

Kai Schumacher
Dr. med.

Spezifische Transkriptionsregulation durch differenzielle Calciumsignalmuster in humanen T-Lymphozyten

Promotionsfach: Neurologie
Doktormutter: Frau Prof. Dr. Brigitte Wildemann

Calciumsignale spielen in T-Lymphozyten eine zentrale Rolle. Insbesondere ihre Regulation von Genen über die Steuerung Calcium-abhängiger Transkriptionsfaktoren macht sie zu einem spannenden Objekt immunologischer Grundlagenforschung. Trotz ihrer immensen Bedeutung für die T-Zell-Aktivierung und damit für die Funktion des menschlichen Immunsystems ist über ihre kodierende Funktion bei der Regulation der Immunantwort von T-Lymphozyten wenig bekannt. Die Regulation von gegenläufigen Prozessen wie Proliferation und Apoptose durch Calciumsignale führen zu der Frage, wie ein gleichartiges Signal - nämlich die Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration - zu so verschiedenen Reaktionen innerhalb ein und derselben Zelle führen kann. Ziel der vorliegenden Arbeit war daher, mittels spezifischer Calciumsignalmuster die differenzielle Aktivierung von NFAT und Cabin1 zu untersuchen. Zunächst wurde eine Methode zur gleichzeitigen Analyse von Calciumsignalen und Lokalisation der Transkriptionsfaktoren NFAT und Cabin1 auf Einzelzellebene entwickelt. Dabei wurde der Verlauf der intrazellulären Calciumkonzentration mittels Live-Cell-Imaging erfasst. Die Darstellung der Lokalisation der Transkriptionsfaktoren erfolgte mittels Immunfluoreszenz nach Fixierung und Färbung der T-Lymphozyten. Diese Technik ermöglichte es, individuelle Calciumsignalmuster, die durch Stimulation von humanen T-Lymphozyten generiert wurden, mit der Translokation der Calcium-sensitiven Transkriptionsfaktoren NFAT und Cabin1 zu korrelieren. Nach Etablierung der Methode erfolgte die Analyse der Translokation von NFAT und Cabin1 in Abhängigkeit unterschiedlicher Calciumsignale. Hierbei konnten Unterschiede im Translokationsverhalten der beiden Transkriptionsfaktoren gezeigt werden. Für die Translokation von NFAT aus dem Zytosol in den Zellkern stellen anhaltend hohe Calciumsignale einen geeigneten Stimulus dar. Nach Wegfall des Stimulus kehrt NFAT innerhalb weniger Minuten wieder ins Zytosol zurück. Für Cabin1 konnte erstmals gezeigt werden, dass ein Peak-förmiger Calciumverlauf den optimalen Stimulus für die Translokation vom Zellkern ins Zytosol darstellt und Cabin1 durch anhaltend hohe Calciumsignale nur suboptimal aktiviert wird. Auch wurde nachgewiesen, dass Cabin1 nach Wegfall des Stimulus langsamer als NFAT wieder zurück in den Zellkern transloziert. Mit der Entwicklung einer Methode zur sequenziellen Analyse von Calciumsignalen und der Lokalisation von Transkriptionsfaktoren auf Einzelzellebene wurde in dieser Arbeit die Basis geschaffen für weitere Analysen verschiedenster Zelltypen mit Calcium-gesteuerten Transkriptionsfaktoren. Anhand der Transkriptionsfaktoren NFAT und Cabin1 konnte die Validität der Methode und zudem die differenzielle Aktivierung der beiden Transkriptionsfaktoren in Abhängigkeit des Calciumsignals gezeigt werden. Die Ergebnisse weisen indirekt darauf hin, wie so gegensätzliche Mechanismen wie Zellproliferation und Induktion von Apoptose beide von Calcium als Second Messenger gesteuert werden können.