

Nathalie Schell

Dr. med.

Nachweis einer Gephyrin-positiven Struktur in verschiedenen Geweben

Fach/Einrichtung: Anatomie und Zellbiologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Ralph Nawrotzki, D. Phil

Gephyrin ist ein 93 kDa Protein, das eine essentielle Rolle bei der Verankerung inhibitorischer Glycin- und GABA_A-Rezeptoren an postsynaptischen Verdichtungen zentraler Neurone spielt. Zusätzlich katalysiert Gephyrin den letzten Schritt der Biosynthese des Molybdän-Cofaktors, der prosthetischen Gruppe von Molybdoenzymen, in nicht-neuronalen Zellen. Neben der Verteilung an postsynaptischen Verdichtungen ist Gephyrin vor allem im Zytosol von Neuronen und nicht-neuronalen Zellen nachweisbar. Im Vorfeld dieser Arbeit wurde von Herrn PD Dr. Dr. Nawrotzki eine weitere Verteilung von Gephyrin in Zellen der Mausleber beschrieben; dabei handelt es sich um eine durch Gephyrin markierte, runde Struktur, die z.B. in Hepatozyten nur einmal pro Zelle vorkommt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Vorkommen der Gephyrin-positiven Struktur zu verifizieren und ihre Zelltyp-spezifische und subzelluläre Verteilung näher zu charakterisieren. Zu diesem Zweck wurden immunhistochemische Untersuchungen mit einer Reihe von eigenen und kommerziellen anti-Gephyrin Antikörpern auf Kryostatschnitten von Organen der Maus (C57Bl/6) durchgeführt. Darüber hinaus wurden Größenbestimmungen der Struktur mit Hilfe der konfokalen Lasermikroskopie durchgeführt und Vergleiche mit Befunden von immunelektronenmikroskopischen Bildern (von Prof. Dr. Gorgas bereitgestellt) angestellt. Schließlich wurde ein Vergleich der hier erhobenen Befunde mit Daten des frei zugänglichen Human Protein Atlas-Portals vorgenommen.

Die Gephyrin-positive Struktur wurde in Zellen verschiedener Maus-Organen nachgewiesen, z.B. in Zellen von Leber, Niere, Herz, Lunge, Magen, Pankreas, Großhirn und Kleinhirn sowie der Tuba uterina. Die weitere Untersuchung der Struktur in den einschlägigen Geweben zeigte, dass nicht alle Regionen eines Organs bzw. dessen Zelltypen die Struktur enthielten. In vielen Organen konnte eine Zelltyp-spezifische Verteilung gezeigt werden: In der Leber war die Struktur in Hepatozyten zu finden, in der Niere zeigten Zellen des proximalen Tubulus sowie Zellen des aufsteigenden Teils der Henle-Schleife die Gephyrin-positive Struktur. Im Herzen wiesen Kardiomyozyten sowie Zellen des Reizleitungssystems die Struktur auf. In Lunge war die Struktur in Zellen der Bronchioli zu finden, wobei keine Klarheit hinsichtlich der Expression in Clara-Zellen bzw. den Zellen des respiratorischen Epithels erzielt wurde. Die Gephyrin-positive Struktur fand sich in Zellen des hyalinen Knorpels, in den Parietalzellen des Magens sowie in Zellen des Auerbach-Plexus, in exokrinen und endokrinen Pankreaszellen, im Flimmerepithel der Tuba uterina und in den Astrozyten des Kleinhirns. Organe, die die Gephyrin-positive Struktur nicht aufwiesen, waren Hoden, Ovar und die Milz.

Morphologische Untersuchungen der Gephyrin-positiven Struktur zeigten, dass sie eine annähernd kugelförmige und nie amorphe Gestalt hatte. Sie fand sich in der Leber maximal einmal pro Zelle und war hier im Durchmesser 1,01 µm groß. Ihr Flächeninhalt betrug an der Stelle des größten Durchmessers 0,86 µm², bei Messungen der Struktur in immunelektronischen Bildern zeigten sich geringfügig niedrigere Werte (Flächeninhalt 0,65

μm^2 , Durchmesser 880 nm). Im Vergleich zur Leber war die Gephyrin-positive Struktur in der Niere kleiner mit einer mittleren Fläche von $0,57 \mu\text{m}^2$, und einem mittleren Durchmesser von 840 nm, im Herzen waren sie noch kleiner mit einer mittleren Fläche von $0,41 \mu\text{m}^2$ und einem mittleren Durchmesser von 710 nm. Die Unterschiede zwischen den Größen von Leber, Niere und Herzen waren statistisch signifikant ($p = 0,0021$ im Kruskal-Wallis-Test für nicht normalverteilte Werte; $n = 6-9$ Mäuse pro Organ).

Zahlreiche Gephyrin-positive Strukturen – vor allem die größeren Strukturen in der Leber – wiesen in der Immunfluoreszenz- und in der Immun-Elektronenmikroskopie eine stärkere Immunreaktivität am Rand auf. Doppelfärbungen mit Gephyrin und Phalloidin-TRITC (zur Darstellung kortikalen Aktins) lieferten Hinweise darauf, dass die Gephyrin-positive Struktur bevorzugt peripher in der Zelle lokalisiert war. Elektronenmikroskopische Bilder deuteten zudem darauf hin, dass die Gephyrin-Struktur subzellulär häufig in der Nähe von Glykogen und endoplasmatischem Retikulum zu finden war.

Zusammenfassend zeigen die Befunde dieser Arbeit, dass das als postsynaptische Komponente bekannte Gephyrin in nicht-neuronalen Organen Zelltyp-spezifisch exprimiert wird und neben seiner bekannten zytosolischen Verteilung in einer intrazellulären Ansammlung – vermutlich höchstens einmal pro Zelle – vorliegt. Über die Funktion dieser neuen Gephyrin-positiven Struktur ist bisher nichts bekannt, unter Umständen steht ihr Vorkommen in engem Zusammenhang mit der Biosynthese des Molybdän-Cofaktors.