

## 4. Zusammenfassung

### 4.1. CEACAM1-Isoformen

In PC12-Zellen der Ratte wurden die Spleißvarianten CEACAM1-4L und CEACAM1-4S nachgewiesen. Zusätzlich wurden zwei neue Isoformen, CEACAM1-4C1 und CEACAM1-4C2, identifiziert. Beide Formen sind sekretierte Proteine. Das CEACAM1-4C2 weist einen zu CEACAM1-4L identischen C-Terminus auf. Mittels eines Antiserums gegen die zytoplasmatische Domäne von CEACAM1-4L konnte CEACAM1-4C2 deshalb auf Proteinebene sowohl *in vitro* in konditioniertem Medium von PC12-Zellen als auch *in vivo* in Rattenserum nachgewiesen werden. Im Serum von Hepatom-tragenden Tieren war CEACAM1-4C2 verstärkt nachzuweisen.

### 4.2. Signaltransduktion des CEACAM1

Die CEACAM1-Tyrosinphosphorylierung konnte nach Inhibition zellulärer Tyrosinphosphatasen mit dem Phosphataseinhibitor Pervanadat dargestellt werden.

Die Modulation der makromolekularen Organisation des CEACAM1 durch Gabe von Antikörpern wurde angewendet, um einen CEACAM1-spezifischen Reiz zu erzeugen. Die Stimulation mit dem anti-CEACAM1 mAk Be 9.2 in Kombination mit einem sekundären Antikörper bewirkte dabei die Erzeugung großer CEACAM1-Cluster in der Plasmamembran. Die Stimulation von CEACAM1 durch Clustern hatte seine schnelle und reversible Tyrosin-Dephosphorylierung zur Folge.

Eine direkte Auswirkung dieser Dephosphorylierung bestand in der Modulation der Bindung der Tyrosinphosphatase SHP2 an CEACAM1: Diese Interaktion war von der CEACAM1-Tyrosinphosphorylierung abhängig und wurde deshalb nach Stimulation verringert.

Das an der Membran initiierte Signal bewirkte im Zytoplasma die temporäre und spezifische Aktivierung der MAP-Kinasen ERK1 und ERK2. Die verwandten MAP-Kinasen JNK und p38 wurden dagegen nicht aktiviert.

Nach der durch NGF induzierten neuronalen Differenzierung der PC12-Zellen war das konstitutive Niveau der CEACAM1-Tyrosinphosphorylierung reduziert und die Stimulation von CEACAM1 führte nicht mehr zu einer weiteren Dephosphorylierung.

#### **4.3. Die Interaktion von CEACAM1 mit dem Aktin-Zytoskelett**

Die Stimulation des CEACAM1 durch Clustern bewirkte seine Bindung an das Aktin-Zytoskelett. Es wurde ein Versuchssystem etabliert, bei dem die Extrahierbarkeit von CEACAM1 aus Zellen mit Detergens Triton X-100 als Maß für die Interaktion mit dem Aktin-Kortex diente. Die F-Aktin-destabilisierenden Reagenzien Cytochalasin D und Latrunculin A konnten die Cluster-induzierte Unlöslichkeit des CEACAM1 deutlich verringern. Die CEACAM1-Aktin-Interaktion war abhängig vom Zustand der Zellen: Sowohl die Erhöhung der Zelldichte als auch die neuronale Differenzierung der PC12-Zellen bewirkte eine verstärkte Interaktion.

Die CEACAM1-Tyrosinphosphorylierung hatte keinen Einfluß auf seine Bindung an Aktin, umgekehrt aber war ein intaktes Zytoskelett für die Regulation der CEACAM1-Tyrosinphosphorylierung von Bedeutung.

Der zytoplasmatische Teil des CEACAM1 war nicht nötig für die Cluster-induzierte Bindung an das Aktin-Zytoskelett, wie durch Verwendung der Mutante CEACAM1- $\Delta$ C ohne zytoplasmatischen Teil gezeigt wurde.

Die Kolokalisation von CEACAM1 und Aktin an Zellkontakten in Barbe-Endothelzellen war dagegen nur für CEACAM1-4L nachweisbar.