

David Ridderskamp  
Dr. med.

## **Regulation der mitochondrialen Biogenese in HepG2 – Zellen durch das Glucoseangebot**

Geboren am 16.03.1972 in Weinheim an der Bergstrasse  
Staatsexamen am 06.04.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. Rudolf Wiesner

Die vorliegende Arbeit verfolgte zwei Ziele. Zum einen sollte ein Zellkulturmodell entwickelt werden, in dem durch geeignete Mediumbedingungen Zellen gezwungen sind, ihren Energiebedarf zu einem großen Teil durch oxidative Phosphorylierung zu decken. Ein solches Modell wäre geeignet, um weitere Untersuchung insbesondere hinsichtlich der mitochondrialen Biogenese und deren Regulationsmechanismen anzustellen.

Da zu Beginn der Arbeit ein solches Modell noch nicht vorlag, wurden zum anderen parallel an einer Modifikation eines bestehenden Zellkulturmodells, welches sich der pharmakologischen Stimulation der mitochondrialen Transkription durch Thiamphenicol bedient, Versuche zur Rolle des mitochondrialen Transkriptionfaktor mtTFA in der Transkriptionssteuerung durchgeführt.

Im Rahmen der Arbeit ist es gelungen, ein Zellkulturmodell zu entwickeln, in dem Zellen allein aufgrund hinsichtlich der Energieversorgung veränderter Mediumbedingungen langfristig in der Lage sind, ihren Energiebedarf durch oxidative Phosphorylierung zu decken. Dies geschieht hierbei ohne, dass die Wachstumskinetik der Zellen sich signifikant verändert, so dass die zweite wesentliche Voraussetzung für die Verwendbarkeit des Modells in weiteren Versuchen zur mitochondrialen Biogenese gegeben ist.

Desweiteren zeigt das über Monate konstante Zellwachstum mit einer unverändert exponentiellen Wachstumskinetik, dass die Zellen in der Lage sind, dem oxidativen Stress durch die in Folge der verstärkten Energiegewinnung durch oxidative Phosphorylierung vermehrt anfallenden reaktiven Sauerstoffspezies in adäquater Weise zu begegnen. Das langfristig um ca. 15 % schnellere Wachstum von Zellen in pyruvathaltigem Medium unterstreicht die Rolle von Pyruvat als sog. Scavenger, also einer Substanz, die in der Lage ist reaktive Sauerstoffspezies zu inaktivieren. Zum anderen zeigt jedoch die Tatsache, dass auch die in pyruvatfreiem Medium kultivierten Zellen langfristig eine typische Wachstumskurve beibehalten konnten, dass noch andere Systeme hier eine Rolle spielen müssen.

Die Rolle des mitochondrialen Transkriptionsfaktors mtTFA bei der Transkriptionssteuerung konnte im Rahmen dieser Arbeit teilweise aufgeklärt werden.

Für die Modifikation eines bekannten Zellkulturmodells mit pharmakologisch bedingter mitochondrialer Transkriptionssteigerung durch Thiamphenicol konnte bewiesen werden, dass dieser Effekt auch bei kurzfristiger Einwirkung vorliegt. An solcherlei kurzfristig behandelten Zellen konnte mtTFA im Rahmen der initialen Transkriptionssteigerung untersucht werden.

Zunächst bestätigte sich, wie in anderen zuvor angefertigten Arbeiten, dass die Menge an mtTFA sich im Rahmen der Transkriptionsstimulation nicht verändert. Ein Befund der nicht überraschte, da mtTFA neben der Transkriptionsstimulation auch eine histonähnliche Funktion in Mitochondrien in wohl deutlich grösserer Menge ausübt, so dass eine Veränderung im Gesamtproteinpool, sofern überhaupt vorhanden, nicht nachweisbar zu sein scheint.

Im nächsten Schritt konnte jedoch eine pH – Wert relevante Modifikation eines Teils des Proteinpools im Rahmen der Transkriptionsstimulation nachgewiesen werden, d.h. eine reversibel Modifikation eines Teils des mtTFA – Proteinpools scheint mitentscheidend für die Regulation der mitochondrialen Transkription zu sein.

Die Art dieser Modifikation konnte jedoch leider nicht bestimmt werden. Hierfür kommen zwei Gründe in Frage :

Zum einen könnte das möglicherweise geringe Ausmaß der Modifikation in Bezug auf den Gesamtproteinpool von mtTFA für die gewählten Nachweismethoden nicht detektierbar gewesen sein.

Zum anderen wurde aus Gründen des Umfangs der Arbeit nur nach der häufigen kovalenten Modifikation der reversiblen Phosphorylierung gesucht, so dass andere Modifikationen des mtTFA – Proteins sich bei dem gewählten experimentellen Vorgehen dem Nachweis von vorne herein entzogen.