

Berichte aus der Biologie

Sebastian Franken

**Charakterisierung von Rezeptoren neurotropher
Glykosaminoglykane im Rattenhirn**

D 61 (Diss. Universität Düsseldorf)

Shaker Verlag
Aachen 2000

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Franken, Sebastian:

Charakterisierung von Rezeptoren neurotropher Glykosaminoglykane
im Rattenhirn / Sebastian Franken.

Aachen : Shaker, 2000

(Berichte aus der Biologie)

Zugl.: Düsseldorf, Univ., Diss., 2000

ISBN 3-8265-7700-0

Copyright Shaker Verlag 2000

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen
oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungs-
anlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8265-7700-0

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 1290 • 52013 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Zusammenfassung

Die starke zeitliche und örtliche Regulation der Expression von Glykosaminoglykanen (GAGs) während der Entwicklung des cerebralen Kortex deutet auf eine wichtige funktionelle Rolle dieser Glykomoleküle innerhalb der Etablierung von neuronalen Strukturen hin. Zellkulturexperimente, in denen Effekte auf das Überleben von Neuronen und die Formierung von Neuriten nachgewiesen wurden, unterstützen diese Vermutung. Die molekularen Mechanismen, die diesen Effekten zugrundeliegen, sind bisher jedoch weitgehend unverstanden.

Zur Aufklärung möglicher Glykosaminoglykan-Signaltransduktionswege wurden im Vorfeld zu dieser Arbeit Detergenz-lösliche Proteine aus Hirnen neugeborener Ratten isoliert, die potentielle Chondroitinsulfat-Interaktionspartner darstellen. Um die zeitliche und örtliche Expression dieser Proteine zu studieren, wurden sie als Antigen zur Generierung von monoklonalen Antikörpern eingesetzt.

Innerhalb dieser Arbeit wurden vier dieser Antikörper durch immunhistochemische und immunocytochemische Methoden näher charakterisiert. Zwei besonders interessante Antikörper wurden weiterhin im Westernblot auf ihre Expression während der Hirnentwicklung und auf ihre Lokalisation innerhalb der Zelle untersucht.

Für einen Antikörper wurde sein Antigen durch eine Kombination aus Ionenaustauschchromatographie, Gelfiltration und SDS-PAGE isoliert und durch massenspektrometrische Analysen als *Collapsin response mediator protein 4* (CRMP-4) identifiziert. Dieses intrazelluläre Protein gehört zu einer Familie von Homologen, welche an der Weiterleitung von Semaphorin-induzierten Signalen bei der axonalen Wegfindung beteiligt sind.

Durch Koimmunpräzipitationen wurde nachgewiesen, daß CRMP-4 mit anderen Mitgliedern dieser Familie Heterotetramere bildet. Weiter konnte gezeigt werden, daß CRMP-4 selber keine nennenswerte Bindungsaktivität für Glykosaminoglykane besitzt. Ein gewisser Anteil dieses Proteins, der membranassoziiert vorliegt, bindet jedoch mit hoher Affinität an eine Heparin-Sepharose-Matrix. Immunpräzipitationsstudien in Kombination mit Vernetzerexperimenten zeigten, daß CRMP-4 Bestandteil eines hochmolekularen, membranständigen Rezeptorkomplexes mit GAG-Bindungsaktivität ist.

Diese Daten weisen daraufhin, daß Glykosaminoglykane durch die Bindung an Komponenten von Semaphorin-Rezeptor-Komplexen die Signalkaskaden, die durch diese Rezeptoren angesteuert werden, modulieren können. Diese Beobachtung könnte einige der für GAGs nachgewiesenen Effekte auf die axonale Wegfindung und das Auswachsen von Neuriten erklären.