

4 Arbeitshypothese und Ausblick

Die frühe embryonale Lethalität GNE-defizienter Mäuse könnte zum einen darin begründet sein, dass die Sialinsäuren in diesen KO-Mäusen fehlen, zum anderen ist es aber auch denkbar, dass die GNE an sich eine wichtige Rolle in der Entwicklung spielt und auf andere zelluläre Prozesse Einfluss hat. Mit den in dieser Arbeit gewonnenen Daten hat man jedoch nur einen kleinen Einblick in die komplexen Strukturen und Prozesse bekommen, in die das Enzym als solches, unabhängig von der Funktion als Schlüsselenzym in der Biosynthese von Sialinsäuren, involviert sein könnte. Die Interaktion mit dem CRMP1 verbindet die GNE mit einem so elementaren Prozess wie dem F-Aktinabbau. Die Modulierung des Aktincytoskeltetts spielt während der Embryogenese eine bedeutende Rolle und könnte daher ein wichtiger Hinweis auf die frühe embryonale Lethalität der KO-Mäuse sein. Die Interaktion der GNE mit dem Transkriptionsfaktor PLZF verbindet das Enzym mit der Transkription und damit verbunden mit der Genexpression und/oder -regulation. Außerdem steht die GNE durch die Interaktion mit dem PLZF in Verbindung mit der Polyubiquitylierung von Proteinen und somit mit dem Proteinabbau über das Proteasom bzw. im Fall von Monoubiquitylierung mit der Translokation von Proteinen. Da der Mechanismus der Erbkrankheit HIBM noch nicht geklärt ist, ist in diesem Zusammenhang die Untersuchung der Interaktionspartner von großer Bedeutung. HIBM-Patienten haben eine anormale Akkumulatruion von Proteinen im Muskelgewebe sogenannte „inclusion bodies“. Die Interaktion von GNE und PLZF könnte in diesen Patienten zum gestörten Proteinabbau und somit zur Akkumulation der Proteine im Muskel führen. In Abbildung 21 ist ein schematischer Überblick wiedergegeben. Durch die Zugabe des Sialinsäurevorläufers ManNAc und besonders des Derivats ManNProp wird die Differenzierung und Neuritenwachstum in PC12-Zellen induziert (Büttner et al. 2002). Dabei konnte außerdem gezeigt werden, dass die Expression einiger Proteine verändert wurde. Unter anderem wurde die Expression eines Proteins, das von seiner Molekülmasse dem Ulip entsprach, herabreguliert. Das CRMP1 ist sehr nahe verwandt mit dem Ulip und könnte demnach eine ähnliche Funktion ausüben. Es ist bekannt, dass CRMP1 in den Prozess des Wachstumskegelkollaps (Growth Cone Collapse) involviert ist. Die Interaktion von CRMP1 und GNE hat möglicherweise einen negativen Einfluss auf den Prozess des

Wachstumskegelkollapses, aber einen positiven Effekt auf den Prozess des Neuritenwachstums. Des Weiteren zeigten Studien an humanen embryonalen Nierenzellen, dass eine erhöhte Expression der GNE zur gesteigerten Expression der Ganglioside GM3 und GD3 führt und diese hemmen die Proliferation (Wang et al. 2006). Andererseits führt die verringerte Expression der GNE zur Abnahme der Expression von GM3 und GD3 und zur Erhöhung der Proliferation. Nicht nur über die Transkription, sondern auch über den Proteinabbau kann die Aktivität von Proteinen reguliert werden. Die Interaktion der GNE mit dem PLZF könnte zur Polyubiquitylierung des Enzyms und somit zum Abbau führen. Weniger GNE in der Zelle würde dann wiederum die Expression von GM3 und GD3 reduzieren und die Proliferation steigern. Demnach ist die GNE eine Schlüsselstelle der Regulation von Differenzierung und Proliferation. Sialinsäuren könnten auch direkt einen Einfluss auf die Transkription haben. Die Aktivierung der Sialinsäuren zu CMP-NeuAc findet im Gegensatz zu anderen Zuckern im Zellkern statt. Außerdem ist die Konzentration der Sialinsäuren im Kern höher als im Cytosol (K. Bork, persönliche Mitteilung).

Künftige Untersuchungen müssen zeigen, ob Sialinsäuren die Transkription beeinflussen oder die GNE an sich diese Prozesse in der Zelle reguliert. Dazu könnte man die GNE in Zellen überexprimieren, indem man sie transfiziert und diese Zellen dann bezüglich ihrer Fähigkeit zu differenzieren und proliferieren untersucht. Als Kontrolle würden die Zellen mit dem Sialinsäurevorläufer ManNAc inkubiert werden. Umgekehrt könnte man auch Zellen mit PLZF bzw. CRMP1 transfizieren und ihren Einfluss auf die Aktivität und Lokalisation der GNE in der Zelle analysieren. Des Weiteren sollten die Interaktion der GNE mit CRMP1 und PLZF näher untersucht werden. Eine Möglichkeit ist, Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie bezüglich der Colokalisation dieser Proteine zu analysieren. Mit dieser Methode könnte auch die Lokalisation dieser Proteine in der Zelle überprüft werden. Womöglich findet die Interaktion von GNE mit PLZF nicht im Cytosol sondern nur im Kern statt und die Interaktion mit CRMP1 nur im Cytosol. Auch hier sollte man differenzierte und undifferenzierte Zellen untersuchen, da die Interaktion und Lokalisation dieser Proteine bezüglich ihres Differenzierungsstatus unterschiedlich sein könnte. Die ES-Zellen bieten sich da als ideale Versuchsobjekte an. Des Weiteren sollte man die zwei weiteren Interaktionspartner aus dem Y2H-Screening untersuchen. Da bisher noch nichts bekannt ist über RIF1 und KIAA1549 wäre es sinnvoll, zunächst Antikörper

gegen diese Proteine zu generieren. Mit Hilfe der Antikörper könnten die Interaktionen verifiziert und die Lokalisation in der Zelle analysiert werden.

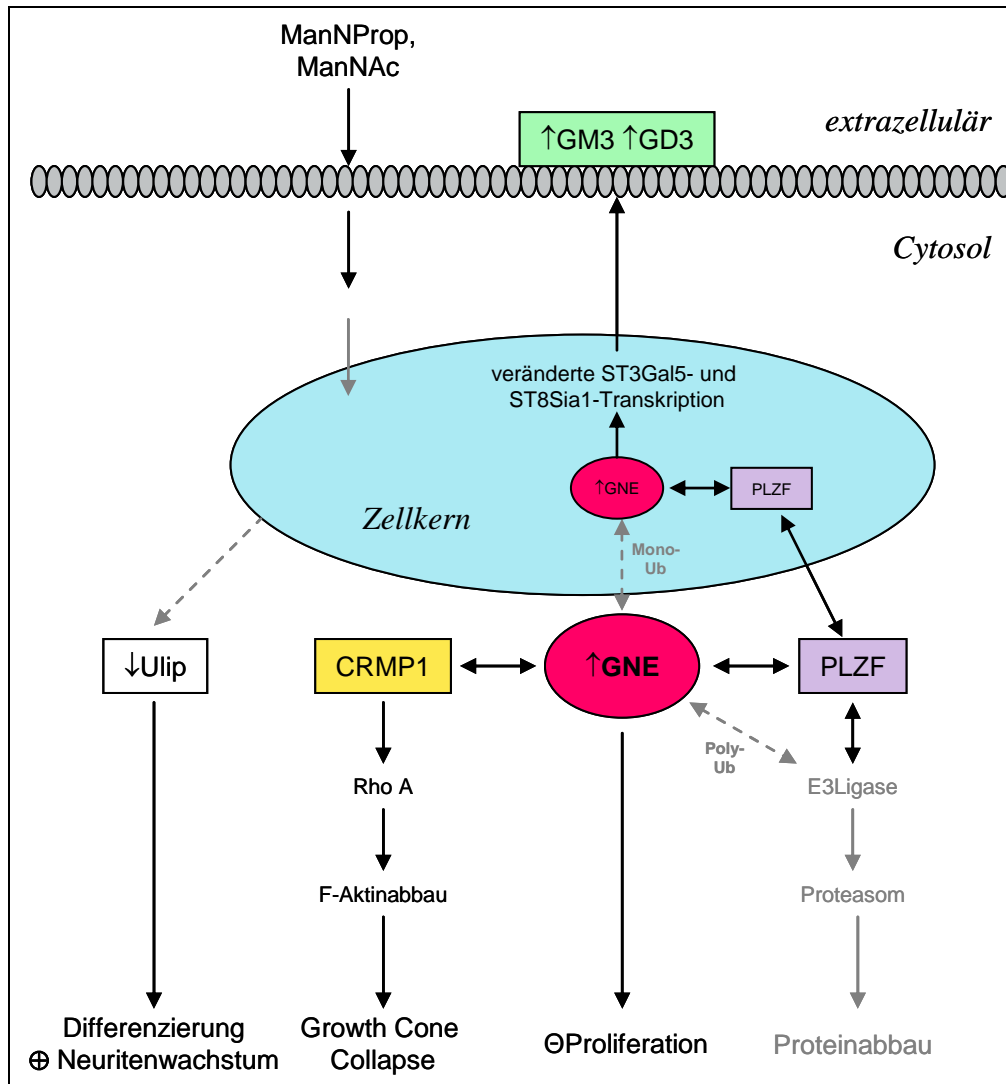


Abbildung 21: Arbeitshypothese. Schematische Darstellung des Zusammenspiels von GNE mit den Interaktionspartnern und deren Auswirkung auf zelluläre Prozesse.