

Ralf Vogel
Dr. med.

Untersuchung der 17 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 10 und deren Mutanten auf Funktionen des Poly(C)-Bindeproteins 1

Einrichtung: Institut für Humangenetik

Doktorvater/Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Herbert Steinbeisser, † 10.05.2014

Prof. Dr. rer. nat. Gudrun Rappold

Die 17 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 10 (HSD10) ist ein multifunktionales Protein, welches auf dem *HSD17B10*-Gen X-chromosomal kodiert ist. HSD10 wird in die Mitochondrien transportiert und ist für deren intakte Morphologie unerlässlich. Es katalysiert eine Vielzahl von Redoxreaktionen, darunter auch im Stoffwechsel von Steroiden, Fettsäuren und der Aminosäure Isoleucin. Es kann eine Bindung mit Amyloid β und dem Östrogenrezeptor α eingehen und bildet einen Teil der menschlichen mitochondrialen RNase P. Mutationen des *HSD17B10*-Gens führen zu der sehr seltenen HSD10-Erkrankung. Das klinische Bild ist in Abhängigkeit von der Mutation sehr variabel und reicht von fast keinen Symptomen bis hin zu progressiver Neurodegeneration, Kardiomyopathie und einem frühen Tod in den ersten Lebensjahren. Therapieoptionen sind bisher nicht bekannt.

Bis jetzt ist nicht geklärt, was die Symptome dieser Erkrankung verursacht. Da die durch eine Mutation gestörte katalytische Aktivität nicht mit dem Phänotyp der Erkrankung korreliert, kann dies als Ursache der Erkrankung wohl ausgeschlossen werden. Ebenso wurde in Frage gestellt, ob die Funktion der mitochondrialen RNase P der pathophysiologisch entscheidende Punkt ist. Bisher wurde angenommen, dass HSD10 einzig und alleine in den Mitochondrien lokalisiert ist, doch gibt es Daten, welche Hinweise auf eine nicht mitochondriale Lokalisation und Interaktion mit dem zytosolisch und nukleär lokalisierten Poly(C)-Bindeprotein 1 (PCBP1) geben.

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob HSD10 außerhalb der Mitochondrien lokalisiert ist und funktionell mit PCBP1 interagiert. Dies sollte dazu dienen mögliche bisher unbekannt Funktionen des Proteins zu finden, um dann zu analysieren, inwieweit diese bei ausgewählten Mutationen des HSD10-Proteins beeinträchtigt sind. Dadurch sollten neue Hinweise auf den Pathomechanismus der HSD10-Erkrankung gefunden werden.

Die durchgeführten Experimente zeigten, dass die Lokalisation von endogenem HSD10 tatsächlich auf die Mitochondrien beschränkt ist und sich auch durch oxidativen Stress nicht beeinflussen lässt. Bei Überexpression ergab sich eine zusätzliche zytosolische Lokalisation, die jedoch als unphysiologisch betrachtet werden muss. Drei verschiedene HSD10-Mutanten wurden ebenfalls auf ihre Lokalisation untersucht und konnten alle in den Mitochondrien gefunden werden.

Bezüglich der Interaktion mit PCBP1 konnte gezeigt werden, dass keine direkte Interaktion zwischen HSD10 und PCBP1 stattfindet. Dennoch wurde untersucht, ob HSD10 möglicherweise Einfluss auf die Funktionen von PCBP1 nimmt. Als Beispiel für die nukleäre

Funktion von PCBP1 wurde der Einfluss von HSD10 auf das PCBP1-Zielgen Protocadherin 8 (*PCDH8*) analysiert. Die *PCDH8*-Expression wurde durch Überexpression der HSD10-Mutanten reguliert und korrelierte mit dem Phänotyp der Mutanten. Jedoch sprach *PCDH8* auch unspezifisch auf die Transfektion an und eignet sich damit unter den experimentellen Bedingungen nicht als Zielgen. Um die zytosolische Funktion von PCBP1 zu untersuchen, wurde der Einfluss von HSD10 auf das Differenzierungs-Kontroll-Element (DICE) untersucht. Hierbei wurde das DICE durch HSD10 in gleicher Weise wie durch PCBP1 reguliert und die Mutanten zeigten ebenfalls eine Beeinträchtigung der DICE-Regulation. Dies legt nahe, dass eine Beeinflussung des DICE eine bisher unbekannt Funktion von HSD10 ist. Da die DICE-Regulation bei den HSD10-Mutanten mit schwererem klinischem Phänotyp stärker beeinträchtigt wurde, als bei der Mutante mit mildem Phänotyp, gibt dies einen Hinweis darauf, dass die DICE-Regulation auch eine Rolle bei der HSD10-Erkrankung spielt. Da eine zytosolische Lokalisation von HSD10 und eine direkte Interaktion desselben mit PCBP-1 ausgeschlossen wurden, bleibt der genaue Mechanismus der DICE-Regulation durch HSD10 Gegenstand zukünftiger Forschung.

Um zu untersuchen, ob die beobachteten Ergebnisse lediglich auf die bei Überexpression vorhandene unphysiologische zytosolische Funktion von HSD10 zurückzuführen sind, wurden die Experimente ebenfalls mit N-terminal markierten HSD10-Fusionspeptiden durchgeführt, wodurch der mitochondriale Import von HSD10 nachweislich gestört wurde. Diese N-terminalen HSD10-Konstrukte zeigten einen Funktionsverlust der DICE-Regulation. Dies lässt den Schluss zu, dass eine mitochondriale Lokalisation für die DICE-Regulation vonnöten ist. Um aus den Daten mit den N-terminal markierten Konstrukten endgültige Schlüsse zu ziehen, muss in Zukunft noch ausgeschlossen werden, dass die N-terminalen Fusionspeptide die normale HSD10-Funktion stören.