

Zusammenfassung

Muscle LIM Protein und Nesprin-1 in Mechanotransduktion

Quergestreifte Muskelzellen sind sich ständig ändernden physikalischen Stimuli wie Dehnung oder sich ändernder Festigkeit des sie umgebenden Gewebes konfrontiert. Der Prozess, mit dem diese physikalischen Stimuli in biochemische Signale übersetzt wird, heißt Mechanotransduktion. In dieser Dissertation wurden drei Proteine untersucht, die Teil von zwei verschiedenen Mechanismen der Mechanotransduktion sind.

Muscle LIM Protein (MLP) ist ein kleines Protein, das spezifisch in quergestreifter Muskulatur vorkommt. MLP migriert vom Zytoplasma isolierter neonataler Kardiomyozyten in deren Zellkern, wenn die Zellen in 2D-Kulturen gedehnt werden. Wird dies verhindert, zeigen die Zellen keine Adaptation an den Stimulus. Obwohl einige Interaktionspartner von MLP bekannt sind, ist dessen Funktion insgesamt nicht vollständig verstanden. Patienten mit Mutationen in dem Gen, das für MLP kodiert, entwickeln Herzmuskelerkrankungen und sind der Gefahr des plötzlichen Herztodes ausgesetzt. Mäuse mit einem Knockout von MLP (MLP^{-/-} Mäuse) entwickeln einen Phänotyp, der der Dilatativen Kardiomyopathie beim Menschen ähnelt.

Ich wollte zeigen, dass MLP wegen der Mutationen der Patienten nicht mehr in den Zellkern transloziert und dies das Expressionsmuster der isolierten Kardiomyozyten nach Dehnung verändert. Ich etablierte die Kultur neonataler Kardiomyozyten in 2D und 3D Kulturbedingungen und bereitete Viren vor, die für verschiedene Mutationen von MLP kodierten, mit denen MLP^{-/-}-Kardiomyozyten transduziert werden sollten. Überraschenderweise translozierte MLP nie in den Zellkern von Kardiomyozyten, die in 3D- statt in 2D-Kulturen gedehnt wurden. Auch wenn ich in der gegebenen Zeit dieses Problem nicht vollständig lösen konnte, habe ich die notwendigen Methoden und Materialien für zukünftige Experimente in 2D etabliert.

Zusammen mit SUN-Proteinen formen große Nesprin-Proteine den die Kernmembran überspannenden LINC-Komplex. Dieser interagiert mit Emerin und Lamin-Proteinen im Inneren des Zellkernes und ist im Zytoplasma mit den verschiedenen Bestandteilen des Zytoskelettes verbunden. Ein junger Patient, der aufgrund eines fälschlich kodierten Stopp-Codons ein verkürztes Nesprin-Protein (Nesprin1- Δ KASH) produziert, litt an angeborener Muskeldystrophie. Nesprin1- Δ KASH fehlt die Domäne, mit der das Protein mit SUN-Proteinen interagiert. Somit ist bei diesem Patienten vermutlich der LINC-Komplex nicht vollständig funktionsfähig.

Während Nesprin1- Δ KASH in den Myoblasten des Patienten nicht exprimiert war, war die Lokalisation anderer, LINC assoziierter Proteine normal. Die Zellen hatten verformte Zellkerne und zeigten Defekte in der Reaktion auf verschiedene physikalische Stimuli. Dies ähnelte Myoblasten von Patienten, die Mutationen in Lamin-A/C hatten (LMNA- Δ K32 Myoblasten). Dies deutet darauf hin, dass Nesprin-1 und Lamin-A/C am gleichen Mechanismus der Mechanotransduktion beteiligt sind. Wenn die Myoblasten auf weichen Petrischalen, die die Festigkeit von Muskelgewebe imitierten, kultiviert wurden, entwickelten die Zellen beider Patienten verstärkt Stressfasern, die normalerweise nur auf harten

Untergründen gebildet werden. Daten in dieser Dissertation zeigen, dass die Stressfasern wegen einer Überaktivität von ROCK und SRC gebildet wurden. Knock-down des Formin Proteins FHOD1, das von ROCK und SRC aktiviert wird, reduzierte den beobachteten Phänotyp bei beiden Zelllinien.

Es wird bereits länger vermutet, dass Mutationen in Nesprin und Lamin Proteinen zu einer mechanischen Destabilisierung der Kernmembran führt. Die hier gezeigten Ergebnisse deuten darauf hin, dass nicht nur eine solche Destabilisierung vorliegt, sondern auch Signalwege, die durch die Kernmembran hindurch gehen, gestört sind.