

Eva Maria Christina Schwaibold
Dr. med.

Charakterisierung der funktionellen Interaktion zwischen Neurochondrin und mDia1 und ihre Auswirkung auf das Neuritenwachstum

Promotionsfach: Pharmakologie
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. R. Grosse

Das Protein mDia1 zählt zu der Proteingruppe der Formine, welche für den Aufbau und die Funktion des Zell-Zytoskeletts wichtig sind. Zu Beginn dieser Arbeit war über einen als „FH3-Domäne“ bezeichneten Bereich von mDia1 nur wenig bekannt. Daher sollten neue Interaktionspartner dieses Bereichs gesucht werden. Dabei wurde das Protein Neurochondrin (NC) als spezifischer Bindungspartner der FH3-Domäne identifiziert. Da NC unter anderem eine wichtige Rolle beim Neuritenwachstum von Mäusen, Ratten und Menschen spielt - einem Bereich, in dem auch mDia1 von Bedeutung ist - wurde die Interaktion der beiden Proteine genauer untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass mDia1 und NC im Axon kultivierter hippocampaler Rattenneurone teilweise colokalisiert sind. Da NC zwischen den drei Spezies Maus, Ratte und Mensch hoch konserviert ist, schien ein Spezieswechsel auf die murine Neuroblastomzelllinie Neuro-2a als einfacherem Studienmodell zur Untersuchung der Wirkung der beiden Proteine auf Neuritenwachstum vertretbar.

Das mDia1-Konstrukt Δ DAD, das durch eine Deletion im C-Terminus konstitutiv-aktiv ist, induzierte dabei einen signifikanten Anstieg Neuriten-tragender Zellen auf 70% gegenüber den Kontrollzellen. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Anstieg wahrscheinlich hauptsächlich auf die vermehrte Aktin-Polymerisation durch Δ DAD zurückzuführen ist. Das Einbringen (Transfektion) rekombinanter Plasmid-DNA - hier von NC bzw. den im Rahmen dieser Arbeit hergestellten NC-Deletionsmutanten - in die Neuro-2a-Zellen, bewirkte einen maximal halb so großen Anstieg Neuriten-tragender Zellen wie bei Δ DAD. Vor allem bei der Cotransfektion von Δ DAD mit den NC-Mutanten wurde dabei eine gegensätzliche Wirkung des N- und des C-Terminus von NC auf Neuritenwachstum offenbar:

Der N-Terminus von NC (NC 1-100) förderte Neuritenwachstum leicht, wohingegen der C-terminale Rest von NC (NC 100-729) zu einer signifikanten Reduktion von Δ DAD-induziertem Neuritenauswuchs führte. Da nachgewiesen werden konnte, dass NC 1-100 und NC 100-729 auch auf zellulärer Ebene interagieren, legt dies eine funktionelle Faltung von NC nahe. Dabei würde das an mDia1 gebundene und durch einen noch unbekanntem Faktor aktivierte NC über seinen dann exponierten N-Terminus eine Funktion als Inhibitor des Proteins ROCK wahrnehmen. ROCK hemmt normalerweise das Neuritenwachstum. Durch eine NC-vermittelte Inhibition von ROCK wäre somit aber die mDia1-vermittelten Neuritenbildung wieder möglich.

NC 100-729 hingegen würde durch seine Bindung an NC 1-100 oder an die FH3-Domäne von mDia1 dessen Wirkung als ROCK-Inhibitor hemmen. Dadurch könnte ROCK seine inhibitorische Wirkung auf das Neuritenwachstum wieder ausüben.

Der genaue Mechanismus des Effekts von NC auf mDia1 konnte nicht aufgedeckt werden und bleibt in künftigen Studien zu klären; eine Wirkung über die als „molekulare Schalter“ funktionierenden G-Proteine oder Adhärensverbindungen sind mögliche Ansatzpunkte.