

Sabine Ulrike Thewes
Dr. med.

Characterization of the function of novel AMPAR-interacting protein PRRT2

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Dr. med. Jakob von Engelhardt

Ich konnte in meiner Arbeit demonstrieren, dass PRRT2 in weiten Teilen des Gehirns exprimiert wird, wobei PRRT2 mRNA Signale in Purkinjezellen und Körnerzellen des Cerebellums, den kortikalen Schichten II und VI, dem Hippocampus, insbesondere den Pyramidenzellen des CA sowie den Körner- und Hiluszellen des Gyrus dentatus, den Basalganglien, dem periaquäduktalen Grau, Hypothalamus, Colliculus superior und inferior sowie den unterschiedlichen Zellen der Bulbus olfactorius vorhanden waren. In den meisten beschriebenen Strukturen konnte eine Expression von PRRT2 entweder postnatal oder eine Woche nach Geburt gezeigt werden. Im Vergleich zu früheren Studien konnte ich zudem PRRT2 mRNA in verschiedenen Hirnarealen und dem Rückenmark sogar vor der Geburt, eine differenzierte PRRT2 Expression in verschiedenen Schichten des cerebralen Cortex sowie eine frühe postnatale Expression in Strukturen wie dem Striatum oder dem CA nachweisen. Eine Hochregulation von PRRT2 kann im Cerebellum vermutet werden. Weitere Änderungen der PRRT2 mRNA Expression während der Entwicklung sollten im Gyrus dentatus, dem Striatum und dem Thalamus weiter untersucht werden.

PRRT2 kommt in dendritischen Spines hippocampaler Neurone vor. Der N-Terminus ist intrazellulär, der C-Terminus extrazellulär lokalisiert.

PRRT2 interagiert mit GluA1 und GluA2. Beide AMPAR-Untereinheiten wurden mit FLAG-tagged PRRT2 aus dem Lysat von HEK293 Zellen co-immunoprecipitiert. Zusätzlich reduzierte ein Knockdown von PRRT2 mit shRNA die Menge von GluA1 und GluA2 an der Zelloberfläche hippocampaler Neurone ohne Änderung der Gesamtproteinkonzentration von GluA1 oder GluA2. Das deutet auf eine Rolle von PRRT2 für den Transport von AMPAR hin. Die Überexpression von PRRT2 führte im Gegensatz dazu jedoch nicht zu einer signifikanten Änderung der AMPAR-Expression an der Zelloberfläche. Berücksichtigt man die Ergebnisse meiner Arbeit sowie weitere elektrophysiologische Experimente aus der Engelhardt Forschungsgruppe, kann PRRT2 als wichtiges AMPAR interagierendes Protein eingeordnet werden. Dementsprechend ist PRRT2 nicht nur als präsynaptisches Protein, sondern auch als wichtiger Akteur an der postsynaptischen Seite zu betrachten.

PRRT2 Knockout- und Wildtypmäuse unterscheiden sich nicht signifikant hinsichtlich ihrer Greifstärke. Bezüglich des Rotarodtests ergaben sich hingegen längere Balancezeiten für Knockouttiere im Vergleich zu Wildtyptieren. Allerdings benutzten beide Gruppen unterschiedliche Strategien, um auf dem sich drehenden Rad zu bleiben. Hierbei hielten sich die Knockouttiere eher am Rad fest statt auf ihm zu balancieren.

In der Ganganalyse mit dem CatWalk XT System zeigten die Knockoutmäuse im Alter von P19 eine erhöhte Gangvariabilität mit häufigeren Geschwindigkeitsveränderungen, passend zu einer anfallsartigen Bewegungsstörung. Die Tiere präsentierten außerdem eine geringere Base of Support der Vorderpfoten.

In Zukunft wären Experimente mit PRRT2 Knockoutmäusen von höchstem Interesse, welche den Einfluss von PRRT2 auf AMPAR *in vivo* untersuchen.