



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung**

**Die Herstellung von unterschiedlichen Expressionsvektoren des
Insulinrezeptor A, B und Insulin-like growth factor-1 Rezeptors zur
Untersuchung der Bildung von Homo- und Heterodimeren auf der
Zellmembran von Tumorzellen**

Autor: Maria Gabriele Ahls
Institut / Klinik: Pathologisches Institut
Doktorvater: Prof. Dr. A. Marx

Hormone, Wachstumsfaktoren und ihre Liganden wirken bei der Tumorentstehung und dem Tumorwachstum zusammen. Die Insulinrezeptoren A und B (IR-A und IR-B), der insulin-like growth factor 1-Rezeptor (IGF-1R) und ihre Liganden (Insulin und insulin-like growth factors (IGF) 1 und 2) spielen eine bedeutende physiologische Rolle im Stoffwechsel und Wachstum von Zellen. In den meisten adulten Zellen wird der vor allem der IR-B exprimiert, während der IR-A in der Embryonal- bzw. Fetalperiode dominiert. Dieses ist vor allem für das Wachstum des Organismus von Bedeutung. Nach Geburt erfolgt ein Wechsel der Rezeptortypen mit dem Ziel, den Glucosemetabolismus und damit den Energiehaushalt der Zellen sicherzustellen. Proliferation, Wachstum und Antiapoptose rücken in den Hintergrund. Tumorzellen zeigen häufig eine Re-Expression des IR-A und produzieren IGF-2. Durch Bildung von Heterodimeren zwischen IR-A und dem IGF-1R kommt es zu einer präferentiellen Bindung von IGF2 im Sinne eines autokrinen Loops mit gesteigerter Zellproliferation und Anti-Apoptose und dadurch zu Tumorwachstum und Tumorprogression.

Diese Erkenntnisse führten zu der Entwicklung von verschiedenen zielgerichteten Medikamenten. Zum Einsatz kamen Antikörper gegen IGF-1R und IR-B und sogenannte small molecules mit nur wenig überzeugenden Ergebnissen. Bisher konnte kein selektiver Antikörper gegen den IR-A und dessen Hybridrezeptoren entwickelt werden.

Diese Arbeit sollte dazu beitragen, die Entstehung und die Kinetik der Heterodimerbildung besser zu verstehen und zur Entwicklung eines Antikörpers gegen IR-A und dessen Hybridrezeptoren beitragen. Mittels Western Blot erfolgte die Untersuchung der physiologischen Expression von IR-A, -B und IGF-1R in verschiedenen Zelllinien und die Austestung der zuverwendeten Antikörper. Die Zelllinien MCF-7, BPH-I, PC-3 und HEK293T zeigten die geringste tolerable endogene Expression der zu untersuchenden Rezeptoren. Die ausgewählten Zellen wurden mit einem GFP-markierten Rezeptorplasmid transfiziert und das Ergebnis unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht. Es erfolgte die Herstellung von stabilen Zellen mit dem GFP-markierten Rezeptorplasmid. Um die Bildung der verschiedenen Homo- und Heterorezeptoren mittels der FRET-Methode zu untersuchen, wurde versucht, mittels 3 verschiedenen Methoden der Klonierung die Rezeptoren IR-A, IR-B und IGF-1R mit unterschiedlichen fluoreszenzmarkierten Proteinen herzustellen. Aufgrund der Größe der klonierten Rezeptoren war das Projekt mit erheblichen technischen Problemen konfrontiert, die durch zukünftige methodische Neuansätze adressiert werden müssen.