

## Zusammenfassung

Das **Ziel dieser Arbeit** war, durch **Proteomanalyse** einen **Einfluss von Entwicklung, Alter, Geschlecht und genetischer Variabilität sowie der Lebensspanne** (bei Mäusestämmen mit unterschiedlicher Lebenserwartung) **auf die Proteine des Herzmuskels** der Maus nachzuweisen.

Die altersspezifische Expression von Proteinen wurde an C57BL/6-Mäusen folgender Lebensphasen studiert: Embryonalphase, Geburtsphase, Postnatalphase und Adultphase. Hierbei konnte eine Vielzahl an Unterschieden in der Proteinexpression zwischen den aufeinanderfolgenden Stadien der jeweiligen Lebensphasen gefunden werden. Die Spotunterschiede waren Änderungen in der Spotintensität und des Spotvolumens (hochreguliert, herunterreguliert, vorhanden, nicht vorhanden). Für die Embryonalphase konnten 37 Proteinspots (1,2 %), für die Geburtsphase 104 Proteinspots (3,4 %), für die Postnatalphase 101 Proteinspots (3,3 %) und für die Adultphase 86 Proteinspots (2,8 %) ausgewertet werden. So waren z.B. 68 Spots der Spotunterschiede in der Geburtsphase hochreguliert, während in der Postnatalphase 60 Spots herunterreguliert waren. Um die Altersabhängigkeit der Proteinexpression aussagekräftiger darzustellen, wurden die Spotunterschiede der Geburts- und Adultphase mit der Massenspektrometrie analysiert. Hierbei wurden 43 Spots für die Adultphase und 49 Spots für die Geburtsphase identifiziert. Neun Proteine waren für beide Lebensphasen übereinstimmend (Geburt: 17 Spots; Adult 14 Spots) und die restlichen Proteine (Geburt: 32 Spots; Adult: 29 Spots) erwiesen sich als unterschiedlich. Hierbei wurde deutlich, dass sich die meisten Proteine der Geburts- und Adultphase in ihrer Expression, Identität und Funktion aufgrund unterschiedlicher Einflüsse unterscheiden (Adultphase: Umwelteinflüsse, vermehrte reaktive Sauerstoffspezies; Geburtsphase: Anpassung intrauterin/extrauterin).

Weiterhin konnten in der vorliegenden Studie sechs Isoformen des Peroxiredoxin 2 identifiziert werden. Verschiedene Literaturstellen ermöglichten eine Assoziation der sechs Isoformen mit einer oxidativen Modifikation. Drei der Isoformen traten ausschließlich in der Embryonalphase bis einschließlich dem Zeitpunkt der Geburt auf. Dies belegte die wichtige antioxidative Funktion des

Peroxiredoxin 2 gegenüber ROS (maternaler Transfer) in der Embryonalphase bis einschließlich dem Zeitpunkt der Geburt.

Die Untersuchung von geschlechtsspezifischen Proteinspots wurde an C57BL/6 und DBA/2-Mäusen durchgeführt. Geschlechtsspezifische Proteinspots ergaben sich folgendermaßen: C57BL/6, 29 Spots; DBA/2, 20 Spots. Für die C57BL/6-Mäuse wurden die auffälligen geschlechtsspezifischen Proteinspots identifiziert. Dabei waren von den männlichen Proteinmustern vier Proteine Apolipoproteine, die teilweise mehrgliedrig auftraten. ApoJ (3 Spots), ApoA2 (2 Spots) und ApoE traten ausschließlich in den männlichen Tieren auf. ApoA4 (3 Spots) war in den männlichen Tieren stark hochreguliert.

Weiterhin konnten drei Proteinspots des  $\alpha$ 1-Antitrypsins (1-1,1-3,1-5) sowohl als geschlechtsspezifisch als auch altersspezifisch in den C57BL/6-Mäusen (14. und 100. Woche) festgestellt werden. Das geschlechts- und altersspezifische Verhalten wurde mit den facettenreichen Funktionen des  $\alpha$ 1-Antitrypsins assoziiert.

Ein weiteres Untersuchungsziel war der Einfluss der genetischen Varianz. Hierbei konnten 160 Proteinpolymorphismen zwischen den Mausspezies *Mus musculus* und *Mus spretus* (14. Woche) ermittelt werden. Weiterhin wurden die geschlechtsspezifischen und altersabhängigen Proteinspots verglichen. Vier geschlechtsspezifische Proteinspots (DBA/2) traten in Form von Polymorphismen auf. Die geschlechtsspezifischen Proteine der C57BL/6 waren dagegen nicht polymorph. Von den altersabhängigen Proteinspots waren 16 Spots polymorph.

In einem letzten Experiment sollte der Einfluss unterschiedlich langer Lebensspannen (Lebenserwartung: DBA/1J, 60 Wochen; DBA/2, 100 Wochen) auf die Proteine ermittelt werden. Zwischen den beiden Mäusestämmen zeigten sich insgesamt 31 Spotunterschiede. Ein in seiner Intensität und Volumen auffälliger Proteinspot, der als Spotunterschied ermittelt wurde, konnte als Proteingemisch aus NADH-Dehydrogenase und NADH-Oxidoreduktase in den DBA/1J-Tieren (60 Wochen) identifiziert werden. Die Proteine stellen Quellen für die Bildung von freien reaktiven Sauerstoffspezies dar. Somit ergab sich ein Zusammenhang zwischen dem Alterungsprozess und dem vermehrten Auftreten von reaktiven Sauerstoffspezies zwischen diesen beiden Mäusestämmen mit unterschiedlich langen Lebensspannen.

Die Arbeit hat gezeigt, dass die Proteomanalyse durch die Darstellung von Tausenden von Proteinen erlaubt, Proteine zu entdecken, die in Prozessen wie Alterung und Geschlechtsdifferenzierung eine kritische Rolle spielen. Dies bildet eine Grundlage für aufbauende Untersuchungen im Hinblick auf die Aufklärung von alters- und geschlechtsspezifischen Auftreten von Krankheiten sowie pathologischen Mechanismen.