

Jens Omid Brömme
Dr. med. dent.

Proteinexpression adulter neuronaler Stammzellen bei Inhibition der Glycogen-Synthase-Kinase-3

Geboren am 04.02.1977 in Teheran
Staatsexamen am 20.12.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. W. Kuschinsky

Adulte neuronale Stammzellen sind aufgrund ihrer Fähigkeit, sowohl zu Glia als auch zu Neuronen zu differenzieren, von besonderem medizinischen Interesse. Die genaue Kenntnis der molekularen Regulationsmechanismen innerhalb der Zelle bildet eine Voraussetzung für das Verständnis der Entwicklung des zentralen Nervensystems und für die sichere klinische Anwendung einer Stammzelltherapie.

In diesem Zusammenhang stellt die Steuerung der Differenzierung der neuronalen Stammzellen einen wesentlichen Schritt dar. Generell ist bekannt, dass bei der Differenzierung von Stammzellen der Wnt-Signalweg von Bedeutung ist. Die Aktivität dieses Signalweges konnte in adulten neuronalen Stammzellen in einer früheren Untersuchung der Arbeitsgruppe nachgewiesen werden.

Eine Schlüsselposition im kanonischen Wnt-Weg nimmt die Glykogen-Synthase-Kinase-3 (GSK-3) ein.

Die GSK-3 hat als multifunktionelles Enzym zahlreiche Funktionen u.a. beim Überleben der Zelle, der Entstehung des Zytoskeletts und der Zellpolarität, dem Stoffwechsel und der Transkriptionskontrolle. Das Enzym wird durch verschiedene extrazelluläre Signale reguliert und hat wiederum Einfluß auf mehrere Effektorsysteme, darunter Transkriptionsfaktoren, Cyclin D und Mikrotubulus-assoziierte Proteine.

In der vorliegenden Studie wurden speziell die Funktionen der GSK-3 unter den Rahmenbedingungen des Differenzierungsvorgangs adulter neuronaler Stammzellen ermittelt.

Hierzu wurde eine Proteinexpressionsanalyse in Form der zweidimensionalen Gelelektrophorese durchgeführt. Dieses Verfahren ermöglicht es, Änderungen der Proteinexpression im Verlauf der Differenzierung zu messen.

In vitro-Kulturen adulter neuronaler Stammzellen aus Rattenhirn wurden dazu einem 3-tägigen Differenzierungsprotokoll unterzogen, wobei neben einer Kontrollgruppe in einer Experimentalgruppe die GSK-3 durch einen niedermolekularen Hemmstoff (SB216763) gehemmt wurde.

Der Vergleich der angefertigten Gele zeigte ein übereinstimmendes Vorkommen von 384 Protein-Spots auf den Gelen der Kontrollgruppe und der mit dem Inhibitor behandelten Experimentalgruppe. Die Expression erwies sich bei 143 Spots als signifikant unterschiedlich ($p < 0,05$), 69 Protein-Spots der Experimentalgruppe zeigten eine geringere Expression als in der Kontrollgruppe, 74 Spots wiesen eine Erhöhung der Expression auf. Ausschließlich in der Experimentalgruppe traten 100 Protein-Spots auf, gegenüber 66 Spots, die ausschließlich in der Kontrollgruppe vorkamen.

Die Identifizierung der Protein-Spots durch den Vergleich mit etablierten Gel-Karten und durch Massenspektrometrie ergab eine deutlich gesteigerte Expression von Enzymen des Energiestoffwechsels durch die Inhibition der GSK-3. Weitere regulierte Proteine stehen im Zusammenhang mit dem Zytoskelett, der Proteinfaltung, apoptotischen Prozessen, und dem Schutz vor oxidativem Stress. Das Protein CRMP-2, das bei der Bildung von Axonen eine

5. Zusammenfassung

Rolle spielt, zeigte ein verändertes Expressionsmuster. Bei einigen der regulierten Proteine konnte ein möglicher Mechanismus, der zur Veränderung der Expression führt, auch dadurch wahrscheinlich gemacht werden, dass sich in den entsprechenden Gen-Promotern die typischen Bindungssequenzen von Glycogen-Synthase-Kinase-3-abhängigen Transkriptionsfaktoren fanden.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Hemmung der GSK-3 umfangreiche Änderungen in der Proteinexpression differenzierender adulter neuronaler Stammzellen zufolge hat.