

Simon Johannes Gairing

Dr. med.

Die Rolle von Perilipin-2 und Perilipin-3 im Lipidtröpfchen-Metabolismus

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. (apl.) Dr. rer. nat. Joachim Füllekrug

Lipidtröpfchen sind dynamische, subzelluläre Organellen mit einem hydrophoben Kern aus Neutrallipiden, umgeben von einem Phospholipid *monolayer*, deren dysregulierter Metabolismus eine entscheidende Rolle in der Entstehung zahlreicher Erkrankungen spielt. Die Funktion der ubiquitär exprimierten Lipidtröpfchen-assoziierten Proteine Perilipin-2 und Perilipin-3 ist dabei weitgehend unbekannt. Aufgrund der parallelen Expression, hoher Sequenzhomologie und Kompensationsmechanismen von Perilipin-2 und Perilipin-3 waren die Aussagen bisheriger meist RNA-Interferenz- oder *single knockout*-basierter *loss of function* Studien eingeschränkt. Daher wurde in dieser Arbeit die erste vollständig Perilipin-defiziente, humane Zelllinie durch den CRISPR/Cas9-vermittelten *double knockout* von Perilipin-2 und Perilipin-3 in U2-OS Zellen etabliert.

Die Perilipin-defizienten Zellen zeigten eine Reduktion der *steady state* Lipidtröpfchen um 91 % im Vergleich zu Wildtyp U2-OS bei gleichzeitiger Zunahme der Anzahl an sehr kleinen und sehr großen Lipidtröpfchen. Weiterhin führte die Perilipin-Defizienz zu einer ineffizienten Lipidtröpfchen-Biogenese. Die Anzahl neu gebildeter Lipidtröpfchen war in Perilipin-defizienten Zellen 20 Minuten nach Beginn der Lipidtröpfchen-Induktion um 47 % im Vergleich zu Wildtyp U2-OS reduziert. Dieser Phänotyp basierte hauptsächlich auf dem Perilipin-3 *knockout*. Während die Ölsäure-Aufnahme und -Inkorporation in Triacylglyceride nach dreistündiger Markierung mit ¹⁴C-Ölsäure um 43 % beziehungsweise um 63 % reduziert war, zeigte sich das Lipidtröpfchen-Wachstum unter großzügiger Ölsäure-Supplementation kaum beeinträchtigt. Ebenso erwies sich der Lipidmetabolismus nach ¹⁴C-Acetat-Markierung sowie die lipolytische Aktivität als weitgehend unverändert im Vergleich zur Kontrolle. Zuletzt zeigten die Perilipin-defizienten U2-OS eine deutlich erhöhte Sensitivität gegenüber Palmitat-induzierter Lipotoxizität, die auf dem *knockout* von Perilipin-2 basierte.

Es konnte gezeigt werden, dass viele der bisher gefundenen Merkmale Perilipin-defizienter Zellen spezifisch entweder auf Perilipin-2 oder Perilipin-3 zurückführbar sind. Entsprechend zeigten sich keine auffälligen Kompensationsmechanismen. Perilipine sind weder für die

Biogenese noch für das Wachstum von Lipidtröpfchen essentiell, dennoch spielt insbesondere Perilipin-3 eine wichtige Rolle in der effizienten Biogenese und Reifung von Lipidtröpfchen. Zuletzt konnte eine bisher weitgehend unbekannte, protektive Funktion von Perilipin-2 gegenüber Palmitat-induzierter Lipotoxizität gezeigt werden.

Weiterführende Experimente konnten inzwischen zeigen, dass nur U2-OS Zellen mit *double knockout* von Perilipin-2 und Perilipin-3 eine drastische Zunahme an sehr kleinen mikro Lipidtröpfchen aufweisen, die in *single knockout* Zellen nicht nachweisbar ist. Dieser Phänotyp ist nun Gegenstand weiterführender Experimente.