

Sabine Golde

Dr.med.

Etablierung von Zelllinien mit regulierbarer Grp94-Expression

Geboren am: 01.12.72

Reifeprüfung am: 27.06.91

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 91/92 bis WS 98/99

Physikum am 06.09.93

Klinisches Studium in Heidelberg und London

Praktisches Jahr in Heidelberg, New York, U.S.A. und Toronto, Canada

Staatsexamen am 26.11.98 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie

Doktorvater: Prof. Dr. Felix Wieland

Eines der mengenmäßig bedeutendsten Proteine im Endoplasmatischen Retikulum ist Grp94. Es wird in Stresssituationen wie Glukosemangel, Kalziumverlust des ER und im Rahmen der Unfolded Protein Response zusammen mit dem ER-Chaperon BiP vermehrt exprimiert. Auch für Grp94 wird eine Chaperonfunktion diskutiert. Seine Rolle ist aber, im Gegensatz zu der seines zytosolischen Homologs Hsp90 noch kaum aufgeklärt. Grp94 ist auch als tumorassoziiertes Antigen identifiziert und zur Immunisierung gegen Tumoren benutzt worden. Eine Rolle für Grp94 als Peptidbelader von MHCI-Molekülen wird derzeit untersucht.

Um die Rolle von Grp94 bei Faltungsprozessen und im Rahmen der ER-Stressantwort näher studieren zu können, wurde in dieser Arbeit versucht, die zelluläre Menge an Grp94 so zu modellieren, daß zum einen möglichst viel, zum anderen möglichst wenig Grp94 exprimiert wird. Dazu wurde einerseits Maus-Grp94-cDNA, andererseits eine Grp94-antisense-Sequenz in ein über Tetrazyklin regulierbares Expressionssystem eingebracht. Tetrazyklinzugabe sollte ermöglichen, die Expression der eingebrachten Konstrukte ganz oder teilweise abzuschalten. Überraschenderweise war es nicht möglich, trotz nachgewiesener Expression der eingebrachten Maus-Grp94-cDNA in humanen HeLa-Zellen den Gesamtgehalt an Grp94 zu erhöhen. Gleichfalls konnte über die Expression von Grp94-antisense-Sequenzen die Grp94-Menge nur auf 70% reduziert werden. Diese Arbeit gibt damit zum ersten Mal einen Hinweis

für einen Autoregulationsmechanismus für Grp94. Diese Möglichkeit wird im Kontext anderer Arbeiten zur Veränderung der zellulären Grp94- oder BiP-Menge diskutiert. Ein Autoregulationsmechanismus für Grp94 würde nahelegen, daß Grp94 eine zentrale Funktion in der Zelle wahrnimmt. Dies war vor den durchgeführten Untersuchungen nicht unbedingt anzunehmen, da Grp94 bisher nur in Zellen höherer Eukaryonten nachgewiesen wurde, nicht jedoch in Hefe, während BiP z.B. ebenfalls in Hefe vorkommt. Studien zur Überexpression von BiP und zur Antisense-Inhibition seiner Expression lassen darauf schließen, daß es auch für BiP eine solche Autoregulation gibt.

Die in dieser Arbeit etablierten stabilen Transfektanten können dazu dienen, den beobachteten Phänotyp in unabhängigen Klonen zu überprüfen, um danach die mögliche Ebene der beobachteten Autoregulation genauer zu untersuchen.