



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

Charakterisierung der Rezeptor-Tyrosinkinase TYRO3 bei U251-Glioblastomzellen: ein potentieller Überlebensfaktor der humanen Tumorzellen

Autor: Ali Karakoyun
Institut / Klinik: Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie
Doktorvater: Prof. Dr. M. Veldwijk

Das Glioblastoma multiforme (GBM) ist ein aggressiver Hirntumor. Der Tumor ist mit einer kurzen Überlebenszeit trotz maximaler Therapie assoziiert und mit den aktuellen Behandlungsansätzen ist eine Verlängerung der Überlebenszeit bzw. ein kurativer Ansatz nicht möglich. Umso wichtiger wird die Definition neuer Zielstrukturen bei der Behandlung des Glioblastoma multiforme. Ein Behandlungsansatz in der Onkologie stellt die gezielte Modulation der Rezeptortyrosinkinasen (RTK) dar. Ein Beispiel stellt die TAM-RTK Familie dar, bestehend aus Tyro3, Axl und Mer. Axl und Mer sind bei Glioblastoma multiforme in Ihrer Funktion bezüglich des Zellüberlebens bereits untersucht. Eine Untersuchung des letzten Mitglieds, nämlich Tyro3, erfolgte bislang nicht. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Charakterisierung des Tyro3-Proteins bei U251-Glioblastomzellen durchgeführt.

Dadurch konnte v.a. bei U251-Zellen, aber auch in anderen Zellarten wie MCF-7, HeLa oder 293T, eine Variante des Tyro3-Proteins erkannt werden, das sich durch seine Größe von anderen Spleißvarianten unterscheidet. Hierbei zeigte sich ein Proteinfragment, das dem intrazellulären Anteil, also der Tyrosinkinase-Domäne des Proteins von ca. 60 kDa, entsprach. Die Analyse auf eine mögliche Mutation auf Ebene der mRNA konnte eine Mutation innerhalb des kodierenden Bereichs, welches zu einem vorzeitigen Stopp der Proteintranslation führt, ausschließen. Ebenfalls zeigte sich eine vornehmlich intrazelluläre Lage des Proteins. Des Weiteren wurde eine extrazelluläre Modifikation durch enzymatische Proteolyse, unter dem Einsatz von Breitspektrum-Proteaseinhibitor und Breitspektrum-Metalloproteaseinhibitor ausgeschlossen werden.

Im Rahmen der Charakterisierung wurde der daueraktive Zustand des Tyro3-Proteins, der bereits durch die Vorgängerexperimente erkannt wurde, unabhängig von den äußeren Stresseinwirkungen auf die Zellen, wie Serumentzug, bestätigt. Eine Analyse der Rolle des Tyro3-Proteins auf das Zellüberleben mittels MTT-Tests und Koloniebildung wurde durchgeführt. Hierbei wurde mit Hilfe verschiedener shRNAs eine Herunterregulierung des Proteins erwirkt. Obwohl der MTT-Test im kurzfristigen Verlauf keinen signifikanten Vorteil des Tyro3-Proteins auf das Zellüberleben unter Bestrahlung zeigte, konnte im Rahmen des Koloniebildungsversuches im langfristigen Verlauf ein deutlicher Überlebensvorteil der Kontrollzellen gegenüber den Tyro3 herunterregulierten Zellen unter Serumeinsatz und Bestrahlung gezeigt werden.

In dieser Arbeit wurde eine Charakterisierung des Tyro3-Proteins und dessen Rolle auf das Zellüberleben der U251-Zellen untersucht. Es wurde ein daueraktives Tyro3-Protein in modifizierter Größe mit einem signifikanten Vorteil bezüglich des Zellüberlebens erkannt. Das Tyro3-Protein stellt somit eine potenzielle Zielstruktur bei der Behandlung des Glioblastoma multiforme dar.