegt wurde, konnten die im Vorjahr erarbeiteten Posterentwürfe in dieser Form nicht eingesetzt werden. Beide Exponate konnten auf den Messen als vollfunktionsfähige Einheiten präsentiert werden, was ein reges Interesse sowohl bei zahlreichen Fachbesuchern als auch einer großen Anzahl von allgemeinen Messebesuchern hervorrief. Ein Höhepunkt unserer Messeaktivitäten war der Besuch von Frau Wissenschaftsministerin Anke Brunn auf dem Gemeinschaftsstand und die Besichtigung der Exponate des Max-Planck-Instituts durch die Ministerin.

Ein Briefkopf für das Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie und seine Direktoren, mit einem neuen Instituts-Logo wurde entworfen und vom Direktorium im September dieses Jahres angenommen. Damit war die Voraussetzung für eine weitere gestalterische Arbeit an den Informationmaterialien gegeben.

Unter Berücksichtigung der Berufung von Herrn Prof. Dr. R.S. Goody und Herrn Dr. A. Wittinghofer zu Direktoren am Institut und der Vereinigung der Max-Planck-Institute für Ernährungsphysiologie und Systemphysiologie zum Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, der Umstrukturierung und Neuorientierung in den Forschungsschwerpunkten, waren die im Vorjahr erarbeiteten Materialien (Arbeitsentwürfe) sowohl inhaltlich als auch gestalterisch entsprechend den Zielstellungen der neuen Abteilungen zu überarbeiten und zu aktualisieren.

## ZENTRALE EINRICHTUNGEN

### 1. Zentrales Laboratorium für funktionelle Morphologie

Leiter: PD Dr. H. Hentschel

Mitarbeiter: A. Friedrich, U. Feldmann, R. Haubrock, D. Sylvester,  
G. Trogemann, H. Winkler (1/2), P. Herter

#### Allgemeine Thematik

Die Schwerpunkte der Arbeit des Laboratoriums für funktionelle Morphologie lagen auf der licht- und elektronen-mikroskopischen Histochemie/Cytochemie von Neuropeptiden, am Beispiel des vasoaktiven intestinalen Peptids und von membrangebundenen Transport-Proteinen am Beispiel der H-K-ATPase. Zusätzlich wurden anatomische Fragestellungen bearbeitet und begleitende morphologische Analysen von Zellkulturen (F. Pietruschka und F. Wehner) erstellt.

#### 1. Projekt: Immuncytochemische und elektronenmikroskopische Charakterisierung von Nerven mit vasoaktivem intestinalen Peptid (VIP) in den Nieren von Knorpelfischen

(A. Friedrich, in Zusammenarbeit mit W. Kummer, Marburg, M. Elger, Heidelberg und R.K.H. Kinne, )

Vasoaktives intestinales Polypeptid (VIP) wurde ursprünglich aus dem Schweinedarm isoliert. VIP besteht aus 28 Aminosäuren und ist ein Neurosekret mit weiter Verbreitung im zentralen und peripheren Nervensystem. Im autonomen Nervensystem ist die Rolle von VIP als Transmitter in nicht-cholinergen, nicht-adrenergen (NANC) Vorgängen gesichert. So ist das Peptid an der Kontrolle des glatt-muskulären Tonus und der Motilität, des Blutflusses und der Sekretion im Gastrointestinaltrakt, im Respirationstrakt und im Urogenitaltrakt beteiligt. VIP übt seine Wirkung über einen spezifischen membrangebundenen Rezeptor aus, der mit der Adenylatcyclase über ein G-Protein verbunden ist. In der Niere ist der Rezeptor durch Bindungsstudien an Membranen aus der Nierenrinde nachgewiesen worden. VIP-erge Nerven konnten immunhistochemisch in vielen Säugetierarten (einschließlich dem Menschen) gefunden werden, da das Peptid in fast allen bisher untersuchten Arten identisch aufgebaut ist. Eine Stimulierung der Aktivität der

Adenylatcyclase wurde im Bereich des distalen Nephrons und bestimmter Regionen des Sammelohrs in verschiedenen Arten lokalisiert.

VIP ist nicht nur bei Säugetieren identisch in der Zusammensetzung; es erweist sich als hoch-konservativ, da es bereits bei phylogenetisch alten Wirbeltieren, den Knorpelfischen, vorhanden ist. So unterscheidet sich VIP aus zwei verschiedenen Haiarten nur in 4 Aminosäuren vom porcinen VIP. Nach Infusion von VIP in die Zirkulation des Dornhais verdoppelte sich die glomeruläre Filtrationsrate (GFR), ein deutlicher Hinweis auf eine Rolle von VIP bei der renalen Volumenkontrolle dieser Nachfahren früher Vertebraten.

Als Grundlage für das Studium renaler Effekte von VIP mit diesem Tiermodell untersuchten wir die renale Innervation beim Katzenhai mit immunocytochemischer und elektronenmikroskopischer Methodik. Immunreaktivität für VIP (VIP-IR) wurde in Nerven-Plexus entlang den großen renalen und intrarenalen Gefäßen gefunden. Die eindeutige Zuordnung zu den Gefäßen an großformatigen histologischen Schnitten war u.a. durch die Doppelmarkierung mit einem monoklonalen Antikörper gegen glatt-muskuläres  $\alpha$ -Aktin möglich. Besonders dichte Innervierung wurde vor und hinter den Segmentalkörpern, den homologen Organen des Nebennierenmarks bei den Knorpelfischen, beobachtet (siehe 3. Projekt, H. Hentschel).

Elektronenmikroskopisch wurden Varikositäten ("boutons, Synapsen en passant") unmyelinisierter Nerven in der unmittelbaren Nähe von glatten Muskelzellen von Sphinkteren an Verzweigungen der Arterien dargestellt. Die Varikositäten enthielten kleine klare Vesikel und größere Vesikel ( $\varnothing$  160-200  $\mu$ m) mit elektronen-dichtem Inhalt (sogenannte "p-type-vesicles"). Einige immunreaktive Nervenfasern konnten an den intrarenalen Venen und zwischen den proximalen Tubuli (Segment PII) nachgewiesen werden.

Prinzipiell erscheinen zwei Wirkungsmodi des VIP in der Niere möglich:

1. Kontrolle der renalen Zirkulation über die glatte Muskulatur der Arterien
2. Direkte Einwirkung auf Transportvorgänge tubulärer Epithelien.

Zu 1.: Nach der Freisetzung von VIP aus den Varikositäten diffundiert das Peptid zu den in der Nähe liegenden Rezeptoren der glatten Muskelzellen, z.B. an den strategisch wichtigen Stellen im Bereich der Arteriengabelungen, der präglomerulären Sphinkteren oder im Bereich der Segmental-Körper. Relaxation der glatten Muskelzellen kann über Widerstandsminderung in den Arterien und dadurch erhöhtem renalen Blutfluß die Erhöhung der GFR beim Dornhai erklären. Die Auswirkungen der veränderten Hämodynamik auf die Segmentalkörper sind nicht bekannt. In Analogie zur Nebenniere der Mammalia erscheint eine Kontrolle der Ausschüttung von Katecholaminen durchaus gegeben. Umgekehrt ist es auch denkbar, daß zirkulierende Katecholamine auf die VIP-Freisetzung an den Varikositäten zurückwirken. In

diesem Zusammenhang erscheint der verschiedentlich gemachte Befund relevant, daß die renale Durchblutung bei Knorpelfischen (Haien und Rochen) durch Adrenalininjektion manipuliert werden kann.

Zu 2.: Lassen die physiologischen Experimente zur Regelung der GFR und die von uns gefundene Lokalisierung der VIP-ergen Nerven eine Rolle des Neuropeptids bei der Regelung der Nierendurchblutung erkennen, so ist eine direkte Beeinflussung von Transportvorgängen (z.B. NaCl-Sekretion, analog zu Sekretionsvorgängen unter VIP-Einfluß in Pankreas, Rectaldrüse des Haifisches, in Epithelien des Gastrointestinaltraktes) weniger sicher. Indirekte Hinweise ergeben sich aus physiologischen Versuchen mit isolierten Tubulusstückchen, die am Beispiel des proximalen Tubulus PII des Dornhais eine Stimulierung der Sekretion von NaCl durch Zugabe von cAMP zum Medium zeigten. Da die Zone mit den proximalen Tubuli aber nur spärlich mit varikosen Nervenfasern versorgt wird, stellt sich die Frage, wie VIP an eventuell vorhandene Rezeptoren in der basolateralen Zellmembran der PII-Zellen gelangen kann. Denkbar ist die Verteilung des Neuropeptids nach seiner Freisetzung über die ausgedehnten Sinuskapillaren des renalen Pfortader-Systems zwischen den Tubuli, da die Halbwertszeit von zirkulierendem VIP allgemein als wesentlich höher im Vergleich zu anderen Neurotransmittern, wie Acetylcholin und Katecholaminen, angesehen wird.

Laufende Untersuchungen haben die elektronenmikroskopische Lokalisierung von VIP in den Vesikeln der Varikositäten zum Ziel. Vorversuche zum immunocytochemischen Nachweis von VIP-Rezeptoren waren bisher noch nicht erfolgreich. Die Rolle von NO (dem "epithelial derived relaxing factor" EDRF) soll durch den immunocytochemischen Nachweis von NO-Synthase studiert werden. In Vorbereitung sind weiterhin, in Zusammenarbeit mit Dr. Karl Zierold, Analysen zur Elementverteilung in PII-Zellen nach Inkubation mit VIP. In Parallelversuchen durchgeführte elektronenmikroskopische Analysen werden morphologische Befunde im Zusammenhang mit zellbiologischen Vorgängen, z.B. den caveolae der glatten Muskelzellen und/oder der Transcytose und der Exocytose von Vesikeln im Epithel des proximalen Tubulus PII, ergeben.

## **2. Projekt: Nachweis von Intramembranpartikeln im Nephron des Dornhais** (U. Feldmann)

Wir haben über das Vorkommen von Intramembranpartikeln (IMP) in Epithelzellen des Katzenhais berichtet. Besonderes Interesse fanden dabei die stäbchenförmigen ("rod-shaped") Intramembranpartikel, die mit Immunreaktivität von  $H^+$ - $K^+$ -ATPase kolokalisiert sind. Im Berichtszeitraum wurden diese Befunde durch die Bearbeitung von Epithelien aus der Niere des Dornhais erweitert. In dieser Art fanden wir stäbchenförmige Intramembranpartikel auf Gefrierbruchreplicae in der apikalen Zellmembran von Sammelrohrzellen. Möglicherweise bestehen spezies-spezifische Unterschiede im Auftreten der IMP im Nephron auch bei den Knorpelfischen.

## **3. Projekt: Bau und Innervierung der Nebenniere von Haifischen**

Bei Haifischen, als Vertretern einer Klasse niederer Vertebraten, besteht die Nebenniere aus zwei von einander getrennten Organen, dem Interrenalorgan und den Segmentalkörpern. Das Interrenalorgan gilt als homologes Organ die Nebennierenrinde mit der Hauptfunktion der Bildung und Speicherung von Steroidhormonen. Die Segmentalkörper sind dem Mark der Nebenniere homolog. Wie dieses, speichern die Segmentalkörper, bzw. produzieren Katecholamine (z.B. Noradrenalin). Anatomie und Histologie der beiden "Nebennieren" wurden beim Katzenhai und Dornhai mit Rekonstruktion an Serienschnitten studiert. Besondere Beachtung fand die Innervierung der Segmentalkörper.

Das Interrenalorgan lag als solider Strang, deutlich abgegrenzt vom Nierengewebe, zwischen den beiden bandförmigen vorderen Nierenausläufern. Im Gegensatz dazu sind die Segmentalorgane in Vielzahl vorhanden, wie der Name andeutet, entsprechend den Körpersegmenten metamer angeordnet. Die Segmentalkörper sind in das Nierengewebe eingebettet und liegen dicht unter der dorsalen Nierenoberfläche. Hier sind pro Segmentalkörper ein bis zwei Ganglien histologisch nachweisbar. Diese Ganglien stehen untereinander mit unmyelinisierten Nervensträngen in Verbindung. In den Segmentalkörpern verlaufen die Nierenarterien, die dorsal in das Gewebe eindringen und sich im Segmentalkörper verzweigen. In der Regel führt ein Arterienast aus dem Nierengewebe heraus und verläuft dorsal auf der Niere in Richtung zum Gastrointestinaltrakt. Ein oder mehrere Äste stellen die Intrarenalarterien dar, die die Nierenkörperchen über Terminalarterien und afferente Arteriolen versorgen. Die Gefäßstrecken im Segmentalkörper werden nicht von peptidergen Nervenplexus begleitet.

#### **4. Projekt: Computer-gestützte 3D-Rekonstruktion des zentralen Gefäßes im renalen Gegenstromsystem der marinen Knorpelfische** (L. Teckhaus)

Der Bau des renalen Gegenstromsystem der marinen Knorpelfische wurde von uns in den letzten Jahren intensiv studiert. Er beruht aus Bündeln von Nephronsegmenten von individuellen Nephronen. Diese Bündel sind in einer eigenen Nierenzone zusammengefaßt. Jedes Bündel enthält 2 Haarnadelschleifen von Nephronsegmenten, ein Sammelrohr und ein zentrales Gefäß. Die Nephronsegmente entsprechen denen des Nierenmarks der Säugetiere, lediglich eine dünne Henle'sche Schleife fehlt. Die Gegenstrombündel ermöglichen nicht die Bildung eines konzentrierten Harns, sie stellen vielmehr das morphologische Korrelat der renalen Harnstoff-Retention dar. Harnstoff wird bei diesen marinen Fischen zur Erhöhung der Osmolarität der Körperflüssigkeiten im Rahmen der Osmoregulation eingesetzt.

Die dreidimensionale Darstellung der Komponenten des Bündels wurde durch die Digitalisierung von histologischen Querschnitten mit nachfolgender Verrechnung erzielt. Zur Anwendung gelangte ein im Hause entwickeltes Verfahren (L. Teckhaus), daß die Auswertung einer lückenlosen Schnittserie zur Vorbedingung hat. Wichtigstes Ergebnis war die Darstellung des zentralen Gefäßes. Dieses beginnt an der Bündelspitze mit blind geschlossenen Enden, ist über weite Strecken ein unpaares Gefäß und öffnet sich mit mehreren Ästen in das renale Pfordadersystem. Das zentrale Gefäß ist damit den Lymphgefäßen höherer Vertebraten vergleichbar und keine Komponente einer Blutzirkulation, wie die *rasa recta* im Gegenstromsystem der Säugetiere. Das zentrale Gefäß ist als Ort der Bildung einer Flüssigkeit zu sehen, die reich an NaCl und arm an Harnstoff ist (*solute-solvent coupling*). Zusätzlich zu dieser Hypothese kann angenommen werden, daß im zentralen Gefäß ein stehender Gradient von NaCl erzeugt wird, der die Flüssigkeit in Richtung des Blugefäßsystems treibt.

In seinem Verlauf nimmt das zentrale Gefäß Harnstoff aus dem Sammelrohrsystem durch Gegenstromaustausch auf. Zur Stützung dieser Hypothesen sind Untersuchungen zum Nachweis von Harnstofftransportsystemen mit immunhistochemischer Methodik in Vorbereitung.

## 5. Projekt: Immuncytochemischer Nachweis und Lokalisierung einer H-K-ATPase in der Kaninchenniere

(P. Herter, in Zusammenarbeit mit F. Pietruschka und R.K.H. Kinne)

In der Säugetiere tragen Transportprozesse an den Zellmembranen der Sammelrohrepithelzellen zur Aufrechterhaltung der Säure-Basen-Balance im Blut bei. Das Sammelrohr weist eine ausgeprägte axiale Heterogenität auf. Zelluläre Zusammensetzung und Funktion ändern sich entlang des Sammelrohrs vom Cortex über den medullären Bereich bis zur Papillenspitze. Zur Erfüllung seiner Funktion, der Feinmodulation des Urins in Reaktion auf den jeweiligen physiologischen Zustand des Organismus, ist das Sammelrohrepithel aus morphologisch und funktionell unterschiedlichen Zellen aufgebaut. Im cortikalen Sammelrohr liegen zwischen den zahlenmäßig dominierenden Hauptzellen (principal cells) Schaltzellen (intercalated cells), die den Säure-Basen-Austausch zwischen Blut und Urin vermitteln. In allen Segmenten des Sammelrohrs, insbesondere aber im medullären Bereich, können zur Ansäuerung des Urins beitragende Transportprozesse ablaufen.

Die Protonensekretion zur Azidifizierung des Urins wird in erster Linie von einer elektrogener-arbeitenden  $H^+$ -ATPase des vakuolären Typs übernommen. In den letzten Jahren mehrten sich die Hinweise, daß die Protonensekretion durch eine membranständige H-K-ATPase unterstützt wird. Die Aktivität dieses Transportproteins konnte durch Vanadat, Omeprazol und SCH 28080 gehemmt werden. Bei diesen Substanzen handelt es sich um Inhibitoren der gastrischen H-K-ATPase. Daher wird von einer funktionalen Übereinstimmung des in der Niere identifizierten Transportenzym mit der gastrischen H-K-ATPase ausgegangen.

Um die Topographie des Transporters in der Kaninchenniere licht- und elektronenmikroskopisch darzustellen, wurden polyklonale und monoklonale Antikörper gegen ein synthetisches Peptid, dessen Sequenz einem Teil der extraplasmatischen Domäne entspricht, eingesetzt.

In lichtmikroskopischen Untersuchungen konnten eine Lokalisierung der H-K-ATPase in Sammelrohrzellen des Cortex und des medullären Außenstreifens nachgewiesen werden.

Eine Doppelmarkierung mit dem für die  $HCO_3^-$ -sezernierenden Schaltzellen (B-Zellen) spezifischen Lektins PNA ließ im cortikalen Sammelrohr eine weitere funktionale Differenzierung zu: Die PNA-Positiven Schaltzellen zeigten keine Immunreaktivität mit den gegen die H-K-ATPase gerichteten Antikörpern. Die begrenzten optischen Auflösungseigenschaften des Lichtmikroskops lassen aber eine Korrelation der Antikörper- oder Lichtbindung zur Struktur der Zelloberfläche nicht zu.

Da aber vor allem die zellulären Oberflächen im cortikalen Sammelrohr der Kaninchenniere eine große morphologische Variationsbreite aufweisen, ließe die immunocytochemische Untersuchung der luminalen Oberflächen mit hoher Auflösung die Identifikation der immunreaktiven Zelltypen zu.

Durch die Substitution der in der Lichtmikroskopie benutzten Fluoreszenzfarbstoffe durch kolloidales Gold als Markersystem konnten die markierten Zelloberflächen erstmals im Rasterelektronenmikroskop identifiziert werden:

Dabei wurden auf Schaltzellen, die eine Kombination von Mikrovilli und Mikrofalten auf der Oberfläche aufweisen, sowie auf Hauptzellen, die durch einen besonders dichten Mikrovillibesatz auffallen, als Bindungsstellen für die gegen die H-K-ATPase gerichteten Antikörper lokalisiert.

#### **6. Projekt: Immuncytochemischer Nachweis und Lokalisierung der H-K-ATPase in der Haifischniere**

(P. Herter, F. Pietruschka, A. Friedrich)

Bindungsstellen eines polykonalen, gegen die H-K-ATPase gerichteten Antikörpers, konnten erstmalig am spät-distalen Tubulus der Niere des Dornhais (*Squalus acanthias*) lokalisiert werden.

Die Immunmarkierung des in ein Kunstharz (LR White) eingebetteten Gewebes an Dünnschnitten mit der "post-embedding labelling"-Technik ermöglichte bei der Untersuchung im Transmissionselektronenmikroskop die Lokalisierung der markierten Bindungsstelle an der luminalen Membran. Insbesondere die Mikroprojektionen der apikalen Membran wiesen eine deutliche Markierung mit Gold-gekoppelten Antikörpern auf.

Diese immunreaktiven Bereiche sind kolokalisiert mit dem Auftreten von Intramembranpartikeln ("rod shaped particles") in Gefrierbruch-Replikas des Haifischnierengewebes (2. Projekt).

Möglicherweise sind diese Membranpartikel direkt dem Enzymkomplex zuzuordnen und bilden somit das morphologische Korrelat der H-K-ATPase.

## 2. Zentrales Labor für Zellkultur und Immunologie

Leiterin: Dr. F. Pietruschka

Mitarbeiter: D. Goehrke, A. Langerak

### 1. Projekt: Kultivierung epitheloider Zellen im Bioreaktor

(in Zusammenarbeit mit H. Baumgärtl, A. Friedrich, H. Hentschel und W. Zimmelka)

Eine gute Methode der Kultivierung von epitheloiden Zellen ist das Wachsen auf semipermeablen Membranen, die gewährleisten, daß die Zellen sowohl von apikal als auch basolateral mit Nährstoffen versorgt werden. Die dazu von mehreren Herstellern zu bekommenden Filter sind nicht nur kostenintensiv, sie erlauben auch nur die Kultur einer kleinen Anzahl von Zellen. Um differenzierte Zellen in größeren Mengen, etwa für biochemische Fragestellungen, produzieren zu können, wurde ein Bioreaktor (nach Minuth) angeschafft, in dem die Zelle auf Membranen in stapelbaren Haltern in einer perfundierten Kammer wachsen. Während des Versuchszeitraums sollte der O<sub>2</sub>-Gehalt der Medien vor und hinter der Kulturkammer gemessen werden. Dazu wurden O<sub>2</sub>-Elektroden in den Medienzuluß- bzw. abfluß eingeschaltet. Die Messung des O<sub>2</sub>-Gehalts, die sich als sehr schwierig erwies, weil die Elektroden durch die Serumproteine zugesetzt oder unsteril wurden, zeigte immerhin, daß die Kulturkammer bewegt werden mußte, um die Ausbildung eines O<sub>2</sub>-Gradienten innerhalb der Kammer zu vermeiden. Kultiviert wurden TALH-Zellen, von denen schon Erfahrungen mit Filterkulturen und in Hollow-fiber Bioreaktor vorliegen. Unter diesen Bedingungen hatte sich nach 2 Wochen Kultur ein Epithel mit polarisierten, gut differenzierten Zellen und deutlichen tight junctions ausgebildet.

### 2. Projekt: Antiidiotypische Antikörper gegen Bumetanid, einen Hemmstoff des Na-K-Cl-Kotransportes

Monoklonale antiidiotypische Antikörper gegen Bumetanid sollten ähnlich wie dieses an den Kotransporter binden. Dies konnte auch an fixierten Membranvesikeln der Rektaldrüse des Dornhais gezeigt werden. Da dieses Material nicht immer zur Verfügung steht, wurden auch Zellen aus Zelllinien getestet, die dieses Kotransportsystem haben. Mit Hilfe der Immunfluoreszenz fanden wir eine Bindung an TALH-, MDCK- und HT29-Zellen. Diese Bindung war durch 0,06 - 0,5 mM Bumetanid hemmbar, wie in kompetitiven Elisa gezeigt werden konnte.

### 3. Projekt: Herstellung polyklonaler Antikörper gegen Bakterienproteine (in Zusammenarbeit mit R. Wittenberg und M. Engelhard)

Es wurden polyklonale Antikörper in Kaninchen gewonnen gegen Halocyanin, Halorhodopsin, nativ bzw. denaturiert, Cytochrom bc, nativ und denaturiert und gegen ein synthetisches Peptid aus der Sequenz des Halocyanin.

Die optimale Verdünnung in Elisa lag bei Serum gegen

- |                               |                               |
|-------------------------------|-------------------------------|
| a) Halocyanin                 | bei 1 : 2 x 10 <sup>6</sup>   |
| b) Halorhodopsin, nativ       | bei 1 : 6,5 x 10 <sup>4</sup> |
| c) Cytochrom bc, denaturiert* | bei 1 : 2 x 10 <sup>4</sup>   |
| d) Peptid                     | bei 1 : 2 x 10 <sup>3</sup>   |

\*Die Bindung an das denaturierte Cytochrom b,c konnte nur im Dot blot auf Nitrozellulose bestimmt werden, da das Protein eine zu geringe Bindung an die Nitrotiterplatte zeigte.

Um ein Serum gegen das Peptid mit diesem Titer zu bekommen, mußte das Tier 5 Mal immunisiert werden (die Reaktion in anderen Tieren war noch schlechter). Daher wurde versucht, die Immunogenität des Peptids durch Kopplung an ein anderes Carrier-Protein zu verbessern. An Stelle von KLH wurde der "Super Carrier" der Firma Pierce, ein kationisiertes BSA, zur Kopplung verwendet. Ein erster Test nach dem ersten Boost zeigt, daß die Immunisierung dadurch schneller und effektiver wurde.

### 4. Projekt: Herstellung polyklonaler Antikörper gegen mitotische Regulator-Proteine

(In Zusammenarbeit mit A. Wittinghofer)

Gegen die Proteine p24<sup>ran</sup> und p45<sup>RCC1</sup> wurden in Kaninchen polyklonale Antikörper gewonnen. Die optimale Verdünnung in Elisa lag bei den Seren gegen RAN bei 1 : 3 x 10<sup>4</sup>, bei den Seren gegen RCC1 bei 1 : 2 x 10<sup>5</sup>. Die Seren wurden an einer Protein-A-Säule gereinigt und ihre Bindung an das jeweilige Antigen im Westernblot getestet.

Außerdem wurden folgende Zellen kultiviert:

- LLC PK1 in 24iger Kulturplatten und Rollerbottles für Dr.C.T. Lin
- MDCK und MDCK-F1 in Rollerbottles für Dr. Th. Mair
- Endothelzellen für Dr. M. Delpiano

Außerdem wurden folgende Antikörper produziert:

- 7 polyklonale Antikörper gegen 4 Peptide aus der Sequenz des Na-D-Glukose-Kotransporters an Protein-A-Säule gereinigt für Dr. C.T. Lin
- 1 polyklonaler Antikörper gegen 1 Peptid aus der Sequenz der H-K-ATPase für Dr. H. Hentschel und P. Herter
- 10 monoklonale Antikörper (über Ultrafiltration konzentrierte serumfreie Zellkultur-Überstände) gegen 4 Peptide aus der Sequenz des Na-D-Glukose-Kotransporters für Dr. C.T. Lin
- 1 monoklonaler Antikörper gegen 1 Peptid aus der Sequenz der H-K-ATPase für P. Herter.

### 3. Zentrale Einrichtung Elektronische Meßgeräte und Digitaltechnik

Leiter: M. Grote

Mitarbeiter: H., Brand, F.-K- Keinemann, P. Klein, P. Morcinietz, K.-H. Oehmde, H. Schlüter, G. Weidemann

#### 1. Projekt: Video-Meßsystem

(H. Schlüter, M. Markus)

Dieses System wurde entwickelt, um in einem Videobild kontinuierlich Helligkeitsänderungen zu registrieren. Ein in seiner Größe und Position frei wählbarer Bereich des Bildes wird auf dem Bildschirm eines modifizierten Monitors durch Aufhellen kenntlich gemacht. Die Intensität dieser Fläche wird von Zeile zu Zeile integriert und durch weitere Aufbereitung des so erhaltenen Signals zu einem analogen Spannungswert proportional zur Intensität gewandelt.

#### 2. Projekt: Trigger-Einheiten zur Ansteuerung von Lasern

(H. Schlüter, K. Gerwert)

Bei den Trigger-Einheiten handelt es sich um zwei selbständige Geräte, die durch je vier Untereinheiten die vorgegebenen Anforderungen erfüllen. Beide Versionen dieser Einheiten sind mit modifizierten Opto-Ausgängen ausgerüstet, um eine Ankopplung an im Haus vorgandene YAG- u. Eximer Laser zu ermöglichen. Alle Eingänge sind für negative oder positive Flankensteuerung wählbar. Der elektronische Aufbau ist weitgehend mit Bausteinen der LOCMOS Reihe realisiert. Der Grundtakt ist 1 MHz, wodurch eine Genauigkeit von  $\pm 1 \mu\text{sec}$ . eingehalten wird. Alle Ein- und Ausgänge haben einen Pegel von 0 - 5 Volt und sind gegen Spannung wie auch Überlastung geschützt. Zusätzlich gibt es optische Ausgänge für Lichtleiteranschluß und potentialfreie Relaiskontakte. Folgende Einheiten stehen zur Verfügung:

- Counter
- Timer
- DelayA
- Delay
- Burst-Pulse Generator

Durch ihre Variabilität bieten alle Einheiten eine große Bandbreite an Anwendungsmöglichkeiten. Zusammenstellungen unterschiedlicher Einheiten zu Funktionsgruppen erhöhen die Verwendbarkeit. Die durch den Eigenbau gegebenen Möglichkeiten zu Veränderungen machen das gesamte System sehr universell.

### **3. Projekt: Ausbau der Telefonanlage**

(M. Grote)

In die institutseigene Nebenstellenanlage Typ Siemens HICOM 300 wurden zwei neue Chefsekretäranlagen eingebaut. Es handelt sich dabei um "integrierte" Chefsekretäranlagen. Dazu war der Ausbau der Hauptanlage mit neuen Steuerplatinen und die Erweiterung des Hauptspeichers notwendig. Gleichzeitig mußte ein neues Betriebssystem installiert werden.

### **4. Projekt: Ausbau des Datennetzes**

(M. Grote, P. Morcinietz)

Im ehemaligen Institut für Ernährungsphysiologie war schon vor längerer Zeit ein Datennetz (LAN-Ethernet) installiert worden. Als Kabeltyp wurde Koaxialkabel (Typ RG 58) verwendet. Ausgangspunkt ist der Rechnerraum im Gebäude C, 1. Etage (EDV). Von dort aus gehen Kabel in alle Etagen des Gebäudes C. Dieses Datennetz wurde in die Gebäude A, B und D weitergeführt und ebenfalls in fast alle Etagen verlegt. Zum Anschluß der verschiedenen Rechnertypen dienen "Transceiver". Signalverstärker (Repeater und Brückenverstärker) erlauben den Anschluß von längeren Kabelstrecken. Zur Optimierung des Datendrucksatzes im Netz dienen "Brückenverstärker".

### **5. Projekt: Regelgerät für eine thermostatisierte Kammer**

(G. Weidemann, G. Capasso, Ch. Theiss)

Für ein hydrostatisches Perfusionssystem wurde eine thermostatisierte Kammer gebaut (s. auch Arbeitsbericht 1992, 3. Projekt). Die Innenraumluft in der Kammer soll auf etwa 37°C erwärmt werden. Als Wärmequelle dient ein Heizluftgebläse. Für eine möglichst gleichmäßige Verteilung wird ein Ventilator eingesetzt. Mit Hilfe einer elektronischen Temperaturregelung wird die Innenraumtemperatur konstant auf dem eingestellten Sollwert gehalten.

**6. Projekt: NMR-Rotordrehzahlregelung**

(H. Schlüter, M. Engelhard, B. Bechinger)

In der Entwicklung befindet sich z.Z. ein System zur Regelung der Rotordrehzahl eines Kernresonanz-Spektrometers. Wünschenswert ist eine Ausweitung dieser Regeleinheit dahin, daß ein kontrolliertes automatisches Anlaufen des Rotors möglich wird und eine Anzeige signalisiert, wenn die Rotordrehzahl während des Laufes nicht eingehalten wurde.

**7. Projekt: Service-Bereich**

(H. Brand, P. Klein, P. Morcinietz, K.-H. Oehmke)

Dieser Bereich betrifft die Instandhaltung und Wartung von elektrischen und elektronischen Geräten aus dem Institutsbereich, z. B. Photometer, Monitoren, Audio- und Videogeräten, Belichtungsgeräten, Vakuumgeräten, Gefriertrocknungsanlagen, CO<sub>2</sub>-Inkubatoren, Zentrifugen, Fraktionssammler, pH-Meter, Thermostaten und Kryostaten, Stromversorgungen, Kompensationsschreiber, Mikromanipulatoren usw., sowie die Entwicklung und Fertigung von Platinen für elektrische Schaltungen.

**8. Projekt: Installation von PC's**

(F.-K. Keinemann, G. Weidemann)

Im Berichtszeitraum sind ca. 40 neue PC's aufgebaut und installiert worden, incl. Netzsoftware und Einbindung ins Datennetz. Außerdem sind einige CD-ROM-Laufwerke und GB-Platten über SCSI-Controller installiert worden.

#### 4. Zentrale Einrichtung EDV

Leiter: Dr. Th. Plesser

Mitarbeiter: K. Dreher, L. Teckhaus, J. Deymann, F. Röse, G. Siedenberg,  
B. Brennecke, J. Huber, J. Plewe, B. Wache, H. Kritzler,  
Th. Blumenschein

Das Jahr 1993 stand bei der zentralen Einrichtung EDV ganz im Zeichen der Integration der beiden Datenverarbeitungsgruppen aus den ehemaligen Max-Planck-Instituten für Ernährungs- und Systemphysiologie und dem dazu parallel verlaufenden EDV Aufbau in den neuen Abteilungen Strukturelle Biologie (Abt. 1 Direktor Prof. Dr. A. Wittinghofer) und Physikalische Biochemie (Abt. 3 Direktor Prof. Dr. R. Goody).

Dem Beschluß des Kollegiums vom Frühjahr 1993 folgend, wurde der Aufbau eines integrierten Netzes mit offener Client/Server-Architektur (Beschreibung siehe nächsten Abschnitt) vorangetrieben. Wegen der Forderungen aus den Abteilungen und der wesentlich verbesserten Möglichkeiten zur Anbindung von Apple Macintosh Rechnern, wurde auch diese Hardwarelinie in die Reihe der zu integrierenden Rechnerplattformen aufgenommen. Damit werden drei Betriebssystemlinien unterstützt, UNIX in den Varianten SunOS bzw. Solaris von SUN und IRIX von Silicon Graphics, MS-DOS/Windows von Microsoft und Macintosh System 7 von Apple. Als integrierende Netzwerksoftware wird NFS eingesetzt.

Rechner von SUN (SparcStations) werden vorwiegend als Server eingesetzt, während PC von Hewlett Packard und Compac sowie Macintosh Systeme von Apple als Arbeitsplatzrechner Verwendung finden. Da electronic Mail nicht nur als weltweites sondern auch als lokales Kommunikationsmittel im Institut mehr und mehr eingesetzt wird, sind fast alle PC- und Macintosh-Systeme mit einer x-11 Window Software ausgestattet, die die Bereitstellung eines einheitlichen benutzerfreundlichen Mail-Tools auf den Arbeitsplatzrechnern und den Workstations erlaubt. Darüber hinaus erlaubt x-11 Window auch die fensterorientierte Nutzung von Software, die auf Servern läuft, wie FACSIMILE (Kinetik), Sybyl (Molekül Graphik), Mathematica, etc.

Besonderer Wert wurde beim Aufbau des Netzes auf eine einheitliche Nutzung der Druckservices gelegt. Im Institutsgebäude sind Drucker HP LaserJet III und IV verteilt, die von den Arbeitsplatzrechnern aus adressierbar sind und in Format und Druckqualität überall die gleichen Ergebnisse liefern.

Neben dem Aufbau der technischen Einrichtungen hat die Betreuung der EDV- Benutzer viel Zeit der Mitarbeiter der ZE EDV beansprucht. Es blieb daher wenig Zeit, um Projekte durchzuführen, die der Forschung unmittelbar zugute kommen. Dies konnte nur im Bereich der Labordatenerfassung erreicht werden. Als Beispiele seien genannt der Anschluß eines Cary Photometers an einen PC zur Datenübernahme und zur Steuerung, Automatisierung eines pH-Meters und eines PC-gestützten Video-Meßplatzes.

### **Organisation der EDV im MPI für molekulare Physiologie: Lokales Netzwerk mit offener Client/Server Architektur**

Nach Abschluß der Ethernet-Verkabelung verfügen jetzt die Räumlichkeiten aller wissenschaftlichen Arbeitsgruppen über Möglichkeiten zur Anbindung von Rechnern (Workstations, PC, etc.) an das lokale Netzwerk. Das lokale Netzwerk ist über das WiN (Wissenschaftsnetz des DFN Vereins), mit allen wissenschaftlichen Netzen der Welt verbunden. In diesem Netzverbund stehen lokal, d.h. im Institut, und weltweit verschiedene Dienste (Services) auf Rechnern, sogenannten Servern, zur Verfügung.

Beispiele für Services sind:

Programmbibliotheken, Datenbasen, Infosysteme, electronic Mail, Fax, Print Services, Computer Services, etc.

Die Nutzung der Services, die auf Servern im Institut installiert sind, werden über das lokale Netz mit einer wesentlich höheren Datenrate abgewickelt als die Nutzung von weltweiten Services.

Im lokalen Netz werden die meisten Services durch SUN Workstations erbracht. Ein Vektorrechner CONVEX 201 dient als Comput-Server, eine SUN mit schnellen Platten stellt Datenbasen bereit und erbringt Datenbank Services. Zur Minimierung von Ausfällen sind die zentralen Services auf zwei Rechnern installiert.

Die Services können mit Hilfe von sogenannten Clients in Anspruch genommen werden. Clients sind (Arbeitsplatz-) Rechner, die spezifische Softwarekomponenten für das Zusammenspiel mit den verschiedenen Services enthalten. Zur Zeit werden Rechner mit den Betriebssystemen UNIX, MS-DOS/Windows und Macintosh als Clients eingesetzt.

An das lokale Netz sind zur Zeit ca. 75 PC, 30 Workstations und ein Vektorrechner CONVEX 201 angeschlossen. Es sind ca. 150 Nutzer eingetragen, die zusammen mit dem System ca. 50 GB Plattenspeicher belegen und für die etwa 35 Services betreut werden. Zum Beispiel werden über den electronic Mail Service täglich ca. 50 bis 60 Nachrichten mit Partnern in aller Welt ausgetauscht.

Vorteile eines Client/Server-Netzwerks:

1. Optimale Nutzung von Ressourcen:  
Beispiele: Mehrere Nutzer teilen sich einen Drucker, die institutsweit adressierbar sind;  
Einsparung von Plattenspeicher, da Programme und Datenbestände nur einmal abgespeichert werden;  
Reduzierung der Lizenzkosten für Software, da mit sogenannten "Float Licences" nur soviel Lizenzen beschafft werden müssen, wie gleichzeitig aktiv sind. Dieser Punkt ist in Hinblick auf die neuen Gesetze zum Urheberrecht für Software von besonderer Bedeutung.
2. Programme und Datenbestände sind ortsunabhängig verfügbar, wichtig bei der Trennung von Datenerfassung und Auswertung; Erhöhung der Ausfallsicherheit, da jeder Arbeitsplatzrechner im Netz benutzt werden kann, wenn der Benutzer seine Arbeitsumgebung nicht lokal sondern netzorientiert organisiert.
3. Skalierbarkeit der Rechenleistung durch Nutzung von Rechnern entsprechender Leistung oder durch parallele Nutzung mehrerer Rechner.
4. Instituts- und weltweite Kommunikation:  
Fax, e-Mail, telnet, ftp;
5. Vereinfachung der Softwarepflege; besonders wichtig bei Wechsel von Programmversionen. Eine neue Version muß nur einmal auf dem Server eingespielt und nicht x-mal auf PC und Workstations installiert werden.
6. Offenes System, d.h. es können die verschiedensten Hard- und Softwareprodukte integriert werden.

### Nachteile eines Client/Server Netzwerks:

1. Hohe Komplexität des Systems; verlangt ein sachkundiges und präzises Systemmanagement. Stellt erhebliche Anforderungen an die Benutzer, denken in mehreren Ebenen, Einhaltung von Konventionen.
2. Stellt hohe Anforderungen an das Systemmanagement, da sowohl bei Hard- und Software verschiedene Produkte von verschiedenen Herstellern zuverlässig und optimal zusammenspielen müssen. Dies bedingt einen hohen Test- und Schulungsaufwand vor der Installation neuer Versionen vorhandener Service und bei der Einführung neuer Service.
3. Die durch die lokale und weltweite Vernetzung geschaffenen Kommunikationsmöglichkeiten erfordern Schutzmechanismen, die den sicheren und geschützten Informationsaustausch ermöglichen, aber gleichzeitig diesen Austausch so wenig wie möglich behindern. Gewährleistung von Datensicherheit bei gleichzeitiger Gewährleistung eines bequemen Datenaustausches.
4. Wegen der Offenheit des Client/Server Konzepts, befindet sich das System in einem dauernden Migrationszustand, d.h. es existieren alte und neueste Hard- und Softwaretechnologien nebeneinander, die laufend ausgetauscht werden. Dies erzeugt für die Systemgruppe und die Benutzer einen dauernden Lern- und Schulungsdruck und setzt ein gutes Informations- und Kommunikationssystem zwischen Systemgruppe und Anwendern voraus.

## 5. Zentrale Einrichtung Sicherheit-Materialfluß-Mikroelektroden

Leiter: D. Krüger

### A) Sicherheit und Materialfluß

Leiter: D. Krüger

Mitarbeiter: Fr.-J. Czerwinski, H. Kotschenreuther

#### 1. Sicherheit:

Bedingt durch die Zusammenlegung der Max-Planck-Institute der Ernährungs- und Systemphysiologie und die Arbeitsaufnahme der neuen Direktoren wurde zum Anlaß genommen, die gesetzlich vorgeschriebenen Sicherheitsaufgaben und Sicherheitsauflagen in einer Arbeitsgruppe zu vereinigen. Die ständig wachsende Zahl von Gesetzen, Vorschriften und Verordnungen ließen es der Leitung des Instituts außerdem ratsam erscheinen, diese normalerweise von Wissenschaftlern ausgeübten Nebentätigkeiten, in einer hauptamtlichen Position zu bündeln. So wurden im Verlauf des Jahres 1993 dem Leiter der neu zusammengestellten Arbeitsgruppe folgende Aufgaben übertragen:

- a) die Unternehmerpflichten für den Bereich Arbeitsschutz und Unfallverhütungen (nach §§ 9 Abs. 2 Nr. 2 Ordnungswidrigkeitengesetz (OWiG), 708 Abs. 1 Reichsversicherungsordnung (RVO))
- b) die Aufgaben eines Strahlenschutzbeauftragten für die Gebäude A und D, Koordination der Strahlenschutzaufgaben des ganzen Instituts.

Diese fachbezogenen Aufgaben sind mit Weisungsbefugnis verbunden.

- c) Bestellung zum Beauftragten für Biologische Sicherheit (BBS). Bei Gentechnischen Arbeiten muß ein BBS bestellt werden (der nicht gleichzeitig Projektleiter sein darf) und dessen Aufgaben die Überwachung der Gentechnischen Anlagen und der dort durchgeführten Arbeiten beinhaltet, ebenso wie die Beratung der Projektleiter bei Anträgen Beauftragung, Laborausstattung und Durchführung der Gentechnischen Arbeiten.
- d) die Aufgaben eines Tierschutzbeauftragten.

Bei den beiden letztgenannten Aufgabenstellungen ist der Beauftragte weisungsfrei und nur beratend tätig.

Insgesamt wurden 1993 drei Anträge für Gentechnische Anlagen der Sicherheitsstufe S1 gestellt, von denen noch im gleichen Jahr zwei genehmigt wurden.

Da die Umgangsgenehmigungen für die Arbeit mit radioaktiven Stoffen an eine juristische Person vergeben werden (an den Geschäftsführenden Direktor des Max-Planck-Instituts als Strahlenschutzverantwortlichen), machte die Zusammenlegung der alten Max-Planck-Institute mit der gleichzeitigen Namensänderung eine Neubeantragung aller alten Umgangsgenehmigungen notwendig. Seit September liegen die Anträge dem Regierungspräsidenten in Arnsberg vor und die neuen Umgangsgenehmigungen sollen in den ersten Wochen des neuen Jahres dem Institut zugestellt werden.

## **2. Materialfluß**

Seit April 1993 wurden die Aufgaben des Chemikalien- und Laborartikellagers kontinuierlich erweitert: Nach der Einstellung einer zweiten Mitarbeiterin werden auch Büro- und EDV-Artikel am Lager vorrätig gehalten. Bedingt durch Laborauflösungen und Umzügen innerhalb des Institutes, waren riesige Mengen von Alt-Chemikalien zu entsorgen oder ins Lager aufzunehmen. Dabei wurde gleichzeitig eine Überprüfung der Altbestände durchgeführt, um auch Platz für neue Laborchemikalien und -artikel zu schaffen.

Die fachgerechte Ausführung dieser Aufgaben wären ohne die Sachkenntnisse des Gefahrstoffbeauftragten Herrn Chem.-Ing. H. Baumgärtl und des Abfallbeauftragten Herrn W. Zimelka nur schwer möglich gewesen (s.u.).

Im Jahre 1994 soll die gesamte Lagerverwaltung auf EDV umgestellt und, in Zusammenarbeit mit dem Einkauf, ein Zentraler Einkauf eingerichtet werden.

**B) Labor für Mikroelektroden und Dünnschichttechnik**

Leiter: Chem.-Ing. H. Baumgärtl

Mitarbeiter: R. Anders, G. Malinkewitz (1/2), M. Meier (S.H.) W. Zimmelka

**Allgemeine Thematik**

- Konstruktion und funktionelle Überprüfung von Mikroelektroden zur Messung von Gaspartialdrücken, Ionenaktivitäten, Redoxpotentialen und Leitfähigkeiten
- Anwendung von Mikroelektroden zur Erforschung von Transportprozessen sowie Reaktions-Regulationsmechanismen
- Erstellung eines Gefahrstoff-Informations-Systems sowie eines Abfall- und Entsorgungskonzepts

**1. Projekt: Herstellung von Mikroelektroden und Dünnschichtpräparaten zum Studium physiologischer, biotechnologischer und physikalisch-chemischer Prozesse.**

(G. Malinkewitz, W. Zimmelka)

Für die Realisierung einiger interner und externer Institutsprojekte wurden verschiedene Mikroelektrodensysteme hergestellt, mit welchen polarographische Sauerstoff- und Wasserstoffpartialdrücke in gasförmigen, flüssigen und festen Medien gemessen werden können. Zur Herstellung bestimmter Elektrodenteile und Konfigurationen aus Glas, Kunststoffen, Edelmetallen, Carbonfasern und Graphitpasten wurden spezielle Technologien wie z.B. Wechselstromelektrolyse, Pyrolyse, Polymerisation und Hochfrequenzkathodenzerstäubung angewendet. Mit Hilfe von Vakuumbeschichtungsmethoden wurden dünne Schichten aus Metallen mit hohem Reflexionsvermögen auf Glaszylindern und Saphirkugeln zur Untersuchung optisch aktiver Reaktionen erzeugt.

**2. Projekt: Anwendung von  $\text{Po}_2$ -Mikroelektroden**

Elektrochemische Mikroelektrodensysteme stellen nicht nur in Physiologie und Medizin zur polarographischen Bestimmung von molekularem Sauerstoff wichtige Meßinstrumente dar, sondern finden gegenwärtig zunehmend in Biologie, Biochemie, Biotechnologie, Chemie, Verfahrens- und Umwelttechnik usw. für die Aufklärung und Überwachung von Reaktions- und Regulationsprozessen weitere Anwen-

dungsmöglichkeiten. Dabei ist es bemerkenswert, daß vor allem Nadelelektroden aufgrund ihres hohen räumlichen und zeitlichen Auflösungsvermögens zur Untersuchung komplexer Reaktionen im Mikro- und Nanometerbereich besondere Attraktivität genießen. Da seit einiger Zeit in vielen Forschungsdisziplinen Untersuchungen im Vordergrund stehen, die sich mit Transport- und Stoffübergangsmechanismen an Phasengrenzflächen verschiedener Objekte wie z.B.

- Nährstoffan- und -abtransport bei Biofilmen,
- Stoffaustausch an Mikroorganismen, Gefäßwänden und Membranen,
- Keimbildung und Keimwachstum an Elektrodenoberflächen sowie Eingrenzung von Reaktionsorten,
- Charakterisierung von Diffusionsschichten an Grenzflächen,
- Lokale Korrosionsvorgänge an Löt- und Schweißnähten in Verbindung mit der Lochfraßbeständigkeit und von Schutzfaktoren,
- Stoffübergangsverhalten an grenzflächenaktiven und inaktiven Medien,
- Konzentrationsverteilungen in der Reaktionsschicht gasentwickelnder Elektroden,
- Reaktionsinduzierte Konvektionserscheinungen bei oszillierenden Transportprozessen usw.,

beschäftigen, wird es verständlich, daß das Interesse an der polarographischen Mikrotechnik auch außerhalb physiologischer Forschungszweige zugenommen hat. Wir kooperieren deshalb mit vielen Forschungseinrichtungen und stellen unsere Entwicklungen und unser "know how" auf diesem Gebiet für wissenschaftliche Zusammenarbeit (s. Kooperationen im In- und Ausland sowie Liste der Publikationen und Vorträge) zur Verfügung. Im folgenden möchte ich einige Ergebnisse aus den im Berichtszeitraum bearbeiteten Projekten darstellen, wobei ich darauf hinweise, daß es sich im wesentlichen noch um unveröffentlichte Befunde handelt.

### **Projekt 2.1: Sauerstoffpartialdruckmessungen im Umfeld überfluteter Bodenkleinarthropoden zur Untersuchung ihrer Überlebensmechanismen während Hypoxie**

(in Zusammenarbeit mit K. Kritzler, D. Zinkler, Lehrstuhl für Tierphysiologie, Ruhr-Universität Bochum)

Bodenkleinarthropoden bewohnen die luftgefüllten Hohlräume der oberen Bodenschichten. Infolge starker Niederschläge kann ihr Lebensraum überflutet werden. Diese Extremsituation führt zu einer dramatischen Verringerung des Sauerstoffangebotes, wobei die unterschiedliche Sauerstoffkonzentration in Luft und Wasser sowie die sehr geringe Fließgeschwindigkeit des Wassers in den Bodenkapillaren ent-

scheidenden Einfluß auf das Überleben dieser Tiere haben. In Fortführung unserer 1992 begonnenen Versuche haben wir in diesem Jahr die Experimente an einzelnen Hornmilben der Art *Steganacarus magnus* erweitert und begonnen, die Ergebnisse näher zu quantifizieren. Dabei wurden zwei Methoden variiert:

a) Räumlich und zeitlich veränderliche  $P_{O_2}$ -Messungen mit Nadelelektroden

In Anlehnung an die Verhältnisse im Boden fanden einseitig konisch zugeschmolzene Glaskapillaren (3 mm Innendurchmesser, 40  $\mu$ l Volumen) als Meßkammern Verwendung. Die  $P_{O_2}$ -Profile einzelner Tiere wurden durch polarographische Meßtechnik mit Nadelelektroden in Kombination mit einem Nanostepper ermittelt. Führt man eine solche Nadelelektrode wiederholt nahe am überfluteten Tier vorbei, so ist bereits nach den ersten sechs Minuten die Ausbildung eines symmetrischen, V-förmigen  $P_{O_2}$ -Profils mit einer ausgeprägten Senke im Bereich des Vorderkörpers zu erkennen. Der Sauerstoffpartialdruck fällt dabei von 155 auf 115 Torr ab und erreicht nach Passieren des Tieres wieder den Ausgangswert. Später wird die Form des  $P_{O_2}$ -Profils invers sigmoid, weil der Sauerstoffvorrat am konisch geschlossenen Ende der Meßkapillare begrenzt ist.

Mit Hilfe räumlicher  $P_{O_2}$ -Messungen ließ sich auch entscheiden, ob wasserumgeschlossene Tiere Sauerstoff über die gesamte Körperoberfläche oder nur über distinkte Bereiche aufnehmen. Ausgeprägte hypoxische Bedingungen stellen sich an bestimmten Teilen der Körperoberfläche dieser Bodenkleinarthropoden rasch ein. Bereits nach 15 Minuten herrscht zwischen den vier Extremitätenpaaren nur ein  $P_{O_2}$  von 57 Torr. Der weitaus größte Teil des Gasaustausches findet demnach in der Region des Prosomas statt. Es wird vermutet, daß dafür das vergleichsweise dünne Integument an der Basis der Coaxe verantwortlich ist. Der Beitrag lokaler Brachytracheen, die mit dem dorsalen Trichobothrienpaar vergesellschaftet sind, bleibt ungeklärt. Nadelelektroden eignen sich auch zur Messung des Sauerstoffverbrauchs gefluteter Bodenkleinarthropoden. Allerdings muß hierfür die Meßkammer mit Hilfe einer Teflonmembran und einer Quecksilberschicht luftdicht abgeschlossen werden sowie die Position der Elektrode immer gleich sein. Es zeigte sich, daß der Sauerstoffverbrauch der Tiere nach Überflutung nur während der ersten 10 Minuten dem normoxischen Wert entspricht. Danach geht die Sauerstoffaufnahme stetig zurück und beträgt bereits nach einer Stunde nur noch etwa ein Drittel ( $27 \pm 13 \mu$ l  $O_2$ /(g·FG·h); n = 4; 22,5 °C). Insgesamt lassen die vorgestellten Ergebnisse darauf schließen, daß *Steganacarus magnus* wirksame physiologische Anpassungen erworben hat, die sogar ein mehrtägiges Überleben der ausgeprägt hypoxischen Bedingungen während einer Überschwemmung erlauben.

b) Entwicklung einer Meßkammer zur Untersuchung des Sauerstoffverbrauchs von überfluteten Hornmilben

Da die Meßanordnung mit Nadelelektroden für den Routinebetrieb zu kompliziert ist, haben wir versucht, eine einfachere Apparatur für die Sauerstoffverbrauchsmessung eines einzelnen Bodenkleinarthropoden zu bauen. Dazu wurde unter Einsatz einer Mini-Clark-Elektrode eine Meßkammer aus Plexiglas mit max. 50 µl gefertigt, wobei insbesondere berücksichtigt werden mußte, daß die Apparatur für derartige Messungen luftdicht abgeschlossen sein muß und Überdruck bei Einsetzen der Elektrode in die Kammer nicht erzeugt werden darf. Obwohl durch eine Art "Apothekerhahn" diese Problematik teilweise zufriedenstellend gelöst werden konnte, müssen in Zukunft weitere Anstrengungen unternommen werden, um eine homogene und auf das eingesetzte Tier schonende Umwälzung der Kammerflüssigkeit durch einen Magnetrührer zu gewährleisten.

**Projekt 2.2: Untersuchungen zur Charakterisierung der extrakapillären Sauerstoffverteilung in einem Hohlfaser-Bioreaktor**

(in Zusammenarbeit mit S.T. Maier, R. Wiesmann, R. Buchholz, Institut f. Biotechnologie, Fachgebiet Bioverfahrenstechnik der Technischen Universität Berlin)

Durch die Entwicklung neuer biotechnologischer Verfahren und Kultivierungssysteme ist es möglich geworden, das Produktionspotential von tierischen Zellen im industriellen Maßstab zu nutzen. Da tierische Zellen im Vergleich zu Mikroorganismen eine größere Empfindlichkeit gegenüber externen Einflüssen zeigen, gehobene Ansprüche an den Nährstoffbedarf stellen und die Kontaminationsgefahr stark erhöht ist, wurde versucht, die Bioreaktortechnik mit Hilfe eines Hohlfasersystems an die Erfordernisse der tierischen Zellkultivierung anzupassen. Bei dem hier verwendeten Hohlfasersystem, das sich in der Geometrie sowie durch einen direkten Gaseintrag in den Extrakapillarraum über eine Membran von herkömmlichen Systemen unterscheidet, handelt es sich um eine Alternative zur aeroben Gewinnung von murinen Antikörpern aus Ascitesmäusen. Um dieses Hohlfasersystem optimal steuern zu können, ist die genaue Kenntnis der Sauerstoffverteilung in den Modulen von großer Bedeutung. Es wurde deshalb damit begonnen, die Reaktormodule sowohl im zellfreien als auch zellbewachsenen Zustand zu charakterisieren. Dazu wurden auf polarographischem Wege mit modifizierten Mikrokoaxialnadelelektroden die Sauerstoffversorgungsbedingungen gemessen, wobei die Messungen in zellfreien Modulen Aufschluß über die Quantität als auch über die Qualität (Homogenität) des Sau-

erstoffeintrages geben sollten. Die Messungen in zellhaltigen Modulen sollten Aussagen über die lokale Sauerstoffversorgung während des Zellwachstums ermöglichen, so daß festgestellt werden kann, ob bei hohen Zelldichten eine Sauerstofflimitierung im Reaktor vorliegt. Es konnte gezeigt werden, daß die Sauerstoffeintragsrate mit der Reaktorlänge aufgrund konvektiver Stofftransportströme entlang der Hohlfasern variiert. Ferner konnten Unterschiede des örtlichen Sauerstoffeintrags beobachtet werden. Da die meisten bisherigen Aussagen über Zellwachstum und Substratversorgung in Hohlfaserbioreaktoren auf mathematischen Modellen beruhen, die Inhomogenitäten nicht berücksichtigen, können diese Untersuchungen neue Erkenntnisse über die realen lokalen  $P_{O_2}$ -Verhältnisse im extrakapillären System von Hohlfaserbioreaktoren liefern. Weitere Ergebnisse sind der Diplomarbeit von S.T. Maier zu entnehmen. Das Projekt wurde von der Fa. TECNOMARA finanziell unterstützt.

**Projekt 2.3: Untersuchungen zum Einfluß von Sauerstoff auf die Wellenausbreitung in der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion**  
(U. Hartenberger)

Mit der Strukturbildung und Wellenausbreitung in der BZ-Reaktion beschäftigen sich zahlreiche Untersuchungen. Obwohl die Ferroin-katalysierte BZ-Reaktion bisher am intensivsten untersucht wurde, liegen erstaunlicherweise noch keine systematischen Analysen zum Einfluß von Sauerstoff auf diese Reaktion vor. Da nur einzelne qualitative Hinweise zu diesem Thema bekannt sind und in den letzten 20 Jahren die meisten Experimente über Musterbildung bei Luftatmosphäre durchgeführt wurden, besteht der Bedarf, den genauen Einfluß von Sauerstoff auf die Reaktion aufzuklären. Mit einer teflonmembranisierten Pt-Minielektrode wurde begonnen, den Einfluß von Sauerstoff auf den Reaktionsmechanismus in dünnen Schichten unter folgenden Fragestellungen zu untersuchen:

Wie ändert sich die Geschwindigkeit einer Kreiswelle in einem Gelsystem bei unterschiedlichem Sauerstoffgehalt und welche Form zeigt die zeitliche Entwicklung des vertikalen  $O_2$ -Gradienten in einer dünnen Schicht eines Ferroin-katalysierten BZ-Systems?

Die im Berichtszeitraum erzielten Ergebnisse lassen sich folgendermaßen kurz zusammenfassen:

1. Es wurde eine Meßapparatur gebaut, in der definierte Flüssigkeitsschichten mit bestimmten Sauerstoffkonzentrationen aufgesättigt werden können, wobei man die Höhe der Flüssigkeitsschicht über der Elektrode variieren kann.

2. Um die Validität der O<sub>2</sub>-Messung für die Bestimmung vertikaler O<sub>2</sub>-Gradienten zu überprüfen, wurden zunächst O<sub>2</sub>-Aufsättigungskinetiken in Wasser, Schwefelsäure (1 M), Ferroin und in einer Reaktionslösung (0,15 M NaBrO<sub>3</sub>; 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,015 M Malonsäure) ohne Katalysator gemessen. Dabei wurden jeweils die Elektrodenpositionen in vertikaler Richtung geändert, so daß unterschiedliche Schichtdicken erzeugt werden konnten. Die Aufsättigungskurven, die jeweils bei 5 verschiedenen Elektrodenpositionen bzw. Eintauchtiefen aufgenommen wurden, zeigen für die 4 Lösungen ähnliche Verläufe und bestätigen, daß die Aufsättigungszeit eine Funktion von der Schichtdicke ist.
3. Der Sauerstoffsättigungsverlauf in der Reaktionslösung mit Katalysator (0,0016 M Ferroin) zeigt ein signifikant anderes Verhalten. Beim Durchlaufen einer Phasenwelle, wenn die Farbänderung des Katalysators von rot nach blau umschlägt, registriert die Elektrode einen Meßsignalabfall, was einer Abnahme der Sauerstoffkonzentration entspricht. Je näher die Elektrode an der Oberfläche mißt, desto schwächer ist dieser Abfall. Nach Regeneration der Lösung, d.h. wenn die Reaktionslösung wieder nach rot umgeschlagen ist, erfolgt ein langsamer Anstieg des Po<sub>2</sub>-Meßsignals und es kommt letztendlich zur Ausbildung eines stationären Zustandes zwischen Diffusion und Sauerstoffverbrauch.

Diese Experimente, die einen ersten Ansatz zur systematischen Analyse des Einflusses von Sauerstoff auf die BZ-Reaktion darstellen, sollen fortgeführt und durch modifizierte Elektrodenanordnungen erweitert werden. Ferner ist vorgesehen, die O<sub>2</sub>-Messungen mit Modellrechnungen zu kombinieren, wodurch ein weiterer Beitrag zur Aufklärung des genauen chemischen Mechanismus der BZ-Reaktion geleistet werden kann.

### **3. Projekt: Systematische Funktionsanalyse von technisch relevanten Elektroden-eigenschaften sowie Auswertung von Po<sub>2</sub>-Profilen**

#### **3.1 Aufnahme von Strom-Spannungs-Funktionen zur optimalen Kalibrierung von Sauerstoffnadelelektroden**

(G. Malinkewitz, W. Zimelka, in Zusammenarbeit mit K. Kritzler, Lehrstuhl für Tierphysiologie, Ruhr-Universität Bochum)

Für die polarographische Messung absoluter Sauerstoffpartialdrucke ist die optimale Arbeitsspannung des eingesetzten Elektrodensystems von besonderer Bedeutung, da von ihr überwiegend die Sensitivität, Selektivität und Linearität des Sensors ab-

hängt. Um die beste Arbeitsspannung für  $\text{Po}_2$ -Nadelelektroden mit schwach ausgebildetem Diffusionsgrenzstrom-Bereich sicher einstellen zu können, haben wir ein einfaches Verfahren ausgearbeitet: Zunächst werden Polarogramme sowohl im sauerstoffhaltigen als auch im sauerstofffreien Kalibriermedium mit steigendem und abnehmendem negativen Potential aufgenommen. Nach Subtraktion des Stickstoffpolarogramms wird für jede  $\text{O}_2$ -Konzentration durch Quotientenbildung die Elektrodenempfindlichkeit ermittelt und mit diesem kleinsten gemeinsamen Vielfachen für alle gewünschten Sauerstoffkonzentrationen "korrigierte" Polarogramme erstellt. Da sich die aufsteigenden und abfallenden Strom-Spannungskurven in charakteristischer Weise unterscheiden, entsteht in den meisten Fällen ein Kulminationspunkt, der die optimale Arbeitsspannung anzeigt. Bei diesem Spannungshaltepunkt herrscht die größte Empfindlichkeit der Elektrode gegenüber Sauerstoff, so daß hier die stabilste Eichung resultiert.

Um die Aufnahme von Polarogrammen zu automatisieren, wurde ein computergesteuertes System entwickelt, daß es ermöglicht, in vorgegebenen Zeitintervallen die Polarisationsspannung zu variieren und die Reduktionsströme "online" aufzuzeichnen. Die Spannungsänderungen werden mit einem Schrittmotor eingestellt, der das Potentiometer der Polspannung betätigt und über ein Schrittmotorsteuermodul (SMC 800, EMIS GmbH) betrieben wird. Die kontinuierliche Erfassung der Polarisationsspannung und des Reduktionsstroms erfolgt mit zwei Keithley-Multimeter (Keithley Typ 485), die über ein IEEE-Interface betrieben werden.

### **3.2 Untersuchungen über den Einfluß der Stichmechanik auf das $\text{Po}_2$ -Meßsignal von Nadelelektroden während des Einstichs in semisolid Polymernetzwerke**

(W. Zimelka, in Zusammenarbeit mit W. Müller, Institut f. Technische Chemie, Universität Hannover)

Obwohl in der Literatur zahlreiche theoretische und experimentelle Arbeiten über die elektrochemischen Eigenschaften, Design- und Dimensionskriterien von Nadelelektroden zur polarographischen Sauerstoffpartialdruckmessung sowie ihre Interaktionen mit den Meßmedien und meßtechnischen Schwierigkeiten vorliegen, sind bemerkenswerterweise nur wenige Untersuchungen über den Einfluß des mechanischen Druckes auf das Meßsignal während des Einstichs in ein halbfestes Medium bekannt. Da gegenwärtig die Anwendung von  $\text{Po}_2$ -Nadelelektroden in vielen Forschungsbereichen immer populärer wird und das elektrochemische Meßsignal in vielen Fällen sehr schwierig zu interpretieren ist, ist die genaue Kenntnis der Faktoren, die die  $\text{Po}_2$ -Messung mechanisch beeinflussen können von größter Bedeutung.

Besonders bei  $Po_2$ -Profilmessungen an Phasengrenzflächen, bei denen die Nadel-elektrode aus einem dünneren in ein dichteres Medium eindringt, können Meßsignaländerungen auftreten, die nicht den "wahren" Sauerstoffpartialdrücken entsprechen, sondern auf Artefakte zurückzuführen sind. Deshalb wurde unseres Wissens erstmals der Versuch unternommen, das elektrochemische  $Po_2$ -Meßsignal simultan mit dem mechanischen Druck während des Elektrodeneinstichs in semifeste Polymernetzwerke wie z.B. Agar-Agar oder Alginate aufzunehmen und zu korrelieren. Aufgrund spezifischer Wechselwirkungen zwischen einwirkender Kraft und resultierendem Meßsignal, läßt sich in Abhängigkeit der Konsistenz des Meßmediums eine Stichtechnik finden, die Fehlmessungen weitgehend minimiert. Dabei hat es sich gezeigt, daß die Schrittlänge und Schrittfolge sowie die Geschwindigkeit, mit der die Elektrode in das Meßobjekt eingestochen wird, eine entscheidende Rolle für eine möglichst artefaktfreie  $Po_2$ -Messung spielt. Im Falle halbfester Gele, die aus einem lockeren Netz von Fadenmolekülen bestehen, wurden die besten Ergebnisse erzielt, wenn die Elektrode 1.) mit großem Hub, 2.) großer Geschwindigkeit und 3.) alternierend in zwei Vorwärtsschritten, gefolgt von einem druckentlastenden Rückwärtsschritt in das Medium eingestochen wird. Es ist anzunehmen, daß diese Technik auch in biologischen Geweben erfolgreich eingesetzt werden kann.

### **3.3: Darstellungsformen von Korrelogrammen zur erweiterten Beurteilung der Sauerstoffversorgung von Organen**

(W. Zimelka, in Zusammenarbeit mit K. Kritzler, Lehrstuhl für Tierphysiologie, Ruhr-Universität Bochum)

Die  $Po_2$ -Häufigkeitsverteilung oder das sog. Histogramm stellt für die Beurteilung der Sauerstoffversorgung von Organen einen bedeutenden physiologischen Parameter dar. Das Histogramm ergibt sich aus dem jeweiligen strukturellen, metabolischen sowie zirkulatorischen Zustand eines Gewebes und wird meistens in kumulativer Form oder als Säulendiagramm in einem zweidimensionalen Koordinationssystem dargestellt. Um den Informationsgrad eines Histogramms zu erhöhen, haben wir begonnen, eine Ordnungsbeziehung zwischen  $Po_2$ -Übergängen innerhalb eines  $Po_2$ -Profils zu erstellen. Dabei ermitteln wir alle ortsbzogenen  $Po_2$ -Werte im Profil (z.B. in 50  $\mu\text{m}$ -Abständen), errechnen richtungsorientiert die  $Po_2$ -Differenzen und ordnen steigende, fallende und gleichbleibende Werte nach einem bestimmten Übergangsmuster (s. Arbeitsbericht 1991). Durch ein von uns entwickeltes Rechnerprogramm lassen sich diese Übergangsmuster aus verschiedenen Ebenen und Blickwinkeln beobachten und graphisch darstellen. Um die Validität dieser Methode zu testen, haben wir früher durchgeführte Experimente an Niere und Gehirn nach

den jetzigen Erkenntnissen ausgewertet und miteinander verglichen. Aufgrund der unterschiedlichen Gefäßarchitektur zwischen beiden Organen zeigen sich signifikante Unterschiede, wobei das  $P_{O_2}$ -Verteilungsmuster der Niere durch eine wesentlich größere Varianz des  $\Delta-P_{O_2}$  gekennzeichnet ist. Demgegenüber ergibt sich für das Gehirn eine geringere Streubreite mit erhöhtem Anteil an gleichförmigeren  $\Delta-P_{O_2}$ -Werten. Um die Prägnanz der Korrelogramme zu erhöhen, werden weitere Möglichkeiten der Bilddarstellung erprobt.

#### **4. Projekt: Erstellung eines Gefahrstoffinformationssystems (GIS) und Abfall-Entsorgungskonzepts**

##### **4.1: Umsetzung der Gefahrstoffverordnung (Gefstov) mit dem Datenbankprogramm GIS (R. Anders, M. Maier)**

Aufgrund der Gefstov und auch wegen einer Reihe anderer relevanter Rechtsnormen und Verordnungen ist es erforderlich, daß der Arbeitgeber eine Betriebsanweisung zu erstellen hat, in der die beim Umgang mit Gefahrstoffen auftretenden Gefahren für Mensch und Umwelt sowie die erforderlichen Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln festgelegt werden. Um diesen Forderungen nachzukommen, erstellen wir mit dem von der MPG erworbenen Datenbankprogramm GIS eine Stoffliste, in der folgende stoffbezogene Informationen enthalten sind:

- Sicherheitskennzahlen
- Beschreibung der physikalisch-chemisch-toxikologischen Eigenschaften aller ausgewiesener Gefahrstoffe und der bislang noch nicht als Gefahrstoffe klassifizierten aber gefahrstoffverdächtigen Chemikalien.
- Hinweise zur Aufbewahrung und Entsorgung
- Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln
- Verhalten in Gefahrensituationen
- Mengen der Gefahrstoffe am Arbeitsplatz.

Unsere Stoffdatei umfaßt derzeit über 900 Datensätze. Im Hinblick auf einen effektiven Datenaustausch zwischen den Instituten wurde die Zentrale Koordinierungsstelle GISKO in Stuttgart eingerichtet, wo die von uns recherchierten Stoffe ca. alle 6-8 Wochen eingearbeitet werden. Über dieses Programm haben wir auf aktualisierte Stoffdaten aktiven Zugriff. Ferner ermöglicht das Programm Betriebsanweisungen zu erstellen, wobei wir versuchen, die Gesamtzahl an Einzelanweisungen (gegenwärtig über 40) gering zu halten. Da erfahrungsgemäß eine große Zahl unterschiedlicher Anweisungen nicht zur Akzeptanz der Vorschriften beiträgt - in unserem Institut aber

mit einer Vielzahl von Gefahrstoffen umgegangen wird - erstellen wir für den speziellen Umgangsbereich möglichst allgemein geltende und stoffgruppenbezogene Betriebsanweisungen.

#### **4.2: Einführung eines neuen Abfallkonzepts** (W. Zimmelka)

Die Novellierung abfallrelevanter Umweltgesetze und die sich daraus ergebenden Verschärfungen der Vorschriften, aber auch die explosionsartige Preisentwicklung auf diesem Sektor, machten es notwendig, die Abfallogistik des Instituts zu überdenken und eine neue Entsorgungsstrategie zu entwickeln. Dabei waren sowohl hausmüllähnliche Abfälle zu berücksichtigen, im besonderen Maße aber auch die überwachungsbedürftigen Abfälle und Reststoffe. Für hausmüllähnliche Abfälle wurde nach Rücksprache mit der EDG (Entsorgung Dortmund GmbH) am Institut die sog. Getrenntsammlung eingeführt. Getrennt wird nach "echtem Abfall" und wiederverwertbaren Reststoffen. Letztere werden artenrein, entsprechend dem "Dualen System" und unter Berücksichtigung rechtlicher Bestimmungen (Abfallgesetz, Verpackungsordnung), gesammelt und entsorgt. Um die Sammlung und Entsorgung praktikabel zu gestalten, wird über zwei Entsorgungskreise gesammelt:

- Kleinere Mengen werden im Labor bzw. Büro in farbig gekennzeichneten und beschrifteten Behältern gesammelt, die vom Reinigungspersonal geleert werden;
- Für größere Mengen sind auf den Fluren Sammelstationen eingerichtet worden, die über die Betriebsmeisterei geleert werden.

Die Entsorgungsrichtlinien zur sachgerechten Entsorgung von Gefahrstoffen werden z. Zt. im Rahmen einer neuen "Betriebsanweisung zum Umgang mit Gefahrstoffen" überarbeitet und den verschärften Bedingungen, insbesondere dem EG-Recht, angepasst. Dadurch wird eine lückenlose Überwachung von Gefahrstoffen notwendig. Das bedeutet, der Weg eines Gefahrstoffes muß vom Einkauf über die Verarbeitung und Anwendung, bis zur Entsorgung nachvollziehbar sein und aufgezeichnet werden. Dazu ist die Erstellung eines Gefahrstoffkataloges notwendig, der alle am Institut vorhandenen Gefahrstoffe enthält. Mit der Erstellung wird zur Zeit begonnen.

## 6. Zentrale Einrichtung Glastechnik

Leiter: Dr. D. von Wulffen

Mitarbeiter: H. Axthelm, D. Seiler, C. Pätzold

Für das Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie wurden sämtliche anfallenden Reparaturarbeiten an Glasgeräten ausgeführt. Neuanfertigungen von Glasinstrumenten fielen für die einzelnen Abteilungen wie folgt an:

### **Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. Acker**

Spinner-Flaschen, Äquilibriergefäße, Glasrohrleitungen für Begasung, Glasfilter, Glasgewinde.

### **Arbeitsgruppe Dr. B. Bechinger**

Rohrverbindungen, Gewindeflaschen.

### **Arbeitsgruppe Dr. A. Boiteux**

Destillationsaufsätze, Temperiergefäße, Spitzkolben.

### **Arbeitsgruppe Dr. M.A. Delpiano**

Glasgefäße für Superfusionssystem, Begasungsausrüstung, Superfusionsflaschen.

### **Arbeitsgruppe Dr. M. Engelhard**

Kühlfallen, Küvettenhalter, Flachglasscheiben, Zweihalskolben, Hydrieranlage, Teflonhähne, Claisen-Brücke, Filterplatten, Glasstopfen, Waschflaschen, Destilliervorstoß, Glashähne, Eiweißhydrolyserohre, Belichtungsgefäß mit Scheidetrichter, Destillierkolonnen mit Vakuummantel.

### **Arbeitsgruppe Prof. Dr. K. Gerwert**

1 mm Bohrungen in Saphio-Kugeln.

### **Arbeitsgruppe PD Dr. H. Hentschel**

Glas-Kühler als Einsätze für Groß-Aquarien.

**Arbeitsgruppe PD Dr. E. Kinne-Saffran**

Pipetten, Elektrophoreseplatten, diverse Präpariernadeln.

**Arbeitsgruppe PD Dr. St. Müller**

Diverse Streuscheiben, Flachglasscheiben, Glasringe, Glasplatten mit 1 mm Bohrungen, Deckplatten für Küvetten

**Arbeitsgruppe PD Dr. F. Wehner**

Lösungsgefäße, Glas-Lunge, Teflon-Hähne, Waschflaschen, Liebig-Kühler, wasserummantelte Vorratsgefäße.

**Zentrales Laboratorium für Mikroelektrodenentwicklung und Dünnschichttechnik**

Eichgefäße (Elektroden), Kapillarrohre, Adapter für Durchflußelektroden, Teflonhähne.

**Zentrales Laboratorium für funktionelle Morphologie**

Einfriergefäße, Stickstoff-Einsätze, Glashalterungen, Deckplatten, Pipetten, Beobachtungskammer, Propanverflüssigungsgefäß, Glasspatel, Kulturgefäße, Gefrierbehälter, Propanbehälter, Perfusionsapparaturen, Pipetten.

## 7. Zentrale Einrichtung Präzisionsgerätebau und Erprobung

Leiter: R. König

Vertreter: W. Rüller

Mitarbeiter: U. Babst, J. Besler, G. Beyer, D. Brümman, W. Brüseke, B. Fieber, H. Heinings, P. Jantschik, N. Klein, H. Meinecke (ab 01.03.1993), J. Ruhnow

### 1. Projekt: Entwicklungen für elektrophysiologische Arbeitsplätze

(F. Wehner)

- a) Entwicklung einer Versuchskammer für den Arbeitsplatz Nr. 4 (patch clamp)  
(D. Brügmann)
- b) Fertigung eines Untergestells aus Leichtmetall für Mikromanipulatoren mit x-y-Kreuztisch  
(D. Brümman)
- c) Entwicklung eines Feintriebes für Niveauregulierung in Superfusionssystemen  
(D. Brümman, M. Schulz)
- d) Generalüberholung des Arbeitsplatzes Nr. 1  
(D. Brümman)
- e) Weiterentwicklung eines 4-Wegeventils mit Doppel-L-Kücken für Arbeitsplatz Nr. 2  
(N. Klein)
- f) Entwicklung einer Einrichtung zur Temperierung von Versuchslösungen am Arbeitsplatz Nr. 6  
(D. Brümman, P. Jantschik)
- g) Einbau eines kommerziellen 6/1-Verteilerventils in den Versuchsaufbau des Arbeitsplatzes Nr. 5  
(D. Brümman)
- h) Weiterentwicklung einer Meßkammer für mikrofluorometrische Messungen am Arbeitsplatz Nr. 6  
(D. Brümman)
- i) Entwicklung einer Versuchskammer zum Einspannen von Primärkulturen auf Petripermfolien für konfokale Laser-Raster-Mikroskopie  
(N. Klein, P. Jantschik)

- j) Entwicklung einer Perfusions-Steuerung für den Arbeitsplatz Nr. 4 (patch clamp)  
(D. Brümman)

**2. Projekt: Entwicklung für das FLOX-System**  
(G. Holst)

- a) Entwicklung von O<sub>2</sub>-Flux-Sensorköpfen mit einem Heizteil aus Edelstahl  
(N. Klein)
- b) Entwicklung einer Barometer-Meßkammer mit 2-Wege-Schlauchankopplung  
(N. Klein)
- c) Fertigung von Ankoppelementen  
(N. Klein)

**3. Projekt: Entwicklung eines Kryokraftmikroskops zur Abbildung von Membranen und Zellen im gefrorenen Zustand**  
(A. Brodde, K. Zierold) (P. Jantschik, U. Babst)

**4. Projekt: Entwicklung einer Halterung für Eppendorfgeläße in einer N<sub>2</sub>-Druckbombe**  
(B. Bechinger) (M. Schulz)

**5. Projekt: Entwicklung eines Schneidegerätes für UZ-Röhrchen**  
(B. Bechinger) (D. Brümman)

**6. Projekt: Fertigung eines Festkörper-NMR-Probenkopfes zur Vermessung orientierter Membranen**  
(B. Bechinger) (U. Babst)

**7. Projekt: Entwicklung einer Meßkammer für die Superfusion von Sphäroiden**  
(H. Acker) (D. Brümman)

**8. Projekt: Anpassung einer spektralen Meßeinheit an das Mikroskopphotometer**  
(H. Acker, G. Holtermann) (N. Klein)

- 9. Projekt: Entwicklung einer Meßkammer für die Calciumbestimmung an Sphäroiden**  
(H. Acker) (N. Klein, U. Babst)
- 10. Projekt: Entwicklung eines Meßplatzes für die Hannover-Messe 1993: Messung von pO<sub>2</sub>-Profilen zur Untersuchung der Sauerstoffversorgung biologischer Systeme**  
(H. Baumgärtl, W. Zimmelka) (U. Babst, B. Fieber, H. Heinings, P. Jantschik)
- 11. Projekt: Entwicklung einer drehbaren Halterung für die Kathodenzerstörungsanlage (Sputron II) zur Beschichtung von Elektroden**  
(H. Baumgärtl, W. Zimmelka) (N. Klein)
- 12. Projekt: Entwicklung einer thermostatisierbaren Box für Versuche an Blasen zellen zur Osmolytregulation**  
(H. Sauerwald) (U. Babst)
- 13. Projekt: Weiterentwicklung von Chromatographiesäulen zur Proteinaufreinigung**  
(A. Wittinghofer, E. Weinhold) (B. Fieber, G. Beyer, N. Klein)
- 14. Projekt: Fertigung eines Reaktors mit Kühlung zur Messung von BZ-Reaktionen**  
(S.C. Müller, B. Schmidt) (G. Beyer)
- 15. Projekt: Umbau am Cary für Rutheniummessungen mit einem Lichtleiter**  
(S.C. Müller, R. Mereddy) (J. Besler)
- 16. Projekt: Entwicklung einer Thermostatisierungskammer zur Belichtung von Zellsuspensionen, die während der Belichtung mit einer 900 W-Xenon Hochdrucklampe wassergekühlt werden müssen**  
(M. Engelhard) (G. Beyer, U. Babst)

- 17. Projekt: Weiterentwicklung einer IR-Küvettenhalterung für ein Spektralphotometer zur Messung von Absorptionen im UV- und im sichtbaren Licht**  
(K. Gerwert) (J. Besler)
- 18. Projekt: Fertigung von Küvetten für das IR-Spektrometer zur Messung der FTIR-Spektroskopie**  
(K. Gerwert) (J. Besler)
- 19. Projekt: Aufbau eines YAG-Lasers mit Strahlumlenkung zur Messung von Absorptionen im sichtbaren Licht**  
(K. Gerwert, M. Engelhard) (G. Beyer, J. Besler, J. Ruhnow)
- 20. Projekt: Entwicklung eines Reaktors zur Untersuchung neuer Strukturen in erregbaren Medien**  
(S.C. Müller) (J. Besler)
- 21. Projekt: Entwicklung eines Reaktors zur Bestimmung der Spiraldynamik in der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion**  
(S.C. Müller, F. Krüger) (J. Besler)
- 22. Projekt: Fertigung einer optischen Baugruppe bestehend aus:**  
a) Halterung für Galvanometer Scanner  
b) 1 Paar anamorphotische Prismen und variabler Spaltblende  
c) Halterungen für 2 konfokale Zylinderlinsen  
(S.C. Müller, D. Stock) (J. Besler)
- 23. Projekt: Entwicklung einer rechnergesteuerten x-y-Positionierung (Schrittmotorantrieb) zur gescannten Absorptionsmessung an Reaktion-Diffusion-Strukturen in BZ-Reagenz**  
(S.C. Müller, D. Stock) (H. Meinecke)
- 24. Projekt: Entwicklung eines Image-Plate-Scanners zur Auslesung von Image-Phosphorplatten als Detektoren für die Biophysik und Molekularbiologie**  
(R. Goody, in Zusammenarbeit mit Ch. Burmester, MPI für medizinische Forschung, Heidelberg) (J. Besler)

- 25. Projekt: Fertigung von LM-Probenhaltern für Heizblöcke**  
(A. Wittinghofer) (B. Fieber, U. Babst)
- 26. Projekt: Fertigung von 72 LM-Lochblechkästen für Tiefkühlschränke (- 80°C) zur Aufbewahrung von Langzeitproben**  
(A. Wittinghofer) (H. Meinecke)
- 27. Projekt: Fertigung von Tischen auf Rollen für einen Counter LS 6500**  
(R. Kinne, W. Weinhold) (J. Ruhnow)
- 28. Projekt: Weiterentwicklung von diversen Gradientenkammern**  
(A. Wittinghofer, B. Bechinger) (H. Meinecke, H. Heinings, B. Fieber, M. Schulz)
- 29. Projekt: Fertigung von Elektrophoresekammern für SDS- und Agarose-Gele**  
(A. Wittinghofer, E. Kinne)
- 30. Projekt: Fertigung von LM-Kühlblöcken für Proben in Eppendorfgefäßen**  
(A. Wittinghofer) (U. Babst, B. Fieber)
- 31. Projekt: Weiterentwicklung von diversen Probenständern aus PVC und PMMA**  
(U. Babst, G. Beyer, B. Fieber, H. Meinecke)
- 32. Projekt: Fertigung von diversen PTFE-Elektrophoresekämmen**  
(B. Fieber, G. Beyer)
- 33. Projekt. Fertigung von diversen Labortischen (Sondermaße und z. T. Aufkantungungen)**  
(J. Ruhnow, W. Brüseke, H. Meinecke, P. Jantschik)

## 8. Zentrale Einrichtung Synthese und Sequenzierung

Leiter: PD Dr. H.-J. Wieker, Dr. J. Block

Mitarbeiter: K.-H. Wüster, W. Hecker

### Allgemeine Thematik und Aufgaben

Das Jahr 1993 war vor allem durch die Neuorganisation der verschiedenen Einrichtungen der beiden am 01.01.1993 zusammengelegten Institute gekennzeichnet: Auflösung der AG Dr. Wieker, Umwandlung und Ausbau der AG Proteinchemie zur Zentralen Einheit Synthese und Sequenzierung, Installation eines Oligonucleotid-Synthesizers und der erforderlichen Peripheriegeräte, Baumaßnahmen, Umzug sowie Einrichtung von Labor- und Büroräumen.

### 1. Projekt: Protein-Sequenzierung

Als die AG Proteinchemie am 01.01.1993 zur Zentralen Einheit Synthese und Sequenzierung wurde, bildete die Protein-Sequenzierung bereits eine voll funktionsfähige und kontinuierlich laufende Service-Einrichtung.

Ein besonderes analytisches Problem stellt die Identifizierung substituierter Aminosäuren in chemisch modifizierten Proteinen dar. Durch Kopplung der HPLC-Analyse mit einem vom Sequenzer gesteuerten Fraktionssammler wurde die Möglichkeit geschaffen, radioaktiv markierte Liganden nachzuweisen und den Aminosäuren zuzuordnen. Leider ist die Empfindlichkeit der Methode noch nicht zufriedenstellend.

Mit der gerade erfolgten Lieferung eines Apple-Macintosh soll auch die Auswertung der Sequenzanalysen wesentlich erweitert und verbessert werden.

Neben den Serviceleistungen für unser Institut hat sich bei dieser Einrichtung der ZE SuS auch eine intensive und fruchtbare Zusammenarbeit mit verschiedenen Arbeitsgruppen der Ruhr-Universität Bochum und der Universität-Gesamthochschule Essen ergeben.

### 2. Projekt: Oligonucleotid-Synthese

Seit dem 01.09.1993 verfügen wir über einen alten Oligo-Synthesizer, *Millipore-Cyclone*. Leider konnten nicht alle Peripheriegeräte schnell genug beschafft werden, so daß es anfangs zu einigen Engpässen kam. Inzwischen verfügen wir aber über eine eigene SpeedVac und eine altersschwache, gerade noch funktionsfähige HPLC-An-

lage, so daß eine kontinuierliche Versorgung mit Oligos prinzipiell gewährleistet ist. Hier wird vor allem an der Verfeinerung der Aufarbeitungs- und Reinigungsprozeduren gearbeitet.

### **3. Projekt: Molekularbiologische Software.**

Zu den Aufgaben der ZE SuS gehören auch die Bereitstellung und Pflege von zwei größeren Software-Paketen für die Sequenzanalyse von Nucleinsäuren und Proteinen: PC/Gene für DOS-Computer und das GCG-Paket für UNIX-Workstations, womit aber auch unter DOS-Windows und Macintosh-Betriebssystemen gearbeitet werden kann. Das "Updating" der dazugehörenden Sequenzdatenbanken, aber vor allem die Unterweisung der Benutzer nehmen einen großen Raum in der täglichen Arbeit der ZE SuS ein.

## 9. Zentrales Laboratorium für Mikrobiologie und Biotechnologie

Leiter: Dr. D. Kuschmitz

Mitarbeiter: P. Hähnert, Ch. Jantschik, Dr. Th. Mair (bis 31.12.1993), H. Rimpel (bis 31.12.1993), H. Ristau, I. Schlieker, G. Wehmeier

### Allgemeine Thematik

Aufbau einer Abteilung für Mikrobiologie/Biotechnologie mit dem Auftrag, für die wissenschaftlichen Abteilungen Nährmedien zu präparieren, größere Mengen von Mikroorganismen mit rekombinanter DNA zu fermentieren (S1 Bereich) und die begleitenden Arbeiten durchzuführen. Die hierfür notwendigen Bauarbeiten wurden abgeschlossen. Nährmedien wurden bereitgestellt für die Abteilungen I (Prof. Dr. A. Wittinghofer) und Abteilung III (Dr. E. Weinhold). Purpormembranen aus *Halobacterium halobium* wurden präpariert für die Arbeitsgruppen Dr. K. Gerwert und Dr. M. Engelhard, Plasmamembranen aus *Natronobacterium pharaonis* für die Arbeitsgruppe Dr. M. Engelhard. (G. Wehmeier, P. Hähnert)

### Forschungsprojekt

Untersuchung des Reaktionsmechanismus der Plasmamembran  $H^+$ -ATPase von Hefe mit biophysikalischen Methoden (FTIR Differenzspektroskopie nach Reaktionsstart mit ATP, das aus caged ATP durch Laserphotolyse freigesetzt wird), physiologische Enzymologie des Enzyms in Zellen, kinetische Analyse des Reaktionszyklus.

**1. Projekt: FTIR-spektroskopische Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus der  $H^+$ -ATPase von *S. pombe***  
(Dr. Th. Mair, H. Rimpel, H. Ristau gemeinsam mit K. Gerwert, Dortmund, Bochum)

Erste FTIR Untersuchungen des Enzyms, als Teil eines von der EEC geförderten Projekts, wurden abgeschlossen. Eine Reihe von Kontrollmessungen zur Stabilität der solubilisierten, gereinigten  $H^+$ -ATPase hatten gezeigt, daß dieses Membranenzym unter den für die FTIR-Differenzspektroskopie notwendigen Langzeitbedingungen enzymatisch aktiv ist, nachdem die Reaktion durch photolytische Freisetzung von ATP aus caged-ATP gestartet wird. Durch Differenzbildung der zeitaufgelösten FTIR-Spektren konnte die schnelle Photolyse-reaktion von caged-ATP von der en-

zymatischen ATP-Hydrolyse getrennt werden. ATP-Hydrolyse kann an mehreren Positionen im Bereich der Phosphat Absorptionen im ATP, ADP und Phosphat detektiert und kinetisch analysiert werden. Im Absorptionsbereich der Protein-Carbonyl-Schwingungen wurde eine  $Mg^{++}$ -abhängige Reaktion beobachtet, die als  $Mg^{++}$ -abhängige Protonierung von Carboxylgruppen des Enzyms bei der Bindung von ATP interpretiert werden kann. Obwohl es gelang, die biosynthetische Markierung des Enzyms mit  $^{13}C$ -Aspartat von 25 % auf 70 % zu optimieren ( $^{13}C=O$  Absorptionen werden bei etwa  $40\text{ cm}^{-1}$  kleineren Wellenzahlen beobachtet), konnte das im Reaktionszyklus intermediär gebildete Aspartylphosphat noch nicht im FTIR-Spektrum nachgewiesen werden. In einem neuen, ebenfalls von der EEC geförderten Projekt, werden die FTIR-Untersuchungen mit einem Vakuumgerät (verbessertes Signal/Rausch-Verhältnis) und verbesserter Auswertungstechnik fortgesetzt.

## **2. Projekt: Enzymologische Untersuchungen der $H^+$ -ATPase von *S. cerev.* und *S. pombe***

(I. Schlieker, H. Ristau, H. Rimpel, Dr. Th. Mair)

Die Aktivität des *S. cerev.* Enzyms wurde unter den physiologischen Bedingungen variabler ATP- und ADP-Konzentrationen gemessen, wie sie in Zellen durch die Adenylatkinase eingestellt werden (AMP hat keinen Einfluß auf die Aktivität des Enzyms). Messungen des Membranpotentials als Funktion des zellulären Energiezustands und die kinetische Analyse eines  $E_1E_2$ -Reaktionsmodells hatten eine quasi-lineare Beziehung zwischen Enzymaktivität und zellulärem ATP/ADP vermuten lassen bzw. vorausgesagt. Dies konnte experimentell in Plasmamembranen sowohl für die nicht aktivierte  $H^+$ -ATPase (in metabolisch nicht aktiven Zellen) als auch für das "Glukose-aktivierte" Enzym bestätigt werden. Ursache für das quasi-lineare Verhalten ist eine kompetitive Hemmung durch ADP als Teil der Regulation des Enzyms in den Hefezellen.

Die Plasmamembran  $H^+$ -ATPase von Hefe wird durch Trifluoperazin (TFP) gehemmt. Die Kenntnis des Mechanismus der Hemmung ist interessant, weil TFP möglicherweise die Protonenbindungsstelle oder eine Kationenbindungsstelle besetzen könnte. Beim *S. pombe* Enzym ist der Hemmtyp variabel: kompetitiv in Plasmamembranen, nicht kompetitiv beim gereinigten nicht aktivierten Enzym und unkompetitiv beim gereinigten "Glukose-aktivierten" Enzym. Die Hemmung der ATP-Hydrolyse wird durch Lipide (Lipid Vesikel) aufgehoben, die Protonen-Translokation wird jedoch in den Vesikeln unterbunden. Es ist unklar, ob TFP die beiden Enzymfunktionen ATP Hydrolyse und Protonen-Translokation im Protein entkoppelt oder ob

es als klassischer Entkoppler wirkt. Die Untersuchungen werden auf das *S. cerev.* Enzym ausgedehnt.

## Liste der Publikationen und Vorträge

### 1. Kongreßvorträge, zu denen eingeladen wurde und sonstige Vorträge, zu denen eingeladen wurde

Abteilung I: Strukturelle Biologie, Prof. Dr. A. Wittinghofer

Thema: Aspekte der Struktur und Funktion von p21<sup>H-ras</sup>

- Laboratoire de Biochimie, C.E.N.-G.  
Grenoble, 22.01.1993
- 4. Kolloquium DFG-Schwerpunktprogramm, Molekulare Mechanismen der  
Signaltransduktion im Membranen  
Berlin, 25.02.-27.02.1993
- Jahrestagung Deutsche Gesellschaft für Kristallographie  
Bochum, 11.03.1993
- The structure and function of mononucleotide-binding proteins AMBO Training  
Cours  
Osaka, Japan, 20.04.1993
- Protein Engineering Research Institute  
Osaka, Japan, 20.04.1993
- Graduate School of Medical Science  
Dept. of Molecular Biology,  
Fukuoka, Japan, 23.04.1993
- Banyu Tsukuba Research Institute  
Tsukuba, Japan, 26.04.1993
- EMBO Symposium "Structural Biology"  
Heidelberg, 10.05.-15.05.1993
- FASEB Summer Research Conference  
Brandeis University, 26.06.1993
- FEBS and ICRO Advanced Course  
Biochemistry of membrane transport  
Lake Balaton, Hungary, 05.09.-12.09.1993
- Herbsttagung der Gesellschaft für Biologische Chemie  
Düsseldorf, 12.09.-15.09.1993
- 48. Jahrestagung "Gastroenterologie"  
Frankfurt, 23.09.1993

- SFB-Tagung Homburg  
Homburg, 01.10.1993
- EMBL Heidelberg "Methods in Cell Biology"  
Heidelberg, 08.10.1993
- Philippe-Laudat Conference  
Inserm, Paris, 08.11.1993
- Biochemisches Kolloquium, Universität Giessen  
Giessen, 10.12.1993
- Universität Freiburg, Prof. Staeheli  
Freiburg, 13.12.1993

Abteilung II: Epithelphysiologie, Prof. Dr. R. K. H. Kinne**B. Bechinger:**

- Struktur, Dynamik und Wechselwirkung membrangebundener Kanäle mittels Festkörper- und Hochauflösungs-NMR-Spektroskopie.  
Jena, 06.10.1993
- The Structure and Interactions of Membrane-Associated Polypeptide Antibiotics by NMR Spectroscopy.  
Institut für Biophysikalische Chemie, Universität Basel, Schweiz, 04.11.1993
- NMR Structures of Membrane Antibiotics.  
4th International Procoat Meeting, Neewiller, Frankreich, 05.11.1993
- NMR Untersuchungen an membrangebundenen Peptidantibiotika.  
Physikalisches Institut, Universität Dortmund, 18.11.1993

**R.K.H. Kinne:**

- Biochemie im Spannungsfeld zwischen Chemie und Biologie.  
Vortrag im Rahmen des Studium generale an der Universität Dortmund, 11.02.1993
- Wissenschaftsland: Dortmund, Deutschland, Europa.  
Rotary-Club Dortmund, 17.05.1993
- Die Rolle organischer Osmolyte bei der Volumenregulation in der Nierenpapille.  
August-Klinik, Düsseldorf 07.10.1993

**E. Kinne-Saffran, R.K.H. Kinne:**

Jacob Henle: The kidney and beyond. History of Nephrology: An International Conference, Naples, Italy, 28.-30.10.1993

**F. Wehner:**

- Konfluente Monolayer von Rattenleberzellen in Primärkultur - Ein Modell für die Untersuchung hepatozellulärer Transportprozesse mit elektrophysiologischen Methoden.  
Institut f. Veterinärphysiologie im Fachbereich Veterinärmedizin. Justus-Liebig Universität Gießen, 21.01.1993
- Transport-related effects of DIDS in primary cultures of rat hepatocytes.  
8th Annual Meeting, European Study Group of Hepatobiliary Transport. Schloß Hochhausen, 04.-06.03.1993

- Der Anionentransport-Inhibitor DIDS erhöht die  $K^+$ -Leitfähigkeit von Ratten-Leberzellen in Primärkultur nach Aufnahme durch den Bilirubin/Bromsulphthalein-Transporter.  
Fakultät für Biologie, Ruhr-Universität Bochum, 16.06.1993

#### **K. Zierold:**

- Kryoelektronenmikroskopie - eine Methode zur Strukturuntersuchung wasserhaltiger Systeme.  
Seminar des Graduierten Kollegs der Universität Siegen, 18.02.1993
- Intrazelluläre Elementlokalisierung mit der Elektronenstrahlmikroanalyse.  
Seminarvortrag im Institut für Immunbiologie der Universität Freiburg, 07.05.1993
- Preparation techniques for electron probe microanalysis of cells.  
Congress of Cytology and Differentiation in Parma, 02.06.1993
- Analytische Elektronenmikroskopie in der Biologie: Aspekte der Probenpräparation.  
Dreiländertagung Elektronenmikroskopie in Zürich, 10.09.1993

#### Emeritusarbeitsgruppen

#### **B. Hess:**

- "Das Entropieproblem" Ringvorlesung: "Molekulare und zelluläre Netzwerke", Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität Wien, Februar 1993
- "Dynamische Spiralen in Chemie und Biologie", im Rahmen der Ringvorlesung "Strukturbildungsprozesse" der Universität Bielefeld, Juni 1993
- Schlußreferat "Patenting of Human Genes in Living Organisms", Heidelberger Akademie der Wissenschaften, Heidelberg, Juli 1993
- "Multiexponential Analysis of Transit Absorption States of the bR-Photocycle", Biological Physics Symposium "Dynamics and Function of Biomolecules", Szeged, Juli 1993
- "Aus der Welt dynamischer Spiralen in Chemie und Biologie". Öffentlicher Abendvortrag, 24. Hauptversammlung der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Hamburg, September 1993

**D.W. Lübbers:**

- Laudatio für Prof. Dr. D.H. Ingvar (Schweden) anlässlich der Verleihung des K.J. Zülch Preises der Reemtsma Stiftung in der Max-Planck-Gesellschaft, 10.09.1993
- Oxygen in tissue and microenvironment.  
Workshop on Chronobiology in Relation to in vivo monitoring.  
Porto, Portugal, 14.-15.10.1993

Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen**H. Acker:**

- Die Bedeutung von Sauerstoffsensoren in Physiologie und Pathophysiologie.  
Medizinische Fakultät-Universität Leipzig, 25.02.1993
- Die Signalfunktion des Sauerstoffs für physiologische und pathologische Zellaktivitäten.  
Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, 25.03.1993
- Cellular Oxygen Sensors, Congress on Molecular, Cellular and Developmental Biology of Erythropoietin and Erythropoiesis. New York Academy of Sciences, Irsee, 26.04.1993
- Sauerstoffsensoren in der Zelle.  
Physiologisches Institut der Universität Fribourg, Schweiz, 27.05.1993
- Multizelluläre Sphäroide in der Krebsforschung.  
Physiologisches Institut für Biologie der Universität Bonn, 24.06.1993
- Das Zytochrom b<sub>558</sub> - System in verschiedenen Zellarten.  
Institut für Biologie der Ruhr-Universität Bochum, 01.07.1993

**M.A. Delpiano:**

- Ionic currents on endothelial cells of rat brain capillaries.  
International Symposium on Arterial Chemoreception, Dublin, Ireland, 09.08.-13.08.1993

**A. Görlach, P. Herter, H. Hentschel, H. Acker:**

- Radical producing in melanoma cells - a putative target for interferon. A fluorescence marker technique for vitality status of cancer cells in multicellular spheroids using confocal laser scanning microscope as an optical probe (M. Wartenberg and H. Acker).  
Status Meeting of DFG on Proliferation and Differentiation in three-dimensional cell systems, Mainz, 04.-05.06.1993

**M. Markus:**

- Cellular Automata: Useful Caricatures of Nature.  
Section de Physique et Chimie, Institut Curie, Paris, 18.01.1993
- Visualization of Stability in Parameter Space.  
Facultad de Química, Universidad Complutense, Madrid, 17.02.1993
- Lyapunov Stability.  
Faculté de Physique, Université Paul Sabatier, Toulouse, 19.02.1993
- Zwiesel: Postmoderne und Naturwissenschaften.  
Edgar-Lüscher-Seminar "Erkenntnis-theoretische Aspekte der modernen Physik", 28.03.1993
- A binary description of earthquakes.  
International Symposium on "Fractals and Dynamic Systems in Geosciences",  
Gelnhausen, 01.04.1993
- Erläuterungen zum Mechanismus der Muschel-Pigmentierung.  
Fernsehsendung "Abenteuer Wissenschaft", 21:05 - 21.50, SDR, 20.06.1993
- Chemical lenses - Stationary and Oscillatory "New Trends in Pattern Formation  
in active Nonlinear Media".  
Univ. Santiago de Compostela, Spanien, 08.07.1993
- Chaos in der Glykolyse.  
Medizinische Hochschule, Hannover (Prof. Brabant), 26.07.1993
- Chemische Turbulenz.  
Jahrestagung des Cusanus-Werkes, Vogelsburg, 15.10.1993
- Turbulenz, leicht zu sehen und reproduzieren in Petrischalen.  
3. Jahrestagung, TU München, 13.11.1993
- Meinhardt-Klingers mollusc shell patterns can be simulated by a simple  
cellular automation.

2nd European Conference on "Mathematics applied to Biology and Medicine",  
Lyon, 16.12.1993

**H. Prinz:**

- Vortrag "Beschleunigte Dissoziation von  $\text{Ca}^{++}$ -Autagonisten".  
Institut für Biochemische Pharmakologie, Universität Innsbruck, Österreich,  
10.03.1993

**S.C. Müller:**

- Zs. Nagy-Ungvarai "Konzentrische und spiralförmige Wellen in erregbaren Systemen"  
Philips Universität Marburg, Fachbereich Physikalische Chemie, 04.02.1993
- "Spiraldynamik unter dem Einfluß äußerer Felder"  
AG-Physikalische Chemische Dynamik, Berlin, Adlershof, 09.02.1993
- "Spiral Wave Dynamics"  
Tsukuba National Institute of Materials and Chemical Research, Tsukuba Japan, 29.03.1993
- "External Forcing of Chemical Waves"  
Stanford University, Dept. of Chemistry, USA, 12.04.1993
- "External Control and Forcing of Wave Propagation in Excitable Media"  
NATO-Advanced Workshop "Spatio-Temporal Patterns in Nonequilibrium Complex Systems", Santa Fe, New Mexico, 17.04.1993
- "External Control and Forcing of Wave Propagation in Excitable Media",  
Brandeis University, Dept. of Chemistry, 20.04.1993
- "Oszillierende chemische Reaktionen"  
Fachschaftstagung "Chronobiologie" des Cusanuswerks, Reichenau,  
20.05.1993
- V.S. Zykov "Boundary Layer Kinematical Model of Autowave Patterns in two-component Reaction-Diffusion Systems"  
Konferenz ECAL '93 "Selforganization and Life", Brüssel, 25.05.1993
- O. Steinbock "Rotating cell motion and wave propagation during the developmental cycle of Dictyostelium"  
Konferenz ECAL '93 "Selforganization and Life", Brüssel, 26.05.1993
- V.S. Zykov "A Simple Kinematical Model for Meandering Spiral Autowaves"  
Workshop "From Excitability to Oscillations: a case study in spatially extended systems", Nizza, 01.06.1993
- "External Forcing of Spiral Waves"  
Workshop "From Excitability to Oscillations", Nizza, France, 03.06.1993

- "Autonome und erzwungene Spiraldynamik in erregbaren Medien"  
Technische Universität Magdeburg, Fakultät für Naturwissenschaften,  
11.06.1993
- "Selbstorganisation in reaktiven Systemen"  
Universität Dortmund, Kolloquium Physik, 29.06.1993
- "Spiral Wave Dynamics with and without External Forcing"  
Workshop "New Trends in Pattern Formation in Active Nonlinear Media",  
Santiago de Compostela, Spain, 06.07.1993
- "Dynamical Aspects of Chemical Waves"  
Universitat de Barcelona, Facultat de Química, 12.07.1993
- "Patterns in Excitable Media - Experiment and Simulation"  
First Copenhagen Symposium on Computer Simulation in Biology, Ecology  
and Medicine, Copenhagen, Denmark, 24.08.1993
- "Musterbildung in komplexen Systemen"  
Lehrerfortbildungs-Akademie, Zentrum für komplexe Systeme und  
Visualisierung, Universität Bremen, 23.09.1993
- "Räumliche Strukturbildung durch Reaktions-Diffusions-Kopplung", Universität  
Bremen, Fachbereich Chemie, 22.10.1993
- "Spiraldynamik in Reaktions-Diffusions-Systemen"  
Technische Universität Braunschweig, Institut für Physikalische Chemie
- "Existation Waves in Dictyostelium Populations and Chicken Retina"  
Workshop pour l'Inauguration de l'Institut Nonlinéaire de Nice, France,  
23.11.1993
- "Spiral Wave Dynamics in Excitable Media"  
5th International Workshop on Instabilities and Nonequilibrium Structures,  
Santiago de Chile, 13.12.-18.12.1993

## **2. Freie Kongreßbeiträge sowie sonstige freie Vorträge**

Abteilung I: Strukturelle Biologie, Prof. Dr. A. Wittinghofer

**N. Opitz, E. Merten, B. Bölling, G. Holtermann, H. Acker:**

Comparison of the pH-probes BCECF and C-SNARF-1 in view of intracellular pH-imaging: A critical assessment.

72. Tagung der Deutschen Physiol. Ges., München, 04.03.-07.03.1993

**N. Opitz, E. Merten, H. Acker:**

A dynamic calibration method for fast multipoint-calibration of intracellularly entrapped ion-sensitive fluoroprobes.

Gem. Jahrestag. d. Deutschen, Österr. u. Schweiz. Ges. für Biomed. Technik, Graz, 16.09.-18.09.1993

Abteilung II: Epithelphysiologie, Prof. Dr. R.K.H. Kinne

**G. Bauernschmitt, C. Bevan, R.K.H. Kinne:**

Characteristics of l-alanine transport into rat inner medullary collecting duct cells.  
Membranforum Frankfurt, 05.04.-07.04.1993

**B. Bechinger, M. Zasloff, S.J. Opella:**

Multidimensional Solution and Solid-State NMR Studies of Magainin Antibiotic Peptides.  
Poster, Frontiers of NMR in Molecular Biology III, Taos, NM, U.S.A., 07.-14. 03.1993

**B. Bechinger, M. Zasloff, S.J. Opella:**

Multidimensional Solution and Solid-State NMR Studies of Magainin Antibiotic Peptides.  
Vortrag in Workshop und Poster, European Research Conference: Molecular Basis of Biological Membrane Protein Structure and Function, Acquafredda di Maratea, Italien, 19.04.-23.04.1993

**B. Bechinger, M. Zasloff, S.J. Opella**

Multidimensional high-resolution and solid-state NMR-spectroscopy of antibiotic peptides in membranes.  
Poster und Vortrag in Second Workshop on Pore-Forming Toxins, Mainz, 29.09.-02.10.1993

**H. Tinel:**

Role of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ -stores in the regulatory volume decrease of rat inner medullary collecting duct (IMCD) cells in primary culture.  
Poster beim Kongreß "Cell Calcium" in Amsterdam

**F. Wehner, S. Rosin-Steiner, G. Beetz, H. Sauer:**

Increase of rat hepatocyte  $\text{K}^+$  conductance by 4,4'-diisothiocyanato stilbene-2,2'-disulfonic acid (DIDS) taken up via the bilirubin/BSP pathway.  
XXXII Congress of the International Union of Physiological Sciences. Glasgow, 01.-06.08.1993

**H.P. Wiesmann, H.J. Höhling, K. Zierold:**

Quantitative Elementanalyse und Elementverteilung in Prädentin und frühen Dentin. Poster bei der Dreiländertagung Elektronenmikroskopie. Zürich, 05.09.-11.09.1993

**K. Zierold, A. Wessing:**

Potassium transport in Malpighian tubules of *Drosophila* larva studied by X-ray microanalysis. Poster at the joint meeting of the German and Dutch Societies for Cell Biology. Münster, 28.03.-01.04.1993

**K. Zierold, S.V. Buravkov:**

X-ray elemental mapping of freeze-dried cryosections from biological cells. Poster at the European workshop on modern developments and applications in microbeam analysis. Rimini, 09.-13.06.1993

Zentrale Einrichtungen**H. Baumgärtl, K. Kritzler, W. Zimmelka, D. Zinkler:**

Sauerstoffpartialdruckprofile im Umfeld überfluteter Bodenkleinarthropoden.  
Deutsche Zoologische Gesellschaft, München, 01.05.-04.05.1993

**O. Debus, H. Baumgärtl, I. Sekoulov:**

Messungen von Transport- und Reaktionsprozessen im membrangebundenen  
Biofilm zum Abbau von flüchtigen Aromaten.  
11. Jahrestagung der Biotechnologen, Nürnberg, 24.05.-28.05.1993

**O. Debus, H. Baumgärtl, I. Sekoulov:**

Influence of fluid velocities on the degradation of volatile aromatic compounds in  
membrane bound biofilms.  
2nd International Conference on Biofilm Reactors, 30.09.1993

**M. Elger, H. Hentschel, W. Kummer, R.K.H. Kinne:**

Vasoactive intestinal peptide-like immunoreactivity (VIP) in the kidney of dogfish  
shark. 26th Annual Meeting of the American Society of Nephrology. Boston MA, USA  
14.11-17.11.1993

**H. Hentschel, M. Elger:**

Structural basis for recycling of urea by the kidney of marine elasmobranchs.  
International colloquium on: Mechanism and regulation of epithelial cell transports.  
Paris, Frankreich 12.10.-15.10.1993

**H. Hentschel, M. Elger, W. Kummer:**

Vasoactive intestinal peptide-like immunoreactivity (VIP) in the kidney of dogfish  
shark. 6th International Symposium on fish physiology, Kirkkonummi.  
Finland 01.09.-05.09.1993

**H. Hentschel, P. Schulte-Holthey:**

Fluid phase endocytosis of FITC-dextran in the proximal tubule of the elasmobranch,  
Scyliorhinus caniculus. Joint Meeting of the Deutsche Gesellschaft für Zellbiologie  
and the Dutch Society for Cell Biology. Münster, 28.03.-01.04.1993

**H. Hentschel, K. Zierold:**

Elementkonzentrationen in sezernierenden Nierenzellen von *Scyliorhinus caniculus*.  
86. Jahresversammlung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft. Salzburg,  
Österreich, 31.05.-05.06.1993

**F. Scheibe, H. Haupt, C. Ludwig, H. Baumgärtl:**

Impairment of nuclear oxygenation and function following local experimental  
thrombosis.  
30th Inner Ear Biology Workshop, 29.08.- 01.09.1993

**R. Wiesmann, H. Baumgärtl, R. Buchholz:**

Immobilisierung in der Biotechnologie-Problematik des Stofftransports und der  
Sauerstoffversorgung.  
11. Jahrestagung der Biotechnologie, Nürnberg, 24.05.-28.05.1993

Emeritusarbeitsgruppen**G.A. Holst, D.W. Lübbers, E. Voges:**

O<sub>2</sub>-flux-optodes for medical applications.

SPIES'S Int. Symp.: Biomedical Optics, Los Angeles (USA), 16.-22.01.1993

**D.W. Lübbers:**

Microcirculation and O<sub>2</sub> exchange through the skin surface. A theoretical Analysis.

21st Conference on 'Oxygen Transport to Tissue', San Diego (USA), 14.-18.08.1993

**D.W. Lübbers, G.A. Holst:**

Die Größe der Sauerstoffaufnahme durch die Haut als Indikator der lokalen Mikrozirkulation und ihre Messung durch einen neuen Sensor, den O<sub>2</sub>-Fluxsensor.

- 12. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Mikrozirkulation und Hämorheologie e.V.
- 17. Jahrestagung der Gesellschaft für Mikrozirkulation e.V., Göttingen, 11.-13.11.1993

Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen**H. Acker:**

- Joint Meeting of the German and Dutch Societies for cell biology.  
(Vorträge 229, 230), 28.03.-01.04.1993
- Physiologentagung München.  
(Vorträge 224, 225, 226, 227), 09.03.-12.03.1993
- AEK Symposium der Deutschen Krebsgesellschaft.  
(Vortrag 228), 24.03.-26.03.1993
- Membranforum Frankfurt.  
(Vortrag 231), 05.04.-07.04.1993
- 26. Atmungsphysiologische Tagung Hannover.  
Bedeutung des Zytochrom b<sub>558</sub> für verschiedene Zellaktivitäten (H. Acker).  
29.01.-30.01.1993
- Deutsche Dermatologie Tagung Düsseldorf.

**H. Acker, A. Görlach, W. Yelkman, W. Kummer:**

Cytochrome b<sub>558</sub> as a cellular oxygen sensor.

International Society for arterial chemoreception, 11. Meeting, Dublin.,  
09.-13.08.1993

**M.A. Delpiano, A. Cavalité:**

Evidence for low voltage-activated calcium channels on endothelial cells from rat brain capillaries.

16. Annual Meeting of the European Neuroscience Association, Madrid, Spain,  
18.09.-21.09.1993

**M.A. Delpiano:**

Electrophysiological aspects of hypoxia on O<sub>2</sub>-chemoreception.

36. Annual Meeting of the Biological Society of Chile, Puyehue, Chile,  
24.11.-27.11.1993

**A. Görlach, P.J. Frosch, M Hündgen, H. Acker:**

Vergleich der Effekte von Interferon  $\beta$  und  $\gamma$  auf humane Melanomzelllinien in Mono-layer und Spheroidkultur.

Dermatologenkongress, Düsseldorf, 15.07.-17.07.1993

**S.C. Müller:**

- Zs. Nagy-Ungvarai "Kinetic approach to the characterization of pattern formation in excitable systems"  
Technische Universität Prag, 22.07.1993
- Zs. Nagy-Ungvarai "Dynamics of spiral waves in the BZ-reaction"  
Technische Universität Prag, 27.07.1993
- K. Matthiessen "Hydrodynamic Flow Generated by Chemical Wave Propagation"  
13th Europhysics Conference, Regensburg 01.04.1993
- O. Steinbock "Chemotaxis and three-dimensional waves of excitation in migrating slugs of Dictyostelium discoideum"  
Tagung "Molecular Biotechnology 1993", Straßburg, März 1993

**3. 1993 erschienene oder im Druck befindliche Originalarbeiten in referierten Zeitschriften (ohne Abstracts)**

Abteilung I: Strukturelle Biologie, Prof. Dr. A. Wittinghofer

**J. Becker, E.A. Craig:**

Heatshock proteins as molecular chaperones.

Eur. J. Biochem. (im Druck)

**G.D. Borasio, A. Markus, A. Wittinghofer, Y.-A. Barde, R. Heumann:**

Involvement of ras p21 in neutrophin-induced response of sensory, but not sympathetic neurons.

J. Cell. Biol. **121**:665-672 (1993)

**F.R. Bischoff, C. Klebe, J. Kretschmer, A. Wittinghofer, H. Ponstingl:**

Ran GAP1 induces GTPase activity of nuclear ras-related Ran.

PNAS (im Druck)

**S.M. Franken, A.J. Scheidig, U. Krengel, H. Rensland, A. Lautwein, M. Geyer, K. Scheffzek, R.S. Goody, H.R. Kalbitzer, E.F. Pai, A. Wittinghofer:**

Three-dimensional structures and properties of a transforming and a nontransforming glycine-12 mutant of p21<sup>H</sup>-ras.

Biochemistry **32**:8411-8420 (1993)

**M. Frech, T.A. Darden, L.G. Pedersen, C.K. Foley, P.S. Charifson, M.W. Anderson, A. Wittinghofer:**

The role of Gln-61 in the hydrolysis of GTP by p21<sup>H</sup>-ras. An experimental and theoretical study.

Biochemistry (im Druck)

**T. Gedde-Dahl III, A. Spurkland, A. Wittinghofer, E. Thorsby, G. Gaudernack:**

Promiscuous T cell epitope encompassing the mutational hot spot position 61 of p21<sup>ras</sup>.

Eur. J. Immun. (im Druck)

**E. Gulbins, K.M. Coggeshall, G. Baier, C. Langlet, G. Baier-Bitterlich, B. Bonefoy Bèrard, P. Burn, A. Wittinghofer, S. Katzav, A. Altman:**

Activation of ras in vitro and in intact fibroblasts by the Vav guanine nucleotide exchange protein.

Mol. Cell. Biol. (im Druck)

**Ch. Hermann, J. Sleep, P. Chaussepied, F. Travers, T. Barman:**

A structural and kinetic study on Myofibrils prevented from shortening by chemical Cross-Linking.

Biochemistry 32:7255 (1993)

**C. Klebe, T. Nishimoto, F. Wittinghofer:**

Functional expression in *Escherichia coli* of the mitotic regulator proteins p24<sup>ran</sup> and p45<sup>rcc1</sup> and fluorescence measurements of their interaction.

Biochemistry 32:11923-11928 (1993)

**E. Ligeti, V. Pizon, A. Wittinghofer, P. Gierschik, K.H. Jakobs:**

GTPase activity of small GTP-binding proteins in HL-60 membranes is stimulated by arachidonic acid.

Eur. J. Biochem. 216:813-820 (1993)

**N. Opitz, E. Merten, H. Acker:**

A dynamic calibration method for fast multipoint-calibration of intracellularly entrapped ionsensitive fluoroprobes.

Biomed. Technik 38, 309-310 (1993)

**N. Opitz, E. Merten, H. Acker:**

Evidence for redistribution associated intracellular pK-shifts of the pH-sensitive fluoroprobe carboxy-SNARF-1.

Pflügers Arch. (eingereicht 1993)

**B. Rubinfeld, B. Souza, I. Albert, O. Müller, S.H. Chamberlain, F.R. Masiarz, S. Munemitsu, P. Polakis:**

Association of the APC gene product with  $\beta$ -Catenin.

Science 262:1731-1734 (1993)

**A.J. Scheidig, A. Sanchez-Llorente, A. Lautwein, E.F. Pai, J.E.T. Corrie, G.P. Reid, A. Wittinghofer, R.S. Goody:**

Crystallographic studies on p21<sup>H-ras</sup> using the synchrotron Laue method: Improvement of crystal quality and monitoring of the GRPase reaction at different time points.

Acta Cryst (im Druck)

**P.F.W. Stouten, C. Sander, A. Wittinghofer, A. Valencia:**

How does the switch II region of G-domains work?

FEBS Lett. **320**:1-6 (1993)

**L. Wiesmüller, Wittinghofer F.:**

Signal transduction pathways involving ras.

Cellular Signalling (im Druck)

**A. Wittinghofer:**

From EF-Tu to p21<sup>ras</sup> and backwards.

Current Biology 3/12 (1993)

Abteilung II: Epithelphysiologie, Prof. Dr. Kinne**H.G. Bauernschmitt, R.K.H. Kinne:**

- Metabolism of the 'organic osmolyte' glycerophosphorylcholine in isolated rat inner medullary collecting duct cells. I. Pathways for synthesis and degradation.  
Biochim. Biophys. Acta **1148**:331-341 (1993)
- Metabolism of the 'organic osmolyte' glycerophosphorylcholine in isolated rat inner medullary collecting duct cells. II. Regulation by extracellular osmolality.  
Biochim. Biophys. Acta **1150**:25-34 (1993)

**B. Bechinger, M. Zasloff, S. J. Opella:**

Structure and orientation of the antibiotic peptide magainin in membranes by solid-state NMR spectroscopy.

Proteins: Structure, Function and Genetics, 1993 (im Druck)

**J. Bertran, A. Werner, J. Chillaron, V. Nunes et al:**

Expression cloning of a human renal cDNA that induces high affinity transport of L-cystine shared with dibasic amino acids in *Xenopus oocytes*.

J. Biol. Chem. **268**:14842-14849 (1993)

**K.W. Beyenbach, C.A. Freire, R.K.H. Kinne, E. Kinne-Saffran:**

Epithelial transport of magnesium in the kidney of fish.

Miner. Electrolyte Metab. **19**:241-249 (1993)

**J. Biber, G. Caderas, G. Stange, A. Werner, H. Murer.**

Dietary adaptation of rabbit renal cortex Na/P<sub>i</sub>-cotransport: Molecular quantification.

Pediatric Nephrology. (eingereicht)

**J. Biber, M. Custer, A. Werner, B. Kaissling, H. Murer:**

Localization of NaP<sub>i</sub>-1, a putative Na/P<sub>i</sub>-cotransporter, in rabbit kidney proximal tubules. Part II: Localization by immunohistochemistry.

Pflügers Arch. **424**:210-215 (1993)

**J. Biber, A. Werner, H. Murer:**

Cloning and characterization of renal proximal tubular sodium-dependent phosphate transporters.

M. J. Lentze (Bonn - Buch)

**J. Copello, F. Wehner, L. Reuss:**

Artificial expression of maxi-K<sup>+</sup> channels in basolateral membrane of gallbladder epithelial cells.

Am. J. Physiol. **264**:C1128-C1136 (1993)

**J.M. Grunewald, R.W. Grunewald, R.K.H. Kinne:**

- Ion content and cell volume in isolated collecting duct cells: Effect of hypotonicity.

Kidney Int. **44**:509-517 (1993)

- Regulation of ion content and cell volume in isolated rat renal inner medullary collecting duct cells under hypertonic conditions.

Am. J. Physiol. (im Druck)

**R.W. Grunewald, I.I. Weber, E. Kinne-Saffran, R.K.H. Kinne:**

Control of sorbitol metabolism in renal inner medulla of diabetic rats: Regulation by substrate, cosubstrate and products of the aldose reductase reaction.

Biochim. Biophys. Acta **1225**:39-47 (1993)

**H. Hentschel, K. Zierold:**

Morphology and element distribution of magnesium-secreting epithelium: The proximal tubule segment PII of dogfish, *Scyliorhinus caniculus* (L.).

Eur. J. Cell Biol. (im Druck)

**S. Irrgang, H. Baumgärtl, D. Schlosser, W. Zimmelka, H.P. Schmauder:**

Investigations of the oxygen-supply in Ca-alginate beads and microcapsules loaded with penicillium-raistrickii using a microelectrode.

J. Basic Microbiology **33**:311-321 (1993)

**R.K.H. Kinne:**

The role of organic osmolytes in osmoregulation: From bacteria to mammals.

J. Exp. Zool. **264**:346-355 (1993)

**R.K.H. Kinne, R.-P. Czekay, J.M. Grunewald, F.C. Mooren, E. Kinne-Saffran:**

Hypotonicity-evoked release of organic osmolytes from distal renal cells: Systems, signals, and sidedness.

Renal Physiol. Biochem. **16**:66-78 (1993)

**E. Kinne-Saffran, M. Hülseweh, Ch. Pfaff, R.K.H. Kinne:**

Inhibition of Na,K-ATPase by cadmium: Different mechanisms in different species.  
Toxicol. Appl. Pharmacol. **121**:22-29 (1993)

**S. Magagnin, A. Werner, D. Markovich, V. Sorribas, J. Biber and H. Murer:**

Expression cloning of human and rat renal cortex Na/P<sub>i</sub>-cotransport.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **90**:5979-5983 (1993)

**D. Markovich, G. Stange, J. Bertran, M. Palacin, A. Werner, J. Biber and H. Murer:**

Two mRNA transcripts (rBAT-1 and rBAT-2) are involved in system b<sup>0,+</sup> related amino acid transport.  
J. Biol. Chem. **268**:1362-1367 (1993)

**D. Markovich, A. Werner, H. Murer:**

Expression cloning with *Xenopus* oocytes.  
Pflügers Arch. (im Druck)

**F.Ch. Mooren, R.K.H. Kinne:**

Intracellular calcium in primary cultures of rat renal inner medullary collecting duct (IMCD) cells during variations of extracellular osmolality.  
Pflügers Arch. (im Druck)

**W. Müller, A. Winnefeld, O. Kohls, T. Scheper:**

Real and pseudo oxygen gradients in Ca-alginate beads monitored during polarographic Po<sub>2</sub> -microelectrodes.  
Biotech. Bioeng. (im Druck)

**S.J. Opella, J. Gesell, B. Bechinger:**

NMR spectroscopy of amphipathic helical peptides in membrane environments.  
The Amphipathic Helix, Herausgeber: R. M. Epand, CRC Press (im Druck)

**S. Pfleiderer, L.B. Zimmerhackl, R. Kinne, F. Manz, G. Schuler, M. Brandis:**

Renal proximal and distal tubular function is attenuated in diabetes mellitus type 1 as determined by the renal excretion of  $\alpha$ 1-microglobulin and Tamm-Horsfall protein.  
Clin. Investig. **71**: 972-977 (1993)

**D. Scherer, F.C. Mooren, R.K.H. Kinne, J. Kreuter:**

In vitro permeability of PBCA nanoparticles through porcine small intestine.

J. Drug Targeting 1:21-27 (1993)

**S. Scippa, M. de Vincentiis, K. Zierold:**

Quantitative X-ray microanalysis of the morula cell of the blood of the ascidian *Halocynthia Papillosa* (Stolidobranchiata).

Cell Tiss. Res. 271, 77-80 (1993)

**V. Sorribas, A. Werner, D. Markovich, J. Biber, H. Murer:**

Expression of Na/Pi-cotransport from Opossum kidney cells in *Xenopus Laevis* oocytes.

Biochim. Biophys. Acta 1178:141-145 (1993)

**H. S. Tenenhouse, A. Werner, J. Biber, H. Murer et al:**

Renal Na<sup>+</sup>-Phosphate Cotransporter Immunoreactive protein and mRNA is reduced in X-linked Hyp mice.

J. Clin. Invest.

**F. Wehner:**

Taurocholate depolarizes rat hepatocytes in primary culture by increasing cell membrane Na<sup>+</sup> conductance.

Pflügers Arch. 424:145-151 (1993)

**F. Wehner, S. Rosin-Steiner, G. Beetz, H. Sauer:**

The anion-transport inhibitor DIDS increases rat hepatocyte K<sup>+</sup> conductance via uptake through the bilirubin pathway.

J. Physiol. (London) 471:617-635 (1993)

**Ch.-M. Wei, P.-C. Kao, I.-T. Lin, D.M. Heublein, H.V. Schaff, J.C. Bunnett:**

Circulating  $\beta$ -atrial natriuretic factor in congestive heart failure in humans.

Circulation 88:1016-1020 (1993)

**M. Weinlich, G. Capasso, R.K.H. Kinne:**

Intracellular pH in renal tubules in situ: single-cell measurements by confocal laserscan microscopy.

Pflügers Arch. 422:523-529 (1993)

**A. Werner, S. Kempson, J. Biber, H. Murer:**

Specific alteration of Na/P<sub>i</sub>-cotransport to low P<sub>i</sub>-diet.

J. Biol. Chem.

**A. Wessing, G. Bertram, K. Zierold:**

- Heterogeneous distribution of elemental contents in the larval Malpighian tubules of *Drosophila hydei*: X-ray microanalysis of freeze-dried cryosections.  
Cell. Tiss. Res. **272**, 491-497 (1993)

- Effects of bafilomycin A<sub>1</sub> and amiloride on the apical potassium and proton transport in *Drosophila* Malpighian tubules studied by X-ray microanalysis and microelectrode measurements.  
J. Comp. Physiol. B, **163** (1993) (im Druck)

**H.P. Wiesmann, U. Plate, H.J. Höhling, R.H. Barckhaus, K. Zierold:**

Analysis of early hard tissue formation in dentine by energy dispersive X-ray microanalysis and energy-filtering transmission electron microscopy.

Scanning Microscopy **7**, 711-718 (1993)

**K. Zierold:**

- The cryopuncher: a pneumatic cryofixation device for X-ray microanalysis of tissue specimens.  
J. Microscopy **171**, 267-272 (1993)

- Analytical electron microscopy in biology. Aspects of specimen preparation.  
Eur. J. Cell Biol. Suppl. **39**, Vol. 61, 22 (1993)

**K. Zierold, S.V. Burakov:**

X-ray elemental mapping of freeze-dried cryosections from biological cells.

Mikrochimica Acta (im Druck)

**K. Zierold, A. Wessing:**

Potassium transport in Malpighian tubules of *Drosophila* larva studied by X-ray microanalysis.

Eur. J. Cell Biol. Suppl. **37**, Vol. 60, 27 (1993)

Abteilung III: Physikalische Biochemie, Prof. Dr. R. Goody

**M. Brischwein, B. Scharf, M. Engelhard, W. Mäntele:**

Analysis of the redox reaction of an archaeobacterial copper protein, halocyanin, by electrochemistry and FTIR difference spectroscopy.

Biochemistry, **32**: 13710-13717, 1993

**K. Fahmy, O. Weidlich, M. Engelhard, H. Sigrist, F. Siebert:**

Aspartic acid-212 of bacteriorhodopsin ionized in the M and N photocycle intermediates: An FTIR study on specifically  $^{13}\text{C}$ -labeled reconstituted purple membranes.

Biochemistry, **32**: 5862-5869, 1993

**B. Scharf, M. Engelhard:**

Halocyanin, an archaeobacterial blue copper protein (type I) from *Natronobacterium pharaonis*.

Biochemistry, **32**: 12894-12900, 1993

Zentrale Einrichtungen**O. Debus, H. Baumgärtl, I. Sekoulov:**

Untersuchung von Transportprozessen im membrangebundenen Biofilmen zum Abbau flüchtiger Aromaten.

Gwf-Wasser-Abwasser **134**:342-350 (1993)

**A. Görlach, P. Herter, H. Hentschel, H. Acker:**

Effects of rIFN $\beta$  and rIFN $\gamma$  on growth and morphology of two human melanoma cell lines: Comparison between two- and threedimensional culture.

Cancer Res. (im Druck)

**H. Hentschel, S. Mähler, P. Herter, M. Elger:**

The renal tubule of dogfish, *Scyliorhinus caniculus*; a comprehensive study of structure with emphasis on intramembranous particles and immunoreactivity for H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase.

Anat. Rec. **235**:511-532 (1993)

**H. Hentschel, P. Walther P:**

Heterogenous distribution of glycoconjugates in the kidney of dogfish *Scyliorhinus caniculus* (L.), with reference to changes in the glycosylation pattern during ontogenetic development of the nephron.

Anat. Rec. **235**:21-32 (1993)

**H. Hentschel, K. Zierold:**

Morphology and element distribution of magnesium-secreting epithelium: the proximal tubule segment PII of dogfish, *Scyliorhinus caniculus* (L.).

Eur. J. Cell. Biol. (im Druck)

**P. Herter, G. Laube, J. Gronczewski, W.W. Minuth:**

Silver enhanced colloidal-gold labelling of rabbit kidney collecting duct cell surfaces imaged by scanning electron microscopy.

J. Microsc., Vol. **171**, Pt 2, pp. 107-115 (1993)

**W.W. Minuth, W. Fietzek, S. Kloth, J. Aigner, P. Herter, W. Röckl, M. Kubitza, G. Stöckl, R. Dermitzel:**

Aldosterone modulates DNA binding cell isoforms within renal collecting duct epithelium.

Kidney Int., Vol. **44**, pp. 537-544 (1993)

**R. Wiesmann, H. Baumgärtl. R. Buchholz:**

Messung von Sauerstoffpartialdrücken in Polymerkugeln zur Immobilisierung von Mikroorganismen.

Chem. Ing. Techn. (im Druck)

**R. Wiesmann, W. Zimmelka, H. Baumgärtl:**

Investigation of oxygentransfer through the membrane of polymer hollomspheres by oxygen microelectrodes.

J. Biotechnol.

#### Emeritusarbeitsgruppen

**B. Hess:**

- Self-Organization in Living Cells.  
Science (im Druck)
- Molekulare und zelluläre Netzwerke.  
Naturwissenschaftliche Rundschau (im Druck)
- Selforganization in Living Systems.  
Bericht der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie (im Druck)

**D.W. Lübbers:**

Chemical in vivo monitoring by optical sensors in medicine.

Sensors and Actuators B **11**:253-262 (1993)

Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen**A.K. Dutt, S.C. Müller:**

The effect of stirring and temperature on the Belousov-Zhabotinsky Reaction in a CSTR.

J. Phys. Chem. **97**, 10059-10063 (1993)

**A. Görlach, G. Holtermann, W. Jelkmann, J.T. Hancock, S.A. Jones, O.T.G., Jones, H. Acker:**

Photometric characteristics of haem proteins in erythropoietin-producing hepatoma cells (HepG2).

Biochem. J. **290**:771-776 (1993)

**A. Görlach, P. Herter, H. Hentschel, P.J. Frosch, H. Acker:**

Effects  $nJFN \beta$  and  $rJFN \gamma$  on growth and morphology of two human melanoma cell lines: comparison between two- and threedimensional culture.

Int. J. Cancer **56**:1-6 (1993)

**G.T. Guria, A.B. Kiyatkin, S.C. Müller:**

Splitting of autowaves in the Belousov-Zhabotinsky Reaction.

Biofizika **38**, 463-467 (1993) (in Russian)

**H. Miike, S.C. Müller:**

Turbulence in chemical waves induced by oscillatory.

Hydrodynamic Flow

Chaos **3**, 21-25 (1993)

**H. Miike, H. Yamamoto, S. Kai, S.C. Müller:**

Accelerating chemical waves accompanied by traveling hydrodynamic motion and surface deformation.

Phys. Rev. E **48** (3), 1627-1630 (1993)

**Zs. Nagy-Ungvarai, J. Ungvarai, S.C. Müller:**

Complexity in spiral wave dynamics.

Chaos **3**, 15-19 (1993)

**B. Neumann, Zs. Nagy-Ungvarai, S.C. Müller:**

Characterization of silica gel matrices for the Belousov-Zhabotinsky Reaction.  
Chem. Phys. Lett. **211**, 36-40 (1993)

**H. Prinz, J. Striessnig:**

Ligand-induced accelerated dissociation of (+)-*cis-diltiazem* from L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels is simply explained by competition for individual attachment points.  
J. Biol. Chem. **268**, 18580-18585 (1993)

**O. Steinbock, S.C. Müller:**

- Light-controlled anchoring of meandering spiral waves.  
Phys. Rev. E **47**, 1506-1509 (1993)
- Multi-armed spirals in a light-controlled excitable reaction.  
Intern. J. of Bifurcation and Chaos, **3**, 437-443 (1993)

**O. Steinbock, F. Siegert, S.C. Müller, C.J. Weijer:**

Three-dimensional waves of excitation during dictyostelium morphogenesis.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **90**, 7332-7335 (1993)

**O. Steinbock, V.S. Zykov, S.C. Müller:**

- Control of spiral waves in active media by periodic modulation of excitability.  
Nature **366**, 322-324 (1993)
- Wave propagation in an excitable medium along a line of a velocity jump.  
Phys. Rev. E **48** (5), Nov. 1993

#### 4. Andere Veröffentlichungen

Abteilung I: Strukturelle Biologie, Prof. Dr. A. Wittinghofer

**C.K. Foley, L.G. Pedersen, T.A. Darden, P.S. Charifson, A. Wittinghofer, M.W. Anderson:**

Molecular dynamics studies of H-ras p21-GTP. In: "GTPases in Biology I", Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 108/I, B.F. Dickey, L. Birnbauer (eds.), Ch. 16, pp. 235-245 (1993)

**A. Wittinghofer:**

Three-dimensional structure of p21 and its implications. In: The ras Superfamily of GTPases. J.C. Lacal, D. McCormick (eds.), CRC Press Inc., Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo, pp. 37-63 (1993)

**A. Wittinghofer, S.M. Franken, A.J. Scheidig, H. Rensland, A. Lautwein, E.F. Pai, R.S. Goody:**

Three-dimensional structure and properties of wild-type and mutant H-ras-encoded p21. In: The GTPase Superfamily. Ciba Foundation Symposium, Vol. 176, J. Wiley & sons (eds.), pp. 6-27 (1993)

**A. Wittinghofer, E.F. Pai, R.S. Goody:**

Structural and mechanistic aspects of the GTPase reaction of H-ras p21. In: "GTPases in Biology I", Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 108/I, B.F. Dickey, L. Birnbauer (eds.), Ch. 14, pp. 195-212 (1993)

Abteilung II: Epithelphysiologie, Prof. Dr. R.K.H. Kinne

**R.K.H. Kinne, E. Kinne-Saffran:**

Cellular and subcellular toxicity of pollutants: Plasma membrane transport systems as targets. In: Aquaculture: Fundamental and Applied Research. B. Lahlou, P. Vitiello (eds.), pp. 287-300. American Geophysical Union, Washington, 1993

**R.K.H. Kinne, L. Hocking:**

The Mount Desert Island Biological Laboratory (MDIBL): A short history and background.

Helgoländer Meeresuntersuchungen (im Druck)

**E. Kinne-Saffran, R.K.H. Kinne:**

- Jacob Henle: The kidney and beyond. In: Proc. Conference History of Nephrology (im Druck)
- The contribution of marine biology to biomedical research: Past, present, future.  
Helgoländer Meeresuntersuchungen (im Druck)
- Effect of mercury chloride on the Na-K-Cl cotransporter in the rectal gland of *Squalus acanthias*: Studies with isolated plasma membrane vesicles.  
MDIBL Bull. Vol. 33

**R.K.H. Kinne, A. Kleinzeller:**

The epithelial membrane. In: Comprehensive Biochemistry. Elsevier, North Holland (im Druck)

**H. Kipp, E. Kinne-Saffran, R.K.H. Kinne:**

Alkyl glycosides as inhibitors for the renal sodium-D-glucose cotransport system in the little skate (*Raja erinacea*).

MDIBL Bull. Vol. 33

**M. Weinlich, G. Capasso, R.K.H. Kinne:**

Confocal microscopy. In: Membrane Transport in Biology, Vol. 6. J. Schafer, H. Ussing, P. Kristensen, G. Giebisch (eds.), Springer, Berlin/Heidelberg/New York (im Druck)

Abteilung III: Physikalische Biologie, Prof. Dr. R. Goody

**L. Bellon, J.-L. Barascut, G. Maury, G. Divita, R. Goody:**

4'-Thio-oligo- $\beta$ -D-ribonucleotides: synthesis of  $\beta$ -4'-thio-oligouridylates, nuclease resistance, base-pairing properties, and interaction with HIV-1 reverse transcriptase. *Nucleic Acids Research* 7, 1587-1593, 1993

**G. Divita, T. Restle, R. Goody:**

Characterization of the dimerization process of HIV-1 reverse transcriptase heterodimer using intrinsic protein fluorescence. *FEBS Letters* 324, 153-158, 1993

**G. Divita, B. Müller, U. Immendörfer, M. Gautel, K. Rittinger, T. Restle, R. Goody:**

Kinetics of interaction of HIV reverse transcriptase with primer/template. *Biochemistry* 32, 7966-7971, 1993

**G. Divita, R. Goody, D.C. Gautheron, A. Di Pietro:**

Structural mapping of catalytic site with respect to  $\alpha$ -subunit and noncatalytic site in yeast mitochondrial  $F_1$ -ATPase using fluorescence resonance energy transfer. *J. Biol. Chem.* 25, 13178-13186, 1993

**P. Falson, F. Penin, G. Divita, J.-P. Lavergne, A. Di Pietro, R. Goody, D-C. Gautheron:**

Functional nucleotide-binding domain in the  $F_0F_1$ -ATP synthase  $\alpha$  subunit from the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochemistry*. 32, 10387-10397, 1993

**S. Franken, A.J. Scheidig, U. Krenzel, H. Rensland, A. Lautwein, M. Geyer, K. Scheffzek, R. Goody, H.-R. Kalbitzer, E.F. Pai, A. Wittinghofer:**

Three-dimensional structures and properties of a transforming and non-transforming Glu-12 mutant of p21<sup>H-ras</sup>. *Biochemistry* 32, 8411-8420, 1993

**S. Khan, F. Castellano, J.L. Spudich, J.A. McCray, R. Goody, G.P. Reid, D.R. Trentham:**

Excitatory signaling in bacteria probed by caged chemoeffectors. *Biophysical Journal* 65, 1-15, 1993

**G. Maury, G. Divita, F. Morvan, J.-L. Imbach, R. Goody:**

Rapid determination of the affinity of 28-mer and 14-mer phosphorothioate oligonucleotides for HIV-1 reverse transcriptase by fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1216, 1-8, 1993

**J. John, H. Rensland, I. Schlichting, I. Vetter, G. Borasio, R. Goody, A. Wittinghofer:**

Kinetic and structural analysis of the  $Mg^{2+}$ -binding site of the guanine nucleotide-binding protein p21<sup>H-ras</sup>.

*J. Biol. Chem.* 268, 923-929, 1993

**A. Wittinghofer, S.M. Franken, A.J. Scheidig, H. Rensland, A. Lautwein, E.F. Pai, R. Goody:**

Three-dimensional structure and properties of wild-type and mutant H-ras-encoded p21.

The GTPase superfamily, Eds. J.M. Marsh and J. Goode, John Wiley and Sons, pp. 6-27, 1993

**A. Wittinghofer, E.F. Pai, R. Goody:**

Structural and mechanistic aspects of the GTPase reaction of H-ras p21, *Handbook of Experimental Pharmacology* (eds. B.F. Dickey, L. Birnbaum) Volume: "GTPases in Biology", Vol. 08/I, pp. 196-211, 1993, pringer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo

Zentrale Einrichtungen**O. Debus, H. Baumgärtl, I. Sekoulov:**

Influence of fluid velocities on the degradation of volatile aromatic compounds in membrane bound biofilms.

Biofilm Reactors (IAWQ), pp. 343-352, 1993

**G. Özoguz, N. Rübiger, H. Baumgärtl:**

Membraneinsatz zur Erhöhung der Nitrifikationsleistung durch getrennte Substratversorgung.

Bioforum GIT (im Druck)

Emeritusarbeitsgruppen**B. Hess:**

- Entropie und Komplexität molekularer und zellulärer Reaktionssätze in: Entropie und Pathogenese. Interdisziplinäres Kolloquium der Heidelberger Akademie der Wissenschaften.  
V. Becker und H. Schipperges (eds.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 103-109, 1993  
Memoriam Carl Martius 1906-1993.  
Biol. Chem. Hoppe-Seyler 374:4, 1993
- Patenting of Human Genes and Living Organisms. Schlußreferat.  
Heidelberger Akademie der Wissenschaften (im Druck)
- Medizinische Grundlagenforschung im Wandel der Zeiten. Erinnerungen aus fünf Dekaden.  
In: Emeriti erinnern sich. Band I: Die medizinischen Fakultäten, Otto Marx und Annett Moses (eds.) VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim 1993
- Biochemie einst und jetzt.  
In: Emeriti erinnern sich. Band II (im Druck)

**G.A. Holst, D.W. Lübbers, E. Voges:**

O<sub>2</sub>-flux-optode for medical application. In: Advances in Fluorescence Sensing Technology. J.R. Lakowicz, R.B. Thompson (eds.), Proc. SPIE Vol. 1885, pp. 216-227 (1993)

**D.W. Lübbers:**

Oxygen in tissue microenvironments. In: Chemical Sensors for in vivo Monitoring. Newsletter No. 13. S. Alcock (ed.), Cranfield University (U.K.) 1993

Z. Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen**K. Agladze, O. Steinbock, A. Warda, S.C. Müller:**

Birth and death of spiral waves.

Santa Fe Institute Series (im Druck)

**A. Boiteux:**

Glycolysis - From enzymatic control elements to mathematical models,

In: H. Greppin, 'B. Bonzon, R. Degu Agosti, eds, Some physicochemical and mathematical tools for understanding of living systems,

University of Geneva, Switzerland, 1993, pp. 141-168

**I. Chizkov, M. Engelhard, K.-H. Müller, B. Hess:**

Multieponential analysis of transient absorption states of the bR Photocycle.

In "Dynamics and Function of Biomelecules", International Symposium of Biological Physics 30.07.-02.08.199, Zeged, Hungary

**M.A. Delpiano, P.G. Data, H. Acker, S. Lahiri et al:**

Evidence for glucose uptake in the rabbit carotid body.

Neurobiology and Cell Physiology of Chemoreception, Plenum Press, New York, 1993, pp. 111-116

**M.A. Delpiano, R.G. O'Regan, D.S. McQueen, D.J. Paterson et al:**

Ionic currents on endothelial cells of rat brain capillaries.

Chemoreceptors and Chemoreceptors Reflexes in Health and Desease, Plenum Press, New York, 1993 (im Druck)

**M. Markus, H. Schepers:**

Turing structures in a semi-random cellular automation.

Mathematics Applied to Biology and Medicine (J. Demongeot und V. Capasso, Hrsg.), Wuerz Publ. Co., Winnipeg, Canada (im Druck)

**M. Markus, M. Krafczyk:**

Visualization of scroll waves.

Scientific Visualization: Applications and Techniques (C.A. Pickover und S.K. Tewksbury, Hrsg.), J. Wiley, N.Y. (1993)

**M. Markus, M. Stolyarov und E.I. Volkov:**

An efficient shortcut to compute large populations of coupled oscillators.

Mathematical Population Dynamics (O. Arino, D.E. Axelrod und M. Kimmel, Hrsg.)

Wuerz Publ. Col, Winnipeg, Canada (im Druck)

**M. Markus:**

Postmoderne und Naturwissenschaften.

Quanten, Chaos und Dämonen (W. Schirmacher und K. Mainzer, Hrsg.),

B-I-Taschenbuchverlag, Mannheim (im Druck)

**M. Markus:**

Ästhetik aus mathematischen Formeln, Katalog einer Ausstellung.

(Wiemer & Trachte, Dortmund) (im Druck)

**S.C. Müller:**

- Spiraldynamik in Erregungswellen.

Futura 1/93, 18-24 (1993)

- Rotating cell motion and wave propagation during the developmental cycle of Dictyostelium.

Konferenzband ECAL '93, Brüssel "Selforganization and Life", 1001-1007  
(1993)

**V.S. Zykov, S.C. Müller:**

- Kinematical model for spiral waves in bounded excitable media.

In: Proceedings of the 1st Copenhagen Symposium on Computer Simulation in  
Biology, Ecology and Medicine

(Ed. E. Mosekilde), pp. 86-90, SCSl, Ghent (1993)

- Boundary layer kinematical model of autowave patterns in a two component  
reaction-diffusion system

Konferenzband ECAL '93 "Selforganization and Life", Brüssel, 1170 (1993)

**Th. Plessner, W. Kramarczyk, S.C. Müller:**

Visualization of Chemical Gradients in Reaction Patterns

In: Frontiers of Computing Systems Research, Vol. 3, Scientific Visualization

(Pickover, C.A., Tewksburg, S.K., eds.), New York: John Wiley (1993)

**K.H. Müller, Th. Plesser:**

Pairs of Spiral Waves in the Belousov-Zhabotinski Reaction Correlation of their Motion and Dynamics in the Vicinity of the Rotation Centres  
in: Mathematics Applied to Biology and Medicine (J. Demongeot and V. Capasso, eds.), Series Mathematical Biology, Wuerz, Winnipeg (1993)

## 5. Abstracts

Abteilung I: Strukturelle Biologie, Prof. Dr. A. Wittinghofer

**N. Opitz, E. Merten, B. Bölling, G. Holtermann, H. Acker:**

Comparison of the pH-probes BCECF and C-SNARF-1 in view of intracellular pH-imaging: a critical assessment.

Pflügers Arch. (Suppl. 1) 422, R 92 (1993)

Abteilung II: Epithelphysiologie, Prof. Dr. R. K. H. Kinne

**G. Bauernschmitt, C. Bevan, R.K.H. Kinne:**

Characteristics of L-alanine transport into rat inner medullary collecting duct cells.

Biol. Chem. Hoppe-Seyler 374, 155 (1993)

**B. Bechinger, J. Gesell, M. Zasloff, S.J. Opella:**

Multidimensional solution NMR studies of magainin antibiotic peptides.

J. Cell. Biochem. 17C:206 (1993)

**B. Bechinger, M. Zasloff, S.J. Opella:**

Multidimensional high-resolution and solid-state NMR-spectroscopy of antibiotic peptides in membranes.

Med. Microbiol. Immunol. 182:178 (1993)

**E. Kinne-Saffran, S. French, A. Nies, R.K.H. Kinne:**

Effect of cadmium on alkaline phosphatase activity in renal brush border membranes isolated from *Squalus acanthias*.

Bull. MDIBL 32:103-105 (1993)

**H. Tinel:**

Role of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ -stores in the regulatory volume decrease of rat inner medullary collecting duct (IMCD) cells in primary culture.

Kongreß "Cell Calcium" in Amsterdam

**C.T. Lin, M. Thompson, T. Dousa:**

A bifunctional inhibitor of the Na<sup>+</sup>/Pi cotransporter in renal brush border membrane (BBM).

Experimental Biology 93, New Orleans, Louisiana, USA

**A. Nies, E. Kinne-Saffran, R.K.H. Kinne, M.K. Grieshaber:**

Driving forces for urate uptake into hepatopancreatic basolateral membrane vesicles from the American lobster (*Homarus americanus*).

Bull. MDIBL 32:56-58 (1993)

**D. Sauer, R.K.H. Kinne, F. Wehner:**

Electrical properties of IMCD-cells during hypotonic shock.

Biological Chemistry, Hoppe-Seyler 374:A 47 (1993)

**F. Wehner, S. Rosin-Steiner, G. Beetz, H. Sauer:**

Increase of rat hepatocyte K<sup>+</sup> conductance by 4,4' diisothiocyanato stilbene-2,2'-disulfonic acid (DIDS) taken up via the bilirubin/BSP pathway.

Abstractbook, XXXII Congress of the International Union of Physiological Sciences. Glasgow, p. 81, 1993

**M. Weinlich, U. Heydasch, M. Starlinger, H.D. Becker, R.K.H. Kinne:**

Confocal laser microscopy reveals simultaneous volume and intracellular pH regulation in isolated rat duodenocytes.

II United European Gastroenterology Week, Barcelona/Spain, 19.-24.07.1993

Abteilung III: Physikalische Biochemie, Prof. Dr. R. Goody**D. Ehrenstein, M. Engelhard, M. Filiaci, G.U. Frauenfelder, U. Nienhaus, B. Scharf:**

Conformational substrates in blue copper proteins.

Biophys.J. 64: A277

**I. Sagi, D.E. Sidelinger, M.R. Chance, M.D. Wirt, M. Engelhard:**

Halocyanin: A cupredoxin from archaebacteria.

Biophys.J. 64: A105

## Zentrale Einrichtungen

### **M. Elger, H. Hentschel:**

Microdissection of renal tissue and isolated tubules in kidney of *Squalus acanthias*, with emphasis on tissue zonation and renal tubular segmentation.

Bull. MDIBL **32**:23-27 (1993)

### **M. Elger, W. Kummer, R.H.K. Kinne:**

Vasoactive intestinal peptide-like immunoreactivity (VIP) in the kidney of dogfish shark.

JASN **4**:438 (1993)

### **H. Hentschel:**

Helix pomatia agglutinin is a marker for the end portion of the proximal tubule in the kidney of *Squalus acanthias*.

Bull. MDIBL **32**:120-124 (1993)

### **H. Hentschel, P. Herter, R.K.H. Kinne:**

- Ultrastructural and immunocytochemical study of gastric H-K-ATPase-like binding sites in kidney of dogfish shark.

JASN **4**:840 (1993)

- Further studies on H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase immunoreactivity in renal tubules of spiny dogfish (*Squalus acanthias*).

Bull. MDIBL **33** (im Druck)

### **H. Hentschel, P. Herter, F. Pietruschka, M. Elger:**

Immunohistochemical evidence for H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in the kidney of *Squalus acanthias*.

Bull. MDIBL **32**:125-127 (1993)

### **H. Hentschel, P. Schulte-Holthey:**

Fluid phase endocytosis of FITC-dextran in the proximal tubule of elasmobranch, *Scyliorhinus caniculus*.

Eur. J. Cell Biol. **60**:150 (1993)

**H. Hentschel, K. Zierold:**

Elementkonzentrationen in sezernierenden Nierenzellen von *Scylliorhinus caniculus* (L.).

Verh. Dtsch. Zool. Ges. **86.1**:161 (1993)

Emeritusarbeitsgruppen**B. Hess:**

- Dynamische Spiralen in der Chemie und Biologie.  
Universität Bielefeld (1993)
- Aus der Welt dynamischer Spiralen in der Chemie und Biologie.  
GDCh, Hamburg (1993)
- Multiexponential Analysis of Transit Absorption States of the bR-photocycle.  
Szeged (1993)

**G.A. Holst, D.W. Lübbers, E. Voges:**

O<sub>2</sub>-flux-optode for medical application.

SPIE International Symposium Biomedical Optics, Los Angeles (1993)

**D.W. Lübbers, G.A. Holst:**

The oxygen uptake through the skin as an indicator of the local microcirculation and its measurements by a new sensor, the O<sub>2</sub>-flux-optode.

Intern. J. Microcirc. Clin. Exp. (in press)

Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen**M.A. Delpiano, A. Cavalié:**

Evidence for low voltage-gated calcium channels on endothelial cells from rat brain capillaries.

Eur. J. Neurosci. **6**:949 (1993)

**M.A. Delpiano:**

Electrophysiological aspects of hypoxia on O<sub>2</sub>-chemoreception.

Noticiero de Biologia **1**:44 (1993)

**A. Görlach, B. Bölling, G. Holtermann, J.T. Hancock, S.A. Jones, O.T.G. Jones, H. Acker:**

Characterization of a B type cytochrome in erythropoietin producing human hepatoma cells.

Pflügers Arch. **422**:R129 (1993)

**A. Görlach, H. Hentschel, M. Hündgen, P.J. Frosch, H. Acker:**

Interferon effects on human melanoma cell lines grown in monolayer and spheroid culture.

J. Cancer Res. Clin. Oncol. **119**:S 76 (1993)

**A. Görlach, H. Hentschel, M. Hündgen, P.J. Frosch, H. Acker:**

Comparison of the effects of nInterferon  $\beta$  and rInterferon  $\gamma$  on human melanoma tumor cells grown in monolayer culture and as threedimensional multicellular spheroids.

Eur. J. Cell Biol. **60**:S 20 (1993)

**W. Kummer, J.-O. Habeck, D. Koesling, M. Quinn, H. Acker:**

Immunohistochemical analysis of components of the oxygen sensing cascade in the human carotid body.

Pflügers Arch. **422**:R129 (1993)

**M. Markus:**

Turbulenz leicht zu sehen und zu reproduzieren in Petrischälchen.

3. Jahrestagung "Chaos und Strukturbildung", TU München, 13.11.1993 (Abstract A8)

**M. Markus, C. Schäfer, H. Emmerich, P. Almeida, A. Ribeiro:**

Tectonic processes can be described by Wolfram-like automata.

Biennial Meeting of the European Union of Geosciences (Book of Abstracts),  
Straßbourg, 04.-08.04.93

**M. Markus, C. Schäfer, K. Stavridis:**

Chemical lenses - Stationary and Oscillatory.

Conf. on "New Trends in Pattern Formation in Active Nonlinear Media" (Abstract  
Book), Satiago de Compostela, Spanien, 05.07.-10.07.93, p. 27

**M. Markus, Th. Gehrman:**

Meinhardt-Klinger's mollusc shell patterns can be simulated by simple cellular  
automata.

2nd Europ. Conf. on Math. Appl. to Biology and Medicine (Book of Abstracts), Lyon,  
15.12.-17.12.1993

**K. Matthiesen, H. Miike, S.C. Müller:**

Hydrodynamic flow generated by chemical wave propagation.

Verhandlungen der Deutschen Physikalischen Gesellschaft 5/1993.

Europhysics Conference Abstracts 17 A, p. 1759 (1993)

**S.C. Müller:**

- External control and forcing of wave propagation in excitable media.  
NATO ARW "Spatio-Temporal Patterns in Nonequilibrium Complex Systems,  
Santa Fe, New Mexico, April 13-17 (1993)
- External forcing of spiral waves.  
Workshop "From Excitability to Oscillations - a case study in spatially  
extended systems",  
Nizza, Frankreich, 2.06.-05.06.1993
- Spiral wave dynamics with and without external forcing.  
Workshop "New Trends in Pattern Formation in Active Nonlinear Media",  
Santiago de Compostela, Spain, 05.07.-10.07. (1993)

**Zs. Nagy-Ungvarai, S.C. Müller:**

Complexity in spiral wave dynamics.

Verhandlungen der Deutschen Physikalischen Gesellschaft 5/1993.

Europhysics Conference Abstracts 17 A, p. 1743 (1993)

**N. Opitz, E. Merten, B. Bölling, G. Holtermann, H. Acker:**

Comparison of the pH probes BCECF and C-SNARF-1 in view of intracellular pH imaging: a critical assessment.

Pflügers Arch. **422**:R92 (1993)

**D. Ruwisch, M. Bode, V. Pérez-Munuzuri, V. Pérez-Villar, M. Markus:**

Parallel analogue computers for simulations of coupled biological oscillators.

2nd Europ. Conf. on Math. Appl. to Biology and Medicine (Book of Abstracts), Lyon, 15.12-17.12.1993

**O. Steinbock, F. Siegert, C.J. Weijer, S.C. Müller:**

- Three-dimensional waves of excitation during morphogenesis of dictyostelium.  
Verhandlungen der Deutschen Physikalischen Gesellschaft 5/1993.

Europhysics Conference Abstracts 17 A, p. 1742 (1993)

- Chemotaxis and three-dimensional waves of excitation in migrating slugs of dictyostelium discoideum.

Molecular Biotechnology 1993 / FEBS Advanced Lecture Course, p. 51 (1993)

**O. Steinbock, S.C. Müller:**

Light-controlled anchoring of meandering spiral waves.

Verhandlungen der Deutschen Physikalischen Gesellschaft 5/1993.

Europhysics Conference Abstracts 17 A, p. 1743 (1993)

**D. Stock, S.C. Müller:**

Dynamics of three-dimensional chemical waves.

Verhandlungen der Deutschen Physikalischen Gesellschaft 5/1993.

Europhysics Conference Abstracts 17 A, p. 1743 (1993)

**M. Wartenberg, N. Opitz, H. Acker:**

Non invasive detection of fluorescence dye distribution as an optical probe for cellular activity in multicellular spheroids using Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM).

Eur. J. Cell Biol. **60**:S 108 (1993)

**M. Wartenberg, H. Acker:**

- Vitality status of cells in multicellular spheroids.  
Biol. Chem. Hoppe-Seyler **374**:143 (1993)
- A fluorescent marker technique for vitality status of cancer cells in multicellular spheroids using confocal laser scanning microscope (CLSM) as an optical probe.  
Pflügers Arch. **422**:R 63 (1993)

## **Diplomarbeiten, Promotionen, Habilitationen und Auszeichnungen**

### **Diplomarbeiten**

#### **Arbeitsgruppe Prof. Dr. R.K.H. Kinne**

- H. Kipp:

"Entwicklung eines Reagenzes zur Photoaffinitätsmarkierung der Glukosebindungsstelle des Natrium/D-Glukose-Kotransporters", Institut für Chemie an der Universität Dortmund

#### **Arbeitsgruppe Dr. M. Markus**

- Heike Emmerich:

"Numerische Analyse binärer Zellulärer Automaten"

- Kosta Stavridis: "Ein Neues Modellsystem für Turbulenz: die lichtempfindliche Belousov-Zhabotinsky Reaktion"

#### **Arbeitsgruppe S.C. Müller:**

- U. Hartenberger: "Untersuchungen zum Einfluß von Sauerstoff auf die Wellenausbreitung in der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion", Universität Dortmund, 02.07.1993

### **Promotionen**

#### **Emeritusarbeitsgruppe Prof. Dr. B. Hess:**

- St. Finkler: "Struktur und Funktion von Prolin in Bakteriorhodopsin", Ruhr-Universität Bochum, Februar 1993

#### **Arbeitsgruppe S.C. Müller:**

- O. Steinbock: "Untersuchung chemischer Wellen in der Belousov-Zhabotinsky-Reaktion mittels externer Beeinflussung und Kontrolle photosensitiver Systemeigenschaften", Universität Göttingen, 05.11.1993

### **Habilitationen**

#### **H. Hentschel:**

- Umhabilitation von der MHH (Medizinische Hochschule, Hannover) an die Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf für das Fach "Zoologie".

**K. Zierold:**

- Habilitation im Fachbereich Medizin der Universität-Gesamthochschule Essen für das Fach "Experimentelle Cytologie und Histologie".  
Thema der Habilitationsschrift: "Analytische Elektronenmikroskopie: Eine Methode für die Zellphysiologie", 22.04.1993

**Auszeichnungen****M. Markus:**

- Ernennung zum Editor der Zeitschrift "Nonlinear World", Verlag W. de Gruyter, Berlin

**S.C. Müller:**

- O. Steinbock, Biomedizin-Förderpreis 1993 vom Verein zur Förderung der biomedizinischen Wissenschaften in Dortmund e.V.

**B. Scharf:**

- Otto-Hahn-Medaille der Max-Planck-Gesellschaft für ihre Doktorarbeit über "Vergleichende Untersuchungen des sensorischen Rhodopsins II in Halobakterium halobium und Natronobakterium pharaonis und Charakterisierung des Halozyanins des ersten blauen Kupferproteins aus Archebakterien", Ruhr-Universität Bochum

## Förderung durch Drittmittel, Gastwissenschaftler etc.

|  |               |
|--|---------------|
| BMFT   | DM 125.500,00 |
| Landesmittel NRW                                     | DM 249.790,00 |
| EG Mittel  | DM 210.700,00 |
| ESA  | DM 6.500,00   |
| DAAD   | DM 700,00     |
| Deutsche Krebshilfe<br>(Dr. Mildred Scheel Stiftung) | DM 86.000,00  |
| Thyssen-Stiftung                                     | DM 18.000,00  |
| AVL (Graz)   | DM 92.800,00  |
| Fa. Dr. Rentschler                                   | DM 61.100,00  |
| Fa. Heraeus Stiftung                                 | DM 7.000,00   |

|                          |  |
|--------------------------|--|
| Dr. B. Bechinger         | Stipendiat des DFG   |
| Dr. I. Chizov            | Auslandsstipendiat der MPG   |
| P. Herter                | Stipendiat der Wilhelm u. Günther Esser-<br>Stiftung, bis Oktober 1993 |
| Dr. M. Kodanda Ram Reddy | Auslandsstipendiat des DAAD  |
| Dr. E. Okamoto           | Auslandsstipendiat der MPG   |
| Prof. I. Volkov          | Auslandsstipendiat der MPG   |
| Dr. V. Zykov             | Auslandsstipendiat der MPG   |

## Wissenschaftliche Zusammenarbeit

### 1. Inland

#### H. Acker:

- Prof. Dr. med. Peter J. Frosch  
Direktor der Hautklinik der Städt. Kliniken Dortmund
- Dr. J. Hescheler  
Pharmakologisches Institut, Freie Universität Berlin
- Prof. Dr. Manfred Hündgen  
c/o Fa. Dr. Rentschler  
Arzneimittel GmbH & Co., Laupheim
- Prof. Dr. W. Jelkmann  
Physiologisches Institut I, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
- Prof. Dr. Wolfgang Kummer  
Institut für Anatomie und Zellbiologie der Philipps-Universität Marburg
- PD Dr. Beate Meier  
Chemisches Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover

#### H. Baumgärtl:

- Dr. J. Bennink  
Bayer AG, Verfahrensentwicklung Biochemie, Wuppertal
- Prof. Dr. R. Buchholz  
Technische Universität Sekr. GG, Institut für Biotechnologie, Berlin
- Dipl. Ing. O. Debus  
Technische Universität Hamburg-Harburg; Arbeitsbereich  
Gewässerreinigungstechnik, Hamburg
- Dr. A. Heinemann  
Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft der  
Universität Stuttgart
- Dr. E. Jähde, Prof. M.F. Rajewski  
Institut für Zellbiologie (Tumorforschung), Universitätsklinikum Essen
- Dr. E. G. Kleinschmidt  
Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten der Universität Rostock
- Dr. K. Lamm  
Klinikum rechts der Isar, Abt. HNO, Technische Universität München

- Prof. Dr. N. Rübiger  
Institut für Umwelttechnik, Universität Bremen
- Dr. F. Scheibe  
HNO-Klinik der Humboldt-Universität zu Berlin (Charité)
- Prof. Dr. H.-P. Schmauder  
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- Prof. P. Wilderer  
Prüfungsamt für Wassergüte und Abfallwirtschaft, Technische Universität München
- Priv.-Doz. Dr. D. Zinkle  
Institut für Tierphysiologie ND5/ 124, Ruhr-Universität Bochum

**M.A. Delpiano:**

- Dr. Adolfo Cavalié  
Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abt. Neurophysiologie, Martinsried
- Dr. U. Konllmann  
Institut für Tierphysiologie, Ruhr-Universität Bochum
- Dr. Veigt Flockerzi  
Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Technische Universität München

**H. Hentschel:**

- Dr. M. Elger  
Institut für Anatomie und Zellbiologie, Universität Heidelberg
- Prof. Dr. H. Greven, Zool. Inst., Universität Düsseldorf

**B. Hess:**

- Dr. A. Mikhailov  
N.N. Semenov Institute for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.  
Z.Zt. Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Berlin  
Auf der Grundlage eines Thyssen-Stipendiums.

**B. Kohl:**

- Prof. G. Boheim  
Ruhr-Universität Bochum

**R.K.H. Kinne:**

- Dr. M. Weinlich  
Chirurgische Universitätsklinik Tübingen

- PD Dr. L.B. Zimmerhackl  
Universitätskinderklinik, Freiburg i.Br.
- Prof. Dr. J. Sökeland  
Urologische Klinik der Städtischen Kliniken Dortmund

**D. Kuschmitz:**

- Prof. Dr. K. Gerwert  
Ruhr-Universität Bochum

**St. Lambotte:**

- Prof. Dr. H. Koepsell  
Bayerische Julius-Maximilian-Universität Würzburg, Anatomisches Institut

**C. T. Lin:**

- Prof. Dr. H. Koepsell  
Bayerische Julius-Maximilian-Universität Würzburg, Anatomisches Institut

**D.W. Lübbers:**

- Prof. Dr. U. Schulz-Ehrenburg  
St. Josefs-Hospital, Ruhr-Universität Bochum
- Dr. H. Jungmann  
Krebsforschung Herdecke e.V.
- Prof. Dr. M. Kessler  
Institut f. Physiologie und Kardiologie d. Universität Erlangen-Nürnberg
- PD Dr. J.M. Steinacker  
Sportmedizinische Untersuchungsstelle, Universität Ulm
- Prof. Dr. E. Konecny  
Institut f. med. Technik, Medizinische Universität zu Lübeck
- Prof. Dr. L. Caspary  
Abt. Angiologie, Zentrum Innere Medizin und Dermatologie, Medizinische Hochschule Hannover
- Dr. J. Hoffmann  
Bremen

**M. Markus:**

- Prof. Dr. H.-G. Purwins  
Institut für Angewandte Physik der Universität. Münster

**F. Pietruschka:**

- Prof. Dr. F. Falkenberg  
Ruhr-Universität Bochum

**Th. Plessner:**

- Dr. H. Wilke  
Zentralinstitut für Physikalische Chemie, Berlin-Adlershof  
Thema: Modellierung der Interaktion von chemischen Wellen und konvektivem Transport
- Prof. H.P.Koepchen  
Institut für Physiologie, Freie Universität Berlin  
Thema: Analyse periodischer physiologischer Parameter am Menschen
- Prof. Dr. R. Droh, Dr. H.H. Abel  
Sportklinik Hellersen/Lüdenscheid  
Thema: Analyse periodischer physiologischer Parameter am Menschen
- Prof. Dr. H. Müller  
Lehrstuhl für Graphische Systeme, Universität Dortmund  
Thema: Visualisierung

**H. Sauer:**

- Dr. M. Thie, Prof. Dr. Dr. H. W. Denker  
Universitätsklinikum Essen Institut für Anatomie

**S.C. Müller:**

- Dr. C. Weiger  
Zoologisches Institut der L.M., Universität München,  
Projekt "Quantifizierung der Geschwindigkeitsverteilung in chemotaktischer Zellbewegung".
- Dr. M. Köhler  
Institut für Physikalische Hochtechnologie, Jena,  
Projekt "Einfrieren dynamischer Wellenstrukturen durch Ausfällungsreaktionen".
- Dr. K. Tsuji  
Shimadzu Europa GmbH, Duisburg,  
Projekt "Detektion von Oberflächentemperatur durch Infrarotmethoden".

- Prof. Hanke  
Institut für Zoophysiology, Universität Hohenheim, Stuttgart,  
Projekt "Erregungswellen auf Netzhaut von Hühnern".
- Prof. H. Brand  
Theoretische Physik III, Universität Bayreuth,  
Projekt "Chemische getriebene Konvektion" (von DFG unterstützt).

#### **F. Wehner:**

- Prof. Dr. E. Petzinger  
Institut f. Pharmakologie und Toxikologie der Justus-Liebig-Universität, Gießen

#### **H.-J. Wieker:**

- Lehrstuhl Biochemie der Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum
- Lehrstuhl Biologie der Mikroorganismen, Ruhr-Universität Bochum
- Lehrstuhl für Mikrobiologie, Universität-Gesamthochschule Essen

#### **A. Wittinghofer:**

- Prof. Dr. Dieter Gallwitz  
MPI für biophysikalische Chemie, Göttingen
- Prof. Dr. Peter Gierschnik  
Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg
- Dr. Rolf Hilgenfeld  
Hoechst AG, Frankfurt
- Dr. Christian Sander  
Dr. A. Valencia, EMBL, Heidelberg
- Dr. Silvia Stabel  
Max-Delbrück Laboratorium, Köln

#### **K. Zierold:**

- Prof. Dr. A. Wessings  
Institut für Allgemeine u. Spezielle Zoologie der Universität Gießen:  
Röntgenmikroanalytische Untersuchungen zum Elektrolytentransport in  
Malpighi-Gefäßen von Drosophila Laven.
- Dr. Christian Schlatterer, Dr. Gerd Knoll  
Fakultät f. Biologie der Universität Konstanz:  
Lokalisierung von Ca in Dictyostelium-Zellen in Abhängigkeit von  
Entwicklungsstatus.

- Dr. Walter Schröder  
Institut f. biol. Informationsverarbeitung, KFA Jülich:  
Lokalisierung von Calcium in Photorezeptorzellen von Drosophila.
- Prof. Dr. Thomas Wolf  
Institut f. Physikalische Chemie der Universität Siegen:  
Gefrierbruch-Untersuchungen an Mizellen von CTAB in wässriger Lösung.
- Dipl. Biol. P. Arens  
Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Gelsenkirchen:  
Kupfer-Lokalisierung in Sphingomonas spez. Bakterien.

## 2. Ausland

### H. Acker:

- Prof. Dr. C. Bauer und Dr. M. Gassmann  
Physiologisches Institut der Universität Zürich, Schweiz
- Prof. Dr. R. Berkwig  
Anatomisk Institutt Arstadveien, Bergen, Norwegen
- Prof. Dr. Carlsson  
Dept. for Radiation Sciences, Uppsala, Schweden
- Prof. Dr. J. Curnutte  
Dept. of Molecular and Experimental Medicine, The Scripps Research  
Institute, La Jolla, USA
- Prof. Dr. A. W. Segal  
University College and Middlesex School of Medicine, Dept. of Medicine, The  
Rayne Institute, London, England
- Dr. Th. Whelden  
University of Glasgow, Dept. of Radiation Oncology, Glasgow, U.K.

### H. Baumgärtl:

- Prof. Dr. R. Huch  
Universitätsspital Zürich, Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe, Zürich, Schweiz
- Prof. Dr. H. Schneider  
Universitäts-Frauenklinik und Kantonales Frauenspital, Bern, Schweiz
- Dr. Hiroshi Sano  
Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Kouhoku-ku, Yokohama, Japan

### H. Bechinger:

- Prof. Dr. Gerhard Dahl  
University of Miami, School of Medicine, Dept. of Physiology and Biophysics,  
Miami, FL, USA
- Prof. Alan F. Hofman, M.D  
Dept. of Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, CA, USA
- Prof. Dr. Stanley J. Opella  
University of Pennsylvania, Dept. of Chemistry, Philadelphia, PA, USA
- Prof. Dr. Jeffrey Santrock  
GM Research Biomedical Laboratories, Warren, MI, USA

- Prof. Dr. Yechiel Shai,  
Weizmann Institute, Rehovot, Israel
- Prof. Dr. Vogel,  
EPFL-Ecublens, Inst. Chimie-Physique II, Lausanne, Schweiz
- Prof. Dr. Michael Zasloff  
Magainin Pharmaceuticals Inc., Plymouth Meeting, USA

**M.A. Delpiano:**

- Prof. Dr. Burton Altura  
State University of New York, Brooklyn, U.S.A.
- Dr. Julio Alcayaga, Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Chile  
Santiago, Chile

**H. Hentschel:**

- Prof. K. Beyenbach  
Dept. of Physiology, D.V. Biol. Sciences, Cornwell University, Huaca, USA

**B. Hess:**

- Fachbeiratsmitglied des Schwerpunktprogramms "Nonlinear Dynamics in  
Biology", Universität Amsterdam, Prof. H. Westerhoff

**E. Kinne:**

- Prof. Dr. K.W. Beyenbach  
Dept. of Physiology, Div. Biol. Sciences, Cornell University, Ithaca, N.Y., USA
- Prof. Dr. T. Maren  
Dept. of Pharmacology and Therapeutics, University of Florida, USA

**R.K.H. Kinne:**

- Prof. Dr. G. Capasso  
Università di Napoli, Neapel, Italien
- Dr. C. McDonald  
Dept. of Biology, University of Paisley, Paisley, GB
- Dr. J. Centelles  
Dept. Bioquímica i Fisiologia, Universitat Barcelona, Spain

**D. Kuschmitz:**

- Dr. Y. Dupont  
Centre d'Etudes Nucleaires de Grenoble, Frankreich

- Prof. Dr. J.-P. Dufour  
Université Catholique de Louvain, Frankreich

**C.-T. Lin:**

- T. Dousa, MD. Ph.D.  
Department of Biophysics and Physiology, Mayo Clinic and Foundation,  
Rochester, Minnesota, USA

**S.C. Müller:**

- Prof. S. Kai  
Dept. of Electrical Engineering, Kyushu Institute of Technology, Japan
- Prof. H. Miike  
Dept. of Electrical Engineering, Yamaguchi University, Ube, Japan
- Prof. H. Hashimoto  
Dept. of Information Science, Oshima, National College of Maritime  
Technology, Japan
- Dr. T. Yamaguchi  
National Chemical Laboratory for Industry, Japan
- Dr. A. Polezhaev  
Academy of Sciences of the USSR, P.N. Lebedev Physical Institute, Moskau
- Dr. A. Pertsov  
Sunny Health Science Center, Syracuse, USA
- Prof. M. Marek und Dr. H. Sevcikova  
Prague Institute of Chemical Technology, Prag
- Prof. A.M. Zhabotinskii  
Chemistry Dept., Brandeis University, Waltham, USA
- Prof. P. Couillet  
Laboratoire Physique Théorique, Universität Nizza
- Dr. D. Walgraef  
Université Libre de Bruxelles, Service de Chimie Physique, Brüssel

**D.W. Lübbers:**

- Prof. Dr. M. Lippitsch  
Institut f. Experimentalphysik, Karl-Franzens-Universität Graz

**M. Markus:**

- Prof. Dr. Filomena Dinis  
Universität Lissabon

- Dr. Mario Cachão  
Universität Lissabon
- Javier Tamames, c/o Prof. Dr. Federico Morán  
Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad  
Complutense de Madrid, Spanien
- Prof. Evgeny Volkov  
Lebedev Institut, Moskau
- Prof. Dr. Vicente Pérez-Villar  
Universidad Santiago de Compostela, Spanien
- Prof. Dr. António Ribeiro  
Universität Lissabon, gemeinsame Betreuung des Diplomanden  
Pedro Almeida
- Prof. Dr. Ana Noronha  
Instituto Superior Técnico, Lissabon
- Prof. Dr. Rui Dilão  
Instituto Superior Técnico

**Th. Plesser:**

- Dr. Keith H. Winters  
Theoretical Physics Division, Harwell Laboratory, Didcot, Oxon, England
- Dr. George Guria  
Prof. Anatol M. Zhabotinsky, National Scientific Center for Hematology,  
Moskau

**H. Prinz:**

- Professor Dr. Hartmut Glossmann, Universität Innsbruck, Österreich
- Professor Dr. Y. Fuji-Kuriyama, Tohoku University, Japan

**F. Wehner:**

- Prof. Dr. L. Reuss  
Dept. of Physiology and Biophysics, University of Texas Medical Branch at  
Galveston, Galveston, USA
- Prof. Dr. A.F. Hofmann  
Dept. of Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, USA

**A. Werner:**

- Prof. H. Murer  
Universität Zürich

**A. Wittinghofer:**

- Prof. L. Alberghina  
Università degli Studi di Milano, Italy
- Dr. Gary M. Bokoch  
The Scripps Research Institute, La Jolla, USA
- Prof. Dr. J. Bos  
University of Utrecht, The Netherlands
- Dr. Pierre Chardin  
CNRS Institut de Pharmacologie, Valbonne, France
- Dr. Debu Ray Chaudhuri  
Tufts University, Boston, USA
- Dr. T. Darden  
NIEHS/NIH/HHS, Statistics & Biometry, Resch Tri Park, USA
- Dr. Frank McCormick  
ONYX Pharmaceuticals, Richmond, USA
- Dr. E.F. Pai  
University of Toronto, Canada
- Dr. A. Parmeggiani  
Laboratoire de Biochimie, Ecole Polytechnique, Palaiseau Cedex, France
- Prof. Lee Pederson  
NIEHS, MD 302, Resch Tri Park, USA
- Dr. A.G. Redfield  
Brandeis University, Dept. of Biochemistry, USA
- Dr. Alex Wood  
Hoffmann-La Roche Inc., USA

**K. Zierold:**

- Dr. S.V. Buravkov  
Institute of Human Morphology, Moskau, Rußland
- Dr. Natalia Kazakova  
Moskau, Rußland

### 3. Auslandsaufenthalte

#### H. Acker:

22.11.-27.11.1993      Università degli Studi "G.D. Annunzio", Chieti, Italien  
 27.05.-28.05.1993      Universität Fribourg, Schweiz

#### H. Bechinger:

07.03.-14.03.1993      Taos, NM, USA  
 19.04.-23.04.1993      Acquafredda di Maratea, Italien  
 04.02.-16.04.1993      Dept. of Chemistry, University of Pennsylvania,  
 Philadelphia, PA, USA

#### M.A. Delpiano:

08.11.-03.12.1993      University of Chile, Dept. of Biology, Santiago, Chile

#### H. Hentschel:

06.08.-20.08.1993      Mount Desert Island Biological Laboratory, Salsbury Cove,  
 Maine, USA

#### B. Hess:

18.02.1993              Universität Wien, Österreich  
 20.09.1993              Universität Wien, Österreich  
 24.10.1993              Konrad-Lorenz-Institut, Wien, Österreich

#### E. Kinne:

01.07.-28.08.1993      Mount Desert Island Biological Laboratory, Salsbury  
 Cove, Maine, USA

#### R.K.H. Kinne:

29.06.-03.09.1993      Mount Desert Island Biological Laboratory, Salsbury  
 Cove, Maine, USA

#### H. Kipp:

03.07.-15.08.1993      Mount Desert Island Biological Laboratory, Salsbury  
 Cove, Maine, USA

**D.W. Lübbers:**

- 16.12.-22.12.1993 SPIE'S International Symposion Biomedical Optics, Los Angeles, USA
- 14.08.-18.08.1993 ISOTT Conference, San Diego, USA
- 14.08.-15.10.1993 Workshop on Chronobiology in Relation to in vivo Monitoring, Porto, Portugal

**M. Markus:**

- 10.04.-20.04.1993/  
30.05.-07.06.1993/  
12.07.-16.07.1993/  
22.08.-05.09.1993: Universidad de Lisboa und Instituto Superior Técnico  
05.07.-11.07.1993 Besuch eines Symposiums, Santiago de Compostela, Spanien
- 05.02.-20.02.1993 CERFACS, Toulouse, Frankreich. Diskussion über Anwendung ihrer Parallel-Rechner auf unsere zelluläre Automaten / Besuch von Prof. Varela und Prof. Ricard in Paris zur Vorbereitung eines EG-Netzwerkes

**S.C. Müller:**

- 01.07.-31.10.1993 Technische Universität Prag (TEMPUS-Programm)
- 01.09.-30.09.1993 Technische Universität Budapest und ELTE Budapest

**H. Prinz:**

- 29.02.-11.03.1993 Universität Innsbruck, Österreich
- 10.02.-17.12.1993 Universität Innsbruck, Österreich

**A. Werner:**

- 30.07.-03.09.1993 Forschungsaufenthalt in Mount Desert Island Biological Laboratory, Salsbury Cove Maine, USA
- Mai, Juni, Juli 1993 Forschungsaufenthalt in Zürich, Physiologisches Institut der Universität Zürich

## Mitarbeit an Universitäten und anderen Institutionen

### H. Acker:

- Apl. Professor an der Medizinischen Fakultät der Universität Bochum
- Visiting Professor an der Medizinischen Fakultät der Universität Chieti, Italien
- Generalsekretär der International Society for Arterial Chemoreception (ISAC)
- Projektleiter des EG-Projektes "Tumor cell heterogeneity and its application for therapeutic modalities studied in human tumor cells grown in multicellular spheroid culture". (PL 93068)
- Mitglied des BMFT Gutachterausschusses für das Projekt "Aufbau eines Forschungsschwerpunktes in der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald".
- Member of the IVPS Commission on Autonomic Nervous System
- Corso integrative: Ossegino e l'espressione genetica.  
Physiologisches Institut der Universität Chieti, Italien, 23.11.-26.11.1993
- Sommersemester 1993: Hormonphysiologie, Ruhr-Universität Bochum, FB Physiologie
- Wintersemester 1993/94: molekulare Zellphysiologie, Ruhr-Universität Bochum, FB Physiologie

### K. Frank:

- S-Blockpraktikum am Lehrstuhl Biochemie der Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum

### H. Hentschel:

- Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

### B. Hess:

- Auswärtiger Gutachter und Mitglied des Prüfungsausschusses: Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles, Sommer 1993
- Geschäftsführendes Vorstandsmitglied der Anna-Monika-Stiftung, Dortmund
- Vorsitzender des Kuratoriums der Gertrud-Reemtsma-Stiftung, Hamburg
- Präsident der Peter-und-Traudl-Engelhorn-Stiftung, Penzberg
- Vorsitzender des Fachbeirats und Mitglied des Aufsichtsrats des Konrad-Lorenz-Instituts, Wien
- Ehrensensator der Max-Planck-Gesellschaft
- Mitglied des Vorstands des World Institute of Science, Paris

- "Über Retinalproteine", Fachbereichsvorlesung, Universität Heidelberg, WS 1992/93

#### **E. Kinne:**

- Ruhr-Universität Bochum, Institut f. Physiologie

#### **R.K.H. Kinne:**

- Lehrauftrag Biochemie f. Chemiker, Universität Dortmund,
- Universität Düsseldorf, Medizinische Fakultät
- Università di Napoli, Neapel, Italien
- Albert Einstein College of Medicine, Bronx, N.Y., USA
- Kuratoriumsmitglied der Forschungsgesellschaft f. Arbeitsphysiologie und Arbeitsschutz e.V., Dortmund
- 1. Vorsitzender des Vereins zur Förderung der biomedizinischen Wissenschaften in Dortmund e.V.
- Advisor, The New York Academy of Sciences, New York, N.Y./USA
- Gutachter, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bonn
- Gutachter, Deutscher Akademischer Austauschdienst, Bonn
- Vicepresident, MDIBL, Maine, USA
- Mitglied des BMFT Gutachterausschusses für das Projekt Klinische Forschung in Rostock
- Gutachter, Forschungszentrum Jülich: Projektträger Biologie, Energie, Ökologie

#### **D.W. Lübbers:**

- Honorarprofessor an der Ruhr-Universität Bochum
- Vorstandsvorsitzender der Deutschen Forschungsgesellschaft für Innovation in der Medizin, Lüdenscheid
- Korrespondierendes Mitglied der Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mainz
- Mitglied der New York Academie of Sciences

#### **M. Markus:**

- Privat-Dozent an der Universität Dortmund, Vorlesung "Deterministisches Chaos" im Sommer-Semester 1993

**Th. Plessner:**

- Universität Dortmund.  
Projektgruppe für "Interdisziplinäre Distributive Datenverarbeitung Dortmund" (I DDD)
- Deutsches Forschungs Netz (DFN):  
Vertreter der MPG in der Mitgliederversammlung,  
Mitglied des Betriebsausschusses des DFN

**H. Prinz:**

- Vorlesung "Rezeptoren: Wirkungsort von Pharmaka"  
Blockvorlesung eine Woche pro Semester an der Universität Innsbruck,  
Österreich

**H. Sauer:**

- Durchführung des G-Blockpraktikums, Ruhr-Universität Bochum

**F. Wehner:**

- Praktika und Unterrichtsveranstaltungen, Lehrstuhl f. Tierphysiologie, Fakultät für Biologie, Ruhr-Universität Bochum

**H.-J. Wieker:**

- Blockseminar "Kinetik und Regulation enzymatischer Reaktionen" im WS 1992/93 und im SS 1993 an der Ruhr-Universität Bochum
- Einführung von zwei Praktikantinnen in das GCG-Package, Ruhr-Universität Bochum

**S.C. Müller:**

- Vorlesung "Prinzipien und Dynamik räumlicher Selbstorganisation",  
Fachbereich Physik, Universität Göttingen, WS 1992/93
- Seminar "Strukturbildung in dissipativen Systemen", Fachbereich Physik,  
Universität Göttingen, SS 1993
- Vorlesung "Fraktale", Fachbereich Physik, Universität Göttingen, WS 1993/94

**K. Zierold:**

- Vorlesung und Labordemonstration "Einführung in die Elektronenmikroskopie und biologische Präparationstechnik" für Studenten des Fachbereichs

Erziehungswissenschaften und Biologie der Universität Dortmund am 21.06.  
und 05.07.1993

- Beteiligung an der Vorlesung "Cytologie, Histologie, mikroskopische Anatomie"  
der Universität Essen, Fachbereich Medizin
- Erster Vorsitzende der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie

## Veranstaltungen

### 1. Seminarvorträge

- 13.01.1993 R. Röspel, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"DNA-Synthese und Expression eines langsamen, spannungsabhängigen K<sup>+</sup>-Kanals aus Säugerherz und -niere"
- 18.01.1993 Dr. M.A. Geeves, Dept. of Biochemistry, School of Medical Sciences, University of Bristol, U.K.:  
"Fluorescent probes of cooperativity in multiprotein complexes studies of the actin-myoin-troponin-tropomyosin system"
- 20.01.1993 Dr. M. Wartenberg, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Fluorescence Imaging in Sphäroiden mit Hilfe der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie"
- 27.01.1993 PD Dr. A.R. Holzwarth, MPI für Strahlenchemie, Mülheim a.d. Ruhr:  
"Die ersten 100 Nanosekunden. Primärprozesse der Photosynthese in Bakterien und höheren Pflanzen"
- 03.02.1993 Dr. A. Barth, Inst. f. Strahlenbiologie und Biophysik der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg:  
"FTIR-spektroskopische Untersuchungen zum Mechanismus der Calcium-ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums"
- 17.02.1993 Dr. P. Dieter, Institut für molekulare Zellbiologie, Freiburg:  
"Regulation der Eikosamoid-Synthese und Superoxid-Freisetzung in Makrophagen"
- 10.02.1993 Cand. biol. St. Matter, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern) :  
"Die Primärsequenz des Halocyanins, dem ersten blauen Kupferprotein aus Archaeobakterien"

- 23.02.1993 Dr. E. Weinhold, Dept. of Chemistry, Harvard University, Cambridge, USA:  
"Molekulare Erkennung von Proteinen und ihren Substraten am Beispiel von Alkohol-Dehydrogenase aus Hefe und Influenza-Hämagglutinin"
- 24.02.1993 Dr. S. Ungvarai, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Komplexität in Spiraldynamik"
- 02.03.1993 PD Dr. P. Wrede, Fachbereich Physik, Freie Universität Berlin:  
"Protein-Design mit neuronalen Netzwerken und simulierter molekularer Evolution"
- 03.03.1993 Dr. K. Keller, Institut. f. Pharmakologie, Freie Universität Berlin:  
"Die Glucosetransporter vom Typ der erleichterten Diffusion: Funktionelle Konsequenzen struktureller Veränderungen des GLUT1"
- 10.03.1993 Dipl. Biol. J. le Coutre, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Wie katalysiert Azid den Protonentransfer in mutierten Bakteriorhodopsinen? Eine FTIR-Studie"
- 17.03.1993 Prof. Dr. E.W. Weiler, Lehrstuhl f. Pflanzenphysiologie, Ruhr-Universität Bochum:  
"Perception and transduction of mechanical signals in higher plants"
- 24.03.1993 R. Brudler, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Rolle der Proteinumgebung beim Elektronentransfer in bakteriellen photosynthetischen Reaktionszentren"
- 21.04.1993 Dr. A. Bairoch, Dept. of Biochimie Médicale, CMU, Genève, Schweiz:  
"SWISS-PROT and PROSITE, current status and future evolution"
- 28.04.1993 G. Holst, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"O<sub>2</sub>-Flux-Optode - ein neuartiges Meßverfahren zur Erfassung des Sauerstoffflusses"

- 05.05.1993 Dipl.-Phys. B. Heßling, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Modellunabhängige Zuordnung von intramolekularen Reaktionen in Bakteriorhodopsin zu Photocyclusintermediaten"
- 19.05.1993 Dr. R. Brimacombe, MPI f. molekulare Genetik, Berlin:  
"Three-dimensional mapping of the functional centre of the bacterial ribosome"
- 26.05.1993 Dr. St. Finkler, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Struktur und Funktion von Prolin in der Protonenpumpe Bakteriorhodopsin"
- 02.06.1993 Prof. Dr. F. Siebert, Inst. f. Biophysik und Strahlenbiologie, Universität Freiburg:  
"Mechanismus der Rhodopsin-Aktivierung"
- 04.06.1993 Dr. G. Flik, Dept. of Animal Physiology, University of Nijmegen, The Netherlands:  
"Regulation of Ca<sup>2+</sup> transport in euryhaline fish"
- 09.06.1993 St. Lambotte, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Genomische Analyse der "β-Untereinheit" des Na<sup>+</sup>-D-Glukosekotransporters"
- 14.06.1993 Prof. Dr. St.B.H. Kent, The Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA:  
"Fundamental molecular studies on the HIV protease, a target for AIDS drug design"
- 16.06.1993 R. Ross, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Die Organisation der Histongene und die Chromatinstruktur der Chironomiden (Zuckmücken)"
- 24.06.1993 Prof. Dr. R. Rigler, MPI f. biophysikalische Chemie, Göttingen:  
"Detektion und Spektroskopie einzelner Moleküle. Neue Möglichkeiten der Analyse biomolekularer Wechselwirkungen"

- 30.06.1993 Dr. K. Matsuzaki, Biozentrum der Universität Basel, Schweiz:  
"Molecular aspects of magainin-lipid interactions"
- 09.07.1993 Dr. D.F. Diedrich, University of Kentucky, Lexington, USA:  
"Anion transport and water flux in red blood cells"
- 23.07.1993 Dr. B. Prüß, Loyola University of Chicago, USA (hausintern):  
"Acetate und Signaltransduktion in E.coli"
- 27.08.1993 Prof. M. Matsushita, Dept. of Physics, Chuo University, Tokyo:  
"Growth and morphological changes of bacterial colonies"
- 01.09.1993 Dr. H.-U. Dodt, Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München:  
"Infrarotvideomikroskopie von vitalen Hirnschnitten: Zellwanderung,  
Zelltod und Erregungsausbreitung"
- 08.09.1993 Dr. D. Manstein, National Institute of Medical Research, London,  
England:  
"Expression of molecular motors in Dictyostelium discoideum"
- 15.09.1993 Prof. Dr. A. Kuhn, Angew. Mikrobiologie, Universität Karlsruhe:  
"Insertion of proteins into bacterial membranes: Molecular mechanisms  
and structural aspects"
- 28.09.1993 Dr. P. Chardin, CNRS Institut de Pharmacologie, Valbonne, France:  
"Ras exchange factors and their interaction with tyrosine kinase  
receptors"
- 29.09.1993 Prof. Dr. Ch. Griesinger, Institut f. Organische Chemie der Johann  
Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt:  
"Multidimensionale NMR Spektroskopie an Biomolekülen"
- 18.10.1993 Prof. Dr. A.M. Zhabotinsky, Chemistry Dept., Brandeis University,  
Waltham  
"Wave propagation and pattern formation in nonuniform reaction-diffu-  
sion systems"

- 22.10.1993 Prof. Dr. M. Rajewski, Institut f. Zellbiologie, Universität-Gesamthochschule Essen:  
"Cancerogen-spezifische DNS-Strukturmodifikationen und ihre Reparatur: Analyse mit Hilfe monoklonaler Antikörper"
- 27.10.1993 Prof. Dr. J.L. Bos, Laboratory for Physiological Chemistry, University of Utrecht, Netherlands:  
"The role of p21ras in receptor tyrosine kinase signalling"
- 02.11.1993 Dr. H. Jung, HHMI/UCLA, Los Angeles, USA:  
"Struktur und Dynamik der Laktosepermease von Escherichia coli basierend auf ESR- und Fluoreszenzmessungen"
- 03.11.1993 Dr. S. Stabel, Max-Delbrück-Laboratorium der MPG, Köln:  
"Interplay of protein kinase C, c-raf and MAPkinase in signal transduction"
- 10.11.1993 Prof. Dr. R. Heumann, Lehrstuhl f. Molekulare Neurobiochemie, Ruhr-Universität Bochum:  
"Molecular functions of neurotrophins in the peripheral nervous system"
- 16.11.1993 Dr. H. Prinz, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"A simple receptor model explains complex binding kinetics of high affinity ligands"
- 24.11.1993 Dr. W. Stöcker, Zoologisches Institut der Universität Heidelberg:  
"Structure and function of the zinc-endopeptidase astacin"
- 08.12.1993 Prof. Dr. L. Heilmeyer, Physiologische Chemie, Ruhr-Universität Bochum  
"Herz-Troponin, Untersuchungen zur Struktur und Funktion der Phosphorylierungsdomäne des Troponin I"
- 09.12.1993 F. Mc Cormick, Onyx Pharmaceuticals, Richmond, USA:  
"Regulators and effectors of ras proteins"
- 15.12.1993 Dr. J. Block, MPI f. molekulare Physiologie, Dortmund (hausintern):  
"Das GCG-Paket: UNIX-Software für die Sequenzanalyse von Nucleinsäuren und Proteinen"

20.12.1993 Dr. B. Wöhrl, Div. of Infectious Diseases, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA:  
"Replication complexes of reverse transcriptase"

## 2. Biomedizinische Kolloquien

- 17.03.1993 Prof. Dr. P. Prehm  
Institut für Physiologische Chemie und Pathobiochemie an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
"Hyaluronat bei rheumatischer Arthritis und rheumatischem Fieber"
- 28.04.1993 Prof. Dr. Dr. A. Podlech  
Technische Hochschule Darmstadt, Fachbereich Öffentliches Recht  
"Aktuelle Datenschutzaspekte im Gesundheitswesen"
- 20.10.1993 Prof. Dr. F. Marks  
Institut für Biochemie  
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg  
"Krebs-gestörte Kommunikation zwischen Zellen"

## 3. Kongresse, Arbeitsgespräche, Symposien

### H. Acker:

- International Society for Arterial Chemoreception, 11. Meeting, Dublin, 09.08.-13.08.1993

### B. Hess:

- Winterseminar in Klosters, Januar 1993
- Internationales Symposium "Struktur und Funktionen in Biological Systems", Universität Würzburg, September 1993
- Hochhausener Herbsttreffen (Veranstalter), Oktober 1993
- Sitzungen der Heidelberger Akademie der Wissenschaften
- Sitzungen der Rheinisch-Westfälischen Akademie der Wissenschaften
- Sitzungen des World Institute of Science, Paris
- "40 years of  $\alpha$ -Helix", UNESCO-Konferenz, Paris, April 1993

**D.W. Lübbers:**

- Mitglied des Organisationskomitees für den Europt(r)oden-Kongress 1994 in Florenz
- Leitung einer Sitzung beim Kongreß für Mikrozirkulation (11.-13.11.1993 in Göttingen)
- Leitung der Treffen der Gruppe 'Mikrozirkulation' (19.02.1993 und 29.10.1993, Bochum)

**M. Markus:**

- Mitglied des "Scientific Advisory Comitee" der VIDEA 1993 (Visualization and Design in Engineering), Southhampton, GB, 27.04.-29.04.1993

**S.C. Müller:**

- Workshop "From Excitability to Oscillations - a case study in spatially extended systems". Nizza, Frankreich, 02.06.-05.06.1993
- Zweites Kolloquium im Schwerpunktprogramm der DFG. "Strukturbildung in dissipativen kontinuierlichen Systemen: Experiment und Theorie im quantitativen Vergleich". Katholische Akademie Schwerte, 17.05.-18.05.1993
- Drittes Kolloquium im Schwerpunktprogramm der DFG. "Strukturbildung in dissipativen kontinuierlichen Systemen: Experiment und Theorie im quantitativen Vergleich", Hotel Ringberghaus, Suhl, 26.09.-28.09.1993

**Th. Plesser:**

- Workshop "Visualisierung in der Medizin", Universität Freiburg, 10.03.1993 - 11.03.1993
- 10. EDV-Benutzertreffen der MPG, Symposium "Forschung und wissenschaftliches Rechnen", Göttingen, 18.11.1993 - 19.11.1993

**K. Zierold:**

- Sitzungen über Kryoelektronenmikroskopie und Analytische Elektronenmikroskopie am 07.09. und 10.09.1993 im Rahmen der Dreiländertagung Elektronenmikroskopie in Zürich.
- Laborkurs über "Kryopräparation von Zellen für SEM, TEM und Mikroanalyse" am 03.11.-04.11.1993 im Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund (gemeinsam mit Peter Herter)

## **Berufsausbildung am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie**

### **1. Biologielaboranten**

#### **a) praktische Ausbildung**

In Laboratorien und Werkstätten: Biochemie, Zellzucht, Physiologie, Histologie, Elektronenmikroskopie, Elektrodenentwicklung, Fotolabor, Technisches Zeichnen, Glastechnik, EDV.

#### **b) Berufsschulunterricht**

Gewerbliche Berufsschule III Dortmund,  
Blockunterricht 3 x 2 Monate

#### **c) betriebsinterner Unterricht**

#### **F. Buchmakowsky:**

Biochemie, Organische Chemie

#### **H. Hentschel:**

Anatomie, Histologie, Cytologie, 1 Std./Woche

#### **N. Opitz:**

Biol. Sub. Praktikum "Photometrie", 3 Tage, Januar 1993

#### **D. Schäfer:**

Systematik, 2 Std./Woche

#### **H.-J. Wieker:**

Schulung der Mitarbeiter für das GCG-Software-Paket und die Nutzung der von der ZE SuS geführten Datenbanken

#### **W. Zimmelka:**

Stöchiometrie und Chemie

**K. Zierold:**

- Physik einschließlich Physik-Praktikum 11.01.-22.01.1993

**2. Feinmechaniker (Ausbildungsdauer 3,5 Jahre)**

a) **praktische Ausbildung**

In der Feinmechanischen Werkstatt

b) **Berufsschulunterricht**

Gewerbliche Berufsschule II Dortmund, 1-2 Tage/Woche

**Schülerpraktikum**

Stefan Otto 11.01.1993 - 29.01.1993

**Praxistraining der IHK**

Helmut Meinecke 01.03.1993 - 31.08.1993

**3. Glasapparatebauer (Ausbildungsdauer 3 Jahre)**

a) **praktische Ausbildung**

In der Glastechnischen Werkstatt.

b) **Berufsschulunterricht**

Blockunterricht: 2-3 Monate/Jahr

Glasfachschule Rheinbach/Bonn

**4. Fotolaborant (Ausbildungsdauer 2 Jahre)**

a) **praktische Ausbildung**

Im Fotolabor.

**b) Berufsschulunterricht**

Gewerbliche Berufsschule II Dortmund, 1 Tag/Woche.

**5. Liste der Auszubildenden****Biologielaboranten**

Katrin Illner

Matthias Kolleck

Christine Rettig

Margret Schulte-Spechtel

Torsten Staniszewski

Wojciech Wegrzyn (Umschulung)

**Feinmechanische Werkstatt**

Marko Schulz

Philip Adler

Holger Sprave

Simone Krüger, ab 01.08.1993

**Fotolabor**

Gabriela Grützner

Claudia Lebsa

**Glastechnik**

Carsten Pätzold

**Mathematisch-technische Assistenten**

Vera Schaefer

Frank Wapner

## Gliederung und personelle Besetzung MPI f. molekulare Physiologie

### ABTEILUNG I Prof. Dr. A. Wittinghofer

1. AG Prof. Dr. A. Wittinghofer  
 Wittinghofer, Alfred, Prof. Dr.  
 Schebaum, Rita  
 Ahmadian, M. Reza, Dr.  
 Benecke, Arndt  
 Deuter, Rainer  
 Hostinová, Eva, Dr.  
 Horn, Gudrun  
 Kudus, Ursula  
 Nassar, Nicolas, Dr. (z.Zt. Heidelberg)  
 Poguntke, Wenke  
 Schmitz, Frank, Dr.  
 Schmidt, Gudula  
 Schweins, Thomas  
 Stachan, David  
 Vogt, Dorothee
  
2. AG Dr. Jörg Becker  
 Becker, Jörg, Dr.  
 Körner, Carolin  
 Aßheuer, Ralf
  
3. AG Dr. Christoph Block  
 Block, Christoph, Dr.  
 Herrmann, Christian, Dr.  
 Jaitner, Birgit  
 Voß, Beate
  
4. AG Dr. Robbert Cool  
 Cool, Robbert, Dr.  
 Lenzen, Christian  
 Theiss, Christiane
  
5. AG Dr. Jürgen Kuhlmann  
 Kuhlmann, Jürgen, Dr.  
 Oeke, Brigitte (beurlaubt)
  
6. AG Dr. Oliver Müller  
 Müller, Oliver, Dr.  
 Twiehaus, Dirk
  
7. AG Dr. Norbert Opitz  
 Opitz, Norbert, Dr.

**ABTEILUNG II Prof. Dr. R. Kinne**

- |  |  |
|--|--|
| <p>1. <u>AG Prof. R. Kinne</u><br/>Kinne, Rolf, Prof. Dr.<br/>Mägdefessel, Daniela<br/>Determann, Angelika<br/>Okamoto, Eiichi, Dr.<br/>Kiese, Thomas<br/>Ruhfus, Birgit<br/>Wittkovski, U., Dr.</p> | <p>2. <u>AG Dr. A. Werner</u><br/>Werner, Andreas, Dr.<br/>Hülseweh, Birgit<br/>Lambotte, Stephan<br/>Rimpel, Heike<br/>Schölermann, Beate (beurlaubt)<br/>Strunck, Ursula</p>                 |
| <p>3. <u>AG PD Dr. E. Kinne</u><br/>Kinne, Evamaria, PD Dr.<br/>Bauernschmitt, Günter, Dr.<br/>Pfaff, Christiane<br/>Schütz, Hendrike<br/>Mählmann, Christoph (Praktik.)</p>                         | <p>4. <u>AG PD Dr. F. Wehner</u><br/>Wehner, Frank, PD Dr.<br/>Beetz, Gabriele<br/>Boese, Stefan<br/>Giffey, Alexander<br/>Rosin-Steiner, Sigrid<br/>Sauer, Heinrich, Dr.<br/>Tinel, Hanna</p> |
| <p>5. <u>AG PD Dr. K. Zierold</u><br/>Zierold, Karl, PD Dr.<br/>Badt, Dirk<br/>Dongard, Sabine</p>   | <p>6. <u>AG Prof. E. Heinz (Emeritus)</u><br/>Heinz, Erich, Prof. Dr.</p>  |
| <p>7. <u>AG Dr. B. Bechinger</u><br/>Bechinger, Burkhard, Dr.<br/>Glitz, Petra (beurlaubt)<br/>Griewel, Bernhard<br/>Luig, Jutta<br/>Neidhardt, Ingrid</p>   | <p>8. <u>AG Dr. C.T. Lin</u><br/>Lin, Chiann-Tso, Dr.<br/>Hoffmann, Kornelia (Praktik.)<br/>Rosenthal, Kirsten<br/>Kipp, Helmut<br/>Sauerwald, Helga</p>                                       |

**ABTEILUNG III Prof. Dr. R. Goody**

- |  |   |
|--|---|
| <p>1. <u>AG Prof. Dr. R. Goody</u><br/>         Goody, Roger S., Prof. Dr.<br/>         Riemer, Christine<br/>         Beste, Andrea<br/>         Hofmann-Goody, Waltraud, Dr.<br/>         Holtermann, Georg<br/>         Hülseweh, Marion<br/>         Kazoulli, Evdokia<br/>         Kupke, Susanne, (beurlaubt)<br/>         Reinstein, Jochen, Dr.<br/>         Rohpeter, Margot<br/>         Scheidig, Axel, Dr. (beurlaubt)<br/>         Seidel, Ralf, Dr.<br/>         Simon, Iris<br/>         Smith, David, Dr.<br/>         Souquet, Manfred<br/>         Thrall, Sara, Dr.<br/>         Wischnewski, Martina</p> | <p>2. <u>AG Dr. M. Geeves</u><br/>         Geeves, Michael, Dr.<br/>         Adamek, Nancy<br/>         Richie, Marcia, Dr.</p>   |
| <p>3. <u>AG Dr. E. Weinhold</u><br/>         Weinhold, Elmar, Dr.<br/>         Bleimling, Nathalie<br/>         Thomas, Heike</p>  | <p>4. <u>AG Dr. M. Engelhard</u><br/>         Engelhard, Martin, Dr.<br/>         Chizov, Igor, Dr. (Prof. Hess)<br/>         Eilers, Markus<br/>         Henrich, Hans-Jürgen<br/>         Hohenfels, Iija<br/>         Mattar, Stephan<br/>         Müller, Renate<br/>         Peters, Marion<br/>         Scholz, Anke<br/>         Wieck, Marianne<br/>         Wittenberg, Roswitha<br/>         Volkmann, Jörg</p> |

**GESCHÄFTSFÜHRER (Dr. D. Schäfer)**

|                      |                     |                          |
|----------------------|---------------------|--------------------------|
| Schäfer, Dieter, Dr. | Buchmakowsky, Frank | Lemke, Cornelia (beurl.) |
| Krah, Adelheid       | Rohde, Angelika     |                          |

**VERWALTUNG / VAD**1. Verwaltung (H. Plate)

|                    |                      |                    |
|--------------------|----------------------|--------------------|
| Plate, Heinz       | Frebel, Heidi        | Göbel, Elke        |
| Hiddemann, Petra   | Möllenhoff, Jeanette | Preiß, Anke        |
| Richter, Eva-Maria | Stordeur, Monika     | Schebaum, Elfriede |
| Schmitz, Reiner-J. |                      | Zarnowski, Ilona   |

2. Zentrale Dienste (H. Plate)

|              |                 |
|--------------|-----------------|
| Entrup, Rita | Litewski, Heinz |
|--------------|-----------------|

3. Fahrbereitschaft (D. Buxel)

|               |               |
|---------------|---------------|
| Buxel, Dieter | Müller, Klaus |
|---------------|---------------|

**ZENTRALE EINRICHTUNGEN**1. Zentrales Laboratorium f. funktionelle Morphologie (PD Dr. H. Hentschel)

|                            |                    |
|----------------------------|--------------------|
| Hentschel, Hartmut, PD Dr. |                    |
| Feldmann, Ulrike           | Sylvester, Dieter  |
| Friedrich, Angela          | Trogemann, Gerd    |
| Herter, Peter              | Winkler, Hannelore |
| Haubrock, Rita             |                    |

2. ZE Zellkultur u. Immunologie (Dr. F. Pietruschka)

|                          |                  |
|--------------------------|------------------|
| Pietruschka, Fricke, Dr. | Langerak, Anette |
| Goehrke, Dörte           |                  |

3. ZE Instrumentenentwicklung und Erprobung (Dipl.-Ing. M. Grote)  
 Grote, Manfred  
 Brand, Horst  
 Keinemann, Friedrich-Karl  
 Klein, Peter  
 Morcinek, Peter  
 Oehmke, Karl-Heinz  
 Schlüter, Horst  
 Weidemann, Gerhard
4. ZE EDV (Dr. Th. Plesser)  
 Plesser, Theo, Dr.  
 Brennecke, Brigitte  
 Deymann, Jürgen  
 Dreher, Klaus  
 Huber, Jürgen  
 Kritzler, Heidrun  
 Plewe, Jörg  
 Röse, Friedhelm  
 Siedenberg, Gottfried  
 Teckhaus, Ludwig  
 Wache, Bettina  
 Wapner, Frank
5. ZE Sicherheit/Materialfluß/Mikrosonden, SMM (D. Krüger)  
 Krüger, Detlef  
 Czerwinski, Franz Josef  
 Kotschenreuther, Henriette  
 Baumgärtl, Horst  
 Anders, Ruth  
 Malinkewitz, Gudrun  
 Zimmelka, Wolfgang
6. ZE wiss. Schreibdienst (P. Jurczynski, z.Zt. S.Ziegler)  
 Jurczynski, Petra (beurl.)  
 Wagner, Nicola (beurl.)  
 Helle, Gudrun  
 Ziegler, Silke  
 Zylka, Christa
7. ZE Versuchstierhaltung (R. Kozianka)  
 Kozianka, Rosel-Inge  
 Heinrichs, Paul  
 Grygier, Manuela  
 Kehrbaum, Helga
8. ZE Glastechnik (Dr. D. v. Wulffen)  
 v. Wulffen, Dietrich, Dr.  
 Seiler, Detlef



Altmann, Annegret  
 Fink, Christel  
 Niedurny, Maria  
 Marowski, Franz Josef

Niewolik, Elisabeth  
 Schäler, Renate  
 Westermann, Ingeborg

## SONSTIGE WISSENSCHAFTLICHE ORGANISATIONSEINHEITEN

### a) Emeriti

- |  |  |
|--|--|
| 1) <u>Prof. D.W. Lübbers</u><br>Holst, Gerhard | 2) <u>Prof. B. Hess</u><br>Chizhov, Igor, Dr. (Abt. III) |
|--|--|

### b) Z.Zt. dem Kollegium direkt unterstellte Arbeitsgruppen

- |   |  |
|---|--|
| 1. <u>Prof. Acker</u><br>Acker, Helmut, Prof. Dr.<br>Bölling, Brigitte<br>Horn, Peter<br>Merten, Evelyne<br>Porwol, Torsten, Dr.<br>Wartenberg, Maria, Dr.                                      | 2. <u>Prof. Dr. K. Gerwert</u><br>Gerwert, Klaus, Prof. Dr.<br>Brudler, Ronald<br>Cepus, Valentin<br>Eichas-Nell, Regina (beurlaubt)<br>Heßling, Benedikt<br>Le Coutre, Johannes<br>Rink, Thomas<br>Troullier, Agnes |
| 3. <u>PD Dr. S.C. Müller</u><br>Müller, Stefan C., PD Dr.<br>Beyer, Ingrid<br>Böckmann, Martin<br>Dahlem, Markus<br>Grill, Steffen<br>Krüger, Frank<br>Matthiessen, Kai<br>Hartenberger, Ulrich | 4. <u>PD Dr. M. Markus</u><br>Markus, Mario, PD Dr.<br>Almeida, Pedro<br>Borchers, Frank<br>Dütemeyer, Thomas  |

Merreddy, Ram, Dr.  
 Neumann, Bettina  
 Schmidt, Bernd  
 Stock, Daniel  
 Stocker, Helmut  
 Ungvarai-Nagy, Zsuzsanna, Dr.  
 Warda, Andrea  
 Zykov, Vladimir, Dr.

5. Dr. Th. Plesser  
 Plesser, Theo Dr.  
 Hübner, Rosemarie  
 Müller, Karl-Heinz

6. Dr. A. Boiteux  
 Boiteux, Arnold, Dr.

7. Dr. H. Prinz  
 Prinz, Heino, Dr.

8. Dr. M.A. Delpiano  
 Delpiano, Marco Antonio, Dr.  
 Danz, Carmen (Abt. I)

#### **STUDENTISCHE HILFSKRÄFTE (1-6 Monate)**

Blumenschein, Thomas (EDV)  
 Focke, Nikola (VAD)  
 Frebel, Thilo (VAD)  
 Kloß, Guy (PD Dr. Markus)  
 Köster, Thomas (Prof. Lübbers)  
 Kusch, Ingo (PD Dr. Markus)  
 Wörner, Marcel (Bibliothek)

Lehnen, Markus (VAD)  
 Meyer, Marcel (Baumgärtl)  
 Schärtel, Sabine (Prof. Goody)  
 Schreiner, Claudia (Prof. Kinne)  
 Storb, Ulrich (EDV)  
 Treek, Annemarie (Prof. Lübbers)  
 Pagenkämper, Frank (Lager)

## Index

- 31P-NMR, 32
- 3D-Rekonstruktion, 77
- Abfall-Entsorgungskonzept, 100; 101
- Aldosereduktase, 17
- Amilorid, 26; 62
- antiidiotypische Antikörper, 80
- Antikörper, 27; 35; 36; 78; 81; 82
- ATP Hydrolyse, 112
- Bacteriorhodopsin, 32; 53
- BCECF, 23
- Belousov-Zhabotinsky-Reaktion, 44; 45; 46; 48; 50; 53; 96
- Benzothiazepin, 57
- Bindungskinetik, 58
- Bioreaktor, 80
- Blasenzellkultur, 17
- Blasenzelltumor, 16
- Bodenkleinarthropode, 94
- Bromosulphthalein, 23
- Bumetanid, 80
- Bürstensaummembran, 14; 15
- Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung, 24; 25
- Ca<sup>2+</sup>-Kanal, 16; 24; 57; 60; 61
- Ca<sup>2+</sup>-Strom, 62
- cAMP, 35
- Chaos, 50
- Chemische Linsen, 50
- Chloridzelle, 28
- D-Glukosetransport, 2
- Darm, 13
- Datensicherheit, 89
- Depolarisation, 23
- Dihydropyridine, 58; 61
- Diltiazem, 16; 57
- Dioxin-Rezeptor, 59
- Drosophila-Larve, 29
- EDV, 86

Elektrolytverteilung, 28; 30  
Elektronenmikroskopie, 73  
Endothelzelle, 61  
Erdbebenstatistik, 51  
Erythropoietinproduktion, 42  
Festkörper-NMR-Spektroskopie, 32  
Flunder, 3; 13  
Flunderniere, 3  
Fluoreszenzfarbstoff, 42; 66  
Forellenniere, 14; 15  
FTIR-Spektrum, 112  
Fura-2, 24  
Gallensäure, 22  
Gefahrstoffkatalog, 101  
Gefahrstoffverordnung, 100  
Gegenstromsystem, 77  
Gelreaktor, 45  
Geschichte, 70  
Gewebespektren, 65  
Glasmikroelektrode, 20  
GTP, 59  
GTPase, 131; 132; 144  
H<sup>+</sup>-ATPase, 111; 112  
H-K-ATPase, 78; 79  
H<sub>2</sub>-Partialdruckmessung, 72  
Haifisch, 76  
Haifischniere, 3; 79  
Halobakterium halobium, 111  
Hautdurchblutung, 64  
Heatshock proteins, 131  
Henle, Jakob, 17  
HepG2-Zelle, 42  
Herzmuskel, 47  
Hohlfaser-Bioreaktor, 95  
Hydra-Polypen, 30  
Hypoxie, 60  
IMCD-Zelle, 23; 25  
Immuncytochemisch, 73

Indometacin, 35  
Innervation, 74  
Integrin-Untereinheit, 27  
Interferon, 42  
intestinal, 73  
Intramembranpartikel, 76  
intrarenale Venen, 74  
Intrazelluläre Speicher, 24  
intrazelluläres Kalzium, 42  
K<sup>+</sup>-Kanal, 27; 61; 62  
K<sup>+</sup>-Leitfähigkeit, 22  
Kaninchenniere, 78  
Katzenhai, 74  
Kiemen, 28  
Knorpelfisch, 73; 77  
konfokale Laserrastermikroskopie, 19; 23; 25; 26; 27; 42; 43  
Kryo-Raster-Kraft-Mikroskop, 30  
Kryoschnitt, 29  
Kryostanze, 28  
Leberzelle, 19; 20; 21; 23; 28  
Liganden, 57; 58  
LLC-PK1-Zelle, 34  
Lyapunov-Exponent, 51  
Mach-Zehnder-Interferometer, 48  
Magnesium, 62  
Malpighi-Gefäß, 29  
Melanomzelle, 42  
Membranpotential, 22; 42  
Membranprotein, 30; 32  
Mg-Transport, 15  
Mikroelektroden, 92  
Mikroinjektionssystem, 71  
Mikronadelelektrode, 72  
mikrozirkulatorische Einheit, 65  
MinK-Kanal, 12  
multi drug resistance, 16  
Muschelpigment-Muster, 51  
Musterbildung, 44

N-glycosylation, 37  
Na<sup>+</sup>-Konzentration, 20  
Na<sup>+</sup>-Taurocholat-Kotransporter, 22  
Na<sup>+</sup>/D-Glukose-Kotransport, 11; 14; 34; 37; 38; 39  
Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauscher, 20; 26  
Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, 21  
Na/P<sub>i</sub>-Kotransportsystem, 3; 13  
Nadelelektrode, 94; 95; 97; 98  
Natronobakterium, 111  
Nebenniere, 76  
Nephron, 76  
Netzhaut, 47; 49  
Niere, 3; 14; 15; 73; 76; 78  
Nierentubulus, 17  
Nifedipine, 61  
NMR-Spektroskopie, 32  
O<sub>2</sub>-Flux-Optode, 66  
O<sub>2</sub>-Partialdruckmessung, 67; 72; 96; 97; 98  
Öffentlichkeitsarbeit, 71  
Oligonucleotid-Synthese, 109  
Oozyten, 13  
Osmoregulation, 24; 26  
Oszillation, 47  
p21H-ras, 114; 131; 132; 133; 144  
Patch-Clamp-Technik, 60; 62  
PCMB, 16  
PCMBS, 16  
pH, 23; 25; 42; 43; 61  
Phenylalkylamine, 58  
Phlorrhizin, 2; 3  
Phospholipid, 32  
Photoaffinitätsmarker, 38  
pO<sub>2</sub>-Elektrode, 45; 64; 80; 92  
Polymernetzwerk, 98  
Protein-Sequenzierung, 109  
Protonen-Translokation, 112  
proximaler Tubulus, 74  
Rapid spektrometer, 65

Ras-related nuclear protein, 59  
Rastertransmissionselektronenmikroskop, 28  
Reaktions-Diffusions-Struktur, 46  
Rochenniere, 3  
Röntgenmikroanalyse, 20; 28  
*S. cerevisiae*, 55  
Sammelrohrzelle, 24; 26; 78  
Sauerstoffaufnahme, 64; 94  
Sauerstoffsensor, 41  
Sauerstoffversorgung, 65; 95; 99  
Sauerstoffversorgung der Haut, 65  
Sauerstoffversorgung des Gehirns, 65  
Sauerstoffversorgung des Herzens, 65  
Sequenzanalyse, 109; 110  
Sicherheit, 90  
Signal transduction, 133  
Simulationsrechnung, 65  
Software, 86; 88; 110  
Sphäroid, 42  
Spiraldynamik, 47  
Stilben-Derivat, 22  
Strukturanalyse, 32  
TALH-Zelle, 80  
Technologietransfer, 71  
Trajektorie, 53  
Trehalose, 55  
Trifluoperazin, 112  
Turbulenz, 50  
Uterus, 27  
vasoaktiv, 73  
vasoaktives intestinales Peptid (VIP), 73  
verapamil, 16  
Vernetzung, 89  
Video-Meßsystem, 83  
Voltage-Clamp, 61  
Volumenregulation, 19; 21; 23  
Wellen, 44; 46; 53  
Wissenstransfer, 71

Xenopus laevis, 13  
zellulärer Automat, 51  
Zytochrom b558, 41  
Zytokine, 42