

Aus dem Institut für Biochemie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Peptidgenerierung durch das Proteasom: Untersuchung des  
Einflusses der T210M Substitution im gp100<sub>209-217</sub> Tumorepitop  
auf die Antigenprozessierung.

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Kathrin Textoris-Taube

aus Bielefeld

Datum der Promotion: 10.3.2017

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abstrakt .....</b>	<b>3</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>7</b>
<b>Auszug aus der „Journal Summary List“ (ISI Web of knowledge).....</b>	<b>8</b>
<b>Publikation .....</b>	<b>11</b>
“The T210M substitution in the HLA-A*02:01 gp100 epitope strongly affects overall proteasomal cleavage site usage and antigen processing.”	
<b>Lebenslauf.....</b>	<b>24</b>
<b>Publikationsliste .....</b>	<b>26</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>29</b>

# **Peptidgenerierung durch das Proteasom: Untersuchung des Einflusses der T210M Substitution im gp100<sub>209-217</sub> Tumorepitop auf die Antigenprozessierung.**

## **Abstrakt**

Das 20S Proteasom ist als multikatalytische Protease für die Degradation von zellulären Proteinen verantwortlich und entscheidend an der Prozessierung MHC Klasse I-restringierter tumorspezifischer Peptide (Tumorepitope) beteiligt, die an der Zelloberfläche zytotoxischen T-Zellen (CTLs, *cytotoxic T lymphocytes*) präsentiert werden. Voraussetzung für die Aktivierung der CD8<sup>+</sup> T-Zellen ist die spezifische Erkennung und Interaktion des T-Zell-Rezeptors (TCRs) an der Oberfläche der T-Zelle mit dem Peptid-MHC-Komplex auf Tumorzellen. Somatische tumorspezifische Mutationen können zu einer auf den Tumor beschränkten Veränderung der Aminosäuresequenz und infolgedessen zur Entstehung neuer, tumorspezifischer Epitope (Neoepitope) beitragen. Derartige somatische Mutationen sind insbesondere dann therapeutisch interessant, wenn sie die MHC Klasse I-Bindungsaffinität eines antigenen Peptids erhöhen und so die Erkennung durch TCRs optimieren. Der Erfolg einer adoptiven T-Zell-Therapie hängt dabei stark von der effizienten Generierung solcher Neoepitope durch das Proteasom ab.

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss eines Aminosäureaustausches am Beispiel einer Substitution von Threonin gegen Methionin an Position 210 (T210M) im HLA-A\*02:01-restringierten GlucoProtein(gp) 100<sub>209-217</sub> Tumorepitops aus Melanomazellen auf die Antigenpräsentation. Zunächst wurde die Bedeutung dieses Aminosäureaustausches innerhalb des Tumorepitops auf das Spaltverhalten des Proteasoms untersucht. Bei der massenspektrometrischen Analyse der proteasomal generierten Spaltprodukte zeigten sich zwischen dem tumorassoziierten Wildtyp (wt) und dem mutierten (mut) gp100<sub>201-230</sub> Polypeptid qualitative als auch quantitative Unterschiede. Der T210M Austausch führte zur Generierung eines neuen, spezifischen Peptidpools, der neue, potenziell antigene Peptide mit einer guten theoretischen MHC Klasse I-Bindungsaffinität enthielt, und verbesserte die Menge an proteasomal prozessiertem Neoepitop bzw. dessen N-terminal verlängerten Vorläuferpeptiden. Untersuchungen zur Bindung des substituierten gp100<sub>209-217</sub> (T210M) Epitops an die MHC Klasse I-Protein-Komplexe und Antigenpräsentationsanalysen mit antigenspezifischen CD8<sup>+</sup> T-Zellen zeigten sowohl eine verbesserte Bindungsaffinität als auch eine erhöhte CD8<sup>+</sup> T-Zell-Stimulation

durch das T210M mut gp100<sub>209-217</sub> im Vergleich zum wt gp100<sub>209-217</sub> Epitop. Im Gegensatz dazu hatte der T210M Aminosäureaustausch im Tumorepitop keinen relevanten Einfluss auf das Trimmverhalten der Endoplasmatischen Retikulum residenten Aminopeptidase I (ERAP I), die für die N-terminale Verkürzung der proteasomal gebildeten Vorläuferpeptide zum minimalen Epitop verantwortlich ist. Zusammenfassend zeigen die in *vitro* Untersuchungen, dass es durch einen einzigen Aminosäureaustausch von Threonin zu Methionin innerhalb der Sequenz des HLA-A\*02:01-restringierten gp100<sub>209-217</sub> melanomen Tumorepitops zur Generierung eines veränderten, potenziell immunrelevanten Peptidpools durch das Proteasom kommt. Die Epitop-spezifische CD8<sup>+</sup> T-Zellantwort wird aufgrund der verbesserten proteasomalen Prozessierung des Tumorepitops bzw. dessen N-terminal verlängerter Vorläuferpeptide verstärkt.

## **Peptide generation by the proteasome: the influence of a T210M substitution in the gp100<sub>209-217</sub> tumour epitope on antigen presentation.**

### **Abstract**

The 20S proteasome a multi-catalytic protease, is responsible for degradation of most cellular proteins. It plays a key role in the generation of MHC class-I restricted tumour-specific epitopes that are presented on the cell surface to cytotoxic T cells (CTLs, *cytotoxic T lymphocytes*). A prerequisite for the activation of CD8<sup>+</sup> T cells is the specific recognition and the interaction of T cell receptors (TCRs) on the cell surface with the MHC- peptide complex.

Somatic tumour-specific mutations can contribute to alterations in the amino-acid sequence of an antigen and can result in the formation of new, tumour-specific epitopes (neo-epitopes). Such mutations are of therapeutic interest when they enhance the MHC class-I binding affinity of an epitope and in turn, potentially optimize the recognition by TCRs. The success of adoptive T cell therapy strongly depends on the efficient generation of neo-epitopes by the proteasome.

This study examines the influence on antigen presentation of a threonine to methionine substitution at position 210 (T210M) in the HLA-A\*02:01-restricted gp100<sub>209-217</sub> melanoma tumour epitope. At first, the relevance of the T210M exchange was investigated with respect to its influence on the cleavage site usage of the proteasome. Mass-spectrometric analysis of the proteasome-generated fragments disclosed qualitative as well as quantitative differences between the tumour-associated wild type (wt) and the mutated (mut) gp100<sub>201-230</sub> polypeptide. The T210M exchange resulted in the generation of a new, specific peptide pool that contained potentially antigenic peptides with good theoretical MHC class-I binding affinity. It also led to an enhancement of the amount of the proteasome-generated neoepitope and its N-terminally extended precursor-peptides. Analysing the binding of the neo-epitope to the MHC class-I protein complexes, and antigen presentation analyses using gp100<sub>209-217</sub> specific CD8<sup>+</sup> T cells, demonstrated an enhanced binding affinity of the mutant peptide as well as an increased CD8<sup>+</sup> T cell stimulation by the mut gp100<sub>209-217</sub> in comparison to the wt gp100<sub>209-217</sub> epitope. In contrast, the T210M exchange in the tumour epitope had no relevant influence on the trimming behaviour

of the endoplasmic reticulum-resident aminopeptidase I (ERAP I), responsible for N-terminal shortening of the proteasome-formed precursors to the minimal epitope.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Kathrin Textoris-Taube, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Peptidgenerierung durch das Proteasom: Untersuchung des Einflusses der T210M Substitution im gp100<sub>209-217</sub> Tumorepitop auf die Antigenprozessierung“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben ist. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

## Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

### *Publikation:*

Textoris-Taube, K.; Keller, C.; Liepe, J.; Henklein, P.; Sidney, J.; Sette, A.; Kloetzel, P. M.; Mishto, M., The T210M substitution in the HLA-A\*02:01 gp100 epitope strongly affects overall proteasomal cleavage site usage and antigen processing. *J Biol Chem* **2015**.

### *Beitrag im Einzelnen:*

Kathrin Textoris-Taube plante und führte im Wesentlichen die Experimente aus. Der größte Teil der Daten wurde von ihr selbstständig ausgewertet und die Ergebnisse - auch statistisch - abgebildet. Sie schrieb sowohl den Material- und Methodenteil, als auch teilweise die Bildunterschriften und die Ursprungsfassung des Manuskriptes. Außerdem überprüfte und korrigierte sie Text, Abbildungen und Daten der Endfassung des Manuskriptes kritisch und arbeitete an der Revision mit.

Besonders war sie an der Entwicklung und Validierung des Quantifizierungsprogrammes (QME) in Planung und praktischer Umsetzung beteiligt. Durch diese Vorarbeiten werden die vergleichenden Quantifizierungen von Schnittfragmenten, generiert von verschiedenen Proteasomen aus unterschiedlichen Substraten, erst möglich.

Die Identifizierung von niedrig konzentrierten proteasomalen Spliceprodukten durch sensitive Chromatografie- und Massenspektrometriemethoden ist von ihr fortwährend optimiert worden. Die dazu verwendeten Datenbanken entwickelte sie in Zusammenarbeit mit Biophysikern.

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

\_\_\_\_\_

## Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge<sup>SM</sup>)

Publikation im:

**Journal of Biological Chemistry** ranking 61 von 290 (rot markiert), Impactfactor : 4.573, Eigenfactor: 0.5184

ISI Web of Knowledge<sup>SM</sup>

Journal Citation Reports<sup>®</sup>

WELCOME HELP 2014 JCR Science Edition

Journal Summary List [Journal Title Changes](#)

Journals from: **subject categories BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY** [VIEW CATEGORY SUMMARY LIST](#)

Sorted by: **Impact Factor**

Journals 1 - 20 (of 290) Page 1 of 15

Ranking is based on your journal and sort selections.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <i>(linked to journal information)</i>	ISSN	JCR Data <sup>i)</sup>					Eigenfactor <sup>®</sup> Metrics <sup>j)</sup>		
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor <sup>®</sup> Score	Article Influence <sup>®</sup> Score
<input type="checkbox"/>	1	<a href="#">CELL</a>	0092-8674	201108	32.242	35.532	5.931	436	8.6	0.57703	19.361
<input type="checkbox"/>	2	<a href="#">ANNU REV BIOCHEM</a>	0066-4154	19927	30.283	32.360	4.129	31	>10.0	0.04392	16.865
<input type="checkbox"/>	3	<a href="#">NAT MED</a>	1078-8956	62572	28.223	27.504	5.935	155	7.9	0.16290	12.480
<input type="checkbox"/>	4	<a href="#">GENOME RES</a>	1000-9051	33977	14.630	15.567	3.190	107	6.1	0.13039	8.172
<input type="checkbox"/>	5	<a href="#">MOL PSYCHIATRY</a>	1359-4104	14510	14.496	13.034	3.152	151	5.4	0.04317	5.007
<input type="checkbox"/>	6	<a href="#">MOL CELL</a>	1097-2765	53786	14.018	15.052	3.625	304	6.8	0.20063	8.163
<input type="checkbox"/>	7	<a href="#">NAT STRUCT MOL BIOL</a>	1545-9993	26673	13.309	12.479	3.424	132	6.5	0.11474	7.480
<input type="checkbox"/>	8	<a href="#">NAT CHEM BIOL</a>	1552-4450	14121	12.996	14.273	3.545	145	5.0	0.06313	6.433
<input type="checkbox"/>	9	<a href="#">TRENDS BIOCHEM SCI</a>	0968-0004	15782	11.227	11.810	3.052	58	>10.0	0.03238	5.527
<input type="checkbox"/>	10	<a href="#">MOL SYST BIOL</a>	1744-4292	7644	10.072	12.019	1.430	40	4.6	0.03007	5.057
<input type="checkbox"/>	11	<a href="#">EMBO J</a>	0261-1189	72583	10.431	9.837	2.657	181	>10.0	0.12800	5.082
<input type="checkbox"/>	12	<a href="#">MOL ASPECTS MED</a>	0098-2997	4050	10.238	11.000	1.118	17	5.5	0.01122	3.499
<input type="checkbox"/>	13	<a href="#">NAT PROD REP</a>	0265-0568	8047	10.107	10.545	2.402	82	6.7	0.01673	3.173
<input type="checkbox"/>	14	<a href="#">PROG LIPID RES</a>	0163-7827	4825	10.015	12.204	2.500	22	8.1	0.00938	3.886
<input type="checkbox"/>	15	<a href="#">CURR BIOL</a>	0960-9822	40575	9.571	10.134	2.207	440	7.4	0.14406	4.900
<input type="checkbox"/>	16	<a href="#">TRENDS MOL MED</a>	1471-0914	7186	9.453	9.931	1.714	70	6.0	0.01916	3.502
<input type="checkbox"/>	17	<a href="#">PLOS BIOL</a>	1545-7885	25729	9.343	11.096	1.872	187	6.4	0.09292	6.212
<input type="checkbox"/>	18	<a href="#">PLANT CELL</a>	1040-4651	46901	9.338	10.529	1.711	311	8.6	0.08080	3.474
<input type="checkbox"/>	19	<a href="#">TRENDS MICROBIOL</a>	0966-842X	9285	9.186	9.017	2.315	73	8.2	0.01934	3.356
<input type="checkbox"/>	20	<a href="#">NUCLEIC ACIDS RES</a>	0305-1048	136883	9.112	8.867	2.326	1532	7.4	0.34347	3.442





Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <i>(linked to journal information)</i>	ISSN	JCR Data (j)						Eigenfactor® Metrics (j)	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor® Score	Article Influence® Score
<input type="checkbox"/>	61	<a href="#">J BIOL CHEM</a>	0021-9258	396051	4.573	4.693	0.892	3007	>10.0	0.54184	1.740
<input type="checkbox"/>	62	<a href="#">BIOCONJUGATE CHEM</a>	1043-1802	14391	4.513	4.676	0.861	245	6.5	0.02542	1.195
<input type="checkbox"/>	63	<a href="#">INT J BIOL SCI</a>	1449-2288	2611	4.509	4.195	0.554	112	3.4	0.00935	1.173
<input type="checkbox"/>	64	<a href="#">MOL MED</a>	1076-1551	4481	4.508	4.844	0.769	52	6.0	0.01138	1.576
<input type="checkbox"/>	65	<a href="#">J LIPID RES</a>	0022-2275	21622	4.421	5.175	1.104	241	8.5	0.04284	1.816
<input type="checkbox"/>	66	<a href="#">MOL MICROBIOL</a>	0950-382X	36696	4.419	4.764	0.961	356	9.8	0.05923	1.883
<input type="checkbox"/>	67	<a href="#">BIOCHEM J</a>	0264-6021	49955	4.396	4.660	0.894	368	>10.0	0.06128	1.751
<input type="checkbox"/>	68	<a href="#">BBA-GEN SUBJECTS</a>	0304-4165	10154	4.381	4.555	1.393	354	5.9	0.02220	1.352
<input type="checkbox"/>	69	<a href="#">ACS CHEM NEUROSCI</a>	1948-7193	1877	4.362	4.363	1.024	126	2.4	0.00839	1.321
<input type="checkbox"/>	70	<a href="#">EUR J HUM GENET</a>	1018-4813	8090	4.349	3.939	1.498	219	5.4	0.02518	1.489
<input type="checkbox"/>	71	<a href="#">J MOL BIOL</a>	0022-2836	66318	4.333	3.702	1.483	296	>10.0	0.08465	1.660
<input type="checkbox"/>	72	<a href="#">J NEUROCHEM</a>	0022-3042	36434	4.281	3.974	1.003	310	9.6	0.04523	1.197
<input type="checkbox"/>	73	<a href="#">MOL CANCER</a>	1476-4598	6350	4.257	5.220	0.758	256	4.5	0.01969	1.443
<input type="checkbox"/>	73	<a href="#">PLANT MOL BIOL</a>	0167-4412	14156	4.257	4.573	0.752	141	>10.0	0.01369	1.232
<input type="checkbox"/>	75	<a href="#">BIOELECTROCHEMISTRY</a>	1567-5394	3754	4.172	3.854	0.800	65	7.0	0.00527	0.836
<input type="checkbox"/>	76	<a href="#">INT J BIOCHEM CELL B</a>	1357-2725	14177	4.046	4.371	0.671	301	6.8	0.02927	1.352
<input type="checkbox"/>	77	<a href="#">FEBS J</a>	1742-464X	14865	4.001	4.068	0.766	380	4.9	0.04824	1.341
<input type="checkbox"/>	78	<a href="#">AM J RESP CELL MOL</a>	1044-1549	11279	3.985	4.416	1.091	197	7.7	0.02428	1.552
<input type="checkbox"/>	79	<a href="#">MOL PLANT MICROBE EVOL</a>	0894-0282	9794	3.944	4.414	0.788	118	8.2	0.01424	1.241
<input type="checkbox"/>	80	<a href="#">MOL PHYLOGENET EVOL</a>	1055-7903	15916	3.916	4.064	0.958	308	6.8	0.03399	1.322

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <i>(linked to journal information)</i>	ISSN	JCR Data (j)						Eigenfactor® Metrics (j)	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor® Score	Article Influence® Score
<input type="checkbox"/>	81	<a href="#">CURR MED CHEM</a>	0929-0673	14629	3.853	4.115	0.852	297	5.8	0.02853	1.006
<input type="checkbox"/>	82	<a href="#">MACROMOL BIOSCI</a>	1616-5187	5749	3.851	4.012	0.596	166	5.3	0.01147	0.924
<input type="checkbox"/>	83	<a href="#">BBA-BIOMEMBRANES</a>	0005-2736	14340	3.836	3.881	1.006	325	7.0	0.02991	1.257
<input type="checkbox"/>	84	<a href="#">PROTEOMICS</a>	1615-9853	15886	3.807	3.823	0.793	261	6.3	0.03322	1.088
<input type="checkbox"/>	85	<a href="#">J INHER BIOCHEM</a>	0955-2863	6900	3.794	3.989	0.953	150	5.5	0.01340	0.957
<input type="checkbox"/>	86	<a href="#">MOL ECOL RESOUR</a>	1755-098X	6378	3.712	4.990	1.630	127	4.5	0.02558	1.647
<input type="checkbox"/>	87	<a href="#">APOPTOSIS</a>	1360-8185	5386	3.685	3.948	0.889	144	6.5	0.00995	1.043
<input type="checkbox"/>	88	<a href="#">METHODS</a>	1046-2023	14080	3.645	3.851	1.516	246	>10.0	0.01945	1.516
<input type="checkbox"/>	89	<a href="#">CELL BIOSCI</a>	2045-3701	450	3.630	3.443	0.536	69	2.4	0.00203	1.050
<input type="checkbox"/>	90	<a href="#">J STEROID BIOCHEM</a>	0960-0760	8602	3.628	3.512	0.755	212	9.1	0.01269	0.977
<input type="checkbox"/>	91	<a href="#">PLANT SCI</a>	0168-9452	11274	3.607	3.904	0.535	202	9.7	0.01462	1.043
<input type="checkbox"/>	92	<a href="#">J GENET GENOMICS</a>	1673-8527	1324	3.585	2.849	0.745	47	4.0	0.00467	0.855
<input type="checkbox"/>	92	<a href="#">METALLOMICS</a>	1756-5901	2373	3.585	3.980	0.856	209	2.9	0.00878	1.005
<input type="checkbox"/>	94	<a href="#">FRONT BIOSCI-LANDM</a>	1093-9946	9124	3.523	3.200	0.705	105	6.9	0.01486	1.014
<input type="checkbox"/>	95	<a href="#">NITRIC OXIDE-BIOL CH</a>	1089-8603	2794	3.521	3.447	0.611	90	6.3	0.00509	0.868
<input type="checkbox"/>	96	<a href="#">PROG MOL BIOL TRANSL</a>	1877-1173	1373	3.488	3.121	0.557	79	2.8	0.00813	1.219
<input type="checkbox"/>	97	<a href="#">INSECT BIOCHEM MOLEC</a>	0965-1748	6647	3.450	3.650	0.973	111	9.2	0.00782	0.938
<input type="checkbox"/>	98	<a href="#">EXP MOL MED</a>	1226-3613	2212	3.446	2.831	0.661	56	5.6	0.00532	0.811
<input type="checkbox"/>	99	<a href="#">J INORG BIOCHEM</a>	0162-0134	10837	3.444	3.447	0.770	209	8.2	0.01220	0.720
<input type="checkbox"/>	100	<a href="#">INT REV CEL MOL BIOL</a>	1937-6440	1204	3.419	4.172	1.102	49	3.8	0.00518	1.438

<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M115.695189>

Textoris-Taube K, Keller C, Liepe J, Henklein P, Sidney J, Sette A, Kloetzel P. M, Mishto M. *The T210M substitution in the HLA-A\*02:01 gp100 epitope strongly affects overall proteasomal cleavage site usage and antigen processing.*

Journal of Biological Chemistry, 2015; 290, 30417-30428.

Seite 11-23



























Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

S. 24-25





## Publikationsliste

1 Mishto M, Santoro A, Bellavista E, Sessions R, Textoris-Taube K, Dal Piaz F, Carrard G, Forti K, Salvioli S, Friguet B, Kloetzel P. M, Rivett A. J, Franceschi C. A structural model of 20S immunoproteasomes: effect of LMP2 codon 60 polymorphism on expression, activity, intracellular localisation and insight into the regulatory mechanisms. *Biol Chem* 2006;387(4):417-29.  
Impact: 3.268

2 Strehl B, Joeris T, Rieger M, Visekruna A, Textoris-Taube K, Kaufmann S. H, Kloetzel P. M, Kuckelkorn U, Steinhoff U. Immunoproteasomes are essential for clearance of *Listeria monocytogenes* in nonlymphoid tissues but not for induction of bacteria-specific CD8+ T cells. *J Immunol* 2006;177(9):6238-44.  
Impact: 4.573

3 Textoris-Taube K, Henklein P, Pollmann S, Bergann T, Weisshoff H, Seifert U, Drung I, Mugge C, Sijts A, Kloetzel P. M, Kuckelkorn U. The N-terminal flanking region of the TRP2360-368 melanoma antigen determines proteasome activator PA28 requirement for epitope liberation. *J Biol Chem* 2007;282(17):12749-54.  
Impact: 4.573

4 Mishto M, Luciani F, Holzhutter H. G, Bellavista E, Santoro A, Textoris-Taube K, Franceschi C, Kloetzel P. M, Zaikin A. Modeling the in vitro 20S proteasome activity: the effect of PA28-alpha-beta and of the sequence and length of polypeptides on the degradation kinetics. *J Mol Biol* 2008;377(5):1607-17.  
Impact: 4.333

5 Strehl, B.; Textoris-Taube, K.; Jaekel, S.; Voigt, A.; Henklein, P.; Steinhoff, U.; Kloetzel, P. M.; Kuckelkorn, U., Antitopes define preferential proteasomal cleavage site usage. *J Biol Chem* 2008;283(26):17891-7.  
Impact: 4.573

6 Jakel S, Kuckelkorn U, Szalay G, Plotz M, Textoris-Taube K, Opitz E, Klingel K, Stevanovic S, Kandolf R, Kotsch K, Stangl K, Kloetzel P. M, Voigt A. Differential interferon responses enhance viral epitope generation by myocardial immunoproteasomes in murine enterovirus myocarditis. *Am J Pathol* 2009;175(2):510-8.  
Impact: 4.591

7 Liepe J, Mishto M, Textoris-Taube K, Janek K, Keller C, Henklein P, Kloetzel P. M, Zaikin A. The 20S proteasome splicing activity discovered by SpliceMet. *PLoS Comput Biol* 2010; 6(6).  
Impact: 4.620

8 Mishto M, Bellavista E, Ligorio C, Textoris-Taube K, Santoro A, Giordano M, D'Alfonso S, Listi F, Nacmias B, Cellini E, Leone M, Grimaldi L. M, Fenoglio C, Esposito F, Martinelli-Boneschi F, Galimberti D, Scarpini E, Seifert U, Amato M. P, Caruso C, Foschini M. P, Kloetzel P.M, Franceschi C. Immunoproteasome LMP2 60HH variant alters MBP epitope generation and reduces the risk to develop multiple sclerosis in Italian female population. *PLoS One* 2010;5. Impact: 3.234

9 Voigt A, Jakel, S, Textoris-Taube K, Keller C, Drung I, Szalay G, Klingel K, Henklein P, Stangl K, Kloetzel P. M, Kuckelkorn U. Generation of in silico predicted coxsackievirus B3-derived MHC class I epitopes by proteasomes. *Amino Acids* 2010;39(1):243-55. Impact: 3.293

10 de Graaf N, van Helden M. J, Textoris-Taube K, Chiba T, Topham D. J, Kloetzel P. M, Zaiss D. M, Sijts A. J. PA28 and the proteasome immunosubunits play a central and independent role in the production of MHC class I-binding peptides in vivo. *Eur J Immunol* 2011;41(4):926-35. Impact: 4.034

11 Mishto M, Goede A, Taube K. T, Keller C, Janek K, Henklein P, Niewianda A, Kloss A, Gohlke S, Dahlmann B, Enenkel C, Kloetzel P. M. Driving forces of proteasome-catalyzed peptide splicing in yeast and humans. *Mol Cell Proteomics* 2012;11(10):1008-23. Impact: 6.564

12 Urban S, Textoris-Taube K, Reimann B, Janek K, Dannenberg T, Ebstein F, Seifert C, Zhao F, Kessler J. H, Halenius A, Henklein P, Paschke J, Cadel S, Bernhard H, Ossendorp F, Foulon T, Schadendorf D, Paschen A, Seifert U. The efficiency of human cytomegalovirus pp65(495-503) CD8+ T cell epitope generation is determined by the balanced activities of cytosolic and endoplasmic reticulum-resident peptidases. *J Immunol* 2012;189(2):529-38. Impact: 4.922

13 Textoris-Taube K, Keller C, Kuckelkorn U, Kloetzel P. M. Analysis of proteasome generated antigenic peptides by mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2013; 960:15-29.

14 Gohlke S, Kloss A, Tsokos M, Textoris-Taube K, Keller C, Kloetzel P. M, Dahlmann, B. Adult human liver contains intermediate-type proteasomes with different enzymatic properties. *Ann Hepatol* 2014; 13(4):429-38. Impact: 2.065

15 Gohlke S, Mishto M, Textoris-Taube K, Keller C, Giannini C, Vasuri F, Capizzi E, D'Errico-Grigioni A, Kloetzel P. M, Dahlmann B. Molecular alterations in proteasomes of rat liver during aging result in altered proteolytic activities. *Age (Dordr)* 2014;36(1):57-72. Impact: 3.390

16 Mishto M, Liepe J, Textoris-Taube K, Keller C, Henklein P, Weberruss M, Dahlmann B, Enenkel C, Voigt A, Kuckelkorn U, Stumpf M. P, Kloetzel P. M. Proteasome isoforms exhibit only quantitative differences in cleavage and epitope generation. *Eur J Immunol* 2014;44(12):3508-21.  
Impact: 4.034

17 Keller M, Ebstein F, Burger E, Textoris-Taube K, Gorny X, Urban S, Zhao F, Dannenberg T, Sucker A, Keller C, Saveanu L, Kruger E, Rothkotter H. J, Dahlmann B, Henklein P, Voigt A, Kuckelkorn U, Paschen A, Kloetzel P. M, Seifert U. The proteasome immunosubunits, PA28 and ER-aminopeptidase 1 protect melanoma cells from efficient MART-1 -specific T-cell recognition. *Eur J Immunol* 2015.  
Impact: 4.034

18 Textoris-Taube K, Keller C, Liepe J, Henklein P, Sidney J, Sette A, Kloetzel P. M, Mishto M. The T210M substitution in the HLA-A\*02:01 gp100 epitope strongly affects overall proteasomal cleavage site usage and antigen processing. *J Biol Chem* 2015.  
Impact: 4.573

19 Voigt J, Janek K, Textoris-Taube K, Niewianda A, Wostemeyer J. Partial purification and characterisation of the peptide precursors of the cocoa-specific aroma components. *Food Chem* 2016;192:706-13.  
Impact: 3.901

20 Platteel AC, Mishto M, Textoris-Taube K, Keller C, Liepe J, Busch DH, Kloetzel PM, Sijts AJ. CD8+ T cells of *Listeria monocytogenes*-infected mice recognize both linear and spliced proteasome products. *Eur J Immunol*. 2016 Feb  
Impact: 4.034

21 Ebstein F, Textoris-Taube K, Keller C, Golnik R, Vigneron N, Van den Eynde B. J, Schuler-Thurner B, Schadendorf D, Lorenz F. K. M, Uckert W, Urban S, Lehmann A, Albrecht-Koepke N, Janek K, Henklein P, Niewianda A, Kloetzel P. M, Mishto M. Proteasomes generate spliced epitopes by two different mechanisms and as efficiently as non-spliced epitopes. *Sci Rep*. 2016 Apr 6  
Impact: 5.597

## Danksagung

In erster Linie möchte ich mich bei Prof. Dr. Peter-Michael Kloetzel bedanken, der es mir ermöglichte in seiner Arbeitsgruppe neben meiner beruflichen Tätigkeit unter wirklich vorbildlichen Bedingungen intensiv wissenschaftlich zu arbeiten, mit ihm zu jeder Zeit wertvolle und fruchtbare Diskussionen zu führen und letztendlich zu promovieren. Ohne seine tolle Unterstützung wäre dies nicht möglich gewesen.

Meinem Kollegen Dr. Michele Mishto danke ich vor allem für die sehr gute und effektive Zusammenarbeit, die interessante Problemstellung und die unverzichtbare Unterstützung und Hilfe beim Erarbeiten und Vollenden des Manuskriptes. Mein besonderer Dank gilt auch Prof. Dr. Antje Voigt und Prof. Dr. Ulrike Seifert für die vielen fachlichen Diskussionen, Hilfestellungen beim wissenschaftlichen Arbeiten und dass sie immer ein offenes Ohr für sämtliche Probleme und Fragestellungen hatten. Aus ihrer fortwährenden Aufmunterung und Diskussionsbereitschaft resultierte mein Durchhaltevermögen in der Promotionszeit.

Vielen Dank meinen Kollegen im Massenspektrometrielabor- vor allen Dingen Christin Keller für die tatkräftige praktische Unterstützung und Hilfe ganz besonders bei einigen Versuchen in meiner Arbeit- sowie natürlich Monika Schmid, Agathe Niewianda und Dr. Katharina Janek für die nette und lustige Atmosphäre während des Laboralltages. Dankeschön an Juliane Liepe, die schon während ihrer Diplomarbeit in unserem Labor ein toller Diskussionspartner war.

Ich spreche allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Kloetzel, insbesondere meinen Kollegen in der Peptidsynthese Dr. Petra Henklein, Prisca Kunert und Barbara Brech-Jachan, meinen Dank aus, dass sie durch ihre hilfsbereite Unkompliziertheit und das freundliche und produktive Arbeitsklima zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Meinem Mann und Kindern danke ich besonders für die Unterstützung außerhalb des Labors und das Verständnis für die im Institut verbrachte Zeit.