

Gernot Rothardt

Dr. sc. hum.

Transport von Fettsäuren über die Peroxisomenmembran: Funktionelle und molekulare Charakterisierung des involvierten Transporters

Geboren am 15.11.1970 in Koblenz

Reifeprüfung am 26.05.1990 in Lahnstein

Studiengang der Fächer Deutsch, Biologie und Geschichte für das Lehramt an Gymnasien vom WS 1992/1993 bis SS 1997

Zwischenprüfung im April 1994 an der Universität Marburg

1. Staatsexamen am 05.06.1997 an der Universität Marburg

Promotionsfach: Anatomie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. Dr. A. Völkl

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung von Transportsystemen, die an der Aufnahme von Fettsäuren in PO beteiligt sind.

Dazu wurde ein Transportassay entwickelt und optimiert, mit dem der Transport radioaktiv markierter Palmitinsäure und Palmitoyl-CoA in PO verfolgt wurde.

Der vorgestellte Assay ist zur weiteren Charakterisierung von Transportvorgängen unterschiedlicher Substrate in PO geeignet.

PO wurden mittels differentieller Zellfraktionierung aus Rattenlebern isoliert und für den Transportassay verwendet, indem sie unter variierenden Bedingungen mit Palmitinsäure oder Palmitoyl-CoA inkubiert wurden.

Der untersuchte Transport ist bei beiden Substraten schnell und bei 20 μ M gesättigt. Es wird nur der CoA-Ester transportiert; die freie Fettsäure kann nicht aufgenommen werden. Sie muss vor dem Transport unter ATP-Verbrauch mit Co-Enzym A verestert werden. Dies haben Versuche gezeigt, bei denen jeweils einer dieser Kofaktoren weggelassen wurde.

Palmitoyl-CoA hingegen kann ohne Verbrauch von ATP in PO hinein transportiert werden.

Für den Transport sind ein oder sogar mehrere Membranproteine erforderlich, die Diffusion des Substrates über die PO-Membran kann ausgeschlossen werden, denn nach Zerstörung der Membranproteine durch Protease- oder KCl- Behandlung erfolgt ebenso wie nach einer Hitzebehandlung kein Transport mehr.

An der Translokation von Fettsäuren und ihren Estern möglicherweise beteiligte Proteine sind die langkettige Fettsäure-CoA-Synthetase (FACS) und die Familie der Fettsäure Transport-Proteine (FATP). In einem ersten Schritt wurden daher die subzelluläre Verteilung sowie die Expression dieser Proteine und der dazu gehörenden RNA in der Rattenleber untersucht. Sowohl FACS als auch FATP lassen sich durch Western Blotting in der PO-Membran nachweisen, ferner konnte die Expression von FATP1-mRNA durch Northern Blotting gezeigt werden. FATP1 ist somit ein möglicher Transporter, andere Transportproteine sind jedoch ebenfalls vorstellbar.