

Katarina Bohm
Dr. sc. hum.

Eine Mutation im alpha-Tropomyosinogen als Ursache einer dominant erblichen hypertrophischen Kardiomyopathie

Geboren am 26.04.1963 in Karlsruhe
Reifeprüfung am 25.5.1982 in Bensheim
Studiengang der Fachrichtung Biologie vom SS 1985 bis WS 1991
Vordiplom am 15.10.1987 an der Universität Frankfurt
Diplom am 28.11.1991 an der Universität Frankfurt

Promotionsfach: Humangenetik
Doktorvater: Prof. Dr. H.-P. Vosberg

Das zentrale Thema dieser Arbeit war die Analyse der Ursachen der dominant erblichen familiären hypertrophischen Kardiomyopathie („familial hypertrophic cardiomyopathy“ FHC) in einer Familie (Bezeichnung MI), in der 9 Personen in drei Generationen als herzkrank diagnostiziert worden waren. Zum Zeitpunkt des Beginns dieser Arbeit war nur das kardiale β -Myosinogen (auf Chromosom 14) mit einer Mutation als genetische Ursache dieser Krankheit bekannt. Der Krankheitsstatus der MI-Patienten (Symptome, Schweregrad, EKG, Ultraschall etc.) wurde in der Kerckhoff-Klinik der Max-Planck-Gesellschaft in Bad Nauheim ambulant festgestellt. Wie bei der FHC üblich, gab es in der Familie ein breites Spektrum an Schweregraden, das vom Herzstillstand (mit Wiederbelebung) bis zu ausgesprochenen leichten Verläufen reichte.

Der erste Schwerpunkt dieser Arbeit war die Lokalisierung der Krankheitsgenregion im Genom. Durch Kopplung (Haplotypanalyse) mit Hilfe von RFLPs und Mikrosatelliten mit bekanntem Locus war zunächst ausgeschlossen worden, dass es sich bei den MI-Patienten um eine „Myosin-Krankheit“ handelt. In Kooperation mit Dr. Thierfelder (seinerzeit in Boston, Harvard), der dort eine weitere deutsche Familie (MZ) mit einem ähnlichen Krankheitsphänotyp untersuchte, wurde eine umfassende Kopplungsanalyse durchgeführt, bei der sich für MI und MZ eine Kandidatengenregion (mit einem Lod Score >3) auf Chromosom 15 ergab (Region 15q2). (Dieses Ergebnis wurde 1993 gemeinsam publiziert.) Als ein erster Schritt bei der Suche nach dem damals unbekanntem Gen wurde anschließend mit der molekularen Analyse von genomischen Sequenzen aus der Region 15q2 begonnen. Dazu wurden mit Hilfe bekannter Mikrosatelliten aus dieser Region YACs („yeast artificial chromosomes“) isoliert. Dazu stand eine von Frau Professor Poustka (DKFZ Heidelberg) hergestellte YAC-Bank zur Verfügung. Es wurden zwei YACs identifiziert, von denen eines (Bezeichnung 156H1) im Detail analysiert wurde. Auf diesem YAC-Klon wurde nach Subklonierung in Cosmiden und umfassender Restriktionskartierung der Subklone eine zusammenhängende genomische Region („contig“) von ca. 120 kb Länge identifiziert. Mit Hilfe von in der Literatur berichteten Methoden wurde sodann versucht, in dieser „Contig“-Region Sequenzen nachzuweisen, die im menschlichen Herzmuskel exprimiert werden. Dazu wurde eine kommerziell verfügbare humane kardiale cDNA-Bank benutzt. Es wurden in dieser cDNA-Bank jedoch durch Hybridisierung mit „Contig“-DNA lediglich eine kurze Sequenz nachgewiesen, die keinem bekannten Gen zugeordnet werden konnte. Da im übrigen wiederholt repetitive Alu-Sequenzen in der cDNA-Bank entdeckt wurden, konnte von einer hohen kardialen Spezifität (und damit Qualität) dieses „Suchmaterials“ nicht ausgegangen werden. (Alu-Sequenzen werden in mRNA nicht erwartet.)

Nachdem in einer späteren Phase der Arbeit die Assoziation der Kardiomyopathie in der Familie MI mit einer Missense-Mutation in Codon 175 (Asp→Asn) des α -Tropomyosins bekannt geworden war (Ergebnisse von Dr. Thierfelder, Boston), wurde zum Abschluss dieser Arbeit die cDNA für das humane α -Tropomyosin bis zur Homogenität (> 90%, eine Bande im SDS-Gel) gereinigt. Diese bakteriellen Versionen des Tropomyosins waren allerdings nicht, wie die Muskel- und Herzmuskelproteine, am N-Terminus acetyliert. Gleichwohl steht mit diesem Protokoll eine gegebenenfalls zu modifizierenden schnelle und ergiebige Methode für die Herstellung von normalem und mutiertem α -Tropomyosin zu weiteren Struktur- und Funktionsanalysen des Proteins zur Verfügung.

