Preisverleihung 1996

STIFTUNG PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Heft Nr. 24

Herr Dr. Lukas C. Kühn
«Molekulare Mechanismen zur Steuerung des Eisenstoffwechsels»

Herr Professor Dr. Peter Sonderegger
«Wegweiser- und Sensormoleküle beim gezielten Wachstum der Nervenzellausläufer»

STIFTUNG
PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Dreiundzwanzigste Preisverleihung

20. November 1996
Zürich

Heft Nr. 24 der Schriftenreihe
Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Kurhausstrasse 28, 8032 Zürich

INHALT

Vorwort des Stiftungsrates	5
Laudatio von Herrn Professor Dr. Henri Isliker auf den ersten Preisträger, Herrn Dr. Lukas C. Kühn	9
Urkunde für Herrn Dr. Lukas C. Kühn	13
Kurzbiographie von Herrn Dr. Lukas C. Kühn	15
Festvortrag von Herrn Dr. Lukas C. Kühn über das Thema: «Molekulare Mechanismen zur Steuerung des Eisenstoffwechsels»	17
Laudatio von Herrn Professor Dr. J.H.R. Kägi auf den zweiten Preisträger, Herrn Professor Dr. Peter Sonderegger	39
Urkunde für Herrn Professor Dr. Peter Sonderegger	43
Kurzbiographie von Herrn Professor Dr. Peter Sonderegger	45
Festvortrag von Herrn Professor Dr. Peter Sonderegger über das Thema: «Wegweiser- und Sensormoleküle beim gezielten Wachstum der Nervenzellausläufer»	47
Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta	67
Ehrentafel der Preisträger	73

VORWORT

Professor Dr. Alex F. Muller, Präsident

Als neuer Präsident der Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta ist es mir Pflicht und Freude, den beiden Vorgängern Dr. Hans W. Kopp und Dr. Alfred Hartmann meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für ihre erfolgreiche und tatkräftige Führung der Stiftung über mehr als 20 Jahre.

Anfänglich wurde nur der Cloëtta-Preis jährlich vergeben an einen oder, wie in den letzten Jahren, an zwei Forscher. Wir müssen gestehen, dass unter den 42 Preisträgern nur zweimal eine Forscherin ausgezeichnet wurde! Hier besteht eindeutig Nachholbedarf, den wir in Bälde zu korrigieren hoffen.

Seit zwölf Jahren ist es der Stiftung möglich, Forschungsstellen für fünf Jahre, ausnahmsweise für sieben Jahre, zu finanzieren. Namhafte Beträge konnten so jungen Nachwuchskräften zur Verfügung gestellt werden. Ähnlich den SCORE- oder START-Stipendien des Schweizerischen Nationalfonds leistet hiermit die Cloëtta-Stiftung einen nicht zu unterschätzenden Beitrag an den akademischen Nachwuchs unserer Hochschulen. Die Stiftungsräte sind sich dieser äusserst wichtigen Aufgabe voll bewusst und bemühen sich, sie nach bestem Wissen und Können zu erfüllen. Es gibt für einen Hochschullehrer keine edlere Aufgabe als die Förderung der jungen, heranwachsenden Generation. Die auf uns zukommenden finanziellen Engpässe sind ein Grund mehr, dem Nachwuchs grösste Aufmerksamkeit zu schenken. Je knapper das Budget, desto überzeugender müssen die Vorbereitungen und die Qualität des Nachwuchses ausfallen. Dadurch sind wir auch gegenüber den Behörden und den Steuerzahlern in jeder Beziehung glaubwürdig und der uns anvertrauten Verantwortung gewachsen.

Wenn wir aktiv bei der Förderung des akademischen Nachwuchses beteiligt sind, so wollen wir auch ganz am Anfang der Forscherkarriere unseren Anteil leisten, indem wir Medizinern ein Zweitstudium naturwissenschaftlicher Richtung ermöglichen. Es handelt sich um eine

Initiative, die gemeinsam mit dem Nationalfonds, der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften und anderen privaten Stiftungen ergriffen wurde. Damit soll der Erfahrung Rechnung getragen werden, dass die medizinische Grundlagenforschung in zunehmendem Masse mit Problemen konfrontiert wird, deren Lösung mehr und mehr Kenntnisse aus naturwissenschaftlichen Disziplinen erfordert. Wir sind überzeugt, dass damit jungen, forschungsorientierten Medizinern eine einmalige Gelegenheit geboten wird, sich das Rüstzeug für eine fruchtbare Karriere anzueignen. Der Dialog zwischen Medizinern und den sogenannten exakten Naturwissenschaftern soll damit auch gefördert werden.

Mit der neuen dreijährigen Amtsperiode sind auch personelle Wechsel im Stiftungsrat verbunden. Neben den bereits erwähnten zwei ehemaligen Präsidenten ist auch Professor Dr. Henri Isliker zurückgetreten. Ich möchte im Namen des Stiftungsrates den drei scheidenden Kollegen unseren besten Dank aussprechen für ihre langjährige, effiziente Mitarbeit. Sie haben, meine Herren, einen entscheidenden und wertvollen Beitrag geleistet, für den wir Ihnen äusserst dankbar sind.

Der Stiftungsrat hat beschlossen, vorläufig nur eine Neuwahl vorzunehmen in der Person von Dr. iur. Hans Bollmann, Rechtsanwalt und Partner im Anwaltsbüro Pestalozzi Gmür & Patry. Wir freuen uns über den Beitritt von Dr. Bollmann in den Stiftungsrat und wünschen ihm eine erfolgreiche Tätigkeit in unserem Kreise.

Wir haben uns heute abend vereinigt, um unsere beiden Preisträger zu ehren. Wir freuen uns, auch dieses Jahr zwei Forschern unsere Anerkennung aussprechen zu können und sie für ihre Arbeit auszuzeichnen.

Herr Dr. Lukas Kühn hat auf dem Gebiet der mRNA Stabilitätsforschung sowie der Erforschung der molekularen Grundlagen der Kontrolle des Eisenstoffwechsels Pionierarbeit geleistet.

Herr Professor Dr. Peter Sonderegger ist ein innovativer Forscher; er ist am Institut für Biochemie der Universität Zürich tätig. Er hat international anerkannte Arbeiten auf dem Gebiet der Neurophysiologie vorgelegt.

Beide Preisträger sind international anerkannt. Mit der Verleihung des Cloëtta-Preises sollen ihr Einsatz und ihre Leistungen gewürdigt wer-

den. Der Preis möge auch ein Ansporn für ihre weitere Tätigkeit sein. Unser Dank gilt auch den beiden Laudatoren, Herrn Professor Henri Isliker und Herrn Professor Jeremias Kägi. Ihre Zusage ehrt und freut uns.

Zum Schluss meiner Ausführungen sei es mir gestattet, meinen Kollegen des medizinischen Ausschusses herzlich zu danken für ihre kostbare und effiziente Zusammenarbeit. Dank ihrer Mithilfe konnten die Aufgaben der Stiftung gemäss deren Zweck erfüllt werden.

Wir möchten auch unsere Anerkennung aussprechen für die ausgezeichnete Arbeit, die das Sekretariat unter Leitung von Frau Brigitt Schai-Kopp, Geschäftsführerin unserer Stiftung, geleistet hat. Die beträchtliche administrative Arbeit wurde prompt und sorgfältig erledigt. Wir schätzen diese Hilfe und Unterstützung.

p.s. Kurz vor Redaktionsschluss erreichte uns die Nachricht, dass unser früherer Preisträger Professor Dr. Rolf M. Zinkernagel, Ordinarius für experimentelle Immunologie und Direktor des gleichnamigen Instituts der Universität Zürich, den Nobelpreis für Medizin erhalten hat. Wir gratulieren ihm sehr herzlich zu dieser ehrenvollen Auszeichnung und freuen uns ganz besonders, dass mit ihm schon der zweite Träger des Cloëtta-Preises diese höchste Würde erlangt.

ELOGE DU DOCTEUR LUKAS C. KÜHN

Professeur Henri Isliker

Ma première rencontre avec notre lauréat date de 1973, peu après qu'il eut reçu son diplôme en biochimie à l'EFPZ. Originaire de Winterthour, il semblait faire partie de ces Suisses allemands qui, une fois franchi le tunnel de Chexbres – émerveillés par la vue du Lac Léman et des vignobles – jettent leur billet de retour par la fenêtre du train... .

Vous étiez alors venu à l'Institut de Biochimie, nous demander humblement si nous n'avions pas éventuellement un poste d'assistant. En fait, il n'y avait aucune ouverture et nous ne savions strictement rien sur vous. Cependant, vos yeux pétillants d'intelligence – la barbe n'existait pas encore pour détourner notre attention – nous ont convaincus de vous engager immédiatement.

Très vite, vous avez été repéré par Jean-Pierre Kraehenbuhl, avec lequel vous avez fait une thèse brillante sur le récepteur de l'immunoglobuline A. Ce travail, fondamental pour l'immunité des muqueuses, a valu à M. Kraehenbuhl le Prix Cloëtta en 1979 et votre contribution fut dûment évoquée à cette occasion!

Par la suite, vous avez reconnu l'impact que la génétique moléculaire allait exercer sur la biologie. Vous avez obtenu une bourse pour aller travailler à Yale chez Frank Ruddle, l'un des pionniers du transfert de gènes. Vous y avez cloné le récepteur de la transferrine, établi la séquence de cette dernière, puis vous vous êtes consacré entièrement à sa fonction. Vous revenez à Lausanne, à l'Institut Suisse de Recherches Expérimentales sur le Cancer, et devenez l'expert reconnu de la régulation du fer. Il n'y a pas de congrès international en la matière qui ne peut siéger dignement sans votre participation. Même si vous adorez voyager, vous déclinez la plupart des invitations afin de rester au laboratoire.

Le récepteur de la transferrine se trouve à la surface de la plupart des cellules, mais surtout sur les cellules cancéreuses, afin d'assurer leur besoin en fer. Il est presque incroyable que – grâce aux médiateurs que

le Lauréat décrira – chaque cellule soit capable d'évaluer son taux de fer libre afin d'éviter les effets néfastes d'une surcharge ou d'un taux insuffisant de fer libre.
J'avoue que j'ai un grand faible pour le métabolisme du fer. Dans les années cinquante, le destin m'a fait suivre des pistes semblables à celles de Lukas Kühn: avec un doctorant, nous nous efforcions de purifier les IgA à partir du lait maternel et nous avons isolé – pour la première fois et sans le savoir – la transferrine rose du lait, que nous avons baptisée «lactoferrine». En faisant de l'ordre récemment, j'ai découvert un clou de 4g, que je présentais aux étudiants comme l'équivalent de la quantité de fer contenue dans le corps humain. Je m'étendais alors avec passion sur les différents compartiments où ce fer était distribué.
Certains penseront que le Schaffhousois que je suis – immigré à Lausanne – profite un peu de l'occasion pour faire son propre éloge. C'est peut-être ce parallélisme qui me vaut le plaisir de prononcer cette Laudatio, bien que je ne fasse plus partie du comité de sélection Cloëtta. Lukas Kühn a réussi à pénétrer les secrets de la régulation du fer d'une manière réellement astucieuse.
Si notre lauréat a largement profité de l'infrastructure du Centre d'Epalinges, il a conduit ces recherches d'une manière totalement indépendante et il m'a aussi donné une leçon que je n'oublierai pas. Dans diverses commissions, par exemple au Fonds national, j'avais pris l'habitude de prétendre sur un ton docte qu'un chercheur unique ne pouvait pas faire face à la compétition internationale. – Lukas Kühn m'a prouvé le contraire: pendant plusieurs années, son groupe n'était formé que d'un laborant et de lui-même. Mais il était en permanence en liaison avec des chercheurs des quatre continents, se tenant mutuellement au courant de leurs résultats. Ainsi, le groupe s'est développé en flèche avec un apport relativement modeste.
Aujourd'hui, chaque médecin est conscient du rôle crucial de la régulation du fer pour expliquer la pathogénèse des maladies de carence et d'excès. Des surcharges de fer se manifestent non seulement dans l'hémochromatose, mais plus insidieusement dans la formation des radicaux d'oxygène libres, dont le radical hydroxyl. Celui-ci est impliqué dans beaucoup de maladies de vieillesse, telles que l'infarctus du myocarde et certains cancers. C'est dire qu'il y a du pain sur la planche et que la communauté biochimique de Suisse, dont notre lauréat vient

d'exercer le mandat de président, est fière de lui. Dans toutes ses fonctions, Lukas Kühn s'efforce de rapprocher les Suisses allemands des romands. Le fait qu'il ait choisi d'acquérir la bourgeoisie de Chexbres, où il vit avec sa famille, est significatif et son parcours devrait servir d'exemple à nos confédérés.

DER CLAY-AWARD 1996

WIRD

VERLIEHEN AN

LUKAS C. KÜHN

FÜR SEINE HERVORRAGENDEN ARBEITEN
ZUR ENTSTEHUNG VON KREBS
AUF DEM GEBIET DER MOLEKULARBIOLOGIE
SOWIE FÜR DIE ENTDECKUNG DER MOLEKULAREN URSACHEN DER
GENETISCH BEDINGTEN PROSTATAKREBSE

ZÜRICH, 21. NOVEMBER 1996

FÜR DEN VERWALTUNGSRAT

DER PRÄSIDENT

DER VIZEPRÄSIDENT

DER SEKRETÄR

Dr. Lukas C. Kühn

CURRICULUM VITAE

Name:	Dr. Lukas C. Kühn
Geburtsdatum:	1. April 1948 in Aarau
Zivilstand:	verheiratet mit Anne-Marie Laborde; 2 Kinder
Bürgerort:	Winterthur und Chexbres

Ausbildung:

1955 – 1967	Primarschule in Brugg; Realgymnasium Basel; Maturität Typ B
1967 – 1972	Studium und Diplom in Biochemie; Abteilung für Naturwissenschaften der ETH Zürich
1974 – 1979	Assistent am Institut für Biochemie der Universität Lausanne; Doktorarbeit bei Prof. Jean-Pierre Kraehenbuhl
1979	Docteur ès Sciences mit "Félicitations du jury"

Berufliche Laufbahn:

1979 – 1981	Postdoctoral Fellow am Institut für Biochemie der Universität Lausanne
1981 – 1983	Postdoctoral Fellow am Department of Biology, Yale University, USA, bei Prof. Frank Ruddle
1983 – 1984	Fellow am Schweizerischen Institut für Experimentelle Krebsforschung (ISREC), Epalinges
1985 – 1988	Chercheur associé am ISREC, Epalinges
seit 1988	Chercheur établi am ISREC, Epalinges

Ehrungen:

1979	Preis der Universität Lausanne für Doktorarbeit
1981 – 1983	Stipendium für fortgeschrittene Forscher des Schweizerischen Nationalfonds
1986 – 1995	Sekretär, Vize-Präsident und zuletzt Präsident der Schweizerischen Gesellschaft für Biochemie
1989	Robert Wenner Preis der Schweizerischen Krebsliga

MOLEKULARE MECHANISMEN ZUR STEUERUNG DES EISENSTOFFWECHSELS

L. Kühn

Eisen ist notwendig für jegliches Leben. So findet man das Metall meist im aktiven Zentrum wichtiger Proteine und Enzyme, entweder in Häm, in [Fe-S]-Komplexen, oder direkt ans Protein gebunden. Das bekannteste Eisen enthaltende Protein ist das Hämoglobin in den roten Blutkörperchen, dessen Eisen den Sauerstoff bindet und ihn zu den Geweben transportiert. Im Muskel transportiert das Myoglobin gleichfalls Sauerstoff. In vielen Enzymen wird aber die Oxidation und Reduktion von Eisen zur Aktivität verwendet. Solcher Austausch von Elektronen findet vor allem in den Mitochondrien zur Gewinnung von Energie statt und benötigt eine grosse Anzahl verschiedener Eisen enthaltender Proteine, so u.a. die Cytochrome. Gleichfalls unumgänglich zur Energiegewinnung sind die mitochondrialen Enzyme des Citratzyklus, von denen mehrere Eisen enthalten. Aber auch im Zytoplasma der Zelle gibt es Enzyme mit Eisen, ohne die eine Zelle nicht überleben könnte. Ich möchte hier nur die Ribonukleotidreduktase erwähnen, welche die Bausteine zur Synthese der DNS bereitstellt. Um diese Proteine herstellen zu können, muss jede Zelle adäquate Mengen an Eisen erhalten. Der Bedarf ist besonders gross bei wachsenden Zellen, vor allem auch Tumorzellen, die bei jeder Zellteilung all ihre Enzyme verdoppeln müssen.

Woher erhalten wir unser Eisen? In der inorganischen Natur liegt das Metall vor allem als wasserunlösliches Eisen(III)hydroxyd vor, das als solches von Lebewesen nicht absorbiert werden kann. Pflanzen, Pilze und Bakterien haben aber sogenannte Eisenchelatoren entwickelt, spezielle Substanzen, die sie in die Umgebung absondern und die Eisen binden, so dass es schliesslich an der Oberfläche dieser Arten absorbiert werden kann. Anders bei Tieren – hier wird Eisen ausschliesslich durch die Nahrung aufgenommen. Beim normalen, erwachsenen Menschen gelangen, je nach Bedarf, etwa 1 bis 3 mg Eisen pro Tag durch den Dünndarm in die Blutzirkulation, wobei sich der genaue

Mechanismus dieser Aufnahme nach unserer Kenntnis entzieht. Es ist bemerkenswert, dass die spärliche Menge an absorbiertem Eisen ziemlich genau den täglichen Verlust an Eisen im Körper ausgleicht. Man muss also annehmen, dass es eine Steuerung der Eisenaufnahme gibt, so dass die 4 bis 5 g Eisen im Körper konstant bleiben.
Sobald Eisen ins Blutserum gelangt, bindet es sofort an ein Eisentransportprotein, das Transferrin. Jedes Transferrin kann sich mit je zwei Fe^{3+}-ionen beladen. Transferrin hat dreierlei Aufgaben: es verhindert, dass Eisen unlöslich wird, es verhindert seine Ausscheidung in der Niere, und vor allem bringt es Eisen zu den Zellen. Ein Diagramm illustriert die mengenmässigen Verhältnisse der Verteilung (Abb. 1).

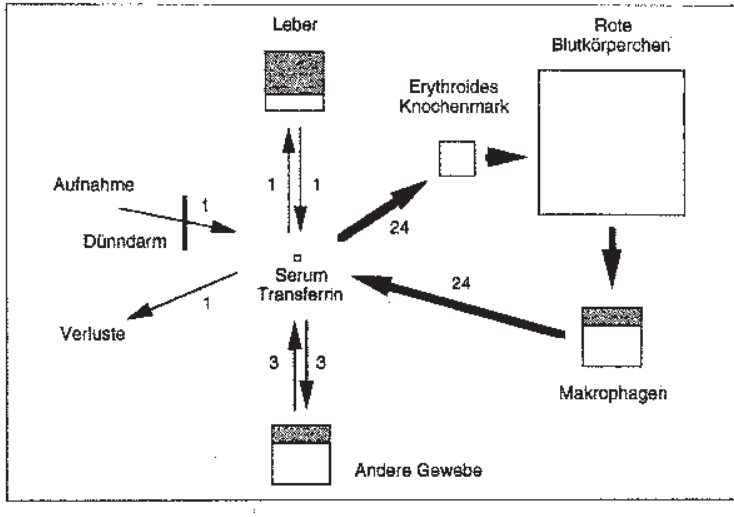


Abb. 1: Schema der Verteilung des Eisens im menschlichen Körper.
Die Oberfläche jedes Quadrats entspricht etwa der relativen Menge an Eisen im entsprechenden Gewebe, wobei das Eisen im Ferritin grau dargestellt ist. Die Pfeile geben an, wie viele mg Eisen pro Tag ausgetauscht werden.

Der grösste Anteil des zirkulierenden Transferrin-Eisens, etwa zwei Drittel, wird im Knochenmark zur Hämoglobinsynthese gebraucht. Da in jedem Gewebe die Menge an Eisen konstant bleibt, kommt gleichviel Eisen aus dem Abbau von Hämoglobin, als Folge der Zerstörung alter Blutkörperchen durch Makrophagen, ins Serum zurück. Ein ähn-

licher Austausch findet mit anderen Geweben statt. Bemerkenswert ist, dass das Recycling bei weitem die Neuaufnahme aus dem Darm übersteigt. Dabei wird pro Tag kaum 1% des gesamten Eisens wiederverwendet, und nur etwa 0.2 bis 0.5 Tausendstel gehen dem Körper verloren – ein wahrhaft sparsames Umgehen mit dem Metall. Es gilt noch zu erwähnen, dass der gesunde Mensch über eine Reserve an Eisen verfügt, dem Ferritin, das in allen Geweben vorkommt und etwa 15% des Eisens im Körper enthält. Ferritine bestehen aus Aggregaten von 24 kurzen Proteinketten, die sich zu einer Sphäre mit einem Hohlraum anordnen, so dass bis zu 4500 Eisenatome ins Innere deponiert werden können. Die Menge an Ferritin ist variabel und wird dem vorhandenen Überschuss an Eisen angepasst (1).
Obwohl die Verteilung von Eisen präzise ausgeklügelt ist, kommt es manchmal zu einem gestörten Gleichgewicht. Starkes Zellwachstum von Kindern oder dem Fötus bei der Mutterschaft kann zur Anämie führen, da viel Eisen den neuen Geweben zugeführt wird und weniger Eisen zur Hämoglobinsynthese vorhanden ist. Veränderungen in der Eisenverteilung können auch durch zirkulierende Peptidhormone entstehen: zum Beispiel wenn Erythropoietin, als Folge der Höhenanpassung, die Herstellung von Blutkörperchen stimuliert. Oder bei Entzündungen, wenn Ferritin in Geweben zunimmt, was zu Anämie führt. Es wird vermutet, dass dabei Interleukine eine Rolle spielen. Ebenso bewirken akute Eingriffe wie Blutverlust oder Bluttransfusion mit Erythrozyten eine starke Abnahme oder Zunahme an Eisen. In vielen Fällen ist die Aufnahme im Darm gestört – fehlendes Eisen oder ungünstige Zusammensetzung in der Nahrung sind die Ursachen weitverbreiteter Anämie in Entwicklungsländern. Aber auch übermässige Aufnahme im Darm ist bekannt – eine in ihren molekularen Zusammenhängen noch unverstandene Erbkrankheit, die Hämochromatose, an der etwa 1 in 800 Personen erkranken, ist wahrscheinlich auf einen Fehler in der Dosierung der Eisenaufnahme zurückzuführen. Die Betroffenen nehmen täglich etwas zuviel Eisen auf, das sich nach und nach im Körper ansammelt und mit fortschreitendem Alter u.a. den Pankreas und die Leber schädigt. Die Inzidenz von Leberkrebs ist bei Hämochromatose 200-fach erhöht.
Dies bringt mich zum letzten Aspekt dieser Einführung. Eisen ist nicht nur ein notwendiges, sondern auch ein potentiell gefährliches Element.

Dies gilt vor allem für Eisen, das nicht an Protein gebunden ist, wie es zum Teil bei Eisenüberladung auftritt. Wir wissen heute, dass solch freies Eisen die Entstehung von Hydroxylradikalen aus Wasserstoffperoxid und Superoxid bewirkt, welche sich dann an Lipide und Nukleinsäuren anlagern und dadurch Membranen und DNS beschädigen. Es wird vermutet, dass die mutagene Wirkung dieser Radikale eine direkte Ursache von Krebs darstellt. Es ist deshalb für alle Zellen wesentlich, die Aufnahme und Verwendung von Eisen genauestens zu dosieren.

Kontrolle der Eisenaufnahme und -ablagerung in Zellen

Damit sind wir am Ausgangspunkt unserer Arbeit. Wie gelangt Eisen in Zellen? Und vor allem, wie können Zellen kontrollieren, dass sie genügend, aber nicht zu viel Eisen aufnehmen? Das entscheidende Protein sitzt an der Zelloberfläche und heisst Transferrinrezeptor (Abb. 2). Seine Funktion wurde vor allem durch die Arbeiten von Morgan (2) und einiger anderer vor 15 Jahren aufgeklärt. Dieses Membranprotein bindet selektiv und mit hoher Affinität ($K_d = 5x10^{-9}$ M) an Eisen beladenes Transferrin aus dem Serum. Rezeptor und Transferrin werden danach sofort in Vesikel verpackt und zu einem internen Endosom gebracht. Hier löst sich das Eisen unter dem Effekt eines leicht sauren pHs vom Transferrin, gelangt durch einen nicht aufgeklärten Membrantransport ins Zytoplasma, und wird dann entweder in Proteine eingebaut oder in Ferritin abgelagert. Das Apo-transferrin, nunmehr ohne Eisen, kehrt zusammen mit dem Rezeptor wieder an die Zelloberfläche zurück, und löst sich dort vom Rezeptor ab. Dieser Zyklus dauert kaum 15 Minuten, wobei mit jedem Rezeptor zwei Eisenatome in die Zelle gebracht werden, so gleichsam auf einem kontinuierlichen Förderband.
Da Transferrin in grosser Menge vorhanden ist, wird praktisch jeder Rezeptor beladen, und die Eisenaufnahme ist direkt proportional zur Anzahl Rezeptoren an der Zelloberfläche. Dies wurde schon von Iacopetta und Morgan für hämopoïetische Zellen bewiesen (3) und war auch in unseren Experimenten festzustellen. Eine Erhöhung der Transferrinrezeptoren durch künstliches Einführen des Gens in gezüch-

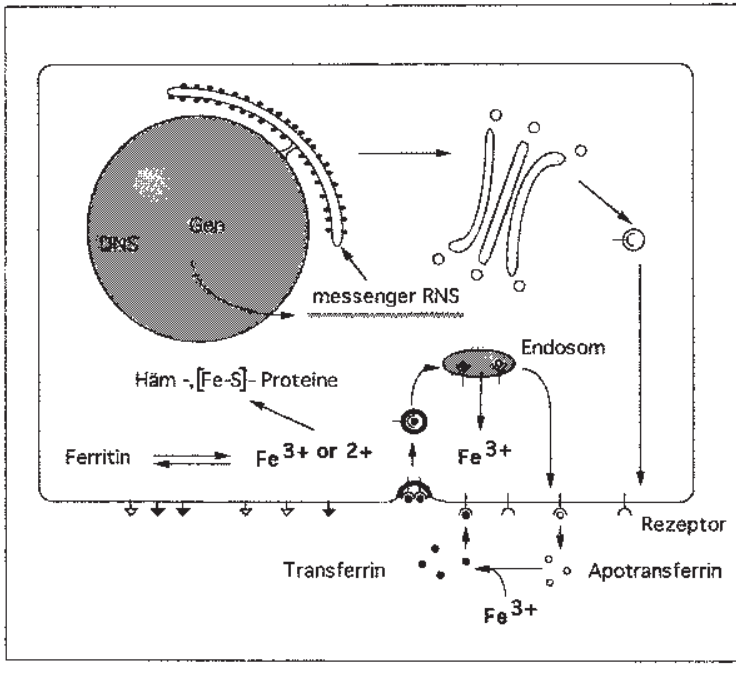


Abb. 2: Eisenaufnahme in Zellen.
Mit Eisen beladenes Transferrin bindet an den Rezeptor und wird durch Endozytose zu den Endosomen gebracht. Hier löst sich Eisen ab und wird ins Zytoplasma transportiert, wo es zur Synthese von Eisen enthaltenden Proteinen verwendet wird oder sich in Ferritin ablagert. Der Rezeptor und das Transferrin kehren zur Zelloberfläche zurück und stehen für die weitere Eisenaufnahme zur Verfügung.

tete Zellen führt zu einer entsprechend höheren Transferrin- und Eisenaufnahme (4). Von gewissen Ausnahmen abgesehen ist der Rezeptor und dessen Endozytose, d.h. das Verpacken in Vesikel, absolut notwendig zur Aufnahme von Eisen. Rezeptoren mit spezifischen Veränderungen – Mutationen – in ihrer zytoplasmatischen Proteindomäne konnten Transferrin normal binden, waren aber unfähig in Vesikel zu gelangen, und ihr Beitrag zur Eisenaufnahme blieb praktisch null (5). Diese Resultate gaben zunächst Auskunft über die zellbiologischen Frage, wie Rezeptoren in Vesikel gelangen. Sie erlaubten auch den Schluss, dass Zellen die Eisenaufnahme in erster Linie durch die

Anzahl Rezeptoren kontrollieren. Wie machen sie das? Es erschien umso angebrachter, danach zu suchen, als die Anzahl Rezeptoren in verschiedenen Zellen klar mit dem Bedarf an Eisen einhergeht. Während wachsende Zellen 10'000 bis 100'000 Rezeptoren haben, sind sie auf den meisten nicht wachsenden Zellen kaum messbar.
Durch unzählige Experimente, auf die ich hier nicht im Detail eingehen kann, kamen wir zur Überzeugung, dass mindestens zwei Komponenten den Anstieg von Rezeptoren im Wachstum bewirken (6). Einerseits wird das Gen wie erwartet vermehrt abgelesen, aber andererseits – und dies war nicht erwartet – ist das bereits vorhandene Eisen in der Zelle ausschlaggebend, wieviel Rezeptor mRNS und Protein die Zelle macht. Werden Zellen in Anwesenheit eines Eisenchelators gezüchtet, so mangeln sie an Eisen, und die mRNS erreicht eine 20- bis 30-fach grössere Menge als in normalem Zellkulturmedium. Diese Erhöhung konnten wir auf eine Veränderung der Stabilität der mRNS zurückführen: in Abwesenheit von Eisen ist die mRNS viel langlebiger, während sie bei normalen Verhältnissen rasch nach ihrer Herstellung wieder zerstört wird. Die Suche nach den mRNS Sequenzen, die für diese Unterschiede verantwortlich sind, erlaubte eine präzise Identifizierung von zweimal 200 Basen in der 3' nicht-translatierten Region (7,8). Dies war an sich schon ein sehr ungewohntes Ergebnis, da bis anhin niemand Regulationssequenzen in diesem Teil des Gens vermutet hatte und auch in keinem andern Gen zuvor eine solche Beobachtung gemacht worden war. Es wurde aber noch spannender...
Unabhängig von uns, untersuchten Munro's und Klausner's Mitarbeiter in den USA, wie Ferritin je nach Eisenspiegel in unterschiedlichen Mengen synthetisiert wird. Die Beobachtung war, dass H- und L-Ferritin mRNS bei hohem Eisenspiegel viel besser übersetzt werden als bei Eisenmangel (1). Wiederum suchten die Autoren nach den verantwortlichen Sequenzen und fanden sie diesmal in der 5' nicht-translatierten Region (9,10). Sie erkannten, dass diese Sequenzen eine spezielle RNS Struktur bilden, eine Art Haarnadel, die an bestimmten Stellen präzise konservierte Basensequenzen aufweist (Abb. 3). Die Struktur wurde «Iron Responsive Element», oder kurz «IRE», getauft. Wenn man experimentell ein IRE in die 5' Region von einem anderen Gen einsetzt, so wird nun auch hier eine eisenabhängige Übersetzung der mRNS sichtbar. E. Leibold, eine Mitarbeiterin von Munro, fragte

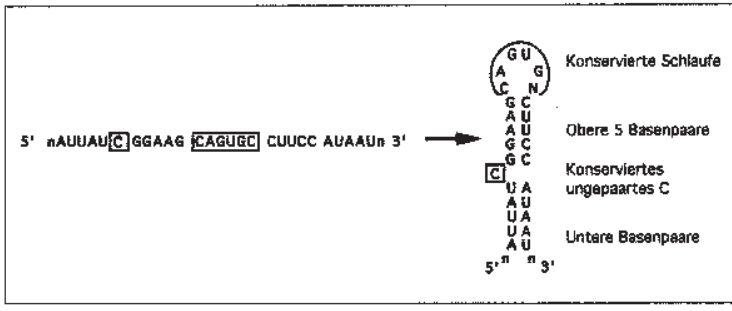


Abb. 3: Die konservierte Struktur des «Iron responsive element».
Die RNS-Sequenz faltet sich, so dass eine Haarnadel entsteht. Im oberen Teil sind immer 5 Basenpaare, deren Sequenz nicht wichtig ist. 5' davon ist immer ein ungepaartes Cytosin (C) und die Sequenz der Basen in der endständigen Schlaufe stets CAGUGN. Im unteren Teil erhöhen zusätzliche Basenpaare die Stabilität. Diese Struktur wurde in allen IRP-regulierten Genen, bis hin zu den Würmern und Insekten, gefunden.

sich, weshalb denn die Übersetzung bei Eisenmangel blockiert war, und sie fand als erste, dass das IRE ein Protein aus dem Zytoplasma bindet, welches nur bei Eisenmangel aktiv wird (11). Wir nennen dieses Protein heute «Iron Regulatory Protein» oder «IRP». Wie neuere Arbeiten zeigen, verhindert IRP, dass sich Ribosomen am 5' Ende der mRNS anlagern können, und deshalb findet keine Übersetzung statt (12).

Eine ausserordentliche Überraschung kam allerdings auch durch eine Beobachtung von Klausner's Mitarbeitern: in der 3' Region des Transferrinrezeptorgens sind 5 sehr ähnliche IREs vorhanden, und zwar genau in den Sequenzen, die gemäss unseren Experimenten zur Stabilitätsänderung der mRNS notwendig sind (13). Schliesslich zeigte E. Müllner aus meiner Gruppe, dass das IRP aus dem Zytoplasma nicht nur ans Ferritin IRE bindet, sondern auch an die 5 IREs in der Transferrinrezeptor mRNS (14). Die RNS-bindende Aktivität des Proteins stieg parallel zur Erhöhung der Transferrinrezeptor mRNS-Stabilität, während eine rasche Inaktivierung des IRPs durch Eisenzugabe die rasche Zerstörung der mRNS zur Folge hat. Wir schlossen daraus, dass die Bindung des IRPs den mRNS-Abbau verhindert. Dies ist heute weitgehend durch Mutanten belegt, aber wir wissen noch nicht, was für Enzyme den RNS-Abbau bewirken (15).

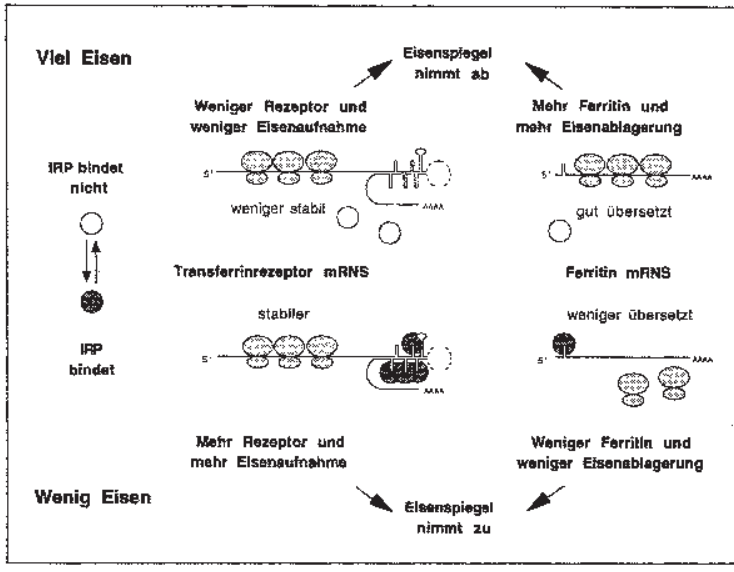


Abb. 4: Modell des Feedback Mechanismus zur Steuerung des Eisenspiegels in Zellen. Die gleichzeitige Kontrolle der Synthese von Transferrinrezeptoren und Ferritin durch IRP ermöglicht es Zellen, einen Mangel oder eine Überladung an Eisen auszugleichen.

Zusammenfassend lässt sich folgendes Modell herleiten (Abb. 4). Sobald Zellen zu wenig Eisen haben, wird IRP aktiv und dadurch werden mehr Transferrinrezeptoren hergestellt. Deshalb nehmen diese Zellen mehr Eisen auf. Zweifellos wird dadurch der zu niedrige Eisenspiegel im Zytoplasma angehoben. Gleichzeitig verhindert das IRP, dass Ferritin hergestellt wird, und deshalb kann auch kein Eisen in die Ablagerungen entweichen, was wiederum den Eisenspiegel anhebt. Die Natur hat es also so eingerichtet, dass zwei der wichtigsten Proteine im Eisenstoffwechsel durch das IRP gegenläufig kontrolliert werden – das eine nimmt zu, das andere ab – dass aber die physiologischen Konsequenzen der beiden Effekte sich kumulieren. Sobald nun Eisen in der Zelle zunimmt, wird nach und nach eine Konzentration erreicht, bei der IRP durch den erhöhten Eisenspiegel inaktiviert wird. Danach kehren sich die Effekte um – weniger Rezeptoren und mehr Ferritin werden synthetisiert, und somit weniger Eisen aufgenommen

und mehr Eisen abgelagert, so dass sich der Eisenspiegel wieder senkt. Auf diese Weise pendelt sich das Eisen bei einer bestimmten Konzentration ein. Es entsteht eine Homeostase, die es der Zelle ermöglicht, stets genug aber nicht zu viel freies Eisen zur Verfügung zu haben. Wir wissen heute, dass das IRP seine RNS-bindende Aktivität ändert, indem es Eisen direkt bindet. Dies bedeutet, dass eigentlich Eisen selbst die aktive Rolle in der Steuerung der Eisenaufnahme innehat, während IRP eher als das Instrument oder der Eisen-«sensor» erscheint. Wir können also behaupten, dass Eisen sich selbst kontrolliert. Es handelt sich deshalb um einen sogenannten «Feedback Mechanismus». In Bakterien wurden schon vor langem Feedback Mechanismen für Genregulation beschrieben. Aber in Tieren ist bis anhin kein anderes Kontrollsystem von solcher Komplexität beobachtet worden.

Der Eisen-«sensor», ein Enzym im Zytoplasma

Um zu verstehen, wie sich die IRP Aktivität durch Eisen verändert, wurde das IRP gereinigt, dann ansequenziert, und auf Grund der Sequenz war es möglich, das entsprechende Gen zu isolieren (16,17). Wie sich herausstellte, ist das IRP ein Protein, das grosse Ähnlichkeit zur mitochondrialen Aconitase aufweist, einem Enzym also, das Citrat in Isocitrat umwandelt. Klausner und Mitarbeiter konnten zeigen, dass IRP in Anwesenheit von Eisen auch selber Aconitase-Aktivität besitzt, und Kennedy und Beinert fanden, dass gereinigte Aconitase aus dem Zytoplasma mit dem IRP identisch ist (18,19). Da die Kristallstruktur des mitochondrialen Enzyms schon seit mehreren Jahren bekannt ist, haben wir auch eine gute Vorstellung über die Struktur des IRP. Folgende Zusammenhänge wurden von uns sowohl in vitro als auch in Zellen gefunden (20,21): IRP wird praktisch von allen Zellen in konstanter Menge hergestellt. Es kommt aber in zwei Formen vor: einer Form ohne Eisen und einer Form mit Eisen (Abb. 5). Die Aconitase-Form mit Eisen entsteht nur, wenn Zellen genügend Eisen besitzen, und das Protein baut in diesem Falle einen [4Fe-4S]-Komplex ein. Der Komplex wird für die Enzymaktivität benötigt. Das Eisen enthaltende Protein kann sich nicht an RNS binden. Wenn nun aber Zellen zu wenig

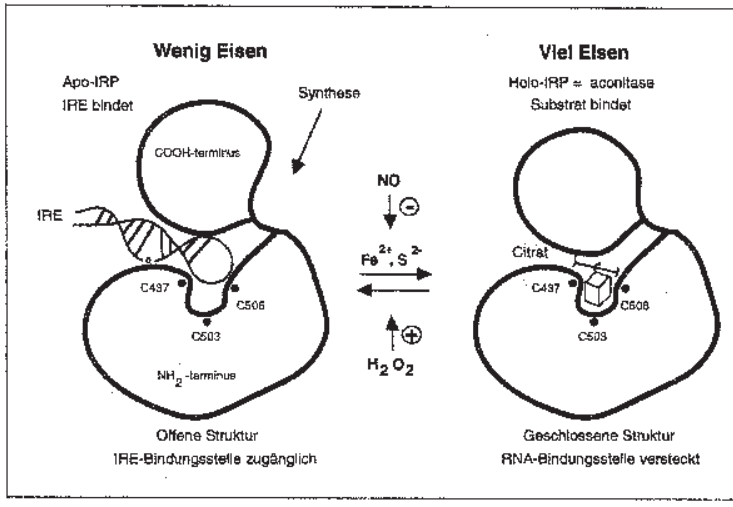


Abb. 5: Die doppelte Funktion von IRP.
Je nach Eisenspiegel ist IRP einerseits ein IRE-bindendes Protein oder andererseits eine Aconitase. Die Veränderung in der Struktur hängt vom Einbau eines [4Fe-4S]-Komplexes ab, der sich an drei Cysteine anlagert. NO verhindert wahrscheinlich diesen Einbau, während H_2O_2 möglicherweise sogar die Komplexe zerstört. Beide Substanzen aktivieren die IRE-Bindung des IRP.

Eisen erhalten, ist es ihnen nicht möglich, den [4Fe-4S]-Komplex einzubauen, und es entsteht ein Apoprotein, das keine Enzymaktivität besitzt, das aber stark an RNS bindet. Wiederum stehen wir vor einem sehr ungewohnten Resultat. Ein zelluläres Enzym wird zur Messung des Eisenspiegels benützt und übt je nachdem auch noch eine Kontrollfunktion aus. Wir müssen annehmen, dass zwischen der einen und der andern Form des Proteins eine markante Strukturänderung stattfindet, so dass die RNS-bindende Oberfläche nur ohne Eisen dem IRE zugänglich ist. Eine unserer gegenwärtigen Aufgaben ist es herauszufinden, wie das IRP ans IRE bindet.

Vernetzte Stoffwechselwege

In den letzten paar Jahren wurde nun eine Reihe von neuen Zusammenhängen entdeckt, deren Bedeutung zum Teil noch nicht klar

ist. Zunächst hat sich die Liste der IRE-enthaltenden mRNS Moleküle erweitert. Ausser der Ferritin H- und L-Ketten, die ich schon erwähnt habe, werden mindestens drei weitere Proteine in ihrer Übersetzung durch das IRP kontrolliert, da ihre mRNS ein IRE am 5' Ende enthält. Es handelt sich um die δ-Aminolävulinsäure-Synthetase der blutbildenden Zellen, einem Enzym, das direkt für die Synthese eines Vorläufers des Häms von Hämoglobin verantwortlich ist (22-24). Die Bedeutung dieser Kontrolle besteht wohl darin, dass bei Eisenmangel weniger Vorläufer gemacht werden soll, da Eisen ohnehin nicht zur Verfügung steht. Die beiden andern regulierten Proteine sind Enzyme des Citratzyklus, und zwar mitochondriale Aconitase von Säugern (23,25) und eine Succinatdehydrogenase-Untereinheit bei der Fruchtfliege, aber wahrscheinlich nicht bei Säugern (25,26). Es handelt also um [Fe-S]-Proteine, die im Zytoplasma synthetisiert und dann in Mitchondrien transportiert werden. Diese Enzyme sind, wie schon erwähnt, für den Energiehaushalt der Zelle wichtig, aber es ist zurzeit unverständlich, weshalb aktives IRP bei Eisenmangel den Energiehaushalt drosseln sollte.

Eine weitere Entdeckung, die uns beschäftigt, besteht in der Existenz eines zweiten IRPs, einem verwandten Protein mit sehr ähnlicher Bindung an RNS, aber mit einigen speziellen Merkmalen, die es vom IRP-1 unterscheiden (27,28). IRP-2 erscheint ebenfalls bei Eisenmangel, aber mit restriktiverer Gewebeverteilung, und bei hohem Eisenspiegel wird es nicht inaktiviert, sondern abgebaut. Im Vergleich zu IRP-1, spricht IRP-2 unterschiedlich auf gewisse Substanzen und Veränderungen an, wie zum Beispiel auf Zellwachstum oder oxidativen Stress. Es besteht die Möglichkeit, dass manche Gewebe zwei Proteine besitzen, damit sie sich differenzierter anpassen können. Mehr Arbeit wird nötig sein, dies zu beweisen. Da wir kürzlich die genaue RNS-bindende Spezifität beider Proteine bestimmen konnten und Unterschiede fanden (29,30), scheint es auch möglich, dass IRP-1 und IRP-2 selektiv die Kontrolle über noch unbekannte mRNS Spezies ausüben. Die Suche danach war aber bis anhin ein Misserfolg.

Schliesslich haben wir in Zusammenarbeit mit J.-C. Drapier festgestellt, dass kleine Eisen-bindende Moleküle in der Zelle die Aktivität des IRP-1 stark beeinflussen (31). So wird bei Makrophagen die NO-Synthese durch Lipopolysaccharide und Interferon-γ induziert. Dies

aktiviert beide IRPs. Der zeitliche Ablauf der Veränderung lässt vermuten, dass NO ähnlich wie ein Eisenchelator wirkt und die Entstehung von [Fe-S]-Komplexen verhindert (Abb. 5). Auch Wasserstoffperoxid wurde kürzlich als starker Aktivator von IRP-1 erkannt (32). In beiden Fällen bleibt die physiologische Bedeutung für den Eisenstoffwechsel noch unklar.

Ausblick

Was bleibt zu tun? Sehr viel – aber ich glaube, dass wir dem Verständnis der Eisenhomeostase und damit auch dem Gleichgewicht von Eisen im Körper auf die Spur gekommen sind. Es besteht nun Hoffnung, die verschiedenen Ursachen von Anämie oder Eisenüberladung noch genauer auf der molekularen Ebene zu verstehen. Ich denke vor allem an die durch Inflammation bedingte Anämie und Hämochromatose. Dazu wird es notwendig sein zu verstehen, wie Eisen durch Zellmembranen transportiert wird. Untersuchungen über die Kontrolle der Eisenaufnahme im Dünndarm haben bereits begonnen. Ob es uns je möglich sein wird, Tumorzellen selektiv in ihrem Wachstum zu beeinträchtigen, indem wir die Funktion der Eisenaufnahme hemmen, bleibt für mich zweifelhaft, da normale Zellen die gleichen Mechanismen verwenden.
Es scheint mir wichtig nochmals zu betonen, dass uns die Regulation des Ferritins und des Transferrinrezeptors die Augen für komplexe Vorgänge im Zytoplasma auf Stufe der mRNS geöffnet hat. Dies ist zunächst eine einmalige Gelegenheit, weitere Grundlagenforschung über mRNS, dessen Bindung an Proteine, dessen Abbau oder Übersetzung folgen zu lassen. Es ist aber auch durchaus wahrscheinlich, dass es andere, ähnliche Kontrollsysteme in der Natur gibt. Wir hoffen deshalb, dass die Kenntnisse über die Steuerung des Eisenstoffwechsels andern Forschern neue Anstösse vermitteln.

Verdankungen

Ich möchte vor allem den Vertretern des medizinischen Ausschusses und des Stiftungsrates der Prof. Dr. Max Cloëtta Stiftung für die

Ehrung danken, die Sie mir heute zu Teil werden lassen. Unsere Arbeiten waren nur möglich dank der finanziellen Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, der Schweizerischen Krebsliga, als auch unseres Schweizerischen Instituts für experimentelle Krebsforschung. Ich will bei dieser Gelegenheit auch hervorheben, wie wichtig für den Forscher die Stimulation durch seine Umgebung ist. Vorab danke ich Jean-Pierre Kraehenbuhl, der mir damals als Doktorvater den «Virus» zur Freude am Forschen eingeimpft hat, aber auch unserem langjährigen Direktor Bernhard Hirt, der mir durch sein Vertrauen die Möglichkeit gab, mich zu entfalten. Nicht zuletzt danke ich meinen Kollegen – und warum nicht auch meinen Konkurrenten – von denen ich oft Ideen für die weitere Arbeit mitnehmen durfte. Vor allem sind es aber meine Mitarbeiter, die die grösste Anerkennung verdienen; denn ohne ihren bedingungslosen Einsatz und ihr Mitdenken hätten sich die Ideen nicht in die Tat umsetzen lassen. Finalement et par dessus tous, je remercie mon épouse Anne-Marie qui me soutient inlassablement et qui, avec son bon sens, veille sur moi et mes passions.

LITERATUR ZUM VORTRAG

1. Drysdale JW and Munro HN. Regulation of synthesis and turnover of ferritin in rat liver. J. Biol. Chem. *241*, 3630-3637 (1966).

2. Morgan EH. Transferrin: biochemistry, physiology and clinical significance. Molec. Aspects Med. *4*, 1-123 (1981).

3. Iacopetta BJ and Morgan EH. The kinetics of transferrin endocytosis and iron uptake from transferrin in rabbit reticulocytes. J. Biol. Chem. *258*, 9108-9115 (1983).

4. Rothenberger S, Iacopetta BJ, and Kühn LC. Endocytosis of the transferrin receptor requires the cytoplasmic domain but not its phosphorylation site. Cell *49*, 423-431 (1987).

5. Iacopetta BJ, Rothenberger S, and Kühn LC. A role for the cytoplasmic domain in transferrin receptor sorting and coated pit formation during endocytosis. Cell *54*, 485-489 (1988).

6. Seiser C, Teixeira S, and Kühn LC. Interleukin-2-dependent transcriptional and post-transcriptional regulation of transferrin receptor mRNA. J. Biol. Chem. *268*, 13074-13080 (1993).

7. Owen D and Kühn LC. Noncoding 3' sequences of the transferrin receptor gene are required for mRNA regulation by iron. EMBO J. *6*, 1287-1293 (1987).

8. Müllner EW and Kühn LC. A stem-loop in the 3' untranslated region mediates iron-dependent regulation of transferrin receptor mRNA stability in the cytoplasm. Cell *53*, 815-825 (1988).

9. Aziz N and Munro HN. Iron regulates ferritin mRNA translation through a segment of its 5' untranslated region. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *84*, 8478-8482 (1987).

10. Hentze MW, Rouault TA, Caughman SW, Dancis A, Harford JB, and Klausner RD. A cis-acting element is necessary and sufficient for translational regulation of human ferritin expression in response to iron. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *84*, 6730-6734 (1987).

11. Leibold EA and Munro HN. Cytoplasmic protein binds in vitro to a highly conserved sequence in the 5' untranslated region of ferritin heavy- and light-subunit mRNAs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *85*, 2171-2175 (1988).

12. Gray NK and Hentze MW. Iron regulatory protein prevents binding of the 43S translation preinitiation complex to ferritin and eALAS mRNAs. EMBO J. *13*, 3882-3891 (1994).

13. Casey JL, Hentze MW, Koeller DM, Caughman SW, Rouault TA, Klausner RD, and Harford JB. Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation. Science *240*, 924-928 (1988).

14. Müllner EW, Neupert B, and Kühn LC. A specific mRNA-binding factor regulates the iron-dependent stability of cytoplasmic transferrin receptor mRNA. Cell *58*, 373-382 (1989).

15. Casey JL, Koeller DM, Ramin VC, Klausner RD, and Harford JB. Iron regulation of transferrin receptor mRNA levels requires iron-responsive elements and a rapid turnover determinant in the 3' untranslated region of the mRNA. EMBO J. *8*, 3693-3699 (1989).

16. Neupert B, Thompson NA, Meyer C, and Kühn LC. A high yield affinity purification method for specific RNA-binding proteins: isolation of the iron regulatory factor from human placenta. Nucleic Acids Res. *18*, 51-55 (1990).

17. Rouault TA, Tang CK, Kaptain S, Burgess WH, Haile DJ, Samaniego F, McBride OW, Harford JB, and Klausner RD. Cloning of the cDNA encoding an RNA regulatory protein – the human iron-responsive element-binding protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *87*, 7958-7962 (1990).

18. Haile DJ, Rouault TA, Tang CK, Chin J, Harford JB, and Klausner RD. Reciprocal control of RNA-binding and aconitase activity in the regulation of the iron-responsive element binding protein: Role of the iron-sulfur cluster. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *89*, 7536-7540 (1992).

19. Kennedy MC, Mende-Mueller L, Blondin GA, and Beinert H. Purification and characterization of cytosolic aconitase from beef liver and its relationship to the iron-responsive element binding protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *89*, 11730-11734 (1992).

20. Emery-Goodman A, Hirling H, Scarpellino L, Henderson B, and Kühn LC. Iron regulatory factor expressed from recombinant baculovirus: conversion between the RNA-binding apoprotein and Fe-S cluster containing aconitase. Nucleic Acids Res. *21*, 1457-1461 (1993).

21. Hirling H, Henderson BR, and Kühn LC. Mutational analysis of the [4Fe-4S]-cluster converting iron regulatory factor from its RNA-binding form to cytoplasmic aconitase. EMBO J. *13*, 453-461 (1994).

22. Cox TC, Bawden MJ, Martin A, and May BK. Human erythroid 5-aminolevulinate synthase: promoter analysis and identification of an iron-responsive element in the mRNA. EMBO J. *10*, 1891-1902 (1991).

23. Dandekar T, Stripecke R, Gray NK, Goossen B, Constable A, Johansson HE, and Hentze MW. Identification of a novel iron-responsive element in murine and human erythroid delta-aminolevulinic acid synthase mRNA. EMBO J. *10*, 1903-1909 (1991).

24. Bhasker CR, Burgiel G, Neupert B, Emery-Goodman A, Kühn LC, and May BK. The putative iron-responsive element in the human erythroid 5-aminolevulinate synthase mRNA mediates translational control. J. Biol. Chem. *268*, 12699-12705 (1993).

25. Gray NK, Pantopoulos K, Dandekar T, Ackrell BAC, and Hentze MW. Translational regulation of mammalian and Drosophila citric acid cycle enzymes via iron-responsive elements. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *93*, 4925-4930 (1996).

26. Kohler SA, Henderson BR, and Kühn LC. Succinate dehydrogenase b mRNA of Drosophila melanogaster has a functional iron-responsive element in its 5'-untranslated region. J. Biol. Chem. *270*, 30781-30786 (1995).

27. Henderson BR, Seiser C, and Kühn LC. Characterization of a second RNA-binding protein in rodents with specificity for iron-responsive elements. J. Biol. Chem. *268*, 27327-27334 (1993).

28. Henderson BR and Kühn LC. Differential modulation of the RNA-binding proteins IRP-1 and IRP-2 in response to iron. IRP-2 inactivation requires translation of another protein. J. Biol. Chem. *270*, 20509-20515 (1995).

29. Henderson BR, Menotti E, Bonnard C, and Kühn LC. Optimal sequence and structure of iron-responsive elements. Selection of RNA stem-loops with high affinity for iron regulatory factor. J. Biol. Chem. *269*, 17481-17489 (1994).

30. Henderson BR, Menotti E, and Kühn LC. Iron regulatory proteins 1 and 2 bind distinct sets of RNA target sequences. J. Biol. Chem. *271*, 4900-4908 (1996).

31. Drapier J-C, Hirling H, Wietzerbin J, Kaldy P, and Kühn LC. Biosynthesis of nitric oxide activates iron regulatory factor in macrophages. EMBO J. *12*, 3643-3649 (1993).

32. Pantopoulos K and Hentze MW. Rapid responses to oxidative stress by iron regulatory protein. EMBO J. *14*, 2917-2924 (1995).

VERÖFFENTLICHUNGEN VON LUKAS KÜHN

1. Kraehenbuhl J.-P. and Kühn L.C. Transport of immunoglobulins across epithelia. In: Transport of Macromolecules in Cellular Systems. S.C. Silverstein, ed., Life Science Research Report 11. Dahlem Konferenzen, Berlin, pp. 213-228 (1978).

2. Kühn L.C. and Kraehenbuhl J.-P. Interaction of rabbit secretory component with rabbit IgA dimer. J. Biol. Chem. *254*, 11066-11071 (1979).

3. Kühn L.C. and Kraehenbuhl J.-P. Role of secretory component, a secreted glycoprotein, in the specific uptake of IgA dimer by epithelial cells. J. Biol. Chem. *254*, 11072-11081 (1979).

4. Kühn L.C. Role of secretory component, a secreted glycoprotein, in the specific uptake of IgA dimer by epithelial cells. Thesis, University of Lausanne (1979).

5. Kühn L.C. and Kraehenbuhl J.-P. The membrane receptor for polymeric immunoglobulin is structurally related to secretory component. Isolation and characterization of membrane secretory component from rabbit liver and mammary gland. J. Biol. Chem. *256*, 12490-12495 (1981).

6. Kühn L.C. and Kraehenbuhl J.-P. The sacrificial receptor – translocation of polymeric IgA across epithelia. Trends Biochem. Sci. *7*, 299-302 (1982).

7. Kühn L.C. and Kraehenbuhl J.-P. Monoclonal antibodies recognizing the secreted and membrane domains of the IgA dimer receptor. Ann. N. Y. Acad. Sci. *409*, 751-759 (1983).

8. Kühn L.C., Kocher H.P., Hanly W.C., Cook L., Jaton J.C. and Kraehenbuhl J.-P Structural and genetic heterogeneity of the receptor mediating translocation of IgA dimer antibodies across epithelia in the rabbit. J. Biol. Chem. *258*, 6653-6659 (1983).

9. Kamarck M.E., Barbosa J.A., Kühn L.C., Messer-Peters P.G., Shulman L. and Ruddle F.H. Somatic cell genetics and flow cytometry. Cytometry *4*, 99-108 (1983).

10. Kühn L.C., Barbosa J.A., Kamarck M.E. and Ruddle F.H. An approach to the cloning of cell surface protein genes. Selection by cell sorting of mouse L-cells that express HLA or 4F2 antigens after transformation with total human DNA. Mol. Biol. Med. *1*, 335-352 (1983).

11. Kühn L.C., McClelland A. and Ruddle F.H. Gene transfer, expression, and molecular cloning of the human transferrin receptor gene. Cell *37*, 95-103 (1984).

12. Ruddle F.H., Kamarck M.E., McClelland A. and Kühn L.C. DNA-mediated gene transfer in mammalian gene cloning. In: Genetic Engineering, vol. 6, J.K. Setlow and A. Hollaender, eds., Plenum Press, New York, pp. 319-338 (1984).

13. McClelland A., Kühn L.C. and Ruddle F.H. The human transferrin receptor gene: Genomic organization, and the complete primary structure of the receptor deduced from a cDNA sequence. Cell *39*, 267-274 (1984).

14. Solari R., Kühn L.C. and Kraehenbuhl J.-P. Antibodies recognizing different domains of the polymeric immunoglobulin receptor. J. Biol. Chem. *260*, 1141-1145 (1985).

15. Rabin M., McClelland A., Kühn L.C. and Ruddle F.H. Regional localization of the human transferrin receptor gene to 3q26.2→qter. Am. J. Hum. Genet. *37*, 1112-1116. (1985).

16. Kühn L.C. Human transferrin receptor expressed from a transfected cDNA is functional in murine cells. In: Proteins of Iron Storage and Transport, G. Spik, et al., eds., Elsevier Science Publishers, pp. 369-372 (1985).

17. Maryanski J.L., Kühn L.C. and Corradin G. Mouse fibroblasts that express a cloned gene for the human transferrin receptor induce a specific cytolytic T cell response. Eur. J. Immunol. *17*, 441-443 (1987).

18. Owen D. and Kühn L.C. Noncoding 3' sequences of the transferrin receptor gene are required for mRNA regulation by iron. EMBO J. *6*, 1287-1293 (1987).

19. Rothenberger S., Iacopetta B.J. and Kühn L.C. Endocytosis of the transferrin receptor requires the cytoplasmic domain but not its phosphorylation site. Cell *49*, 423-431 (1987).

20. Teixeira S., Di Grandi S. and Kühn L.C. Primary sequence of the human 4F2 antigen heavy chain predicts a transmembrane protein with a cytoplasmic NH_2 terminus. J. Biol. Chem. *262*, 9574-9580 (1987).

21. Müllner E.W. and Kühn L.C. A stem-loop in the 3' untranslated region mediates iron-dependent regulation of transferrin receptor mRNA stability in the cytoplasm. Cell *53*, 815-825 (1988).

22. Iacopetta B.J., Rothenberger S. and Kühn L.C. A role for the cytoplasmic domain in transferrin receptor sorting and coated pit formation during endocytosis. Cell *54*, 485-489 (1988).

23. Audette M., Carrel S., Hayoz D., Giuffrè L., Mach J.-P. and Kühn L.C. A novel interferon-γ regulated human melanoma-associated antigen, gp33-38, defined by monoclonal antibody Me14/D12. II. Molecular cloning of a genomic probe. Mol. Immunol. *26*, 515-522 (1989).

24. Müllner E.W., Neupert B. and Kühn L.C. A specific mRNA-binding factor regulates the iron-dependent stability of cytoplasmic transferrin receptor mRNA. Cell *58*, 373-382 (1989).

25. Kühn L.C. The transferrin receptor: a key function in iron metabolism. Schweiz. med. Wschr. *119*, 1319-1326 (1989).

26. Knecht H., Odermatt B.F., Hayoz D., Kühn L.C. and Bachmann F. Polyclonal rearrangements of the T-cell receptor ß-chain in fatal angioimmunoblastic lymphadenopathy. Br. J. Haematol. *73*, 491-496 (1989).

27. Neupert B., Thompson N.A., Meyer C. and Kühn L.C. A high yield affinity purification method for specific RNA-binding proteins: Isolation of the iron regulatory factor from human placenta. Nucleic Acids Res. *18*, 51-55 (1990).

28. Rothenberger S., Müllner E. and Kühn L.C. The mRNA-binding protein which controls ferritin and transferrin receptor expression is conserved during evolution. Nucleic Acids Res. *18*, 1175-1179 (1990).

29. Kühn L.C., Schulman H.M. and Ponka P. Iron-transferrin requirements and transferrin receptor expression in proliferating cells. In: Iron Transport and Storage, P. Ponka, H.M. Schulman and R.C. Woodworth, eds., CRC Press, pp. 149-191 (1990).

30. Neupert B., Müllner E., Rothenberger S., Seiser C., Teixeira S., Thompson N.A., Emery-Goodman A. and Kühn L.C. Expression of human transferrin receptor. In: Biotechnology of Plasma Proteins, Albertini A. et al., eds., Curr. Stud. Hematol. Blood Transf., Karger, vol. 58, pp. 109-114 (1991).

31. Testa U., Petrini M., Quaranta M.T., Pelosi E., Kühn L.C. and Peschle C. Differential regulation of iron-responsive element-binding protein in activated lymphocytes versus monocytes-macrophages. In: Biotechnology of Plasma Proteins, Albertini A. et al., eds., Curr. Stud. Hematol. Blood Transf., Karger, vol. 58, pp. 158-163 (1991).

32. Testa U., Kühn L.C., Petrini M., Quaranta M.T., Pelosi E. and Peschle C. Differential regulation of iron regulatory element-binding protein(s) in cell extracts of activated lymphocytes versus monocytes-macrophages. J. Biol. Chem. *266*, 13925-13930 (1991).

33. Kühn L.C. mRNA-protein interactions regulate critical pathways in cellular iron metabolism. Br. J. Haematol. *79*, 1-5 (1991).

34. Teixeira S. and Kühn L.C. Post-transcriptional regulation of the transferrin receptor and 4F2 antigen heavy chain mRNA during growth activation of spleen cells. Eur J. Biochem. *202*, 819-826 (1991).

35. Hayoz D., Rimoldi D., Kühn L.C., Mach J.-P. and Carrel S. Cloning of an interferon-γ regulated human melanoma-associated antigen: identity to the intercellular adhesion molecule ICAM-1. Melanoma Res. *1*, 251-259 (1991).

36. Hirling H., Emery-Goodman A., Thompson N., Neupert B., Seiser C. and Kühn L.C. Expression of active iron regulatory factor from a full-length human cDNA by in vitro transcription/translation. Nucleic Acids Res. *20*, 33-39 (1992).

37. Bertran J., Magagnin S., Werner A., Markovich D., Biber J., Testar X., Zorzano A., Kühn L.C., Palacin M. and Murer H. Stimulation of system y^+-like amino acid transport by the heavy chain of human 4F2 surface antigen in Xenopus laevis oocytes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *89*, 5606-5610 (1992).

38. Bourgeade M.-F., Silbermann F., Kühn L.C., Testa U., Peschle C., Ménet S., Thang M.N. and Besançon F. Post-transcriptional regulation of transferrin receptor mRNA by IFNγ. Nucleic Acids Res. *20*, 2997-3003 (1992).

39. Dargemont C. and Kühn L.C. Export of mRNA from microinjected nuclei of Xenopus laevis oocytes. J. Cell Biol. *118*, 1-9 (1992).

40. Kühn L.C. and Hentze M.W. Coordination of cellular iron metabolism by post-transcriptional gene regulation. J. Inorg. Biochem. *47*, 183-195 (1992).

41. Müllner E.W., Rothenberger S., Müller A.M. and Kühn L.C. In vivo and in vitro modulation of the mRNA-binding activity of iron-regulatory factor. Tissue distribution and effects of cell proliferation, iron levels and redox state. Eur. J. Biochem. *208*, 597-605 (1992).

42. Emery-Goodman A., Hirling H., Scarpellino L., Henderson B. and Kühn L.C. Iron regulatory factor expressed from recombinant baculovirus: conversion between the RNA-binding apoprotein and Fe-S cluster containing aconitase. Nucleic Acids Res. *21*, 1457-1461 (1993).

43. Dargemont C., Le Bivic A., Rothenberger S., Iacopetta B.J. and Kühn L.C. The internalization signal and the phosphorylation site of transferrin receptor are distinct from the main basolateral sorting information. EMBO J. *12*, 1713-1721 (1993).

44. Bhasker C.R., Burgiel G., Neupert B., Emery-Goodman A., Kühn L.C. and May B.K. The putative iron-responsive element in the human erythroid 5-aminolevulinate synthase mRNA mediates translational control. J. Biol. Chem. *268*, 12699-12705 (1993).

45. Seiser C., Teixeira S. and Kühn L.C. Interleukin-2 dependent transcriptional and post-transcriptional regulation of transferrin receptor mRNA. J. Biol. Chem. *268*, 13074-13080 (1993).

46. Drapier J.-C., Hirling H., Wietzerbin J., Kaldy P. and Kühn L.C. Biosynthesis of nitric oxide activates iron regulatory factor in macrophages. EMBO J. *12*, 3643-3649 (1993).

47. Schmidt-Zachmann M.S., Dargemont C., Kühn L.C. and Nigg E.A. Nuclear export of proteins: the role of nuclear retention. Cell *74*, 493-504 (1993).

48. Gray N.K., Quick S., Goossen B., Constable A., Hirling H., Kühn L.C. and Hentze M.W. Recombinant iron regulatory factor functions as an iron responsive element-binding protein, a translational repressor and an aconitase. A functional assay for translational repression and direct demonstration of the iron switch. Eur. J. Biochem. *218*, 657-667 (1993).

49. Henderson B.R., Seiser C. and Kühn L.C. Characterization of a second RNA-binding protein in rodents with specificity for iron-responsive elements. J. Biol. Chem. *268*, 27327-27334 (1993).

50. Hirling H., Henderson, B.R. and Kühn L.C. Mutational analysis of the [4Fe-4S]-cluster converting iron regulatory factor from its RNA-binding form to cytoplasmic aconitase. EMBO J. *13*, 453-461 (1994).

51. Kühn L.C., Hirling H., Henderson B., Emery-Goodman A., Neupert B. and Kaldy P. The structure and function of iron regulatory factor. In: Progress in Iron Research., C. Hershko et al., eds, Plenum Press, New York, pp. 101-109 (1994).

52. Drapier J.-C., Hirling H., Wietzerbin J., Kaldy P. and Kühn L.C. Reciprocal modulation of aconitase activity and RNA-binding activity of IRF by nitric oxide. In: Progress in Iron Research., C. Hershko et al., eds, Plenum Press, New York, pp. 141-148. (1994).

53. Drapier J.-C., Hirling H., Kaldy P., Wietzerbin J. and Kühn L.C. Nitric oxide increases RNA-binding activity of iron regulatory factor. In: Biology of Nitric Oxide, S. Moncada et al., eds, Portland Press, London. vol. 4, pp. 31-36 (1994).

54. Chan R.Y.Y., Seiser C., Schulman H.M., Kühn L.C. and Ponka P. Regulation of transferrin receptor mRNA expression: distinct regulatory features in erythroid cells. Eur. J. Biochem. *220*, 683-692 (1994).

55. Ward R.J., Kühn L.C., Kaldy P., Florence A., Peters T.J. and Crichton R.R. Cellular iron homeostasis in vivo. Eur. J. Biochem. *220*, 927-931 (1994).

56. Henderson B.R., Menotti E., Bonnard C. and Kühn L.C. Optimal sequence and structure of iron responsive elements: Selection of RNA stem-loops with high affinity for iron regulatory factor. J. Biol. Chem. *269*, 17481-17489 (1994).

57. Kühn L.C. Molecular regulation of iron proteins. In: Clinical disorders of iron metabolism. Baillière's Clinical Haematology, vol 7, C. Hershko, ed., Baillière Tindall, London, pp. 763-785 (1994).

58. Dargemont C., Schmidt-Zachmann M.S. and Kühn L.C. Direct interaction of nucleoporin p62 with mRNA during its export from the nucleus. J. Cell. Sci. *108*, 257-263 (1995).

59. Neupert B. and Kühn L.C. A novel method to identify nucleic acid-binding sites in proteins by scanning mutagenesis: application to iron regulatory protein. Nucleic Acids Res. *23*, 2579-2583 (1995).

60. Henderson B.R. and Kühn L.C. Differential modulation of the RNA-binding proteins IRP-1 and IRP-2 in response to iron: IRP-2 inactivation requires translation of another protein. J. Biol. Chem. *270*, 20509-20515 (1995).

61. Seiser C., Posch M., Thompson N. and Kühn L.C. Effect of transcription inhibitors on the iron-dependent degradation of transferrin receptor mRNA. J. Biol. Chem. *270*, 29400-29406 (1995).

62. Kohler S., Henderson B.R. and Kühn L.C. Succinate dehydrogenase b mRNA of Drosophila melanogaster has a functional iron responsive element in the 5' untranslated region. J. Biol. Chem. *270*, 30781-30786 (1995).

63. Henderson B.R., Menotti E. and Kühn L.C. Iron regulatory proteins 1 and 2 bind distinct sets of RNA target sequences. J. Biol. Chem. *271*, 4900-4908 (1996).

64. Kühn L.C. Control of cellular iron transport and storage at the molecular level. In: Iron Nutrition in Health and Disease, L. Hallberg and N.-G. Asp, eds, John Libbey, London, pp. 17-29 (1996).

65. Mulvey M.R., Kühn L.C. and Soraba D.G. Induction of ferritin synthesis in cells infected with Mengo virus. J. Biol. Chem. *271*, 9851-9857, (1996).

66. Callus B.A., Iacopetta B.J. Kühn L.C. and Morgan E.H. Effects of transferrin receptor overexpression on rates of transferrin recycling and uptake of non-transferrin-bound iron. Eur. J. Biochem. *238*, 463-467 (1996).

67. Hentze M.W. and Kühn L.C. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide and oxidative stress. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *93*, 8175-8182 (1996).

68. Henderson B.R. and Kühn L.C. Interaction between Iron Regulatory Proteins and their RNA target sequences, iron responsive elements. In: Progress in Molecular and Subcellular Biology, P. Jeanteur, ed., Springer, Berlin, in press (1996).

LAUDATIO AUF HERRN PROFESSOR DR. PETER SONDEREGGER

Prof. Dr. J.H.R. Kägi

Denkprozesse und alle anderen Leistungen des Nervensystems sind abhängig vom Vorhandensein einer enormen Zahl von Faserverbindungen zwischen einzelnen Nervenzellzentren und ihren Zellen, die bei Säugern zum grössten Teil schon vor der Geburt niedergelegt werden. Die Entstehung dieser Verschaltung ist damit einer der wichtigsten Schritte in der Entwicklung des Nervensystems und steht dementsprechend seit langem im Zentrum des Interesses der Neurobiologie. Prinzipiell lassen sich bis jetzt zwei in der Neurogenese wirksame Mechanismen für die Kontaktwahl von Nervenzellen unterscheiden: einerseits lösliche Faktoren, meist Proteine, die in gewissen Zellen produziert und nach aussen abgegeben, Nachbarzellen aktivierende oder hemmende Signale für Wachstum oder Differenzierung vermitteln, und anderseits, an die Zelloberfläche gebundene, spezifisch exprimierte Proteine, die durch Wechselwirkung mit komplementären Partnerstrukturen selektive Zell-Zell-Kontakte und Verankerungen herbeiführen.

Mit der heutigen Preisvergabe an Professor Peter Sonderegger, Zürich, ehrt die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta einen Wissenschafter, der durch die Entdeckung und Charakterisierung von zwei von Nervenendigungen abgegebenen Proteinen und die Erforschung ihrer Funktionen einen wesentlichen Beitrag zur embryonalen Neurogenese geleistet hat. Der in Balgach aufgewachsene und an den Universitäten Zürich und Lausanne als Arzt ausgebildete Preisträger ist erst nach einer mehrjährigen Weiterbildungsphase in Pathologie, Psychiatrie und Pädiatrie über den an der Universität Zürich angebotenen Postgraduate-Kurs in experimenteller Medizin und Biologie zur Grundlagenforschung gestossen und hat als Assistent bei Prof. Ph. Christen am Biochemischen Institut der Universität Zürich sein Rüstzeug in Proteinchemie und Zellbiologie erhalten. Sein Einstieg in das Gebiet der molekularen Neurobiologie kam in einem etwas mehr als als dreijährigen USA-Aufenthalt im Laboratory of Developmental Neuro-

biology bei Dr. P.G. Nelson am National Institute of Health, Bethesda, MD, wo er mit Markierungsexperimenten in einem kompartimentierten Zellkultursystem die in der Entwicklung und Regeneration stattfindenden Wechselwirkungen von Nervenzellen verfolgte und dabei in den Axonen von Spinalganglien- und Rückenmarksneuronen eine Vielzahl von Proteinen nachweisen und trennen konnte. Mit dem gleichen System gelang ihm nach seiner Rückkehr nach Zürich die Auffindung der beiden axonal sezernierten, heute als Axonin-1 und Neuroserpin bekannten Faktoren.

Axonin-1 ist ein in bestimmten Phasen des Embryonalwachstums gebildetes Glykoprotein der Immunglobulin-Superfamilie von Zelladhäsionsmolekülen, welches sowohl in der wasserlöslichen, von den Axonen freigesetzten, wie auch in einer an die Axonenmembran gebundenen, immobilen Form vorkommt. Diese beiden Formen unterscheiden sich jedoch in ihrer morphogenetischen Wirkung, indem die gelöste Form die normale Bündelung und zielsuchende Ausrichtung der Axone in Nervenzellkultur spezifisch verhindert, während die membranständige Form, wenn sie auf einer Wachstumsunterlage fixiert ist, das gerichtete Auswachsen von Axonen stimuliert und diese ins Zielgebiet führt. Beide Formen binden als Liganden an das ebenfalls in den Nervenendigungen verankerte Zelladhäsionsmolekül Ng-CAM und weisen damit auf eine direkte Beteiligung an den dynamischen und plastischen Prozessen der neuronalen Zielfindung.

Mit der Entdeckung von Neuroserpin ist der Preisträger auf ein von den Nervenzellendigungen während der Embryonalperiode abgegebenes Glykoprotein gestossen, das spezifische Hemmwirkungen auf extrazelluläre Proteasen hat und vermutlich dazu dient, im Zielgebiet des Axons proteolytische Aktivitäten zu kontrollieren und so einen Beitrag zur Stabilisierung der Synapsen zu leisten. Die auffallende Persistenz von Neuroserpin in Neuronen des adulten Hippocampus könnte auch auf eine Rolle in der Gedächtnisfunktion hinweisen.

Die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta bezweckt die Unterstützung und Förderung der medizinischen Forschung und der damit verbundenen naturwissenschaftlichen Disziplinen. Bei Herrn Sonderegger ist diese Verbindung in besonderem Masse gegeben, sei es durch sein Oeuvre, wo er Konzepte und Methoden aus den molekularen Wissenschaften mit solchen aus den medizin-nahen morphologisch-

funktionellen Forschungszweigen eng zusammenbringt, oder durch seinen Werdegang, der es ihm erlaubt hat, hohe naturwissenschaftliche Kompetenz zu erwerben und gleichzeitig den Blick für die wesentlichen medizinischen Fragen zu bewahren. Die Ehrung mit dem Cloëtta-Preis ist in diesem Sinne auch eine Anerkennung der integrativen Rolle des heute seltener gewordenen medizinischen Grundlagenforschers und eine Ermutigung, trotz dem weitergehenden Trend zur Fachspezialisierung, die Heranbildung von Forschern, die in Personalunion die Bereiche von Grundlagenforschung und medizinischer Fragestellung noch überblicken, nicht zu vernachlässigen. Nur, wenn eine echte Verbindung zwischen diesen Bereichen bestehen bleibt, kann die Universitätsmedizin auch künftig ihre traditionell hohe Schöpfungskraft beibehalten. Die diesmalige Vergabe des Preises an einen Wissenschafter, der neben seiner Forschungsarbeit stark im Unterricht von Medizinern und Naturwissenschaftern engagiert ist, bestätigt auch das nach wie vor bestehende Forschungspotential im klassischen universitären Umfeld. Die vom Preisträger demonstrierte Fähigkeit, an einem stark beanspruchten Universitätsinstitut mit Doktoranden und Diplomanden Spitzenleistungen zu erbringen, bezeugt, dass das Humboldt'sche Ideal der Einheit von Lehre und Forschung auch heute noch hochgehalten werden darf. Diese Verbindung ist die beste Versicherung, dass das Ethos der Wissenschaft von Könnern an die nachfolgende Generation weitergereicht wird und die akademische Lehre ihrem hohen Anspruch gerecht bleibt. Herr Sonderegger ist auch da durch sein Engagement in Forschung und Lehre und seine Fähigkeit, für seine Forschungsziele immer wieder tüchtige Schüler zu gewinnen und zu begeistern, beispielhaft.

Wir freuen uns, dass die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta mit dem diesjährigen Preis Herrn Professor Sonderegger für seine herausragenden Leistungen ehrt und wünschen ihm weiterhin sehr grossen Erfolg.

DER CLOETTA-PREIS 1976
WIRD

HERRN PROFESSOR DR.

PETER SONDEREGGER

GEBOREN 1945 IN BALSTHAL
PROFESSOR FÜR BIOCHEMIE
AM INSTITUT FÜR BIOCHEMIE DER UNIVERSITÄT ZÜRICH
FÜR SEINE HERVORRAGENDEN ARBEITEN
AUS DEM GEBIET DER ENTWICKLUNG
UND FUNKTION DES NERVENSYSTEMS
VERLIEHEN.

ZÜRICH, 26. NOVEMBER 1976

FÜR DEN STIFTUNGSRAT:

DER PRÄSIDENT: DER VIZEPRÄSIDENT:

DIE MITGLIED:

Professor Dr. Peter Sonderegger

CURRICULUM VITAE

Name:	Peter Sonderegger
Geburtsdatum:	4. Mai 1945 in Balgach SG
Bürgerort:	Balgach SG

Ausbildung:

1952 – 1964	Primarschule in Balgach, Sekundarschule in Heerbrugg, Oberrealschule an der Kantonsschule St.Gallen; Maturität Typ C
1964 – 1971	Medizinstudium an den Universitäten Zürich und Lausanne
1971	Medizinisches Staatsexamen an der Universität Zürich
1974	Promotion zum Doktor der Medizin an der Universität Zürich
1971 – 1973	Assistent am Institut für Pathologie, Universitätsspital Zürich (Prof. C. Hediger, Prof. J.R. Rüttner, Prof. G. Zbinden)
1973 – 1974	Assistent an der Psychiatrischen Poliklinik für Kinder und Jugendliche, Zürich (Prof. R. Corboz)
1974 – 1975	Assistent am Kinderspital Zürich (Prof. A. Prader)
1975 – 1976	Postgraduate-Kurs in experimenteller Medizin und Biologie an der Universität Zürich
1976 – 1980	Assistent am Biochemischen Institut der Universität Zürich
1978 – 1980	Lehrauftrag der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich (Vorlesungen in Biochemie V: Methoden der Biochemie)
1980 – 1982	Postdoctoral Fellow im Laboratory of Developmental Neurology (Dr. P.G. Nelson), NICHD, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA

1982 – 1983	Visiting Scientist im Laboratory of Developmental Neurobiology, NICHD, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
1983	(August und September) Aufenthalt in Image Processing Section (Dr. L.E. Lipkin), Laboratory of Mathematical Biology, NCI, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
1983 – 1990	Oberassistent am Biochemischen Institut der Universität Zürich (Prof. Ph. Christen) Lehrbeauftragter in Biochemie der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich Vorlesungen: Biochemie V.: Methoden der Biochemie; Biochemisches Kolloquium für Mediziner; Konzepte der Entwicklungs-neurobiologie
1986	Habilitation in Biochemie an der Medizinischen und Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich
Seit 1990	Ausserordentlicher Professor für Biochemie am Biochemischen Institut der Universität Zürich
1991	Georg Friedrich Götz-Preis

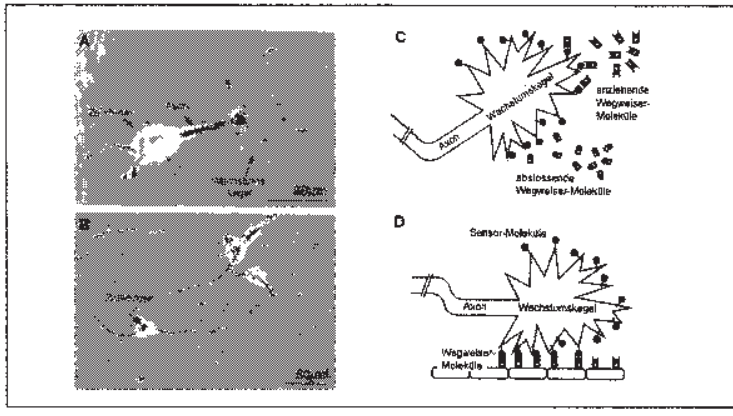
WEGWEISER- UND SENSORMOLEKÜLE BEIM GEZIELTEN WACHSTUM DER NERVENZELLAUSLÄUFER

P. Sonderegger

Die Ausbildung eines komplexen Netzwerkes von sich gegenseitig kontaktierenden Nervenzellen bildet die histologische Grundlage für die informationsverarbeitende Funktion des Gehirns. Eine zelluläre Voraussetzung für die Entstehung des Nervenzellnetzwerkes liegt in der Fähigkeit der Neurone, lange Ausläufer, sog. Axone, zu entwickeln, welche in ein vorbestimmtes Zielgebiet auswachsen, um dort mit andern Neuronen synaptische Kontakte zu bilden. Sowohl bei der Regulation des axonalen Wachstumsprozesses als auch bei der Wahl des einzuschlagenden Wegs wird im Wachstumskegel exponierten Zelloberflächenmolekülen eine entscheidende Rolle zugeschrieben. Oberflächenmoleküle des Wachstumskegels wirken als Rezeptoren zur Feststellung von Wegweisersignalen und sind damit Bestandteil des sensorimotorischen Apparates des Wachstumskegels (Kater and Rehder, 1995).

Der Wachstumskegel, eine spezialisierte Struktur der Nervenzelle zur Bildung von Axonen

Die Ausbildung und Verlängerung von Axonen während der Entwicklung des Nervensystems wird in entscheidendem Masse von den sogenannten Wachstumskegeln bestimmt. Wachstumskegel sind spezialisierte zelluläre Strukturen, welche nur in Neuronen zu finden sind. Sie sind immer an der Spitze eines wachsenden Axons lokalisiert (Fig. 1 A). Nach Abschluss des Axonwachstums, wenn der Wachstumskegel auf ein anderes Neuron gestossen ist, welches zur Bildung einer sogenannten Synapse geeignet ist, entsteht aus dem Wachstumskegel eine sogenannte präsynaptische Nervenendigung, d.h. eine Struktur, welche auf die Übertragung von Signalen auf das vom Axon kontaktierte Neuron spezialisiert ist.



Figur 1. Der Wachstumskegel an der Spitze wachsender Axone als Ort der Axonverlängerung und als Sensor für Wegweisermoleküle. (A) Kultivierte Nervenzelle kurz nach Beginn der Axonbildung. Der Wachstumskegel fällt durch seine fächerartige Struktur auf. (B) Axone ohne Richtungsinstruktion wachsen "ziellos" umher. (C) Schematische Darstellung löslicher Wegweisermoleküle, welche im Wachstumskegel via Sensormoleküle einen anziehenden oder abweisenden Effekt auslösen. (D) Wegweisermoleküle auf der Oberfläche von Zellen oder in der extrazellulären Matrix können im Wachstumskegel ebenfalls anziehende oder abweisende Effekte auslösen und damit die Wegwahl des Wachstumskegels regulieren.

Der Wachstumskegel ist, seiner Funktion entsprechend, eine Struktur, welche sich durch das Gewebe bewegen kann. Während der Bewegung des Wachstumskegels wird die Verbindung mit dem Zellkörper, der Schaft des Axons, verlängert, d.h. das Axon wächst. Betrachtet man Wachstumskegel im Lichtmikroskop, so findet man unterschiedlichste Formen. In den meisten Fällen findet man ein fächerartiges Gebilde. Diese Erscheinungsweise suggeriert, dass das axonale Wachstum nicht pfeilgerade auf das Ziel hin erfolgt, sondern dass an der Spitze, im Wachstumskegel, ein Suchprozess stattfindet. Wird der Wachstumskegel im Zeitraffer-Video betrachtet, so findet man tatsächlich eine Dynamik, welche sehr stark so aussieht, wie wenn der Wachstumskegel die Umgebung nach dem geeignetsten Weg abtasten würde. Man sieht, wie sich auf der Oberfläche des Wachstumskegels fingerartige Ausstülpungen bilden, welche sich nach kurzer Zeit wieder zurückziehen. Kurz darauf spielt sich derselbe Prozess an einer anderen Stelle des Wachstumskegels ab. Erst nach mehreren Versuchen die-

ser Art entscheidet sich der Wachstumskegel dafür, einen "Sprung" vorwärts zu machen.
Der Eindruck, dass Wachstumskegel die Umgebung nach dem geeignetsten Weg auskundschaften, entsteht gleichermassen, wenn man Nervenzellen auf einer Oberfläche wachsen lässt, welche zwar die Verlängerung des Axons fördert, aber keine Richtungsinstruktionen gibt. Ein Experiment, welches diese Situation demonstriert, ist in Fig. 1B gezeigt. Es wird deutlich, dass die Axone der hier gezeigten Nervenzelle sich zwar verlängern können, aber keine Richtungsinstruktionen bekommen; sie wachsen daher konfus in der Gegend umher.

Wegweisermoleküle führen das auswachsende Axon ins Zielgebiet

Die Steuersignale, welche die Wachstumskegel von der Umgebung entlang ihres Weges empfangen, können von ihrer Wirkung her in anziehende und abstossende Signale unterteilt werden (Goodman and Shatz, 1993). Die aus dem Gewebe entlang des prospektiven Wachstumspfades stammenden Signalmoleküle können löslich sein oder auf der Oberfläche von Zellen oder in der extrazellulären Matrix in immobilisierter Form vorliegen (Fig. 1, C und D). Hinweise für lösliche Moleküle mit chemoattraktiver oder chemorepulsiver Wirkung wurden über die vergangene Dekade in verschiedensten Gebieten des Nervensystems gefunden. Ein von der Bodenplatte des Rückenmarks abgesonderter löslicher Faktor mit chemoattraktiver Wirkung auf die Axone der Kommissuralneurone, Netrin-1 genannt, wurde kürzlich gereinigt und kloniert (Kennedy et al., 1994; Seraffini et al., 1994). Kürzlich wurde gezeigt, dass Netrin-1 auf Neurone des Trochleariskerns einen abstossenden Effekt ausübt (Colamarino and Tessier-Lavigne, 1995). Dies zeigt, dass die Art der funktionellen Antwort auf ein und dasselbe Signalmolekül in Abhängigkeit von der neuronalen Subpopulation unterschiedlich ausfallen kann.
Eine andere kürzlich auf molekularer Ebene definierte Familie von Steuermolekülen für Wachstumskegel sind die Semaphorine (Kolodkin et al.,1993; Luo et al., 1993). Das erste Molekül dieser Familie wurde auf Grund seiner Eigenschaft, in Kulturen sympathischer Nervenzellen

des Hühnerembryos den Kollaps von Wachstumskegeln auszulösen, entdeckt (Kapfhammer et al., 1986). Es wurde deshalb nach seiner Reinigung und cDNA-Klonierung Collapsin genannt. Semaphorine sind sezernierte Moleküle, welche aber eine limitierte Reichweite haben, da sie sich mit der extrazellulären Matrix (ECM) assoziieren. In dieser Hinsicht sind sie den schon länger bekannten Komponenten der extrazellulären Matrix beizugesellen, von denen mehrere, wie z.B. Laminin, Fibronectin und die Tenascine, einen regulierenden Einfluss auf die Wachstumsrichtung von Axonen haben können. Vor allem die Tenascine wurden in den vergangenen Jahren in diesem Zusammenhang eingehend untersucht und deren stimulierende und inhibierende Wirkung auf Wachstumskegel beschrieben (Faissner and Steindler, 1995).
Die Steuermoleküle, welche als integrale Membranoberflächenmoleküle mit der Zellmembran von Zellen assoziiert sind, welche den Wachstumspfad der auswachsenden Axone flankieren, gehören in verschiedene strukturelle Klassen. Seit längerer Zeit bekannt, und daher in der Charakterisierung am weitesten voran, sind die Cadherine (Grunwald, 1993; Ranscht, 1994) und die neuronalen Zelladhäsionsmoleküle der Immunglobulin(Ig)-Superfamilie (Burden-Gulley and Lemmon, 1995). Die Cadherine und die Zelladhäsionsmoleküle der Ig-Superfamilie entfalten ihre Effekte, indem sie mit andern Proteinen, meistens andern Zelloberflächenmolekülen (Sonderegger and Rathjen, 1992) oder Komponenten der ECM (Zisch et al., 1992; Brümmendorf et al., 1993), eine spezifische Bindung eingehen.

Sensormoleküle auf dem Wachstumskegel erkennen Wegweisermoleküle und übermitteln Wachstumssignale ins Innere des Wachstumskegels

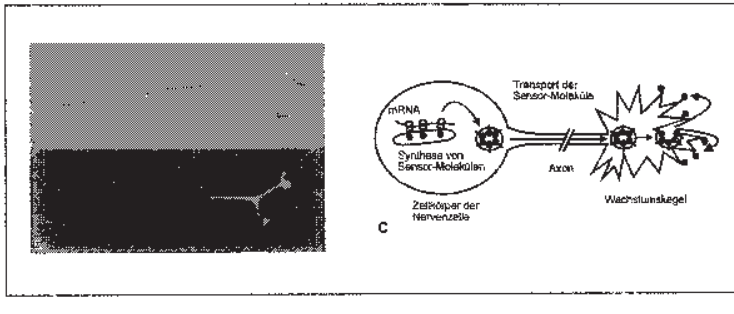
Die Entscheide zur Wahl des richtigen Weges, den die Ausläufer von Nervenzellen während der Entwicklung des Nervensystems treffen müssen, beruhen nicht nur auf den entlang des prospektiven Weges ausgelegten Wegweisermolekülen, sondern werden auch durch die im Sensorapparat des Wachstumskegels vorhandenen Sensormoleküle mitbestimmt (Fig. 1, C und D). Die meisten Vertreter der Ig-Super-

familie-Zelladhäsionsmoleküle wurden ursprünglich als neuronale Moleküle entdeckt, und bei einigen wurde eindeutig nachgewiesen, dass sie auch im Wachstumskegel in hoher Konzentration vorkommen (Stoeckli et al., 1996). Auf Grund dieser Lokalisation würde man erwarten, dass sie als Erkennungsmoleküle des Wachstumskegels eine Rolle spielen könnten und damit Komponenten des axonalen Sensorapparates wären. Diese Betrachtungsweise hat Anlass gegeben für zahlreiche Studien, welche untersuchten, ob solche Zelladhäsionsmoleküle nach Bindung extrazellulärer Liganden in der Lage sind, intrazelluläre Signale zu aktivieren, welche schlussendlich den axonalen Wachstumsprozess regulieren oder Wegentscheidungsprozesse des Wachstumskegels kontrollieren. Am weitesten gediehen sind solche Untersuchungen beim Zelladhäsionsmolekül L1 (für eine Übersicht s. Doherty and Walsh, 1994; Burden-Gulley and Lemmon, 1995).

Wir haben in den verflossenen 10 Jahren einen wesentlichen Teil unserer Arbeit zur Erforschung neuraler Zelloberflächenmoleküle eingesetzt, welche zusätzlich zu repetierten Ig-ähnlichen Domänen auch mehrere Fibronectin-Typ-III-ähnliche Domänen tragen. Diese Gruppe von Molekülen wird auf Grund ihrer Domänenzusammensetzung als Ig/FnIII-Moleküle bezeichnet. Mehrere Mitglieder der Ig/FnIII-Familie von Zelladhäsionsmolekülen vermitteln wichtige Funktionen während des Auswachsens von Axonen ins Zielgebiet. Sie vermitteln einerseits die Kontakte zwischen den axonalen Membranen, welche zur Axonbündelung oder Faszikulation notwendig sind (Rathjen et al., 1987). Wenn andererseits solche Moleküle in Zellkulturschalen als Substrat eingesetzt werden, so beobachtet man oft einen starken axonwachstumsfördernden Effekt (Lagenaur and Lemmon, 1987; Stoeckli et al., 1991). Kürzlich wurde gezeigt, dass zwei Mitglieder der Ig/FnIII-Familie bei der Wegwahl von Kommissuralaxonen des Rückenmarks eine wichtige Rolle einnehmen (Stoeckli and Landmesser, 1995).

Zwei Vertreter der Ig/FnIII-Familie von neuralen Zelloberflächenmolekülen, Axonin-1 und NgCAM, sind im Moment als mögliche Sensormoleküle des Wachstumskegels besonders interessant, denn sie werden nach ihrer Synthese direkt in die Membran des Wachstumskegels eingefügt. Wir haben dies kürzlich mittels einer

Gentransfer-Methode zeigen können, welche den Gentransfer-Methoden der gentherapeutischen Bestrebungen sehr ähnlich ist. Die Gene von Axonin-1 und NgCAM des Huhns wurden mit diesem Verfahren in kultivierte Nervenzellen der Ratte verpflanzt (Vogt et al., 1996). Als Gentransfer-Vehikel haben wir eine gentechnisch veränderte Form des Adenovirus verwendet. In diesen Viren wurden die für die Vermehrung des Virus zuständigen Gene entfernt und durch das Gen von Axonin-1 oder NgCAM des Huhns ersetzt (Giger et al., 1996). In dieser Form kann sich der Adenovirus nicht mehr vermehren, er ist aber immer noch in der Lage, in die kultivierten Nervenzellen einzudringen. In der Zelle angelangt, wird das durch den Virus importierte artfremde Sensormolekül-Gen ungeachtet seiner Herkunft "gelesen", und das im Gen kodierte Sensormolekül wird synthetisiert. Mittels einer spezifischen Färbemethode kann das Hühner-Sensor-Molekül auf der Oberfläche der Rattenneuronen sichtbar gemacht und von den homologen Molekülen der Ratte unterschieden werden. Auf diese Art ist es möglich zu zeigen, dass die Sensor-Moleküle während dem Auswachsen der Axone direkt in die Oberflächenmembran des Wachstumskegels eingebaut werden (Fig. 2).

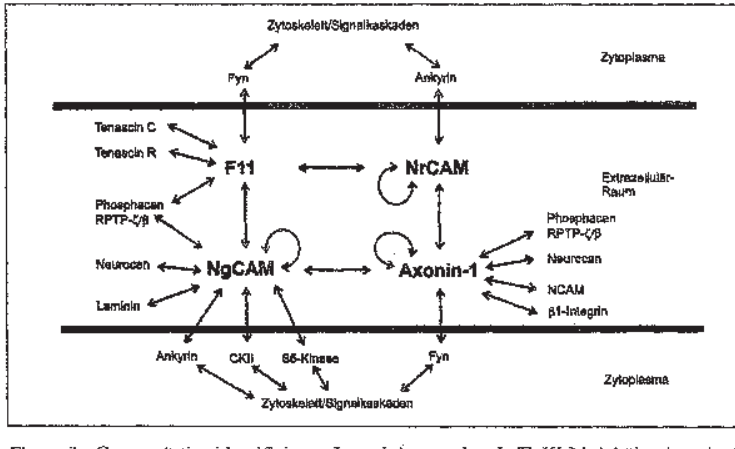


Figur 2. Sensormoleküle des Wachstumskegels werden nach der Synthese im Zellkörper des Neurons im Innern des Axons zum Wachstumskegel transportiert und dort direkt in die Wachstumskegelmembran eingefügt. (A und B) Experimenteller Nachweis des direkten Transportes von Axonin-1 zum Wachstumskegel. Mit einem adenoviralen Gentransfer-Vektor wurde Axonin-1 des Huhns in Nervenzellen der Ratte exprimiert. Da das Hühner-Axonin-1 leicht von Ratten-Axonin-1 unterschieden werden kann, kann neugebildetes Hühner-Axonin-1 im Wachstumskegel nachgewiesen werden. Indirekte Immunfluoreszenz weist auf das neu im Wachstumskegel eingefügte Hühner-Axonin-1 hin. (C) Schematische Darstellung des axonalen Transports des Sensormoleküls Axonin-1 zum Wachstumskegel.

Neurale Zelladhäsionsmoleküle wirken sowohl als Wegweiser als auch als Sensoren im Wachstumkegel

Aus den Untersuchungen zur Charakterisierung neuraler Zelloberflächenmoleküle der Ig/FnIII-Familie ist über die vergangenen Jahre klar geworden, dass viele Vertreter dieser Molekülfamilie die Eigenschaft haben, mit mehreren andern Makromolekülen eine Bindung einzugehen. So haben wir in unserer Arbeitsgruppe gefunden, dass Axonin-1 eine Bindung eingehen kann mit zwei andern Vertretern der Ig/FnIII-Familie, NgCAM und NrCAM (Kuhn et al., 1991; Suter et al., 1995). Axonin-1 kann aber auch mit anderen Axonin-1-Molekülen eine Bindung eingehen (Rader et al., 1993). Neue Resultate aus anderen Arbeitsgruppen weisen darauf hin, dass Axonin-1 noch andere Liganden hat.

Zahlreiche Berichte in der wissenschaftlichen Literatur weisen heute daraufhin, dass die Fähigkeit, mehrere Liganden zu binden, auch bei mehreren anderen Mitgliedern der IgFnIII-Familie gefunden wird. Die bisher publizierten Interaktionen von Axonin-1, NgCAM und NrCAM



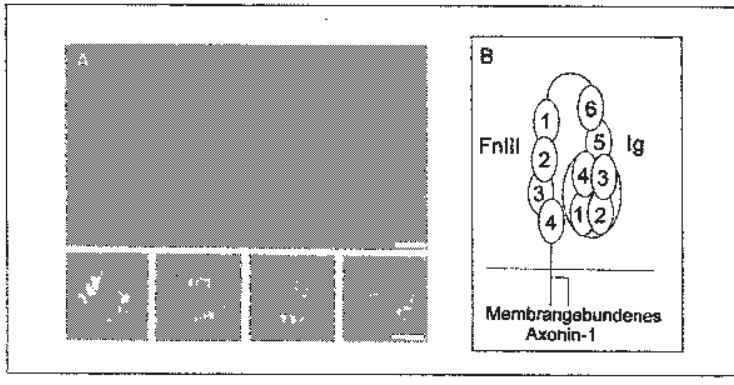
Figur 3. Gegenwärtig identifizierte Interaktionen der Ig/FnIII-Moleküle Axonin-1, NgCAM und NrCAM. Axonin-1, NgCAM und NrCAM gehen mehrere Bindungen ein. Es wurden homophile und heterophile Bindungen innerhalb der Ig/FnIII-Gruppe gefunden, wie auch Bindungen mit Komponenten der extrazellulären Matrix und mit Komponenten intrazellulärer Signalübermittlungskaskaden oder des intrazellulären Zytoskeletts. Homophile Bindungen sind mit einer Schlaufe gekennzeichnet.

unter sich oder mit Liganden anderer struktureller Kategorien sind in Fig. 3 zusammengefasst. Aus Gründen der Übersichtlichkeit haben wir uns auf ausgewählte Vertreter des Huhns beschränkt, welche im Rahmen der hier besprochenen Wegfindungsprozesse von besonderer Bedeutung sind.

Interaktion der Sensormoleküle NgCAM und Axonin-1 reguliert das Wachstumssignal im Wachstumskegel

Die über die vergangenen Jahre nachgewiesenen Bindungen unter den drei in unserem Labor bearbeiteten Ig-Superfamilie-Zelladhäsionsmolekülen Axonin-1, NgCAM und NrCAM, und deren offensichtliche Rolle bei einer klar umschriebenen axonalen Wegentscheidungs-Situation (Eintritt der Kommissuralfasern des Rückenmarks in die Bodenplatte) motivierten uns, die Bindungen zwischen diesen Molekülen einer detaillierten Analyse zu unterziehen. Als ersten Schritt haben wir uns auf die NgCAM-Bindungsstelle auf dem Axonin-1-Molekül konzentriert. In Anbetracht des klar definierten Domänenaufbaus von Axonin-1 (6 Ig-ähnliche Domänen und 4 Fibronectin-Typ III-ähnliche Domänen) setzten wir eine ausgedehnte Domänen-Deletions-Studie an. Domänendeletionsmutanten wurden konstruiert, in eukaryontischen Zellen exprimiert und auf die Fähigkeit der NgCAM-Bindung getestet (Rader et al., 1996). Die erhaltenen Resultate waren anfänglich recht verwirrend, da nicht das einfachste der erwarteten Resultate gefunden wurde, nämlich der Verlust der NgCAM-Bindung bei einer der 10 möglichen Mutanten mit einer einzelnen Domänendeletion. Die erste Serie von Einzel-Domänen-Deletionen ergab vielmehr, dass bei der Deletion der 5. und/oder 6. Ig-Domäne eine markante Verstärkung der NgCAM-Bindung eintrat. In einer zweiten Serie von Deletionsmutanten wurde bei Deletionsmutanten der 5. und der 6. Ig-Domäne zusätzlich jede der andern Domänen deletiert. Bei dieser Studie zeigte sich, dass alle Mutanten, bei denen eine der ersten vier Ig-Domänen fehlte, einen kompletten Verlust der NgCAM-Bindung erlitten, während die Deletion einer der anderen Domänen keinen Einfluss auf die NgCAM-Bindung hatte. Die Tatsache, dass die Deletion einer jeden der vier aminoterminalen Ig-

Domänen zum kompletten Verlust der NgCAM-Bindung führte, wurde dahingehend interpretiert, dass diese vier Domänen ein Domänenkonglomerat bilden, dessen native Struktur nur in Gegenwart aller vier Domänen zustandekommt. Diese Interpretation wurde durch eine unabhängige Studie mit monoklonalen Antikörpern bestätigt. Die Resultate der NgCAM-Bindungsfähigkeit von Axonin-1-Domänendeletionsmutaten implizierten ein Modell für den Domänenaufbau von Axonin-1 (Fig. 4 B). Gemäss diesem Modell ist die NgCAM-Bindungsstelle auf einem Domänenkonglomerat auf den aminoterminalen vier Ig-Domänen lokalisiert. Dieses Domänenkonglomerat ist notwendig und genügend für die NgCAM-Bindung. Wird das Konglomerat allein (ohne weitere Domänen von Axonin-1) auf der Oberfläche von COS-Zellen exprimiert, so zeigt es die gleiche Bindungsfähigkeit für NgCAM wie die Domänendeletionsmutanten, bei denen die 5. und/oder die 6. Ig-Domäne fehlen, und eine wesentlich stärkere Bindung als das native Molekül. Andererseits kann von diesem Domänenkonglomerat keine Domäne entfernt werden, ohne dass die gesamte Bindungsfähigkeit verloren geht. Aus der massiven Verstärkung der NgCAM-Bindung, welche bei Deletionsmutanten der 5. und/oder 6. Ig-Domäne beobachtet wurde, folgerten wir, dass das Ig1-4-Domänenkonglomerat im membrangebundenen Wild-Typ-Molekül schlecht zugänglich sein könnte.
Eine Visualisierung der Grobstruktur von einzelnen Axonin-1-Molekülen im Elektronenmikroskop mittels Negativ-Kontrastierung zeigte eine Hufeisenform, bei der die beiden Enden nahe beieinander liegen (Fig. 4 A). Mit Domänen-Auflösung betrachtet (Fig. 4 B), würde damit das aminoterminale NgCAM-bindende Domänenkonglomerat in engster Nachbarschaft zur carboxyterminalen 4. Fibronectin-Typ III-Domäne liegen. Überträgt man dieses Modell auf die Situation, in der Axonin-1 in membranverankerter Form vorliegt, dann wird klar, dass das NgCAM-Bindungskonglomerat ebenfalls in der Nähe der Membran liegen muss. Insbesondere wird in diesem Modell plausibel, dass die Zugänglichkeit zur NgCAM-Bindungsstelle erschwert sein könnte. Die verbesserte NgCAM-Bindung der Domänendeletionsmutanten der 5. und/oder 6. Ig-Domäne wäre dann damit zu erklären, dass das Axonin-1-Molekül durch die Verkürzung in der Region des Bogens des Hufeisens in eine "gestreckte" Konformation übergeht und

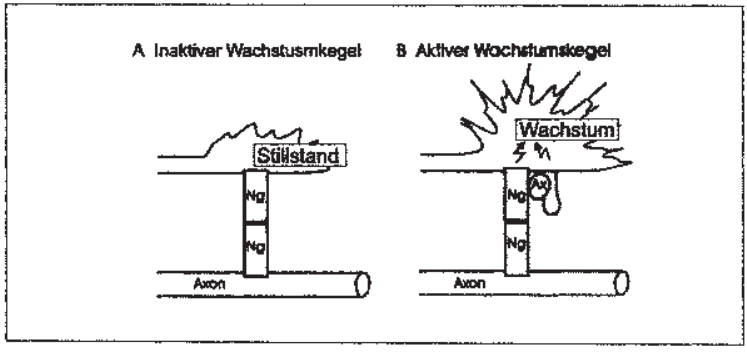


Figur 4. Struktur von Axonin-1. (A) Durch Negativ-Kontrastierung liess sich Axonin-1 als hufeisenförmiges Gebilde im Elektronenmikroskop darstellen. Diese Aufnahme wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Heinz Gross und Dr. Peter Tittmann, Institut für Zellbiologie, ETH-Hönggerberg, Zürich, gemacht (Copyright The EMBO Journal). (B) Aus den elektronenmikroskopischen Bildern von Axonin-1 und aus der Beobachtung, dass die Deletierung der 5. oder 6. Ig-Domäne eine stark verbesserte Bindung von Axonin-1 an NgCAM zur Folge hatte, schlugen wir das oben dargestellte Modell von Axonin-1 vor. Aus weiteren Domänendeletionsstudien und Störungen der Axonin-1/NgCAM-Bindung mittels monoklonaler Antikörper schlossen wir, dass die ersten 4 Ig-Domänen ein Domänenkonglomerat bilden, welches seine native Struktur nur in Anwesenheit aller 4 Domänen einnehmen kann. Das Ig1-4-Domänenkonglomerat von Axonin-1 trägt die Bindungsstelle für NgCAM und NrCAM, und es ist miteinbezogen in die homophile Bindung unter Axonin-1-Molekülen. Zusammengefasst resultiert aus diesen Beobachtungen das hier präsentierte Modell der Domänenanordnung von Axonin-1.

das NgCAM-bindende Domänenkonglomerat damit von der Oberfläche her besser zugänglich wird.

Die strukturellen Aspekte von Axonin-1 haben sich in der Folge sehr befruchtend auf die weiteren Analysen der Interaktionen von Axonin-1 ausgewirkt. Auf Grund der von der Membranoberfläche abgewandten Lage des NgCAM-bindenden Domänenkonglomerats haben wir die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass Axonin-1 und NgCAM in der Ebene der gleichen neuronalen Membran miteinander interagieren. Die Voraussetzungen hierfür wären gegeben, indem die beiden Moleküle in Axonen und Wachstumskegeln der gleichen Nervenzelle gleichzeitig exprimiert werden (Stoeckli et al., 1996). Durch chemische Kreuzvernetzung, sowie "Cocapping" von Axonin-1 nach Antikörper-induziertem "Capping" von NgCAM, konnten wir mittels zweier unabhängiger

Methoden nachweisen, dass Axonin-1 und NgCAM tatsächlich in der Ebene der gleichen Membran eine Bindung eingehen (Buchstaller et al., 1996). In dieser Studie fanden wir zudem, dass Axonin-1 und NgCAM, welche in der Membran verschiedener Zellen lokalisiert sind, keine Bindung miteinander eingehen können. Aus diesen Resultaten muss der Schluss gezogen werden, dass Axonin-1 und NgCAM in ihrer natürlichen, membranverankerten Form nur in der Ebene der gleichen Membran, und nicht von der einen Zelle zur andern, miteinander interagieren. Axonin-1 und NgCAM sind deshalb eher als eine Art Corezeptoren zu verstehen denn als Rezeptor/Gegenrezeptor für Zell-Zell-Adhäsionsprozesse. In der gleichen Studie haben wir die Translation von Axonin-1 in kultivierten Spinalganglienneuronen mittels sogenannter "Antisense"-Oligonukleotide gehemmt, was dazu führte, dass die Neuronen auf einem Substrat aus NgCAM nicht mehr in der Lage waren, Axone zu bilden. Der Komplex von NgCAM und Axonin-1 scheint also in der Membran des Wachstumskegels notwendig zu sein, damit ein Wachstumssignal im Innern des Wachstumskegels ausgelöst werden kann (Fig. 5).



Figur 5. Modelldarstellung der Zusammenarbeit von NgCAM und Axonin-1 bei der Aktivierung des Axonwachstums auf einem NgCAM-Substratum, z.B. NgCAM auf einem Axon. (A) Fehlt Axonin-1, so kann eine sogenannte homophile Bindung zwischen NgCAM-Molekülen des Substratums und NgCAM-Molekülen des Wachstumskegels entstehen, aber die Wachstumsmaschinerie des Wachstumskegels wird nicht aktiviert. (B) In Anwesenheit von Axonin-1 und NgCAM kommt es in der Membran des Wachstumskegels zu einem heterodimeren NgCAM/Axonin-1-Komplex. Von diesem geht ein Signal aus, welches im Innern des Wachstumskegels die Wachstumsmaschinerie aktiviert.

Eine kürzlich abgeschlossene weiterführende Studie zeigte, dass die Axonin-1/NgCAM-Heterodimere in der axonalen Membran mit Axonin-1/NgCAM-Heterodimeren anderer Axone während der Faszikelbildung in Kultur sich zu Tetrameren vereinigen können. Diese Tetramerisierung ist mit einer Änderung in der Art und Quantität der mit Axonin-1 und NgCAM assoziierten intrazellulären Proteinkinasen vergesellschaftet (Kunz et al. 1996). Während in Axonen ohne Kontakt zu andern Axonen, und deshalb einer monomeren und heterodimeren Form von Axonin-1 und NgCAM, Axonin-1 mit der Fyn-Kinase assoziiert ist, verschwindet Fyn komplett aus den tetrameren Komplexen. Bei diesem Übergang beobachtet man gleichzeitig eine markante Zunahme der NgCAM assoziierten, Heparin-abhängigen Casein-Kinase II.

Schluss

Die Mechanismen, die den Weg bestimmen, welche die auswachsenden Axone einschlagen, um in das Zielgebiet zu gelangen, in welchem sie synaptische Kontakte mit andern Nervenzellen machen, sind bis zum heutigen Zeitpunkt nicht aufgeklärt worden. Es deutet aber vieles daraufhin, dass eine grössere Zahl von Zelloberflächenmolekülen aus verschiedenen strukturellen Kategorien in solchen Prozessen eine Rolle spielen. Eine wichtige Komponente der Regulation von Wegfindungsprozessen scheint darin zu liegen, dass solche Moleküle auf Grund ihrer multiplen Bindungsfähigkeit Komplexe von unterschiedlicher Struktur und Funktion bilden können. Die zwei Ig/FnIII-Moleküle Axonin-1 und NgCAM können als wachstumsfördende Substrate funktionieren, wenn sie auf der Oberfläche des Axonschafts eines Neurons lokalisiert sind. Im Wachstumskegel lokalisiert, sind Axonin-1 und NgCAM als Elemente des Sensorapparates des Wachstumskegels zu verstehen. Axonin-1 und NgCAM werden nach ihrer Synthese im Innern des Axons direkt zum Wachstumskegel transportiert und dort in die Oberflächenmembran eingesetzt. Durch ihre Fähigkeit, Substratmoleküle auf der Oberfläche anderer Zellen spezifisch zu erkennen, lösen sie im Innern des Wachstumskegels Wachstumssignale aus. Kürzlich abgeschlossene Untersuchungen zeigen, dass NgCAM

und Axonin-1 in der Membran des Wachstumskegels miteinander zusammenarbeiten müssen, um ein Wachstumssignal auszulösen. Es scheint, dass die Zusammenarbeit von NgCAM und Axonin-1 im Wachstumskegel die intrazellulären Signale umschalten kann. Es ist denkbar, dass andere Liganden von NgCAM und Axonin-1 die Bildung des heterodimeren NgCAM/Axonin-1-Komplexes stören und damit eine Modulation des wachstumsfördernden Effektes des Komplexes bewirken.

Verdankungen

Die Arbeiten in meinem Labor wären nie zustandegekommen ohne die Begeisterung und den unermüdlichen Einsatz meiner Mitarbeiter. Besonders erwähnen möchte ich meine ersten Mitarbeiter, Drs. Esther Stoeckli und Markus Ruegg, welche durch die Entdeckung, respektive die Reinigung von Axonin-1, meiner damals neu gegründeten Arbeitsgruppe einen erfolgreichen Start ermöglicht haben. Ich möchte mich an dieser Stelle auch für die finanzielle Unterstützung bedanken, welche ich über die Jahre durch den Schweizerischen Nationalfonds, die Stiftung für Medizinisch-Biologische Stipendien sowie durch viele private Stiftungen bekommen habe. Mein Dank gebührt auch meinen akademischen Lehrern, Prof. Dr. Philipp Christen und Dr. Phil G. Nelson, sowie Prof. Dr. René Humbel und Prof. Dr. Jeremias Kägi, welche mich in ihrer Funktion als Institutsdirektoren immer bereitwillig unterstützt haben.

PUBLICATIONS

1. Sonderegger P.: The juxtaglomerular apparatus of the kidney in diabetes insipidus. Beiträge zur Pathologie *151*, 361-372 (1974). (Inauguraldissertation).

2. Sonderegger P., Gehring H. and Christen P.: Interspecies comparison of cytosolic and mitochondrial aspartate aminotransferase. J. Biol. Chem. *252*, 609-612 (1977).

3. Sonderegger P. and Christen P.: Comparison of the evolution rates of cytosolic and mitochondrial aspartate aminotransferase. Nature *275*, 157-159 (1978).

4. Sonderegger P., Jaussi R. and Christen P.: Cell-free synthesis of a putative precursor of mitochondrial aspartate aminotransferase with higher molecular weight. Biochem. Biophys. Res. Comm. *94*, 1256-1260 (1980).

5. Behra R., Christen P. and Sonderegger P.: Independent quantitation of the mitochondrial and cytosolic isoenzyme of aspartate aminotransferase in chicken tissues by radioimmunoassays. J. Biol. Chem. *256*, 3381-3384 (1981).

6. Wacker H., Jaussi R., Sonderegger P., Dokow M., Ghersa P., Hauri H.-P., Christen P. and Semenza G.: Cell-free synthesis of the one-chain precursor of an major intrinsic protein complex of the small-intestinal brush border membrane (Prosucrase-isomaltase). FEBS Lett. *135*, 329-332 (1981).

7. Behra R., Christen P., Spycher M.A. and Sonderegger P.: Subcellular distribution of aspartate aminotransferase isoenzymes in chicken heart: a quantitative study. Comp. Biochem. Physiol. *71B*, 187-191 (1982).

8. Sonderegger P., Jaussi R., Christen P. and Gehring H., J.: Biosynthesis of aspartate aminotransferases. Both a higher molecular weight precursor of mitochondrial aspartate aminotransferase and the mitochondrial isoenzyme are synthesized on free polysomes. Biol. Chem. *257*, 3339-3345 (1982).

9. Jaussi R., Sonderegger P., Flückiger J. and Christen P.: Biosynthesis and topogenesis of aspartate aminotransferase isoenzymes in chicken embryo fibroblasts. The precursor of the mitochondrial isoenzyme is either imported into mitochondria or degraded in the cytosol. J. Biol. Chem. *257*, 13334-13340 (1982).

10. Sonderegger P., Jaussi R., Gehring H., Brunschweiler K. and Christen P.: Peptide mapping of protein bands from polyacrylamide gel electrophoresis by chemical cleavage in gel pieces and re-electrophoresis. Anal. Biochem. *122*, 298-301 (1982).

11. Christen P., Jaussi R., Sonderegger P., Gehring H., Graf-Hausner U., Behra R., Flückiger J. and Skoda R.C.: Biosynthesis and topogenesis of cytosolic and mitochondrial aspartate aminotransferase. In: Proceedings of Schliersee-Meeting on Nucleo-Mitochondrial Interactions (Eds. Wolf K., Schweyen R.J., Kaudewitz F.), pp. 593-606, Walter de Gruyter, N.Y. (1983).

12. Vogel Z., Christian C.N., Vigny M., Bauer H.C., Sonderegger P. and Daniels M.C., J.: Laminin induces acetylcholine receptor aggregation on cultured myotubes and enhances the receptor aggregation activity of a neuronal factor. Neurosci. *3*, 1058-1068 (1983).

13. Sonderegger P., Fishman M.C., Bokoum M., Bauer H.C. and Nelson P.C.: Axonal proteins of presynaptic neurons during synaptogenesis. Science *221*, 1294-1297 (1983).

14. Christen P., Jaussi R., Sonderegger P., Gehring H., Graf-Hausner U., Behra R., Flückiger J. and Skoda R.C.: Biosynthesis of aspartate aminotransferase. In: Chemical and Biological Aspects of Vitamin B6 Catalysis (Ed. Evangelopoulos A.E.) pp. 17-25, Liss, New York (1984).

15. Lemkin P.F., Sonderegger P. and Lipkin L.E.: Identification of coordinate pairs of polypeptides: A technique for screening of putative precursor product pairs in 2D gels. Chlin. Chem. *30*, 1965-1971 (1984).

16. Sonderegger P., Fishman M.C., Bokoum M., Bauer H.C., Neale E.A. and Nelson P.G.: A few axonal proteins distinguish ventral spinal cord neurons from dorsal root ganglion neurons. J. Cell Biol. *98*, 364-368 (1984).

17. Daniels M.P., Vigny M., Sonderegger P., Bauer H.C. and Vogel Z.: Association of laminin and other basement membrane components with regions of high acetylcholine receptor density on cultured myotubes. Int. J. Devel. Neurosci. *2*, 87-99 (1984).

18. Busis N.A., Daniels M.P., Bauer H.C., Pudimat P.A., Sonderegger P., Schaffner A.E. and Nirenberg M.: Three cholinergic neuroblastoma hybrid cell lines that form synapses on myotubes are deficient in acetylcholine receptor aggregation molecules and large core vesicles. Brain Res. *324*, 201-210 (1984).

19. Sonderegger P., Jaussi R. and Christen P.: Genetics, biosynthesis and intracellular processing of aspartate aminotransferase isoenzymes. In: Transaminases (Eds. Christen P. and Metzler D.E.) pp. 502-510, John Wiley & Sons, New York (1985).

20. Bauer H.C., Hasegawa S., Sonderegger P., Daniels M.P. and Pudimat P.: Specifity of neuronal factors which aggregate acetylcholine receptors on cultured myotubes. Exp. Cell Res. *157*, 288-292 (1985).

21. Sonderegger P., Lemkin P.F., Lipkin L.E. and Nelson P.G.: Differential modulation of the expression of axonal proteins by nonneuronal cells of the peripheral and central nervous system. EMBO J *4*, 1395-1401 (1985).

22. Sonderegger P., Lemkin P.F., Lipkin L.E. and Nelson P.G.: Coordinate regulation of the expression of axonal proteins by the axonal micro-environment. Dev. Biol. *118*, 222-232 (1986).

23. Sonderegger P.: Selective metabolic labeling of axonal proteins: An in vitro approach for the search of proteins with a role in development or regeneration of axons. Habilitationsschrift Med. und Phil. Fakultät II der Universität Zürich, Switzerland (1987).

24. Sonderegger P.: Selective metabolic labeling of axonal proteins: An in vitro approach for the identification and characterization of axonal proteins and their role in health and disease. Schw. Arch. Neurologie und Psychiatrie *140*, 21-25 (1989).

25. Stoeckli E.T., Lemkin P.F., Kuhn T.B., Rüegg M.A., Heller M. and Sonderegger P.: Identification of proteins secreted from axons of embryonic dorsal-root-ganglia neurons. Eur. J. Biochem. *180*, 249-258 (1989).

26. Rüegg M.A., Stoeckli E.T., Kuhn T.B., Heller M., Zuellig R. and Sonderegger P.: Purification of axonin-1, a protein that is secreted from axons during neurogenesis. EMBO J. *8*, 55-63 (1989).

27. Haselbacher G., Groscurth P., Otten U., Vedder H., Lutz U., Sonderegger P., Bulatko A., Greeff N. and Humbel R.: Long-term cultivation of cryopreserved human fetal brain cells in a chemically defined medium. J. Neurosci. Meth., *30*, 121-131 (1989).

28. Rüegg M.A., Stoeckli E.T., Lanz R.B., Streit P. and Sonderegger P.: A homologue of the axonally secreted protein axonin-1 is an integral membrane protein of nerve fiber tracts involved in neurite fasciculation. J. Cell Biol. *109*, 2363-2378 (1989).

29. Kuhn T.B., Stoeckli E.T. and Sonderegger P.: Interactions of the axonally secreted protein axonin-1 with neurons and glia. Swiss Arch. Neurol. Psychiatr. *142*, 114-116 (1991).

30. Stoeckli E.T., Kuhn T.B., Duc C., Rüegg M.A. and Sonderegger P.: The axonally secreted protein axonin-1 is a potent substratum for axon growth. J. Cell Biol. *112*, 449-455 (1991).

31. Kuhn T.B. , Stoeckli E.T., Condrau M.A., Rathjen F.G. and Sonderegger P.: Neurite outgrowth on immobilized axonin-1 is mediated by a heterophilic interaction with L1 (G4). J. Cell Biol. *115*, 1113-1126 (1991).

32. Zuellig R.A., Rader C., Schroeder A., Kalousek M.B., von Bochlen und Halbach F., Osterwalder T., Inan C., Stoeckli E.T., Affolter H.-U., Fritz A., Hafen E. and Sonderegger P.: The axonally secreted cell adhesion molecule, axonin-1. Primary structure, immunoglobulinlike and fibronectin-typeIII-like domains and glycosylphosphatidylinositol anchorage. Eur. J. Biochem., *204*, 453-463 (1992).

33. Sonderegger P. and Rathjen F.G.: Regulation of axonal growth in the vertebrate nervous system by interactions between glycoproteins belonging to two subgroups of the immunoglobulin superfamily. J. Cell Biol. *119*, 1387-1394 (1992).

34. Amberger A., Lemkin P.F., Sonderegger P. and Bauer H.C.: ECGF and heparin determine differentiation of cloned cerebral endothelial cells in vitro. Mol. Chem. Neuropath. *20*, 33-43 (1993).

35. Hasler T.H., Rader C., Stoeckli E.T., Zuellig R.A. and Sonderegger P.: cDNA cloning, structural features, and eucaryotic expression of human TAG-1/axonin-1. Eur. J. Biochem. *211*, 329-339 (1993).

36. Kenwrick S., Leversha M., Rooke L., Hasler T. and Sonderegger P.: Localization of the human TAX-1 gene to 1q32.1: a region implicated in microcephaly and Van der Woude syndrome. Human Molec. Gen. *2*, 1461-1462 (1993).

37. Rader C., Stoeckli E.T., Ziegler U., Osterwalder T., Kunz B. and Sonderegger P.: Cell-cell adhesion by homophilic interaction of the neuronal recognition molecule axonin-1. Eur. J. Biochem. *215*, 133-141 (1993).

38. Suter D.M., Stoeckli E.T. and Sonderegger P.: Inhibitory effects of the immunoglobulin superfamily molecule axonin-1 on Schwann cells and astrocytes. Schw. Arch. Neurol. Psychiatr. *144*, 221-224 (1993).

39. Wolfer D.P., Henehan-Beatty A., Stoeckli E.T., Sonderegger P. and Lipp H.-P.: Distribution of TAG-1/axonin-1 in fibre tracts and migratory streams of the developing mouse nervous system. J. Comp. Neurol. *345*, 1-32 (1994).

40. Suter D.M. and Sonderegger P.: Evidence for a nonneuronal receptor for axonin-1 and Ng-CAM. Schweiz. Arch. f. Neurologie und Psychiatrie *145*, 37-40 (1994).

41. Giger R.M., Vogt L., Zuellig R.A., Rader C., Henehan-Beatty A., Wolfer D.P. and Sonderegger P.: The gene of chicken axonin-1. Complete structure and analysis of the promoter. Eur. J. Biochem. *227*, 617-628 (1995).

42. Suter D.M., Pollerberg G.E., Buchstaller A., Giger R.J., Dreyer W. and Sonderegger P.: A heterophilic binding between the neural cell adhesion molecules axonin-1 and Nr-CAM/Bravo is involved in neuron-glia interaction. J. Cell Biol. *131*, 1067-1081 (1995).

43. Kozlov S.V., Giger R.J., Hasler T., Korvatska E., Schorderet D.F. and Sonderegger P.: The human TAX-1 gene encoding the axon-associated cell adhesion molecule TAG-1/axonin-1: genomic structure and basic promoter. Genomics *30*, 141-148 (1995).

44. Savoca R., Ziegler, U. and Sonderegger P.: Effects of L-serine on neurons in vitro. J. Neurosci. Methods *61*, 159-167 (1995).

45. Rager G., Morino P., Schnitzer J. and Sonderegger P.: Expression of the axonal cell adhesion molecules axonin-1 and Ng-CAM during the development of the chick retino-tectal system. J. Comp. Neurol. *365*, 594-609 (1996).

46. Morino P., Buchstaller, A. Giger, R. Sonderegger, P. and Rager G.: Differential expression of the mRNAs of the axonal glycoproteins axonin-1 and NgCam in the developing chick retina. Dev. Brain Res. *91*, 252-259 (1996).

47. Rader C., Kunz B., Lierheimer R.A., Giger R.J., Berger P., Tittmann P., Gross H. and Sonderegger P.: Implications for the domain arrangement of the axonal glycoprotein axonin-1 derived from the mapping of its NgCAM binding site. EMBO J. *15*, 2056-2068 (1996).

48. Osterwalder T., Contartese J., Stoeckli E.T., Kuhn T.B. and Sonderegger P.: Neuroserpin, an axonally secreted serine protease inhibitor. EMBO J. *15*, 2944-2953 (1996).

49. Stoeckli E.T., Ziegler U., Bleiker A.J., Groscurth P. and Sonderegger P.: Clustering and functional cooperation of Ng-CAM and axonin-1 in the substratum-contact area of growth cones. Dev. Biol. *177*, 15-29 (1996).

50. Vogt L., Giger R.J., Ziegler U., Kunz B., Buchstaller A., Hermens W.T.J.M.C., Kaplitt M.G., Rosenfeld M.R., Pfaff D.W., Verhaagen J. and Sonderegger P.: Continuous renewal of the axonal pathway sensor apparatus by insertion of new sensor molecules into the growth cone membrane. Curr. Biol. *6*, 1153-1158 (1996).

51. Kunz S., Ziegler U., Kunz B. and Sonderegger P.: Intracellular signaling is changed after clustering of the neural cell adhesion molecules axonin-1 and NgCAM during neurite fasciculation. J. Cell Biol. (1996), in press.

52. Giger R.J., Ziegler U., Hermens W.T.J.M.C., Kunz B., Kunz S. and Sonderegger P.: Adenovirus-mediated gene transfer in neurons: Construction and characterization of a vector for heterologous expression of the axonal cell adhesion molecule axonin-1. J. Neurosci. Methods (1996), in press.

53. Buchstaller A., Kunz S., Berger P., Rader C., Ziegler U. and Sonderegger P.: The cell adhesion molecules NgCAM and axonin-1 form heterodimers in the neuronal membrane and cooperate in neurite outgrowth promotion. J. Cell Biol., in press.

54. Sonderegger P., Rader C., Buchstaller A., Berger P., Ziegler U., Lierheimer R., Kunz B., Kunz S., Ginsburg-Schuler C. and Stoeckli E.: Discrete clusters of axonin-1 and NgCAM at neuronal contact sites: facts and speculations on the regulation of axonal fasciculation and pathway selection. Submitted.

55. Lierheimer R., Kunz B., Savoca R., Brodbeck U. and Sonderegger P.: The neuronal cell adhesion molecule axonin-1 is specifically released by an endogenous glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D. Submitted.

REFERENZEN

1. Brümmendorf, T., Hubert, M., Treubert, U., Leuschner, R., Tarnok, A., and Rathjen, F.G. (1993). The axonal recognition molecule F11 is a multifunctional protein: specific domains mediate interactions with Ng-CAM and restrictin. Neuron 10: 711-127.

2. Buchstaller, A., Kunz, S., Berger, P., Rader C., Ziegler, U., and Sonderegger, P. (1996). The cell adhesion molecules NgCAM and axonin-1 form heterodimers in the neuronal membrane and cooperate in neurite outgrowth promotion. Submitted.

3. Burden-Gulley, S.M., and Lemmon, V. (1995). Ig superfamily adhesion molecules in the vertebrate nervous system: binding partners and signal transduction during axon growth. Sem. Dev. Biol. 6:79-87.

4. Colamarino, S.A., and Tessier-Lavigne, M. (1995). The axonal chemoattractant netrin-1 is also a chemorepellent for trochlear motor axons. Cell 81:621-629.

5. Doherty, P., and Walsh, F.S. (1994). Signal transduction events underlying neurite outgrowth stimulated by cell adhesion molecules. Curr. Opin. Neurobiol. 4:49-55.

6. Faissner, A., and Steindler, D. (1995). Boundaries and inhibitory molecules in developing neural tissues. Glia 13:233-254.

7. Goodman, C.S., and Shatz, C.J. (1993). Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. Neuron 10:77-98.

8. Grunwald, G.B. (1993). The structural and functional analysis of cadherin calcium-dependent cell adhesions molecule. Curr. Opin. Cell Biol. 5:797-805.

9. Kapfhammer, J.P., Grunewald, B.E., and Raper, J.A. (1986). The selective inhibition of growth cone extension by specific neurites in culture. J. Neurosci. 6:2527-2534.

10. Kater, S.B., and Rehder, V. (1995). The sensory-motor role of growth cone filopodia. Curr. Opin. Neurobiol. 5: 68-74.

11. Kennedy, T.E., Serafini, T., de la Torre, J.R., and Tessier-Lavigne, M. (1994). Netrins are diffusible chemotropic factors for commissural axons in the embryonic spinal cord. Cell 78:425-435.

12. Kolodkin, A.L., Matthes, D.J., and Goodman, C.S. (1993). The semaphorin genes encode a family of transmembrane and secreted growth cone guidance molecules. Cell 75:1389-1399.

13. Kuhn, T.B., Stoeckli, E.T., Condrau, M.A., Rathjen, F.G., and Sonderegger P. (1991). Neurite outgrowth on immobilized axonin-1 is mediated by a heterophilic interaction with L1 (G4). J. Cell Biol. 115:1113-1126.

14. Kunz, S., Ziegler, U., Kunz, B., and Sonderegger, P. (1996). A switch in intracellular signalling after clustering of the neural cell adhesion molecules axonin-1 and NgCAM during neurite-fasciculation .J. Cell Biol., in press.

15. Lagenaur, C., and Lemmon, V. (1987). An L1-like molecule, the 8D9 antigen, is a potent substrate for neurite extension. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7753-7757.

16. Luo, Y., Raible, D., and Raper, J.A. (1993). Collapsin: a protein in brain that induces the collapse and paralysis of neuronal growth cones. Cell 75:217-227.

17. Rader, C., Stoeckli, E.T., Ziegler, U., Osterwalder, T., Kunz, B., and Sonderegger, P. (1993). Cell-cell adhesion by homophilic interaction of the neuronal recognition molecules axonin-1. Eur. J. Biochem. 215:133-141.

18. Rader, C., Kunz, B., Lierheimer, R.A., Giger, R.J., Berger, P., Tittmann, P., Gross, H., and Sondergger P. (1996). Implications for the domain arrangement of the axonal glycoprotein axonin-1 derived from the mapping of its NgCAM binding site. EMBO J. 15:2056-2068.

19. Ranscht, B. (1994). Cadherins and cantenins: interactions and functions in embryonic development. Curr. Opin. Cell Biol. 6:740-746.

20. Serafini, T., Kennedy, T.E., Galko, M.J., Mirzayan, C., Jessell, T.M., and Tessier-Lavigne, M. (1994). The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to C. elegans UNC-6. Cell 78:409-424.

21. Sonderegger, P., and Rathjen, F.G. (1992). Regulation of axonal growth in the vertebrate nervous system by interactions between glycoproteins belonging to two subgroups of the immunoglobulin superfamily. J. Cell: Biol. 119:1387-1394.

22. Stoeckli, E.T., Kuhn, T.B., Duc, C.O., Ruegg, M.A., and Sonderegger, P. (1991). The axonally secreted protein axonin-1 is a potent substratum for neurite growth. J. Cell Biol. 112:449-455

23. Stoeckli, E.T., and Landmesser, L.T. (1995). Axonin-1, Nr-CAM, and Ng-CAM play different roles in the in vivo guidance of chick commissural neurons. Neuron 14:1165-1179.

24. Stoeckli, E.T., Ziegler, U., Bleiker, A.J., Groscurth, P., and Sonderegger P. (1996). Clustering and functional cooperation of Ng-CAM and axonin-1 in the substratum-contact area of growth cones. Dev. Biol. 177:15-29.

25. Suter, D.M., Pollerberg, G.E., Buchstaller, A., Giger, R.J., Dreyer, W., and Sonderegger, P. (1995). Heterophilic binding between the neural cell adhesion molecules axonin-1 and Nr-CAM/Bravo is involved in neuron-glia interaction. J. Cell Biol. 131:1067-1081 (1995).

26. Vogt, L., Giger, R.J., Ziegler, U., Kunz, B., Buchstaller, A., Hermens, W.T.J.M.C., Kaplitt, M.G., Rosenfeld, M.R., Pfaff, D.W., Verhaagen, J., and Sonderegger, P. (1996). Continuous renewal of the axonal pathway sensor apparatus by insertion of new sensor molecules into the growth cone membrane. Curr. Biol. 6:1153-1158 (1996).

27. Zisch, A.H., D'Allessandri, L., Ranscht, B., Falchetto, R., Winterhalter, K.H., and Vaughan, L. (1992). Neuronal cell adhesion molecule contactin/F11 bind to tenascin via its immunoglobulin-like domains. J.Cell Biol. 119:203-213.

Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta

Heft Nr. 1: (4. Auflage 1994)
Vorwort von Bundesrätin Ruth Dreifuss
Biographie von Professor Dr. Max Cloëtta
Biographie von Dr. Antoine Cloëtta
Übersicht über die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Ehrentafel der Preisträger

Heft Nr. 2:
Preisverleihung 1974
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Urs A. Meyer:
«Klinische Pharmakologie – eine Herausforderung für interdisziplinäre Zusammenarbeit»

Heft Nr. 3:
Preisverleihung 1975
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Hans Bürgi:
«Die Bekämpfung des Kropfes in der Schweiz. Ein Beispiel der Zusammenarbeit zwischen Grundlagenwissenschaftern, Klinikern und Behörden»

Heft Nr. 4:
Cérémonie de remise du prix 1976
Exposé du Dr Rui C. de Sousa, sur le thème:
«La membrane cellulaire: une frontière entre deux mondes»

Heft Nr. 5:
Preisverleihung 1977
Festvortrag des Preisträgers Professor Dr. Franz Oesch:
«Chemisch ausgelöste Krebsentstehung»

Heft Nr. 6:
Preisverleihung 1978
Festvortrag des Preisträgers Dr. Susumu Tonegawa:
«Cloning of Immunoglobulin Genes»

Heft Nr. 7:
Preisverleihung 1979
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Theodor Koller:
«Die strukturelle Organisation des genetischen Apparates höherer Organismen»
Professor Dr. Jean-Pierre Kraehenbuehl:
«Hormonal Control of the Differentiation of the Mammary Gland»

Heft Nr. 8:
Preisverleihung 1980
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Edward W. Flückiger:
«Neue Aspekte der Mutterkorn-Pharmakologie»
PD Dr. Albert Burger:
«Ein Vierteljahrhundert nach Entdeckung des aktivsten Schilddrüsenhormons (Trijodothyronin)»

Heft Nr. 9:
Preisverleihung 1981
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Rolf Zinkernagel:
«"Selbst"-Erkennung in der Immunologie»
Professor Dr. Peter A. Cerutti:
«A role for active oxygen species in human carcinogenesis?»

Heft Nr. 10:
Preisverleihung 1982
Festvorträge der beiden Preisträger
PD Dr. Jürgen Zapf:
«Wachstum und Wachstumsstörungen: ein gemeinsames Forschungsziel der klinischen und experimentellen Endokrinologie»
PD Dr Jean-Michel Dayer:
«Le monocyte-macrophage: un pivot entre le système immun et le tissu conjonctif dans le processus inflammatoire de l'arthrite rhumatoïde»

Heft Nr. 11:
Preisverleihung 1983
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Peter Böhlen:
«Peptides and Proteins as messengers in the communication between cells and organs»
PD Dr. Claes B. Wollheim:
«Regulation of insulin release by intracellular calcium»

Heft Nr. 12:
Preisverleihung 1984
Festvorträge der beiden Preisträger
Frau Professor Dr. Heidi Diggelmann:
«Beiträge der Retroviren zur Aufklärung grundlegender biologischer Prozesse»
Professor Dr. Jean-François Borel:
«Entwicklung und Bedeutung des Ciclosporins»

Heft Nr. 13:
Preisverleihung 1985
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Hans Thoenen:
«Entwicklungsneurobiologie: von der deskriptiven Analyse zum molekularen Verständnis»
Dr. Roberto Montesano:
«Cell-Extracellular Matrix Interactions in Organogenesis»

Heft Nr. 14:
Preisverleihung 1986
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Ueli Schibler:
«Mechanismen der gewerbespezifischen Regulation von Genen»
Professor Dr. Walter Schaffner:
«Enhancer-Sequenzen und die Regulation der Gen-Transkription»

Heft Nr. 15:
Preisverleihung 1987
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Jacques Louis:
«Rôle des lymphocytes T spécifiques sur l'évolution des lésions induites par leishmania major, un parasite vivant dans les macrophages de leur hôte»
Professor Dr. Joachim H. Seelig:
«Magnetische Resonanz – ein "magnetisches Auge" zur Untersuchung der Lebensvorgänge in vivo»

Heft Nr. 16:
Preisverleihung 1988
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Jean-Dominique Vassalli:
«Protéolyse et migrations cellulaires: Multiples facettes du contrôle d'une cascade enzymatique»
PD Dr. Hans Hengartner:
«Über die immunologische Toleranz»

Heft Nr. 17:
Preisverleihung 1989
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Heini Murer:
«Parathormon: Auf dem Weg zum Verständnis seiner Wirkung im proximalen Tubulus»
Dr. Hugh Robson MacDonald:
«Selection of the T Cell Antigen Receptor Repertoire during Development»

Heft Nr. 18:
Preisverleihung 1990
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Martin E. Schwab:
«Entwicklung, Stabilisierung und Regeneration von Faserverbindungen in Gehirn und Rückenmark: Die Rolle von Nervenwachstums-Hemmstoffen»
Professor Dr. Denis Monard:
«Protéases et inhibiteurs extracellulaires dans le système nerveux»

Heft Nr. 19:
Preisverleihung 1991
Festvorträge der beiden Preisträger
PD Dr. Peter J. Meier-Abt:
«Die Ausscheidungsfunktionen der Leber: Rolle von Membrantransport-Systemen»
PD Dr. Jacques Philippe:
«Structure and pancreatic expression of the insulin and glucagon genes»

Heft Nr. 20:
Preisverleihung 1992
Festvorträge der beiden Preisträger
PD Dr. Leena Kaarina Bruckner-Tuderman:
«Molecular Pathology of the Epidermal-Dermal Interface in Skin»
Professor Dr. Jürg Tschopp:
«Das Phänomen der von Lymphozyten vermittelten Zellyse»

Heft Nr. 21:
Preisverleihung 1993
Festvorträge der drei Preisträger
Dr. Paolo Meda:
«Cell-to-cell Communication and Pancreas Secretion»
Professor Dr. Adriano Fontana:
«Transforming Growth Factor Beta 2, ein von Tumorzellen gebildetes Zytokin mit immunparalysierender Wirkung»
Professor Dr. Michel Aguet:
«Neue Erkenntnisse zur Biologie und Molekularbiologie der Interferone»

Heft Nr. 22:
Preisverleihung 1994
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. rer. nat. Hans Rudolf Brenner:
«Die Regulation der Expression synaptischer Transmitter-Rezeptoren während der Synapsenbildung»
Daniel Pablo Lew, Professeur ordinaire de médecine:
«Signal Transduction and Ion Channels Involved in the Activation of Human Neutrophils»

Heft Nr. 23:
Preisverleihung 1995
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Jürg Reichen:
«Die sinusoidale Endothelzelle und Leberfunktion»
Dr. George Thomas jr.:
«The $p70^{s6k}$ Signal Transduction Pathway, S6, Phosphorylation and Translational Control»

EHRENTAFEL DER PREISTRÄGER

1974 Dr. Urs A. Meyer

1975 PD Dr. Hans Bürgi

1976 Dr. Rui de Sousa

1977 Prof. Dr. Franz Oesch

1978 Dr. Susumu Tonegawa

1979 Prof. Dr. Theodor Koller
Prof. Dr. Jean-Pierre Kraehenbuehl

1980 Prof. Dr. Edward W. Flückiger
PD Dr. Albert Burger

1981 Prof. Dr. Rolf M. Zinkernagel
Prof. Dr. Peter A. Cerutti

1982 PD Dr. Jürgen Zapf
PD Dr. Jean-Michel Dayer

1983 Prof. Dr. Peter Böhlen
PD Dr. Claes B. Wollheim

1984 Prof. Dr. Heidi Diggelmann
Prof. Dr. Jean-François Borel

1985 Prof. Dr. Hans Thoenen
Dr. Roberto Montesano

1986 Prof. Dr. Walter Schaffner
Prof. Dr. Ueli Schibler

1987 Prof. Dr. Jacques Louis
Prof. Dr. Joachim H. Seelig

1988 Prof. Dr. Jean-Dominque Vassalli
PD Dr. Hans Hengartner

1989 Prof. Dr. Heini Murer
Dr. Hugh Robson MacDonald

EHRENTAFEL
DER PREISTRÄGER

1990 Prof. Dr. Martin E. Schwab
Prof. Dr. Denis Monard

1991 PD Dr. Peter J. Meier-Abt
PD Dr. Jacques Philippe

1992 PD Dr. Leena Kaarina Bruckner-Tudermann
Prof. Dr. Jürg Tschopp

1993 Dr. Paolo Meda
Prof. Dr. Adriano Fontana
Prof. Dr. Michel Aguet
} Jubiläumsjahr

1994 Prof. Dr. Hans Rudolf Brenner
Prof. Dr. Daniel Pablo Lew

1995 Prof. Dr. Jürg Reichen
Dr. George Thomas jr.

1996 Dr. Lukas C. Kühn
Prof. Dr. Peter Sonderegger